

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

José Manuel Fragoso¹, Gilberto Vargas Alarcón^{1,2}, Silvia Jiménez Morales³, Octavio Daniel Reyes Hernández⁴ y Julián Ramírez Bello^{5*}

¹Departamento de Biología Molecular, Instituto Nacional de Cardiología, México, D.F.; ²Subdirección de Investigación Básica y Tecnológica, Instituto Nacional de Cardiología, México, D.F.; ³Laboratorio de Inmunogenómica y Enfermedades Metabólicas, Instituto Nacional de Medicina Genómica, México, D.F.; ⁴Laboratorio de Genética y Diagnóstico Molecular, Unidad de Investigación, Hospital Juárez de México, México, D.F.; ⁵Laboratorio de Medicina Genómica, Unidad de Investigación, Hospital Juárez de México, México, D.F.

Resumen

Las enfermedades autoinmunes (EA) afectan aproximadamente al 5-8% de los individuos que viven en EE.UU., y representan un serio problema de salud pública a nivel global. Las EA crónicas se caracterizan por la pérdida de la tolerancia inmunológica a antígenos propios. Las consecuencias clínicas pueden ser desde leves hasta muy graves, llegando a afectar a uno o varios órganos blanco. Cinco de las EA más comunes son la artritis reumatoide (AR), el lupus eritematoso sistémico (LES), la enfermedad de Graves (EG), la diabetes mellitus de tipo 1 (DMt1) y la esclerosis múltiple (EM). Diversos estudios han documentado que el gen TNF- α y su producto proteico, el TNF- α (una potente citocina pleiotrópica con múltiples funciones celulares), juegan un papel fundamental en el inicio, desarrollo, susceptibilidad, gravedad y respuesta al tratamiento en diversas EA. El uso de terapias con anticuerpos monoclonales dirigidos contra el TNF- α ha dado resultados muy alentadores en AR y artritis reumatoide juvenil (ARJ), no así en LES o EM. Esta revisión presenta el papel biológico que juega el TNF- α en condiciones normales y patológicas (inicio, progresión, susceptibilidad, gravedad y respuesta al tratamiento) en la AR, el LES, la EG, la DMt1 y la EM.

PALABRAS CLAVE: Factor de necrosis tumoral α . Enfermedades autoinmunes. Autoinmunidad.

Abstract

It has been estimated that autoimmune diseases (AIDs) affect 5-8% of the US population. AIDs are a serious public health problem worldwide. These diseases are chronic conditions initiated by the loss of immunological tolerance to self-antigens. AIDs cause various clinical consequences ranging from mild to severe, affecting one or more target organs and repeatedly causing the patient's death. Five of the most common AIDs are rheumatoid arthritis (RA), systemic lupus erythematosus (SLE), Graves' disease (GD), insulin-dependent diabetes mellitus or type I (T1DM), and multiple sclerosis (MS). The TNF- α gene and its protein product, the cytokine TNF- α , play an important role in the pathogenesis of EAs. The anti-TNF- α therapies using monoclonal antibodies directed against TNF- α have shown good results in diseases such as RA, JRA, but not in other EA such as SLE and MS. This review focuses on presenting to the reader the biological role of TNF- α under normal conditions and the initiation, development, susceptibility, severity, and treatment response of the most common AIDs. (Gac Med Mex. 2014;150:334-44)

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

KEY WORDS: Tumor necrosis factor-alpha. Autoimmune disease. Autoimmunity.

Correspondencia:

*Julián Ramírez Bello
Laboratorio de Medicina Genómica
Unidad de Investigación
Hospital Juárez de México
Av. Politécnico Nacional, 5160
Del. Gustavo A. Madero, C.P. 07760, México, D. F.
E-mail: dr.julian.ramirez.inv@gmail.com

Fecha de recepción en versión modificada: 29-06-2013
Fecha de aceptación: 22-01-2014

Introducción

En los últimos años, la incidencia de las enfermedades autoinmunes (EA) se ha incrementado significativamente. Este grupo de enfermedades complejas afecta aproximadamente al 4-5% de la población que vive en EE.UU.¹. Las EA representan un grupo heterogéneo de enfermedades crónicas caracterizadas por la pérdida de tolerancia inmunológica a antígenos propios, y pueden afectar a uno o varios tejidos, órganos y/o sistemas^{1,2}. Existe una gran variabilidad de fenotipos clínicos, que pueden ser desde leves hasta muy graves, e incluso pueden causar la muerte del individuo afectado^{1,2}. El desarrollo de estas enfermedades multifactoriales se debe a la combinación de diversos factores, entre los cuales se encuentran los genéticos, los ambientales, de género, edad, etc.^{1,2}. Hay una tendencia marcada respecto al género, y son las mujeres las que se ven principalmente afectadas¹⁻³. Cinco de las EA más comunes que se presentan en las diferentes poblaciones son la AR, el LES, la EG, la DM1 y la EM¹. La inflamación ha sido reconocida desde hace un par de décadas como la precursora de diversas EA, como la AR, la ARJ (actualmente denominada artritis idiopática juvenil [AIJ]), el LES, el lupus eritematoso sistémico pediátrico (LESp), enfermedades cardiovasculares

que incluyen la aterosclerosis, la enfermedad arterial coronaria (EAC) y el síndrome isquémico coronario agudo (SICA), y otras enfermedades como cáncer, asma y obesidad^{1,2,4-6}. Uno de los principales genes que participan en la regulación del sistema inmunológico y su producto proteico, el TNF- α , ha sido involucrado en la génesis de la inflamación y autoinmunidad a través de la expresión génica de diversos genes^{7,8}.

