

El factor de necrosis tumoral α (TNF- α) en las enfermedades cardiovasculares: biología molecular y genética

José Manuel Frago Lona¹, Mónica Sierra Martínez², Gilberto Vargas Alarcón^{1,3}, Angélica Barrios Rodas¹ y Julián Ramírez Bello^{4*}

¹Departamento de Biología Molecular, Instituto Nacional de Cardiología «Ignacio Chávez»; ²Laboratorio 3 de Genética y Diagnóstico Molecular, Unidad de Investigación, Hospital Juárez de México; ³Subdirección de Investigación Clínica, Instituto Nacional de Cardiología «Ignacio Chávez»; ⁴Laboratorio 4 de Histocompatibilidad, Unidad de Investigación, Hospital Juárez de México

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares representan la primera causa de morbimortalidad en el mundo y la principal problemática de salud pública a nivel global. En 1997, este grupo de enfermedades causó el 41% de las muertes en EE.UU. Se ha reportado que cerca de 60 millones de personas que viven en EE.UU. tienen algún tipo de enfermedad cardiovascular. Estas entidades son condiciones crónicas iniciadas por la desregulación en la respuesta inmunológica. El gen TNF- α y su producto proteico: la citocina multifuncional TNF- α , juegan un papel determinante en el inicio, desarrollo, susceptibilidad, gravedad y respuesta al tratamiento, etc., en la enfermedad arterial coronaria (EAC). Esta revisión se enfoca en presentar al lector el rol biológico del TNF- α en el inicio y progresión de la disfunción endotelial, aterosclerosis y ruptura de la placa aterosclerótica, y cómo la variabilidad genética del TNF- α se relaciona con la susceptibilidad, la gravedad y la respuesta al tratamiento en la EAC, el infarto agudo de miocardio (IAM) con y sin elevación del segmento ST, la angina inestable (AI) y la reestenosis coronaria.

PALABRAS CLAVE: EAC. TNF. Inflamación. Placas ateroscleróticas.

Abstract

Cardiovascular diseases are a major public health problem globally. In 1997, cardiovascular disease caused 41% of deaths in the United States. It has been reported that about 60 million people in the United States have some form of cardiovascular disease. These entities are chronic conditions initiated by a dysregulation of the immune response. One gene and its protein product –tumor necrosis factor α (TNF- α)– a powerful pleiotropic cytokine with multiple cellular functions, plays a role in the inflammation, initiation, development, susceptibility, severity, and response to treatment, etc. of coronary artery disease (CAD). The focus of the present review is to summarize recent evidence showing the biological role of TNF- α in the initiation and progression of endothelial dysfunction and complications of atherosclerosis, and as a genetic variation of TNF- α confer susceptibility, severity, and treatment response in CAD: ST-segment elevation myocardial infarction and non-ST segment elevation myocardial infarction, unstable angina, and coronary restenosis. (Gac Med Mex. 2013;149:521-30)

Corresponding autor: Julián Ramírez Bello, dr.julian.ramirez.inv@gmail.com

KEY WORDS: Coronary artery disease. Tumor necrosis factor α . Inflammation. Atherosclerotic plaques

Correspondencia:

*Julián Ramírez Bello

Av. Politécnico Nacional, 5160

Col. Magdalena de Las Salinas, Del. Gustavo A. Madero,

C.P. 07760, México, D.F.

E-mail: dr.julian.ramirez.inv@gmail.com

Fecha de recepción: 16-07-2013

Fecha de aceptación: 20-08-2013

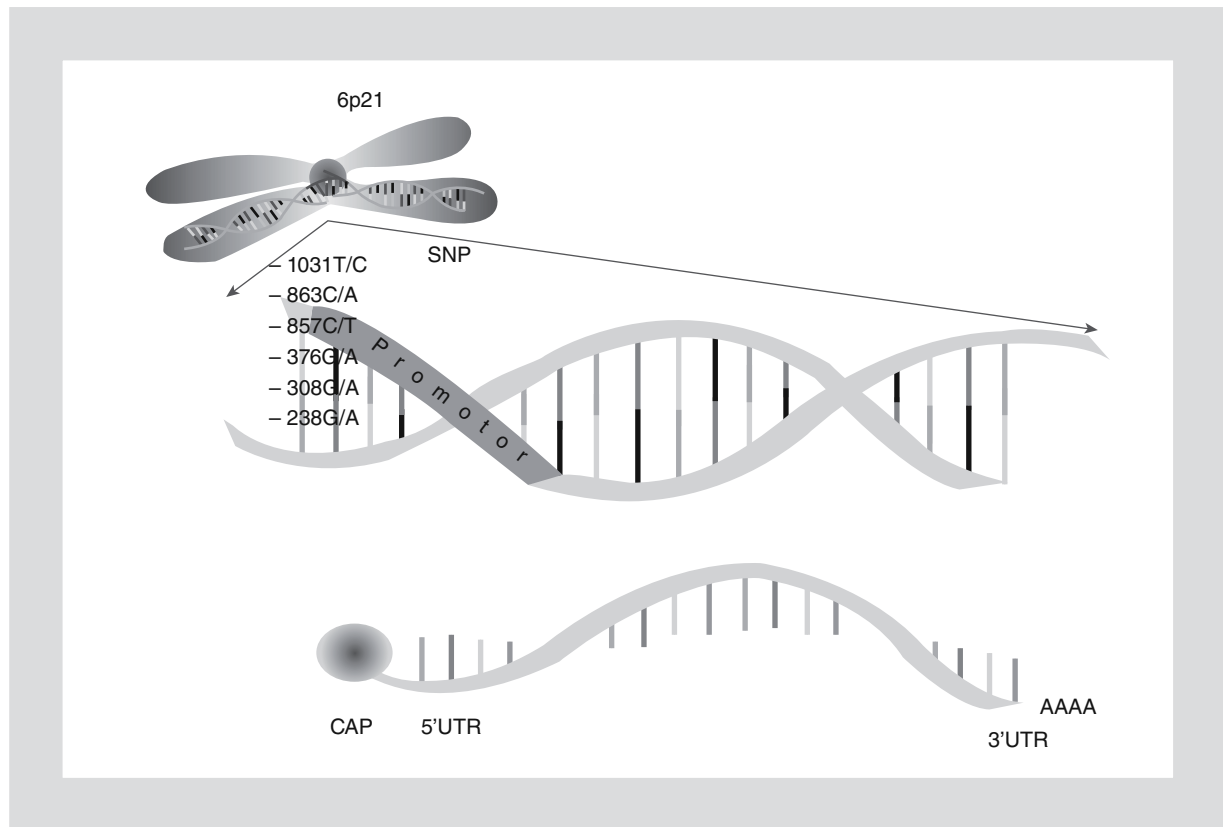


Figura 1. Localización, estructura y variantes genéticas de *TNF-α*. El gen *TNF-α* se encuentra en la región cromosómica 6p21.3; diversos rSNP han sido asociados con diversas enfermedades cardiovasculares.