Locus y variabilidad genética del TNF- α

El gen *TNF- α* se localiza en el brazo corto del cromosoma 6, en la banda citogenética 6p21³. Diversos estudios genéticos han demostrado que esta región genómica está involucrada de manera importante en la patogénesis de varias EA¹⁰⁻¹³. El locus del *TNF- α* está formado por 2,76 kb e incluye su promotor, cuatro exones, tres intrones y sus regiones no traducidas 5' y 3' (5'-UTR y 3'-UTR) (Fig. 1). La región 5'-UTR está formada por aproximadamente 180 pb y la 3'-UTR, por 793 pb. De esta manera, la unión de los UTR (tanto de 5' como de 3'), más los cuatro exones, origina un transcripto maduro de 1,772 nucleótidos (Fig. 1)⁹. El *TNF- α* contiene varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) distribuidos principalmente en la región promotor: -1031T/C, -863C/A, -857C/T, -376G/A, -308G/A y -238G/A

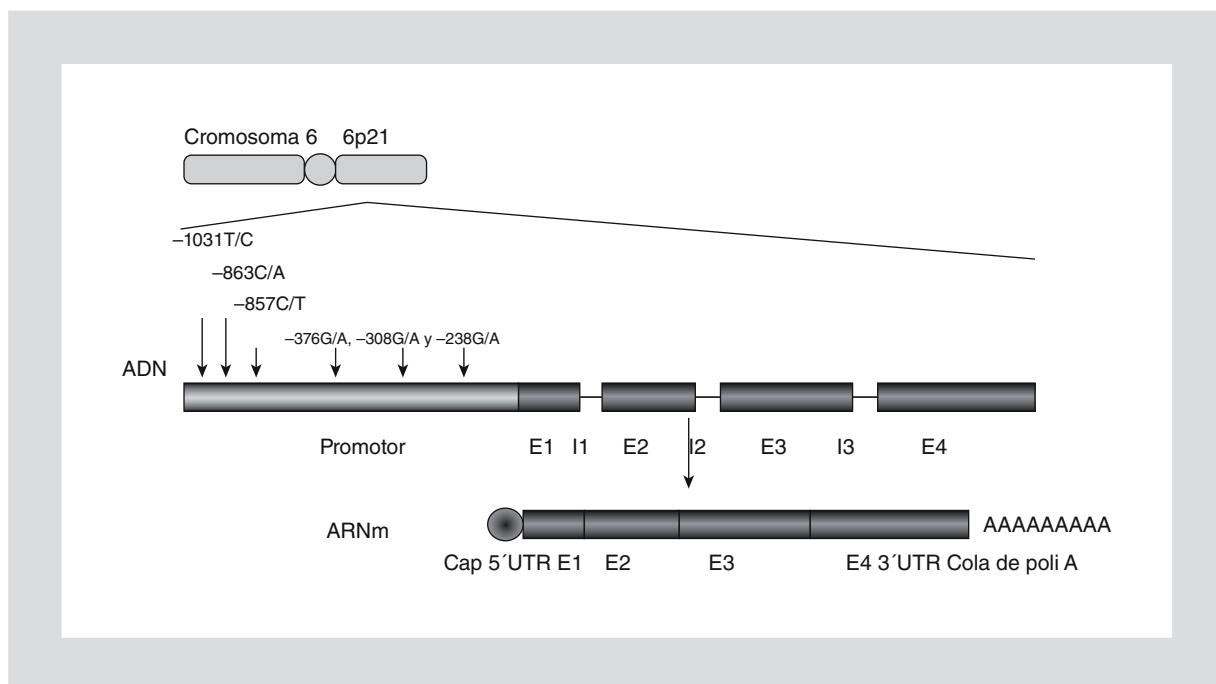


Figura 1. Localización y estructura del TNF- α . El gen TNF- α se encuentra en la región cromosómica 6p21.3; este gen está formado por su región promotor, cuatro exones y tres intrones. Diversos polimorfismos han sido descritos en su región promotor; varios de ellos son SNP funcionales, y se han asociado con EA e inflamatorias cardiovasculares. E: exón, I: intrón.

-308G/A, -244G/A y -238G/A (Fig. 1). Diversas evidencias experimentales han mostrado que los SNP -857C/T, -376G/A, -308G/A y -238G/A de *TNF-α* tienen relevancia funcional, es decir, los alelos de estos polimorfismos afectan a sus niveles de expresión génica^{8,14-16}. Por otro lado, ningún SNP ha sido descrito en las regiones 5'-UTR y 3'-UTR del *TNF-α*, y, aunque se ha descrito la presencia de algunos de ellos en los exones e intrones, ninguno es informativo (la frecuencia del alelo menos frecuente es prácticamente nula)¹⁷. Diversos SNP funcionales ubicados en el promotor de *TNF-α* han sido asociados con varias EA^{8,10,18-20}.