Introducción

La incidencia de las enfermedades cardiovasculares sigue incrementándose de manera drástica alrededor del mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reportado que la enfermedad cardiovascular representa la primera causa de morbilidad en el mundo¹. EE. UU. reportó en 1997 un 41% de muertes producidas por algún evento cardiovascular. Un estudio estimó en esta misma población cerca de 60 millones de personas con algún tipo de enfermedad cardiovascular¹. La inflamación ha sido reconocida desde hace un par de décadas como la precursora de diversas enfermedades, entre las cuales se incluyen la artritis reumatoide (AR), el cáncer, el asma, la obesidad, la enfermedad arterial coronaria (EAC) y la aterosclerosis, entre otras²⁻⁶. Una de las principales citocinas que tiene un papel determinante en la inflamación, inicio, progresión, riesgo y gravedad a padecer diversas enfermedades cardiovasculares es el factor de necrosis tumoral α (*TNF-α*)⁷. Esta proteína pleiotrópica de bajo peso molecular señala a través de dos receptores (receptor 1 del factor de necrosis tumoral α [TNFR1]

y 2 [TNFR2]) en diversas células del organismo y del sistema inmunológico activando la expresión de diversos genes involucrados con diversos eventos cardiovasculares^{4,8,9}.

Locus del *TNF-α*

El gen *TNF-α* codifica para la citocina *TNF-α*; dicho locus se localiza en la banda citogenética 6p21.3 (Fig. 1)¹⁰. Diversos estudios de ligamiento genético han mostrado que esta citobanda está relacionada con diversas enfermedades cardiovasculares¹¹⁻¹³. El gen *TNF-α* está formado por 2.76 kb distribuidas a través de su región promotora, cuatro exones, tres intrones y sus regiones no traducidas 5' y 3' (5'UTR y 3'UTR) (Fig. 1). El transcrito maduro de *TNF-α* (la unión tanto del 5' como del 3'UTR, junto con los cuatro exones) tiene una longitud de 1,772 nucleótidos (Fig. 1)¹⁰. Este gen contiene diversos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) distribuidos a través de su estructura. Varios SNP del gen *TNF-α* han sido descritos en la región promotora (-1031T/C, -863C/A, -857C/T, -376G/A, -308G/A y -238G/A) (Fig. 1). Pocos SNP han sido

descritos en el resto del gen: ninguno en las regiones 5'UTR y 3'UTR, y algunos en los exones e intrones; sin embargo, la frecuencia de los alelos menos frecuentes (MAF) es prácticamente nula¹⁴.

Polimorfismos funcionales del TNF- α

Los SNP se clasifican en funcionales y no funcionales. Los primeros se dividen en SNP reguladores (rSNP), SNP ARN estructurales (srSNP) y SNP codificantes (cSNP; no sinónimos si el nucleótido cambia aminoácido [aa] y sinónimos si el nucleótido no cambia aa). Cada uno de ellos tiene implicaciones biológicas importantes en la función del gen, llegando a afectar la cantidad de los ARN mensajeros (ARNm), la traducción, *splicing*, estabilidad de los ARNm o la estructura y función de las proteínas, mientras que los no funcionales son marcadores de susceptibilidad, protección, gravedad, etc., que frecuentemente están en desequilibrio de ligamiento con las variantes que causan de manera directa la susceptibilidad a desarrollar diversas enfermedades comunes¹⁵⁻¹⁷. Diversos estudios han mostrado el impacto biológico de los rSNP localizados en la región promotora de *TNF- α* en su expresión génica^{15,18-21}. Por ejemplo, se ha documentado la influencia de los MAF A, T, A de los rSNP -863C/A, -857C/T y -376G/A de *TNF- α* en el aumento de su expresión génica a través de la creación de una secuencia consenso que sirve de unión para el factor de transcripción Oct-1¹⁸⁻²⁰. Por otro lado, los niveles de transcrito y de proteína TNF- α se ven aumentados cuando está presente el alelo A del rSNP -308G/A^{15,18,21}.

Estructura proteica del TNF- α

El TNF- α es producido por macrófagos, linfocitos, células endoteliales (CE) y otras células, en dos formas: una precursora unida a membrana y otra soluble (sTNF- α)^{22,23}. La forma unida a membrana es escindida por la enzima convertidora de TNF- α (TACE)²³. Diversas evidencias experimentales sugieren que ambas formas participan en la respuesta inflamatoria²². La forma precursora de TNF- α está constituida por 233 aa y cuenta con un peso molecular de 26 KDa; cuando es escindida por la metaloproteasa TACE queda como sTNF- α y queda constituida por 157 aa y cuenta con un peso molecular de 17 KDa^{22,24}. Las funciones del TNF- α están mediadas por el homotrímero del sTNF- α (51 KDa); sin embargo, su actividad biológica se puede interrumpir debido a una disociación proteica causada por bajas concentraciones de esta proteína²⁵.

Función biológica del TNF- α y señalización intracelular

El TNF- α , una potente citocina pleiotrópica con múltiples funciones celulares, se ha relacionado de manera crítica con la patogénesis de diversas enfermedades crónicas inflamatorias, incluyendo la EAC y enfermedades autoinmunes, entre otras^{4-9,26}. El TNF- α regula diversos eventos biológicos fundamentales de las células, tales como la activación de los leucocitos, la liberación de diversas citocinas y quimiocinas, y la producción de especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species* [ROS]) e intermediarios de nitrógeno⁷. Se ha observado que tanto la forma sTNF- α como la unida a membrana pueden ejercer un papel biológico inflamatorio; la unida a membrana lo hace de manera local y depende de la interacción entre células (se ha reportado que puede funcionar como ligando y receptor en los procesos inflamatorios), mientras que el sTNF- α ejerce sus funciones a distancia de las células que lo sintetizan²⁷. El TNF- α señala a través de dos receptores triméricos de membrana: los receptores 1 y 2 de TNF- α (TNFR1 y TNFR2, conocidos también como p55 o p60 y p75 o p80, respectivamente). Ambos receptores tienen diferencias en su expresión génica. El *TNFR1* se produce en células nucleadas, mientras que el gen *TNFR2* altamente regulado solo se expresa en células del sistema inmunitario, CE y nerviosas^{22,25,27,28}. Debido a su expresión constitutiva, se sabe que el TNFR1 es el principal receptor regulador de las funciones de TNF- α ²⁸. Parte de la estructura proteica de ambos receptores (TNFR1 y TNFR2) es compartida; sin embargo, el TNFR1 contiene un dominio que regula la muerte celular programada o apoptosis a través de varias proteínas accesorias asociadas al dominio de muerte, como por ejemplo dominio de muerte asociado al receptor de TNFR1 (TRADD), proteína 1 que interactúa con el receptor (RIP1), factor 2 asociado a TNFR1 (TRAF2) y dominio de muerte asociado a Fas (FADD) (Fig. 2)^{22,27,28}. Una vez iniciada la señalización celular mediada por TNF- α -TNFR1 (y sus proteínas accesorias), el complejo TRADD-RIP1-TRAF2 es liberado de TNFR1, e inmediatamente después comienza la fosforilación de los inhibidores del factor nuclear κ B (NF- κ B) mediante diversas cinasas, evento que lleva a la liberación y translocación del factor de transcripción NF- κ B desde el citoplasma al núcleo; finalmente este factor de transcripción actúa en el núcleo celular, donde se une a secuencias específicas del ADN y expresa genes involucrados con la síntesis de proteínas relacionadas con la inmunidad,

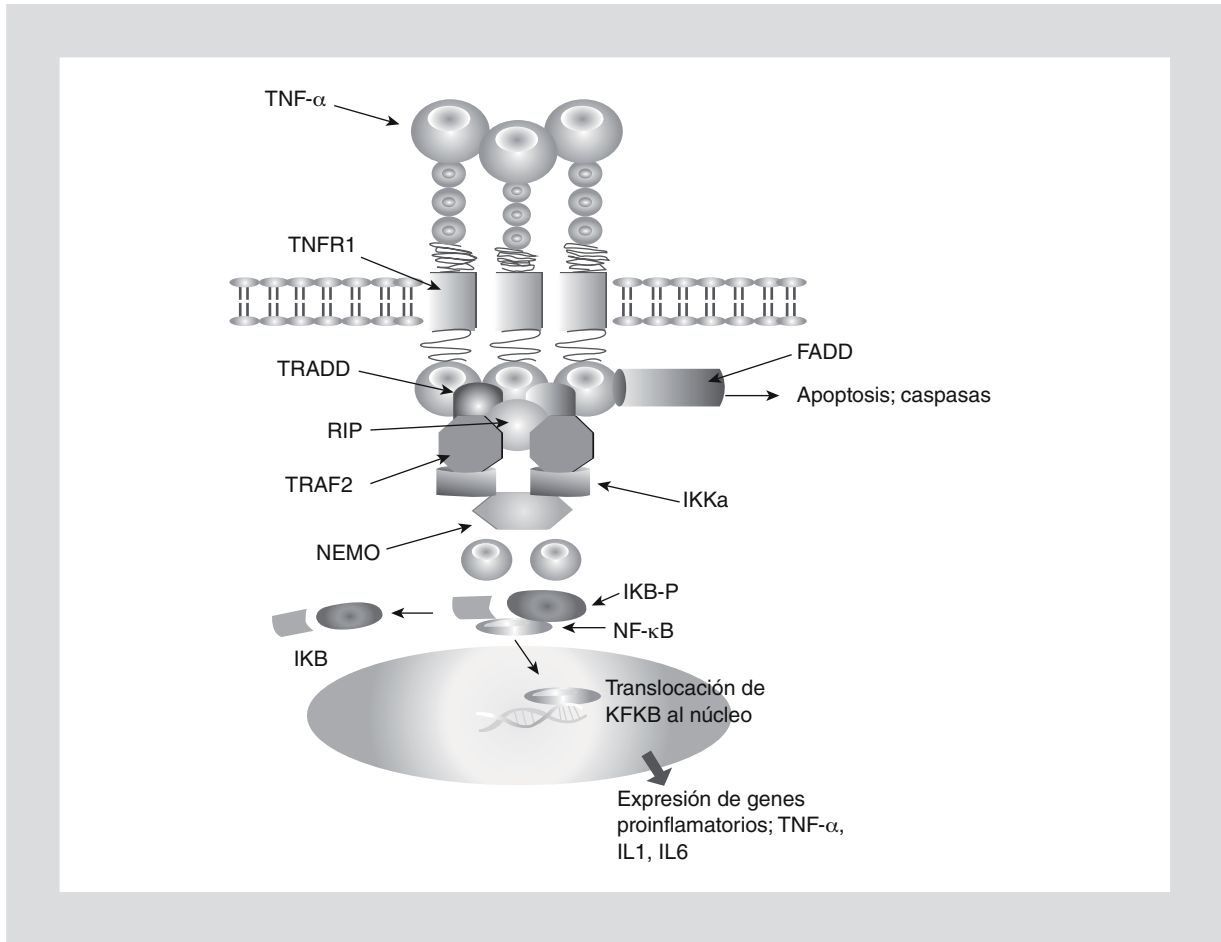


Figura 2. Vía de señalización mediada por TNF-α. La citocina multifuncional TNF-α puede ejercer sus diversas funciones de inflamación, inicio, progresión de la formación y ruptura de las placas aterosclerosis a través de sus receptores (TNFR1 o TNFR2), proteínas accesorias (proteínas asociadas a los receptores) y NFκB, que regula la expresión de genes involucrados en inflamación.

inflamación, autoinmunidad y maduración de la respuesta inmune innata y adaptativa (Fig. 2)^{22,27,28}. Aunque TNFR1 dispara la respuesta inmune inflamatoria mediada por TNF-α, se ha observado que TNFR2 está involucrado en la proliferación de las células del sistema inmunitario, citotoxicidad y activación de NF-κB²⁵.

TNF-α y disfunción endotelial

Está bien documentado que la inflamación es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de la disfunción endotelial y un contribuidor fundamental en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares^{7,8}. Ha sido mostrado que el TNF-α juega un papel principal en la interrupción de la circulación micro y macrovascular⁹. El aumento de la expresión de esta citocina de manera local o en la circulación promueve la disfunción endotelial a través de inducción

de ROS. Es bien conocido que el óxido nítrico (NO), un potente vasodilatador, juega un papel fundamental en la homeostasis vascular endotelial; dicha molécula es producida por tres tipos de NO sintasas (NOS): NOS endotelial (eNOS), NOS neuronal (nNOS) y NOS inducible (iNOS)⁸. El TNF-α está implicado en la expresión y actividad de las NOS (Tabla 1). Se ha observado que el TNF-α en CE aórticas humanas induce la expresión de iNOS y disminuye la expresión de eNOS²⁹⁻³¹. Se ha reportado que el TNF-α y la subsecuente producción de O₂⁻ causa disfunción endotelial en prediabéticos con síndrome metabólico³². Así mismo, se ha observado que altos niveles de esta citocina inducen la producción de ROS causando disfunción endotelial en pacientes con diabetes de tipo 2³³. La producción de ROS a través del TNF-α estimula la síntesis de diversas citocinas (incluyendo el mismo gen de TNF-α) a través del factor de transcripción NF-κB³⁴. La presencia de altas cantidades de esta

Tabla 1. Efecto biológico del TNF- α en las enfermedades cardiovasculares coronarias

Rasgo clínico o enfermedad	Lugar de acción	Función
Disfunción endotelial	CE	El TNF- α se ha involucrado en la disfunción endotelial a través de la inducción de genes involucrados en la inflamación y quimioatracción. Así mismo, el TNF- α induce ROS y disminuye la biodisponibilidad del NO. El TNF- α disminuye la expresión de eNOS
Aterosclerosis	Placas ateroscleróticas, CE y células del músculo liso	El TNF- α presente en las placas ateroscleróticas produce inestabilidad. Se ha reportado un efecto citotóxico en las CE a través de la inducción de proteínas quimioatrayentes que reclutan neutrófilos (involucrados con daño de la placa). Se ha observado una relación directa entre el TNF- α y la formación de la placa aterosclerótica a través de la oxidación de las LDL. Se ha asociado con gravedad y deterioro de la función cardiovascular
EAC	Placas ateroscleróticas, CE y células del músculo liso	El TNF- α se ha asociado con gravedad y susceptibilidad a desarrollar EAC en algunas poblaciones
SCA	Placas ateroscleróticas, CE y células del músculo liso	Altas concentraciones de TNF- α en plasma predicen daño vascular. El TNF- α se ha asociado con aterosclerosis temprana en varones jóvenes sanos. La elevación de esta citocina en la fase estable después de un IAM está asociada con un mayor riesgo de eventos coronarios recurrentes y como predictor de mortalidad. Algunos estudios de asociación genética han mostrado una correlación entre genotipos y susceptibilidad a SCA
Reestenosis	Placas ateroscleróticas, CE y células del músculo liso	Niveles elevados de TNF- α en suero o plasma han sido reportados en pacientes con reestenosis coronaria después del implante de un stent comparado con pacientes que presentan angina estable e inestable

citocina en diversas condiciones cardiovasculares está asociada con la inducción de ROS y la disminución de la biodisponibilidad de NO (Fig. 3).