Estructura del *TNF-α*

El *TNF-α* es sintetizado por macrófagos, linfocitos T, células endoteliales y otras células de dos formas, una precursora, unida a membrana, y otra soluble (s*TNF-α*)²¹. La forma unida a membrana es escindida por la enzima convertidora del *TNF-α* (TACE) y da origen a la forma soluble de esta citocina²². Varias evidencias muestran que ambas formas están involucradas en la respuesta inflamatoria²³. La forma unida a membrana está formada por 233 aminoácidos (aa) y tiene un peso molecular de 26KDa, mientras que la s*TNF-α* queda constituida por 157 aa y cuenta con un peso molecular de 17 Kda; finalmente, la forma activa del *TNF-α* queda constituida por un homotrímero de 51 KDa, que puede disociarse a bajas concentraciones, perdiendo así su actividad biológica^{24,25}.

Función biológica y señalización intracelular mediada por el *TNF-α*

El *TNF-α* es una potente citocina pleiotrópica con múltiples funciones celulares; actúa de forma autocrina, paracrina y/o sistémica. Se han relacionado de manera crítica anomalías del *TNF-α* con la patogénesis de diversas enfermedades crónicas inflamatorias y EA locales o sistémicas²³. Las dos formas del *TNF-α* han sido observadas ejerciendo un papel biológico inflamatorio; la unida a membrana lo hace de manera local y depende de la interacción con otras células, mientras que la forma soluble ejerce sus funciones inflamatorias a distancia de las células que la sintetizan²³. El *TNF-α* señaliza 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)²³. Ambos receptores se expresan en prácticamente todas las células del ser humano; el TNFR1 se expresa

en las células nucleadas, mientras que el TNFR2 es altamente regulado y sólo se expresa en células del sistema inmune, endoteliales y nerviosas²³⁻²⁷. Parte de la estructura proteica del TNFR1 y el TNFR2 es compartida por ambos receptores; el TNFR1 contiene un dominio de muerte celular que media la apoptosis, mientras que el TNFR2 carece de este dominio y no puede mediar dicho fenómeno²³⁻²⁶. El TNFR1 induce la muerte celular programada a través de varias proteínas accesorias asociadas al dominio de muerte (por ejemplo, TRADD; dominio de muerte asociado al receptor de TNFR1, TRAF2; factor 2 asociado a TNFR1, y FADD; dominio de muerte asociado a Fas), las cuales finalmente promueven la vía de apoptosis mediada por caspasas^{25,26}. Además, la unión entre el *TNF-α* y el TNFR1 desencadena una señalización intracelular que termina con la activación del factor de transcripción NF-κB, el cual se encuentra en interacción con sus inhibidores en el citoplasma; una vez liberado NF-κB de sus inhibidores a través de la fosforilación mediada por varias cinasas, se transloca al núcleo celular, y expresa genes involucrados con la síntesis de proteínas relacionadas con la maduración de la respuesta inmune innata, la adaptativa, la inflamación y la autoinmunidad (Fig. 2)^{7,26,27}.

El *TNF-α* en las EA complejas

A continuación se mencionan algunos ejemplos en donde el *TNF-α* ejerce una influencia importante en el desarrollo de diversas EA complejas (Tabla 1) o multifactoriales (así denominadas porque en su desarrollo participan tanto factores genéticos como ambientales)^{8,16,28-31}.

El *TNF-α* en la AR y la ARJ

La AR y su contraparte juvenil (ARJ/AIJ) son enfermedades crónicas inflamatorias autoinmunes que se caracterizan por presentar inflamación en las articulaciones grandes y/o pequeñas, que se acompañan de destrucción articular y erosión del hueso. Ambas entidades se presentan principalmente en las mujeres, alcanzando una relación mujeres:varones de 3:³²⁻³⁵. Independientemente de si es AR o ARJ/AIJ, la inflamación de las articulaciones se debe a la presencia anormal de varias citocinas inflamatorias sintetizadas por diversos tipos celulares del sistema inmune innato y adaptativo localizados en la membrana sinovial de las articulaciones³⁴⁻³⁵. Aunque la etiología de

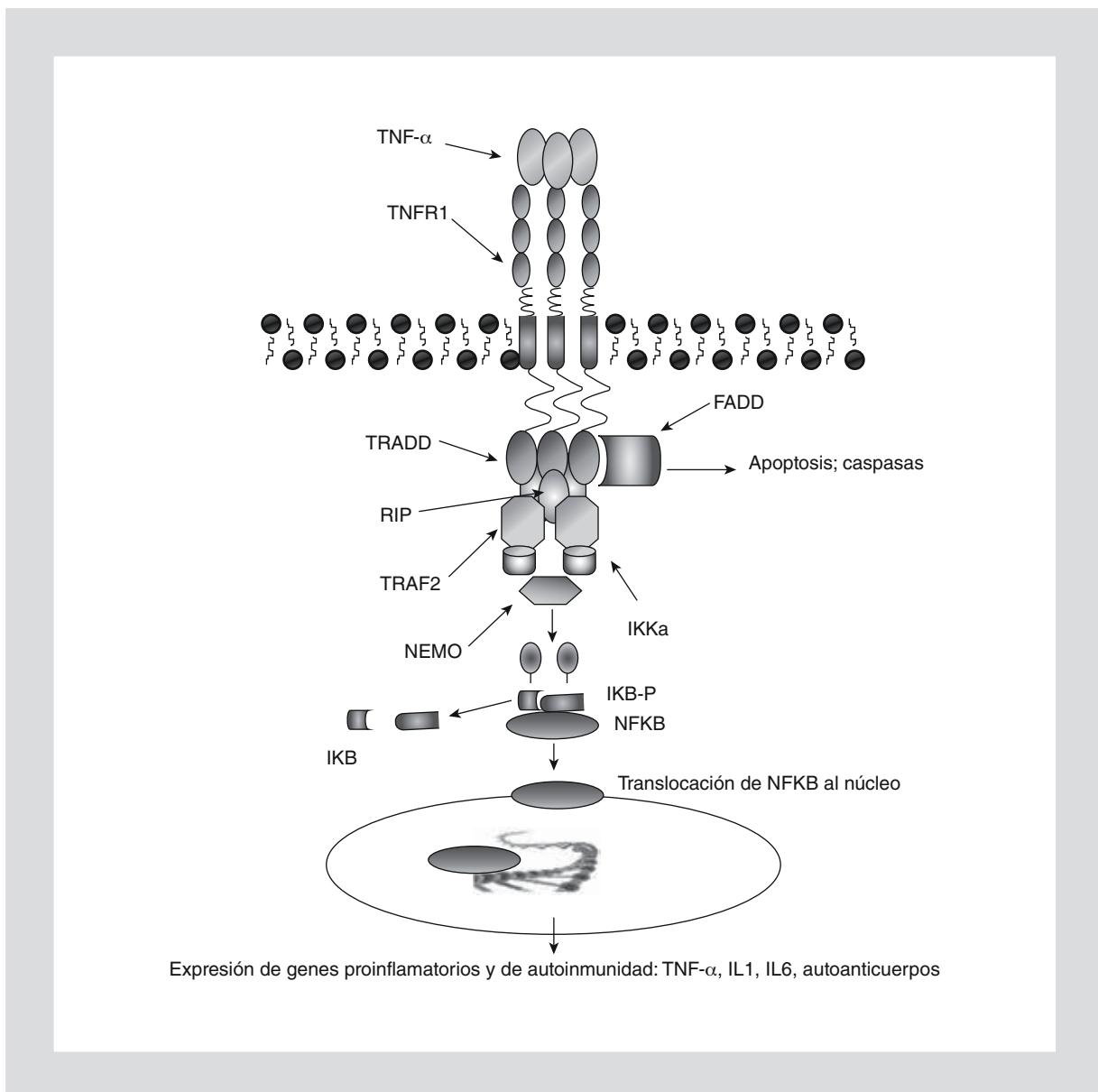


Figura 2. Vía de señalización del TNF- α . La citocina multifuncional TNF- α ejecuta diversas funciones relacionadas con la inflamación y autoinmunidad a través de sus receptores (TNFR1 o TNFR2), proteínas accesorias (proteínas asociadas a los receptores) y NF- κ B, que regula la expresión de genes involucrados en la inflamación, la apoptosis y la autoinmunidad.

ambas enfermedades no se conoce por completo, se sabe que dos de las principales citocinas, el TNF- α y la interleucina 1 (IL-1), juegan un papel crítico en el inicio, perpetuación y destrucción del tejido sinovial inflamado⁶. Está bien documentado que el TNF- α participa además en la susceptibilidad, gravedad y respuesta al tratamiento en ambas enfermedades^{8,34-40}. Las evidencias experimentales muestran que esta citocina localizada en el líquido sinovial induce, a través de dos receptores (TNFR1 y TNFR2), la expresión de genes proinflamatorios como *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*,

e incluso al mismo TNF- α . La presencia de estas citocinas en el líquido sinovial induce además la activación de los fibroblastos sinoviales, células que sintetizan y liberan metaloproteasas de matriz que destruyen el cartílago, y a los osteoclastos, células multinucleadas que erosionan el hueso y destruyen la arquitectura de las articulaciones^{34,35}. Diversos estudios han mostrado que esta citocina se encuentra en mayores cantidades en la sangre y el líquido sinovial de pacientes con AR y ARJ/AIJ que en los de individuos sanos. Esto sugiere que el TNF- α juega un papel