El TNF- α en el inicio, formación y ruptura de las placas ateroscleróticas

Es bien conocido el papel que desempeñan las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la inflamación y cómo se relacionan con el inicio, formación y ruptura de las placas ateroscleróticas^{4,35}. Uno de los principales factores de riesgo en el desarrollo de la aterosclerosis: las LDL pueden disparar la respuesta inflamatoria y las lesiones ateroscleróticas a través de la oxidación mediada por ROS en la matriz extracelular subendotelial^{4,8,36}. La inflamación en la aterosclerosis origina una gran variedad de estímulos causantes de daño endotelial, como el movimiento de células del lumen vascular hacia la pared arterial bajo la influencia de diversos factores quimiotácticos producidos localmente. Por otro lado, varias evidencias experimentales muestran que en lesiones ateroscleróticas las LDL oxidadas en ciertas condiciones tienen propiedades autoantigénicas³⁵. En lesiones ateroscleróticas tempranas se han observado células dendríticas

y macrófagos capturando las LDL oxidadas, las cuales procesan y presentan, a través del complejo principal de histocompatibilidad de clase II, poblaciones específicas de células T CD4+, provocando su expansión clonal y la activación de células B productoras de anticuerpos dirigidos contra las LDL oxidadas³⁵. Se ha observado también que las LDL oxidadas promueven la inflamación a través de la quimioatracción de monocitos y células T a los sitios de lesión. Además pueden tener un efecto citotóxico en las CE e inducir la síntesis y liberación de diversas moléculas de adhesión y citocinas (entre las que se incluye el mismo TNF- α) (Tabla 1)³⁷. En las CE, el TNF- α induce la expresión de moléculas de adhesión, citocinas proinflamatorias y receptores de quimiocinas; estas últimas están involucradas en el reclutamiento de leucocitos, incluyendo los neutrófilos, los cuales están involucrados en el daño y destrucción tisular endotelial (Fig. 3)^{7,37,38}. Se ha observado también que el TNF- α puede inducir apoptosis de CE e inhibir la actividad de células progenitoras endoteliales (células involucradas en la reparación endotelial)⁷. Por otro lado, se ha observado una relación directa entre el TNF- α y la formación de la placa aterosclerótica a través de la oxidación de las LDL. En pacientes con

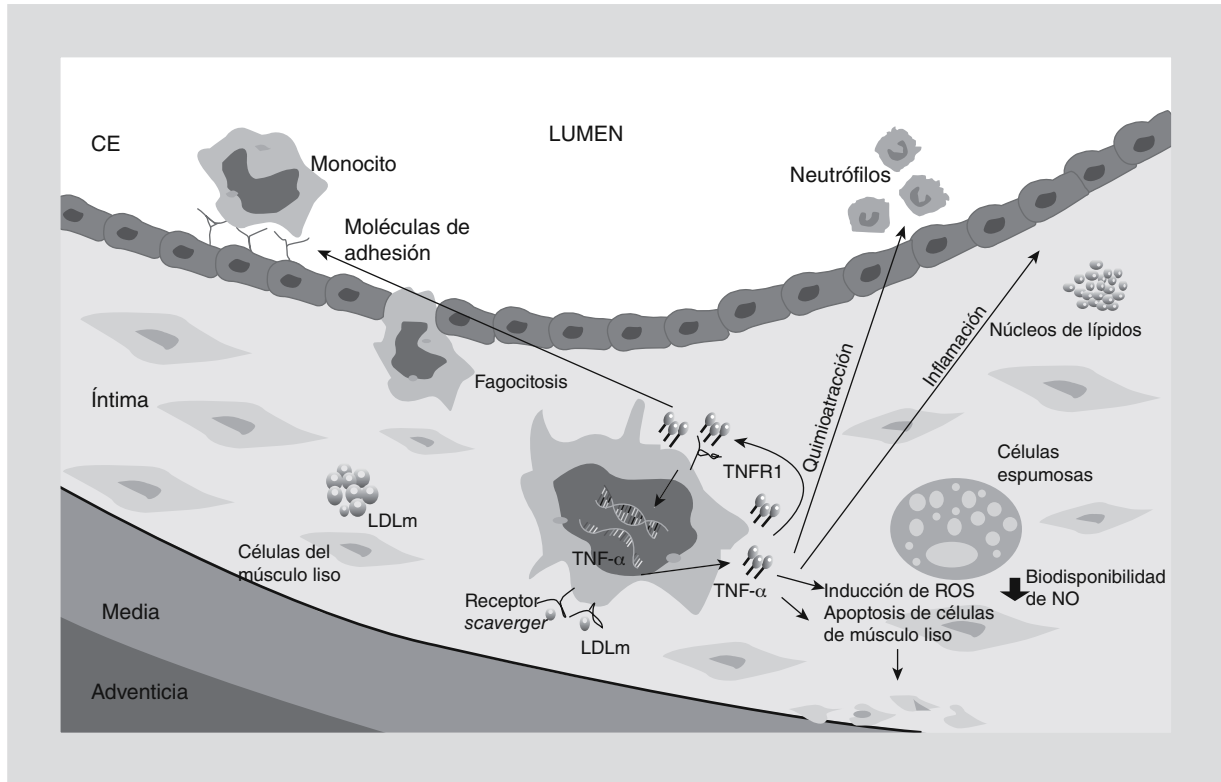


Figura 3. Papel del TNF- α en la formación y ruptura de la placa aterosclerótica. El TNF- α está implicado en la inducción de ROS, los cuales pueden modificar las LDL. Estas lipoproteínas pueden inducir al TNF- α e iniciar los procesos inflamatorios, de formación y ruptura de las placas ateroscleróticas.

hiperlipidemia se ha reportado una correlación entre niveles altos de TNF- α -LDL-colesterol, y negativamente con los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL)³⁹.

El TNF- α en las enfermedades cardiovasculares complejas

A continuación se mencionan algunos ejemplos en los cuales el TNF- α ejerce una influencia importante en el desarrollo de diversas enfermedades cardiovasculares multifactoriales (enfermedades influenciadas tanto por factores genéticos como ambientales), como la EAC y la reestenosis coronaria, concretamente en la susceptibilidad, gravedad y respuesta a tratamiento, etc⁴⁰.