Tabla 1. Efecto biológico del TNF- α en cinco EA

Enfermedad	Lugar de acción	Función
AR/ARJ	Membrana sinovial	El TNF- α se ha relacionado con la activación de diversos tipos celulares del sistema inmune y no inmune en la membrana sinovial, causando inflamación articular en pacientes con AR y ARJ. El TNF- α induce, además, la síntesis de las metaloproteasas y los osteoclastos involucrados en la degradación del cartílago y la erosión del hueso, respectivamente
LES	Riñones	Se han encontrado altos niveles de TNF- α en pacientes con LES, y esto se ha relacionado con la síntesis de autoanticuerpos. El TNF- α se ha empleado también como biomarcador de la actividad y gravedad de la enfermedad
EG	Tiroídes	El TNF- α es sintetizado por células inflamatorias de la tiroídes; debido a su papel multifuncional, se sugiere que puede tener un efecto determinante en la patogénesis de esta enfermedad
DMt1	Células β pancreáticas	Se ha documentado que el TNF- α tiene un papel citotóxico, en la inducción de la apoptosis, inflamación e inhibición de la secreción de la insulina en las células β pancreáticas
EM	Astrocitos y neuronas	Se ha observado su efecto en la inflamación, desmielinización, deterioro de la barrera hematoencefálica, muerte celular y progresión de la enfermedad

importante en la patogénesis de ambas enfermedades. Por su parte, los estudios epidemiológicos muestran que el SNP –308G/A del gen *TNF- α* está asociado con susceptibilidad a AR y ARJ en diversas poblaciones, incluida la mexicana; de hecho, se ha observado que el alelo A está fuertemente asociado con susceptibilidad en mujeres con ARJ⁸. Este mismo alelo del polimorfismo –308G/A del *TNF- α* ha sido asociado con la gravedad de la AR en esta misma población³⁶. Los resultados de un metaanálisis de ambos polimorfismos (–308G/A y –238G/A) del *TNF- α* analizados en ARJ/AIJ no mostraron asociación con esta enfermedad en la población caucásica, sólo en la mexicana²⁹. Así pues, es necesario replicar la asociación genética de este polimorfismo en otro grupo de estudio con ARJ/AIJ y AR en la población mexicana, para confirmar o descartar si este alelo del polimorfismo –308G/A del *TNF- α* es determinante en la susceptibilidad y gravedad, respectivamente, en nuestra población. Diversos estudios han mostrado que la vía del TNF- α es tan importante en la AR o la ARJ que existen terapias con anticuerpos dirigidos contra esta citocina. Los datos muestran que una parte importante de pacientes con ambas enfermedades (AR/ARJ) responden bien a esta terapia. Estudios recientes de respuesta al tratamiento con este tipo de terapia toman en cuenta los genotipos del SNP funcional –308G/A del *TNF- α* en AR y ARJ³⁹⁻⁴¹. Se ha observado que los pacientes con ARJ que presentan el genotipo –308G/G de *TNF- α* responden mejor que los individuos que

tienen los genotipos G/A y A/A³⁹⁻⁴¹. Esto puede deberse a que el alelo A del SNP –308G/A del *TNF- α* se ha asociado con mayores niveles de expresión que el alelo G; de hecho, se ha observado que el alelo A aumenta varias veces la actividad transcripcional del gen *in vitro* y ha sido relacionado con niveles incrementados de *TNF- α* y con una pobre respuesta al tratamiento^{8,39-42}.

El TNF- α en el LES y LESp

El LES representa el prototipo de las EA, y se caracteriza por la pérdida de la tolerancia inmunológica, por la presencia de diversos autoanticuerpos dirigidos principalmente contra antígenos propios como el ADN de doble cadena, por la activación del complemento y los depósitos de complejos inmunes, los cuales pueden afectar a varios tejidos y órganos⁴³. Esta enfermedad se presenta en una proporción entre mujeres y varones de 9:1³². Diversas evidencias experimentales han mostrado que las citocinas juegan un papel importante en la patogénesis del LES; incluso ciertas citocinas sirven como biomarcadores para monitorear la actividad de la enfermedad y predecir la gravedad de la misma⁴⁴. El papel del TNF- α en el LES humano es controversial. Esta citocina se ha encontrado en mayores cantidades en pacientes con LES que en controles⁴⁵, hallazgo que se ha interpretado de diferentes maneras. Uno de los estudios correlaciona los niveles altos de TNF- α con la actividad de la enfermedad,

mientras que otro muestra que los mismos niveles de TNF- α no correlacionan con la actividad de la enfermedad, sino con su inactividad, teniendo de esta manera un papel protector ante el LES⁴⁶. Los resultados deben tomarse con precaución debido a los diferentes diseños o condiciones de los estudios. Por otra parte, el TNF- α , además de estar involucrado en la síntesis de otras citocinas proinflamatorias, también induce la expresión génica de moléculas de adhesión celular y de anticuerpos contra ADN de doble cadena, antinucleares y anticardiolipinas (características del LES)⁴⁵. Se ha comprobado que la síntesis local de TNF- α , a diferencia de la sistémica, ejerce un papel importante en la patogénesis del LES, especialmente en el riñón⁴⁶. Por otro lado, algunos estudios epidemiológicos han mostrado una asociación entre el LES, el LESp y el polimorfismo -308G/A del TNF- α ^{8,47}. El alelo A del SNP -308G/A mostró asociación con susceptibilidad a LESp en nuestra población; más aún, cuando se estratificó por género, este alelo mostró una fuerte asociación con susceptibilidad a LESp⁸. Por otro lado, el polimorfismo -238G/A del TNF- α también mostró asociación con LES en la población mexicana⁴⁷. Dos metaanálisis mostraron que el SNP -308G/A está asociado con LES en asiáticos, específicamente en chinos, mientras que otro metaanálisis más reciente mostró que el polimorfismo -238G/A se asocia con LES en caucásicos^{48,49}. Estos datos sugieren que, efectivamente, estos polimorfismos participan de forma importante en la susceptibilidad al desarrollo de estas enfermedades en algunas poblaciones, entre las que se incluye la mexicana.

El TNF- α y la EG

Las dos principales EA de la tiroides son la EG y la de Hashimoto. Ambas enfermedades afectan aproximadamente al 1% de la población general⁵⁰. En la EG ha sido documentada la infiltración de células B y T reactivas a la tiroides, así como la producción de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos de la tiroides; estos eventos conllevan una función anormal de la tiroides, específicamente hipertiroidismo⁵¹. La hiperactividad de la tiroides se debe a la presencia de anticuerpos estimulantes de la tiroides; actualmente se sabe que esos autoanticuerpos reconocen y activan al receptor de la hormona estimulante de la tiroides (TSHR)⁵². Está bien documentado que las células B de los centros germinales de los ganglios linfáticos experimentan hipermutación somática, aumentando así la secreción de autoanticuerpos dirigidos contra el TSHR.

Adicionalmente, las células B pueden presentar autoantígenos de la tiroides a las células T y secretar citocinas proinflamatorias⁵². Algunas citocinas proinflamatorias, tales como interleucina 2 (IL-2), interleucina 6 (IL-6), interleucina 12 (IL-12) y el TNF- α , son producidas por células inflamatorias localizadas dentro de la tiroides y por células foliculares tiroideas durante la activación de reacciones locales de inflamación y de autoinmunidad en la tiroides⁵³. A pesar de estos datos, no se conoce el efecto directo del TNF- α en la EG, aunque su presencia en pacientes con enfermedad autoinmune de tiroides y enfermedad ocular de Graves sugiere que esta importante proteína multifuncional juega un papel importante en la patogénesis de dichas enfermedades⁵⁴. Un estudio recientemente publicado mostró que tanto el TNF- α como su receptor (TNF- α /TNFR) se expresan en altos niveles en esta enfermedad en ausencia de síntomas oculares; estos datos indican niveles alterados de ambas proteínas en esta entidad autoinmune⁵⁵. Datos genéticos han evaluado el papel de los SNP en la susceptibilidad a desarrollar esta enfermedad multifactorial. Los resultados muestran que el SNP -863C/A del gen TNF- α está asociado con riesgo de desarrollar EG en la población tailandesa⁵⁶. Estudios funcionales de gen reportero han mostrado que el alelo A del SNP -863C/A tiene un papel en la regulación de la expresión del TNF- α . Ha sido demostrado que el alelo A disminuye la afinidad de unión al factor de transcripción homodímero NF- κ B (p50-p50), el cual actúa como represor transcripcional; esto sugiere que, en presencia del alelo A de este polimorfismo, el gen presenta mayor actividad transcripcional^{56,57}. Otros estudios genéticos, entre los que se incluyen dos metaanálisis, han mostrado que los polimorfismos -1031T/C, -308G/A y -238G/A del TNF- α están asociados a EG^{53,58-60}. Diversos estudios han mostrado que estos polimorfismos afectan a los niveles de expresión génica^{8,56,57}.

El TNF- α y la DMt1

Aunque la DMt1 o insulinodependiente se puede presentar a cualquier edad, es común diagnosticarla en niños, jóvenes y adultos jóvenes. Este tipo de diabetes es una de las EA crónicas más comunes y agresivas que se presentan en EE.UU., llegando a afectar a 1 de cada 300 niños⁶¹. Esta enfermedad se caracteriza por una absoluta deficiencia de insulina originada por una desregulación inmunológica y por la destrucción de las células β de los islotes pancreáticos;

dicho evento está mediado por células T autorreactivas⁶². La pérdida de la tolerancia de las células β pancreáticas conlleva una marcada hiperglucemia, rasgo característico de la enfermedad⁶¹. Aunque no se conoce del todo cómo empieza la enfermedad, se ha propuesto que la activación de las células T autorreactivas en contra de las células β pancreáticas es iniciada por la producción alterada de diversas citocinas⁶³. Se ha documentado que durante la patogénesis de la DMt1 el TNF- α juega un papel crítico citotóxico en los islotes pancreáticos⁶⁴. Diversas evidencias experimentales en líneas celulares β pancreáticas han mostrado que el TNF- α induce apoptosis en estas células a través de TNFR1-TRADD-FADD-FLICE (enzima convertidora de IL-1 β parecida a FADD) e inhibe la secreción de insulina^{64,65}. Por otro lado, se ha documentado que la síntesis del TNF- α causa inflamación de las células β pancreáticas, fenómeno que está mediado por la presencia de las proteínas IL-1 β , calreticulina/NFTA y MAPK⁶⁶. Estudios realizados directamente en los islotes pancreáticos de pacientes con DMt1 muestran infiltración de macrófagos y células dendríticas, que producen TNF- α en pacientes con DMt1 de reciente inicio⁶⁷. Otro estudio ha evaluado la presencia de TNF- α en plasma, y los resultados muestran que el TNF- α se encuentra en mayores concentraciones; esto ha sido asociado con el control de la glucemia y el riesgo cardiovascular en adultos jóvenes⁶⁸. Estas evidencias sugieren que esta citocina es fundamental en el desarrollo de esta enfermedad autoinmune. A pesar de estos resultados, otro artículo publicado recientemente no muestra cambios en los niveles de expresión de esta citocina en el tejido completo del páncreas o en células β pancreáticas aisladas de pacientes con DMt⁶⁹. Por otro lado, los datos de un estudio que evaluó la presencia del TNF- α en células T reguladoras (células que inhiben la acción de los linfocitos T autorreactivos) provenientes de células mononucleares de sangre periférica no mostraron diferencias significativas entre pacientes y controles⁷⁰. Es probable que el TNF- α , en este tipo celular, tenga otro papel aún no evaluado. Otro estudio realizado en niños mostró que los niveles de TNF- α en suero no son diferentes entre pacientes con DMt1 y controles⁷¹. Es necesario realizar más estudios para poder determinar si los datos generados directamente de pacientes afectados por DMt1 tienen un uso clínico. Diversos estudios genéticos de susceptibilidad en DMt1 muestran que los polimorfismos -308G/A y -238G/A del TNF- α se asocian con el riesgo a desarrollar esta enfermedad multifactorial⁷²⁻⁷⁵.