TNF- α , aterosclerosis y EAC

La EAC causada por aterosclerosis representa la enfermedad cardiovascular más común y la primera causa de morbilidad en el mundo^{41,42}. Datos publicados por la OMS muestran que esta enfermedad multifactorial seguirá siendo la principal causa de morbilidad en un futuro⁴¹. Se ha observado que el

TNF- α juega un papel fundamental en la patogénesis, inicio, progresión, susceptibilidad y gravedad de la aterosclerosis y la EAC⁴³⁻⁴⁷. En las placas de la arteria coronaria, el TNF- α provoca daño e inestabilidad⁴⁸. Se ha visto que el TNF- α , además de ser una de las principales citocinas involucradas en las reacciones inflamatorias de la aterosclerosis, juega un papel fundamental como predictor de muerte en la EAC (Tabla 1)⁴⁹. Un estudio mostró una correlación entre altos niveles de TNF- α en suero y gravedad de la EAC (los altos niveles de esta citocina se asociaron con el número de vasos obstruidos y con la puntuación de gravedad de Gensini, prueba que evalúa la proximidad y gravedad de las lesiones)⁴⁴. Por otro lado, niveles elevados de TNF- α en plasma correlacionan con el deterioro de la función cardíaca y renal en pacientes con EAC⁵⁰. Algunos estudios genéticos han mostrado diversos SNP del gen *TNF- α* asociados con EAC o con otras comorbilidades que acompañan a la EAC, tales como la diabetes o la obesidad^{46,51-53}. Sin embargo, otros estudios han fallado en replicar estas asociaciones entre polimorfismos de *TNF- α* y EAC^{49,54,55}. Dos metaanálisis mostraron el efecto del polimorfismo -308G/A de *TNF- α* en la EAC; los resultados no muestran

una asociación con susceptibilidad a desarrollar esta enfermedad multifactorial^{56,57}. Ambos metaanálisis muestran claramente diversos polimorfismos no asociados con susceptibilidad a desarrollar EAC.

El TNF- α en el síndrome coronario agudo (SCA)

El SCA se caracteriza por un espectro de enfermedades arteriales que incluyen la AI y el IAM con o sin elevación del segmento ST en un electrocardiograma⁵⁸. En 1997, EE.UU. registró una mortalidad de AI e IAM sin elevación del segmento ST de 1,420,000. Cada año este mismo país presenta cerca de 1,100,000 pacientes con IAM, de los cuales aproximadamente 550,000 sobreviven hasta la hospitalización¹. En el SCA, los procesos oxidativos desregulados, la inflamación y la trombosis, entre otros, son factores determinantes para desarrollar este síndrome. Además de promover fuertemente la inflamación y la trombosis, se ha encontrado que niveles elevados de TNF- α contribuyen a una mayor actividad de la metaloproteasa de matriz 2 (MMP2), a la degradación del colágeno, a la apoptosis de los cardiomiocitos y a la disfunción crónica del ventrículo izquierdo después de un IAM⁵⁹⁻⁶¹. Algunos estudios han mostrado que altas concentraciones de TNF- α en plasma predicen daño vascular, asociándose con aterosclerosis temprana en varones jóvenes sanos. Se ha encontrado también que la elevación de esta citocina en la fase estable después de un IAM está asociada con un mayor riesgo de eventos coronarios recurrentes y como predictor de mortalidad (Tabla 1)⁶⁰⁻⁶². Otro estudio mostró una correlación entre apoptosis y niveles elevados de TNF- α en suero de pacientes con IAM⁶³. Esta información muestra la importancia del TNF- α en pacientes con IAM con o sin elevación del segmento ST^{64,65}. Por otro lado, un estudio ha mostrado el papel que juega el TNF- α en la AI, encontrándose un mayor nivel de esta citocina en la fase temprana de esta enfermedad⁶⁶. Todos estos datos sugieren que el TNF- α juega un papel importante en la fisiopatología del SCA. Diversos estudios epidemiológicos muestran una asociación entre el polimorfismo -308G/A del gen *TNF- α* e IAM y AI, mientras que otros tantos refutan estos resultados⁶⁷⁻⁷³. Finalmente, un metaanálisis no mostró al polimorfismo -308G/A de *TNF- α* asociado con riesgo a desarrollar IAM en caucásicos y asiáticos⁵⁷. Por otro lado, diversos estudios genéticos muestran al polimorfismo -308G/A del gen *TNF- α* asociado con riesgo a desarrollar AI^{74,75}. Un estudio en población china mostró al

polimorfismo -1031T/C de *TNF- α* asociado con AI de manera dependiente del género⁷⁵.

Papel del TNF- α en la reestenosis coronaria

La estenosis es definida como el estrechamiento de un orificio o conducto corporal. Pacientes que presentan una intervención coronaria requieren diversos tratamientos; uno que ha dado excelentes resultados es la implantación de un *stent* intracoronario⁷⁶. Se ha observado que pacientes tratados con un diferentes tipos de *stent* después de una angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) reducen significativamente la reestenosis, cuando se compara solo con angioplastia^{76,77}. A pesar de estos resultados, ha sido documentado que un 12-30% de los pacientes tratados con un *stent* coronario desarrollan reestenosis coronaria, la cual se caracteriza por inflamación aguda, formación temprana de trombos e hiperplasia neointima (síntesis de matriz extracelular y proliferación de células del músculo liso)^{78,79}. En los últimos años, se ha establecido el papel de la inflamación en la proliferación neointima y reestenosis después de la implantación de un *stent* coronario⁷⁹. Debido a que el TNF- α juega un papel clave en la inflamación, inicio, desarrollo, formación y ruptura de las placas ateroscleróticas, esta ha sido evaluada en el suero o plasma de pacientes que han presentado AI después de que se les implantara un *stent*, y los resultados muestran mayores niveles de esta citocina después del implante del *stent*^{80,81}. Un estudio mostró altos niveles de TNF- α en pacientes con reestenosis después de la implantación de un *stent* cuando se compararon con pacientes que presentaron angina estable e inestable (Tabla 1)⁸². Otro estudio realizado en pacientes con AI sometidos a intervención coronaria percutánea mostró que, dependiendo del *stent* liberador de fármacos (SLF), el TNF- α se encuentra en mayores niveles de expresión en plasma⁸³. Este estudio mostró que los pacientes con *stent* liberador de sirolimus presentan mayores niveles de TNF- α , respecto a los *stents* liberadores de dexametasona y los de metal (SM)⁸³. Otro estudio mostró que una intervención coronaria percutánea con un SLF y con tratamiento farmacológico convencional no disminuye los niveles de TNF- α después de 12 semanas de tratamiento⁸⁴. Finalmente, se han reportado niveles normales de TNF- α después de nueve meses en individuos sin reestenosis con implantación de un SLF o SM⁸⁵. Es necesario realizar otros estudios para confirmar o rechazar el papel de TNF- α y su valor

pronóstico en la reestenosis coronaria después del implante de SLF o SM. Pocos estudios genéticos han sido descritos en reestenosis coronaria; uno de ellos mostró el efecto del haplotipo GT formado por los alelos de los SNP -238G/A y -1031T/C de *TNF- α* en el riesgo clínico y angiográfico de desarrollar reestenosis, y mostró que los ratones *knockout* para *TNF- α* (*ApoE*3-LeidenTNF- α ^{-/-}*) y los tratados localmente con talidomina redujeron la reestenosis reactiva⁸⁶. Estudios realizados en otras poblaciones han fallado en replicar este hallazgo⁸⁷⁻⁸⁹. Es necesario realizar otros estudios en pacientes con reestenosis coronaria después de la implantación de SLF o SM en otras poblaciones para determinar el papel de los polimorfismos de *TNF- α* en la susceptibilidad o gravedad de esta enfermedad.

Terapias anti-TNF- α en la EAC

Los antagonistas del *TNF- α* , tales como etanercept, infliximab y adalimumab, se han empleado con una marcada eficacia y seguridad en pacientes que presentan AR y AR juvenil^{90,91}. Sin embargo, no hay estudios en donde se evalúe este tipo de terapia en pacientes con EAC. Algunos estudios realizados en pacientes con AR con este tipo de terapia han mostrado una reducción en el riesgo de desarrollo de IAM⁹²⁻⁹⁴. Un reciente estudio mostró que pacientes con AR de inicio temprano que reciben esta terapia reducen el riesgo de SCA⁹⁴. Sin embargo, un estudio mostró el desarrollo de SCA en un paciente con enfermedad de Crohn tratado con infliximab⁹⁵. Estos resultados sugieren la utilidad de esta terapia en pacientes con EAC; sin embargo, su prácticamente desconocido modo de acción *in vivo* ha limitado su uso terapéutico. Es necesario realizar estudios en la EAC para determinar su seguridad, eficacia y posible aplicación en este tipo de enfermedades cardiovasculares, las cuales usualmente son fatales.

Conclusiones

El *TNF- α* , por sus múltiples funciones biológicas, es la principal citocina proinflamatoria involucrada en la inmunopatogénesis de diversas enfermedades cardiovasculares. El conocimiento originado de la biología molecular y genética del efecto biológico normal/anormal del *TNF- α* ha permitido comprender mejor el papel de esta citocina en los diversos estados del desarrollo de las placas ateroscleróticas. En condiciones anormales, el *TNF- α* influye en una gran variedad de efectos adversos en las células del organismo y el endotelio, y

hasta hoy no se conoce completamente cómo esta citocina promueve el desarrollo de la EAC. Además, se requiere un número mayor de estudios para determinar si el *TNF- α* es verdaderamente un predictor de futuros eventos de mortalidad relacionados con la EAC. En la reestenosis coronaria después del implante de un SLF o SM su papel es aún menos claro, ya que, aunque los diferentes estudios han mostrado la importancia del *TNF- α* , otras citocinas son mejores marcadores para predecir el desarrollo de reestenosis coronaria. Se necesitan otros estudios para evaluar el efecto de la terapia anti-*TNF- α* en la EAC; de esta manera, se podrá concluir si esta tendrá utilidad en la práctica clínica.

Bibliografía

- Braunwald E, Animan EM, Beasley JW, et al. ACC/AHA guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction -2002: summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *Circulation*. 2002;106:1893-900.
- Linde A, Mosier D, Blecha F, Melgarejo T. Innate immunity and inflammation-New frontiers in comparative cardiovascular pathology. *Cardiovascular Res*. 2007;73:26-36.
- Nathan C. Epidemic inflammation: pondering obesity. *Mol Med*. 2008;14:485-92.
- Fragoso-Lona JM, Ramírez Bello J, Cruz-Robles D, Pérez-Méndez O, de la Peña A, Vargas-Alarcón G. Pro-inflammatory and anti-inflammatory markers in coronary artery disease and acute ischemic coronary syndrome. *Arch Cardiol Mex*. 2009;79:54-62.
- Scriver R, Vasile M, Bartosiewicz I, Valesini G. Inflammation as «common soil» of the multifactorial diseases. *Autoimmun Rev*. 2011;10:369-74.
- Bultink IE, Vis M, van der Horst-Bruinsma IE, Lems WF. Inflammatory rheumatoid disorders and bone. *Curr Rheumatol Rep*. 2012;14:224-30.
- McKellar GE, McCarey DW, Sattar N, McInnes IB. Role for TNF in atherosclerosis? Lessons from autoimmune disease. *Nat Rev Cardiol*. 2009;6:410-7.
- Zhang H, Park Y, Wu J, et al. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. *Clin Sci (Lond)*. 2009;116:219-30.
- Aggarwal BB, Gupta SC, Kim JH. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood*. 2012;119:651-65.
- Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, et al. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res*. 1985;13:6361-73.
- Wang Q. Advances in the genetic basis of coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2005;7:235-41.
- Zintzaras E, Kitsios G, Kent D, et al. Genome-wide scan meta-analysis for pulse pressure. *Hypertension*. 2007;50:557-64.
- Holliday EG, Maguire JM, Evans TJ, et al. Common variants at 6p21.1 are associated with large artery atherosclerotic stroke. *Nat Genet*. 2012;44:1147-51.
- [Internet] Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?chooseRs=all&go=Go&locusId=7124
- Ramírez-Bello J, Vargas-Alarcón G, Tovilla Zárate C, Fragoso JM. Implicaciones funcionales de los polimorfismos de un sólo nucleótido-reguladores (rSNPs) y RNA estructurales (srSNPs) en enfermedades complejas. *Gac Med Mex*. 2013;2:220-8.
- Sadee W, Wang D, Papp AC, Pinsonneault JK, et al. Pharmacogenomics of the RNA world: structural RNA polymorphisms in drug therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;89:355-65.
- Ramírez Bello J, Pérez Méndez O, Ramírez Fuentes S, Carrillo Sánchez S, Vargas Alarcón G, Fragoso JM. Genetic and genomic studies in the hipertensión: an actualization of the genomic studies. *Arch Cardiol Mex*. 2011;81:240-50.
- Brinkman BM, Zuijdeest D, Kaijzel EL, Breedveld FC, Verweij CL. Relevance of the tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) -308 promoter promoter polymorphism in TNF alpha gene regulation. *J Inflamm*. 1995;46:32-41.
- Hohioh H, Tokunaga K. Allele-specific binding of the ubiquitous transcription factor OCT-1 to the functional single nucleotide polymorphism