El TNF- α y la EM

La EM es una EA de alta prevalencia en adultos caucásicos que viven en Europa o EE.UU. (50-130 de cada 100,000 individuos); incluso se ha reportado que la EM es la EA del sistema nervioso central (SNC) más común que se presenta en el adulto joven (20-40 años)⁷⁶. La EM es una enfermedad desmielinizante crónica inflamatoria del SNC que afecta principalmente a mujeres en una proporción de 2:1^{77,78}. Los blancos principales de esta enfermedad son los oligodendrocitos, células del SNC que producen mielina, y las neuronas^{79,80}. La inmunopatogénesis de esta enfermedad incluye infiltración de diversos tipos celulares, tales como linfocitos T (CD8+, CD4+, $\gamma\delta$) y B, células plasmáticas, monocitos/macrófagos al SNC de pacientes con EM, y la alteración de varias citocinas, como el TNF- α ⁸⁰⁻⁸⁴. Diversas evidencias han implicado de manera directa al TNF- α en la génesis de la EM⁸⁵. Aunque esta citocina es principalmente producida por los macrófagos, células B y T, asesinas naturales y dendríticas, en el SNC, los principales encargados de producirla son la microglia y los astrocitos⁸⁵. El TNF- α y sus receptores modulan procesos biológicos fundamentales del cerebro, los cuales incluyen la regulación y formación de la sinapsis, neurogénesis, regeneración y mantenimiento del SNC. En las enfermedades neurodegenerativas esta citocina está implicada en la inflamación, desmielinización, deterioro de la barrera hematoencefálica, muerte celular y progresión de la enfermedad⁸⁶. Además, diversas evidencias sugieren que tanto el TNF- α como los receptores de muerte (miembros de la superfamilia de los TNFR) contribuyen a destruir el tejido en pacientes con EM^{78,79}. Recientemente se ha demostrado que la sinergia entre el TNF- α y la interleucina 17 (IL-17) induce apoptosis en líneas celulares de oligodendrocitos⁸⁷. Diversos estudios en autopsias o suero de pacientes con EM han relacionado al TNF- α con la patogénesis de la enfermedad. Los estudios en autopsias de pacientes con EM han mostrado altos niveles de TNF- α en sitios de lesión activa⁸⁴. En células T de fluido cerebroespinal de pacientes con EM crónica progresiva los niveles de TNF- α se encontraron aumentados en comparación con los controles, y los niveles se correlacionaron con la gravedad de la enfermedad, el deterioro neurológico y un pobre pronóstico^{84,88}. Similarmente, se han encontrado niveles elevados de TNF- α en el suero de pacientes con EM comparados con controles^{85,89-91}. Interesantemente, se ha descrito una mayor cantidad de TNF- α en el suero de pacientes con EM que sufren recaída⁹². Estos datos

sugieren consistentemente que el TNF- α juega un papel determinante en la patogénesis de la EM. Por otro lado, diversos estudios de asociación genética han descrito diferentes polimorfismos del gen *TNF- α* asociados a EM⁹³⁻⁹⁷. Sin embargo, otros resultados indican que este gen no está asociado con esta EA^{98,99}. Finalmente, dos metaanálisis publicados en 2011 no muestran que los polimorfismos -376G/A, -308G/A y -238G/A tengan relevancia en la susceptibilidad a desarrollar EM en diversas poblaciones^{100,101}. Se requiere un número mayor de estudios de asociación genética que incluyan otros polimorfismos de este mismo gen, un mayor número de muestra para tener un mayor poder estadístico, y que se evalúen los diferentes rasgos clínicos de la EM, etc., para determinar el rol de la variabilidad genética en la susceptibilidad y/o gravedad para desarrollar EM.