- (SNP) sites in the tumor necrosis factor alpha gene (TNFA) promoter. *Genes Immun.* 2001;2:105-9.
20. Knight JC, Udalova I, Hill AV, et al. A polymorphism that affects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with severe malaria. *Nat Genet.* 1999;22:145-50.
 21. 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;94:3195-9.
 22. Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S, Tsukamoto H, Shimoda T. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology (Oxford).* 2010;49:1215-28.
 23. Goz M. ADAM-17: the enzyme that does it all. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2010;45:146-69.
 24. Parameswaran N, Patil S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryo Gene Expr.* 2010;20:87-103.
 25. Thomas PS. Tumor necrosis factor-alpha: the role of this multifactorial cytokine in asthma. *Immunol Cell Biol.* 2001;79:132-40.
 26. McKellar GE, McCarey DW, Sattar N, McInnes IB. Roles for TNF in atherosclerosis? Lessons from autoimmune disease. *Nat Rev Cardiol.* 2009;6:410-7.
 27. Wajant H, Pflizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ.* 2003;10:45-65.
 28. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science* 2002; 296: 1634-5.
 29. MacNaul KL, Hutchinson NI. Differential expression of iNOS and cNOS mRNA in human vascular smooth muscle cells and endothelial cells under normal and inflammatory conditions. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993;196:1330-4.
 30. Goodwin BL, Pendleton LC, Levy MM, Solomonson LP, Eichler DC. Tumor necrosis factor-alpha reduces argininosuccinate synthase expression and nitric oxide production in aortic endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H1115-21.
 31. Seidel M, Billert H, Kurpisz M. Regulation of eNOS expression in HCAEC cell line treated with opioids and proinflammatory cytokines. *Kardiol Pol.* 2006;64:153-8.
 32. Picchi A, Gao X, Belmadani S, et al. Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ Res.* 2006;99:69-77.
 33. Martens FM, Rabelink TJ, op 't Roodt J, de Koning EJ, Visseren FL. TNF-alpha induces endothelial dysfunction in diabetic adults, an effect reversible by the PPAR-gamma agonist pioglitazone. *Eur Heart J.* 2006;27:1605-9.
 34. De Martin R, Hoeth M, Hofer-Warbinek R, Schmid JA. The transcription factor NF-kappa B and the regulation of vascular cell function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:E83-8.
 35. Shi GP. Immunomodulation of vascular diseases: atherosclerosis and autoimmunity. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010;39:485-94.
 36. Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Ann Rev Immunol.* 2009;27:165-97.
 37. Surmi BK, Hasty AH. The role of chemokines in recruitment of immune cells to the artery wall and adipose tissue. *Vasc Pharmacol.* 2010;52:27-36.
 38. Zernecke A, Weber C. Chemokines in the vascular inflammatory response of atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 2010;86:192-201.
 39. Jovinge S, Hamsten A, Tornvall P, et al. Evidence for a role of tumor necrosis factor alpha in disturbances of triglyceride and glucose metabolism predisposing to coronary heart disease. *1998;47:113-8.*
 40. Vargas Alarcón G, Martínez Ríos MA, Peña Duque MA, et al. The MHC-2TA 1614 C>G polymorphism is associated with risk of developing acute coronary syndrome. *Mol Immunol.* 2013;55:424-8.
 41. Delgado H, Vargas Alarcón G, Gómez Monterrosas O, et al. The MHC2TA gene polymorphisms are not associated with restenosis after coronary stenting in Mexican patients. *Arch Cardiol Mex.* 2012;82:208-13.
 42. Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med.* 2011;17:1410-22.
 43. Kleinbongard P, Heusch G, Schulz R. TNF alpha in atherosclerosis, myocardial ischemia/reperfusion and heart failure. *Pharmacol Ther.* 2010;127:295-314.
 44. Gotsman I, Stabholz A, Planer D, et al. Serum cytokine tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 associated with the severity of coronary artery disease: indicators of an active inflammatory burden? *Isr Med Assoc J.* 2008;10:494-8.
 45. Zhou Y, Wei Y, Wang L, et al. Decreased adiponectin and increased inflammation expression in epicardial adipose tissue in coronary artery disease. *Cardiovasc Diabetol.* 2011;10:2.
 46. Cho HC, Yu G, Lee MY, Kim HS, Shin DH, Kim YN. TNF- α polymorphisms and coronary artery disease: association study in the Korean population. *Cytokine.* 2013;62:104-9.
 47. Giacconi R, Cipriano C, Muti E, et al. Involvement of -308 TNF-alpha and 1267 Hsp70-2 polymorphisms and zinc status in the susceptibility of coronary artery disease (CAD) in old patients. *Biogerontology.* 2006;7:347-56.
 48. Luo JG. Relationship between serum IL-8 hsCRP, TNF- α and coronary lesions in CHD patients. *Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi Xi.* 2010;26:789-91.
 49. Morange PE, Tregouet DA, Godefroy T, et al. Polymorphisms of the tumor necrosis factor-alpha (TNF) and the TNF-alpha converting enzyme (TACE/ADAM17) genes in relation to cardiovascular mortality: the AtheroGene study. *J Mol Med (Berl).* 2008;86:1153-61.
 50. Safranow K, Dziedziejko V, Rzeuski R, et al. Plasma concentrations of TNF-alpha and its soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 in patients with coronary artery disease. *Tissue Antigens.* 2009;74:386-92.
 51. Sbarsi I, Falcone C, Boiocchi C, et al. Inflammation and atherosclerosis: the role of TNF and TNF receptors polymorphisms in coronary artery disease. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2007;20:145-54.
 52. Sobti RC, Kler R, Sharma YP, Talwar KK, Singh N. Risk of obesity and type 2 diabetes with tumor necrosis factor- α 308G/A gene polymorphism in metabolic syndrome and coronary artery disease subjects. *Mol Cell Biochem.* 2012;360:1-7.
 53. Ghazouani L, Ben Hadj Khalifa S, Abboud N, et al. TNF-alpha -308G>A and IL-6 -174G>C polymorphisms in Tunisian patients with coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2010;43:1085-9.
 54. Ghazouani L, Khalifa SB, Abboud N, et al. -308G>A and -1031T>C tumor necrosis factor gene polymorphisms in Tunisian patients with coronary artery disease. *Clin Chem Lab Med.* 2009;47:1247-51.
 55. Hou L, Huang J, Lu X, Wang L, Fan Z, Gu D. Polymorphisms of tumor necrosis factor alpha gene and coronary heart disease in a Chinese Han population: interaction with cigarette smoking. *Thromb Res.* 2009;123:822-6.
 56. Zhang HF, Xie SL, Wang JF, Chen YX, Wang Y, Huang TC. Tumor necrosis factor-alpha G-308A gene polymorphism and coronary heart disease susceptibility: an update meta-analysis. *Thromb Res.* 2011;127:400-5.
 57. Chu H, Yang J, Mi S, et al. Tumor necrosis factor-alpha G-308 A polymorphism and risk of coronary heart disease and myocardial infarction: A case-control study and meta-analysis. *J Cardiovasc Dis Res.* 2012;3:84-90.
 58. Vargas Alarcón G, Frago JM, Delgado H. Acute coronary syndrome. Physiopathology and genetics. *Rev Invest Clin.* 2011;63:64-74.
 59. Schulz R, Heusch G. Tumor necrosis factor-alpha and its receptors 1 and 2: Yin and Yang in myocardial infarction? *Circulation.* 2009;119:1355-7.
 60. Schulz R, Aker S, Belosjorow S, Heusch G. TNFalpha in ischemia/reperfusion injury and heart failure. *Basic Res Cardiol.* 2004;99:8-11.
 61. González M, Ruiz Ros JA, Pérez Paredes M, et al. Prognostic value of tumor necrosis factor-alpha in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60:1233-41.
 62. Anfosso G, Russo I, Doronzo G, Pomeroy A, Trovati M. Adipocytokines in atherothrombosis: focus on platelets and vascular smooth muscle cells. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:174341.
 63. Mielczarek-Palacz A, Sikora J, Kondera-Anasz Z, Smcz M. Changes in concentrations of tumor necrosis factor TNF and its soluble receptor type 1 (sTNF-r1) and type 2 (sTNFR-R2) in serum of patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Wiad Lek.* 2011;64:71-4.
 64. Kehmeier ES, Lepper W, Kropp M, et al. TNF- α , myocardial perfusion and function in patients with ST-segment elevation myocardial infarction and primary percutaneous coronary intervention. *Clin Res Cardiol.* 2012;101:815-27.
 65. Correia LC, Andrade BB, Borges VM, et al. Prognostic value of cytokines and chemokines in addition to the GRACE Score in non-ST-elevation acute coronary syndromes. *Clin Chim Acta.* 2010;411:540-2.
 66. Ozeren A, Aydin M, Tokac M, et al. Levels of serum IL-1beta, IL-2, IL-8 and tumor necrosis factor-alpha in patients with unstable angina pectoris. *Mediators Inflamm.* 2003;12:361-5.
 67. Koch W, Kastrati A, Böttiger C, Mehilli J, von Beckerath N, Schömig A. Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis.* 2001;159:137-44.
 68. Antonicelli R, Olivieri F, Cavallone L, et al. Tumor necrosis factor-alpha gene -308G>A polymorphism is associated with ST-elevation myocardial infarction and with high plasma levels of biochemical ischemia markers. *Coron Artery Dis.* 2005;16:489-93.
 69. Chang WT, Wang YC, Chen CC, et al. The -308G/A of tumor necrosis factor (TNF)- α and 825C/T of guanine Nucleotide Binding Protein 3 (GNB3) are associated with onset of acute myocardial infarction and obesity in Taiwan. *Int J Mol Sci.* 2012;13:1846-57.
 70. Vaccarino L, Vitale S, Caruso M, et al. Myocardial infarction marker levels are influenced by prothrombin and tumor necrosis factor- α gene polymorphisms in young patients. *Cytokine.* 2013;61:218-22.
 71. Zeybek U, Toptas B, Karaali ZE, Kendir M, Cakmakoglu B. Effect of TNF- α and IL-1 β genetic variants on the development of myocardial infarction in Turkish population. *Mol Biol Rep.* 2011;38:5453-7.
 72. 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 Re.* 2011;38:4971-7.

73. Shevchenko AV, Golovanova OV, Konenkov VI, et al. Analysis of polymorphism of three positions of promoter region of TNF-gene in patients with ischemic heart disease, unstable angina and myocardial infarction. *Kardiologija*. 2010;50:9-14.
74. Bernard V, Pillois X, Dubus I, et al. The -308G/A tumor necrosis factor-alpha gene dimorphism: a risk factor for unstable angina. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41:511-6.
75. Liu Y, Jin W, Lu L, Chen QJ, Shen WF. Association between the -1031T/C polymorphism in tumor necrosis factor-alpha gene and unstable angina. *Zhonghua Yi Xue Yi Xue Za Zhi*. 2009;26:571-4.
76. King SB 3rd. Applying drug-eluting stents in clinical practice. *Am J Cardiol*. 2007;100:25K-31K.
77. Gonzalo N, Macava C. Absorbable stent: focus on clinical applications and benefits. *Vasc Health Risk Manag*. 2012;8:125-32.
78. Delgadillo H, Vargas Alarcón G, Gómez Monterrosas O, et al. The MHC2TA gene polymorphisms are not associated with restenosis after coronary stenting in Mexican patients. *Arch Cardiol Mex*. 2012;82:208-13.
79. Li JJ. Inflammation in coronary artery diseases. *Chin Med J (Engl)*. 2011;124:3568-75.
80. Sánchez Margalet V, Cubero JM, Martín Romero C, Cubero J, Cruz Fernández JM, Goberna R. Inflammatory response to coronary stent implantation in patients with unstable angina. *Clin Chem Lab Med*. 2002;40:769-74.
81. Caixeta AM, Brito FS Jr, Costa MA, Serrano CV Jr, Petriz JL, Da Luz PL. Enhanced inflammatory response to coronary stenting marks the development of clinically relevant restenosis. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2007;69:500-7.
82. Kozinski M, Krzewina-Kowalska A, Kubica J, et al. Percutaneous coronary intervention triggers a systemic inflammatory response in patients treated for in-stent restenosis—comparison with stable and unstable angina. *Inflamm Res*. 2005;54:187-93.
83. Ozer N, Tangurek B, Firat F, et al. Effects of drug-eluting stents on systemic inflammatory response in patients with unstable angina pectoris undergoing percutaneous coronary intervention. *Heart Vessels*. 2008;23:75-82.
84. Wu Y, Zhang W, Liu W, Zhuo X, Zhao Z, Yuan Z. The double-faced metabolic and inflammatory effects of standard drug therapy in patients after percutaneous treatment with drug-eluting stent. *Atherosclerosis*. 2011;215:170-5.
85. Taguchi I, Yoneda S, Abe S, et al. The late-phase inflammatory response after drug-eluting stent implantation. *Heart Vessels*. 2013. [Epub ahead of print]
86. Monraats PS, Pires NM, Schepers A, et al. Tumor necrosis factor-alpha plays an important role in restenosis development. *FASEB J*. 2005;19:1998-2004.
87. Koch W, Kastrali A, Böttinger C, Mehili J, von Beckerath N, Schömig A. Interleukin-10 and tumor necrosis factor gene polymorphisms and risk of coronary artery disease and myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2001;159:137-44.
88. Koch W, Tiroch K, von Beckerath N, Schömig A, Kastrati A. Tumor necrosis factor-alpha, lymphotoxin-alpha, and interleukin-10 gene polymorphisms and restenosis after coronary artery stenting. *Cytokine*. 2003;24:161-71.
89. Völzke H, Grimm R, Robinson DM, et al. Candidate genetic markers and the risk of restenosis after coronary angioplasty. *Clin Sci (Lond)*. 2004;106:35-42.
90. Zeng Z, Duan Z, Zhang T, et al. Association between tumor necrosis factor- α (TNF- α) promoter -308G/A and response to TNF- α blockers in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Mod Rheumatol*. 2013;23:489-95.
91. O'Rielly DD, Roslin NM, Beyene J, Pope A, Rahman P. TNF-alpha-308G/A polymorphism and responsiveness to TNF-alpha blockade therapy in moderate to severe rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenomics J*. 2009;9:161-7.
92. Dixon WG, Watson KD, Lunt M, Hyrich LK. Reduction in the incidence of myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis who respond to anti-tumor necrosis factor-therapy. *Arthritis Rheum*. 2007;56:2905-12.
93. Barnabe C, Martin BJ, Ghali WA. Systematic review and meta-analysis: anti-tumor necrosis factor- α therapy and cardiovascular events in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63:522-9.
94. Ljung L, Simard JF, Jacobsson L, Rantapää-Dahlqvist S, Askling J. Treatment with tumor necrosis factor inhibitors and the risk of acute coronary syndromes in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64:42-52.
95. Panteris V, Perdiou A, Tsirimpis V, Karamanolis DG. Acute coronary syndrome after infliximab therapy in a patient with Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. 2006;12:6235-8.