Terapias anti-TNF- α

Los antagonistas del TNF- α como etanercept, infliximab y adalimumab se han empleado con una marcadísima eficacia y seguridad en diversas EA, sobre todo en AR y ARJ, no así en LES, LESp u otras EA¹⁰²⁻¹⁰⁴. A pesar de su amplia popularidad como agentes antagonistas del TNF- α , su prácticamente desconocido modo de acción *in vivo* ha limitado su uso terapéutico. En la AR/ARJ, estos antagonistas del TNF- α han proporcionado claramente mejora en los síntomas y progresión radiológica, mejorando la calidad de vida de los pacientes que no responden a los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad convencionales^{37,39-41}. Incluso en pacientes con ARJ/AIJ se ha tomado en cuenta la presencia de los diferentes genotipos del polimorfismo -308G/A del *TNF- α* para evaluar el impacto de esta terapia con anticuerpos monoclonales. Los resultados muestran que los pacientes con los genotipos G/G responden significativamente mejor que los individuos con los genotipos G/A y A/A³⁹⁻⁴¹. A pesar de estos resultados alentadores, aproximadamente el 20-40% de los pacientes con AR tratados con inhibidores del TNF- α no responden a esta terapia; de hecho, se ha observado que algunos pacientes con AR/ARJ experimentan eventos adversos después de este tratamiento, como infección por *Micobacterium tuberculosis* o el desarrollo de diversas enfermedades cardiovasculares y otras EA^{85,105-112}. Considerando que el TNF- α juega un papel importante en la patogénesis del LES, se ha sugerido que al inhibir la función de esta citocina inmunorreguladora podrían mejorar los síntomas clínicos de pacientes con LES.

Sin embargo, el bloqueo de esta citocina en el LES es aún controversial, ya que se han observado efectos adversos a esta terapia^{103,104}. En 2004 un estudio reportó la eficacia y seguridad de la terapia anti-TNF- α con infliximab en seis pacientes con LES; los resultados mostraron que varios pacientes desarrollaron infecciones urinarias, y los niveles de anticuerpos anti-doble cadena de ADN y cardiolipinas aumentaron¹⁰⁴. Por otro lado, se ha reportado la inducción de LES en un paciente con AR tratado con etanercept¹⁰⁹. En cuanto al LES, es necesario realizar más estudios para concluir si el uso de la terapia anti-TNF- α es de utilidad en la práctica clínica. En la EM, la administración de agentes anti-TNF- α se ha asociado con una mayor actividad de la enfermedad y con el inicio de la desmielinización^{84,113}. Otro estudio ha reportado que varios pacientes con AR desarrollan EM después de la administración de anticuerpos anti-TNF- α ^{105,112}. En la EG, se ha observado específicamente en la enfermedad ocular de Graves que infliximab tiene mejor eficacia que etanercept para reducir los síntomas; sin embargo, se requiere mayor información clínica para determinar su uso clínico en esta entidad compleja¹¹⁴. En DMt1 no se ha descrito un tratamiento basado en terapia anti-TNF- α ; hay un reporte que indica que un paciente con ARJ desarrolló DMt1 después de la administración este tipo de terapia¹¹¹. Para determinar el uso clínico de la terapia anti-TNF- α en el LES, la EG, la DMt1 y la EM se deben realizar más ensayos clínicos controlados que muestren sus efectos en la práctica clínica diaria.

Conclusiones

El TNF- α , por sus múltiples funciones, es la principal citocina proinflamatoria involucrada en la inmunopatogénesis de diversas EA, como la AR, la ARJ, el LES o el LESp, la EG, la DMt1 y la EM. El conocimiento proporcionado por la biología molecular y genética del efecto biológico normal y patológico del TNF- α ha permitido comprender cómo esta citocina puede afectar a diversos estados de desarrollo de las EA. Aunque estas enfermedades comparten un componente genético-molecular-fisiopatológico hasta cierto punto común, al final cada una de ellas tiene mecanismos fisiopatológicos específicos. En condiciones anormales, el TNF- α influye en una gran variedad de efectos adversos en las células del organismo, y hasta hoy no se conoce claramente cómo esta citocina promueve el desarrollo de estas EA complejas. Por tal motivo, las terapias anti-TNF- α no han dado los resultados

esperados en LES, LESP, EG y EM. Es necesario realizar más estudios clínicos longitudinales, con cohortes mucho más grandes, que evalúen correctamente la dosis adecuada de anticuerpos anti-TNF- α , los períodos de administración, la combinación con otros fármacos, el género, los grupos étnicos o cualquier otro factor de confusión para poder determinar si el bloqueo del TNF- α es útil en la práctica clínica.

Agradecimientos

Se agradecen las facilidades proporcionadas por el Hospital Juárez de México y el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez para realizar este trabajo.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses respecto a esta revisión.

Bibliografía

1. Wandstrat A, Wakeland E. The genetics of complex autoimmune diseases: non-MHC susceptibility genes. *Nat Immunol*. 2001;2:802-9.
2. Amur S, Parekh A, Mummaneni P. Sex differences and genomics in autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2012;38:J254-65.
3. Gleicher N, Barad DH. Gender as risk factor for autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2007;28:1-6.
4. Scirvo R, Vasile M, Bartosiewicz I, Valesini G. Inflammation as «common soil» of the multifactorial diseases. *Autoimmun Rev*. 2011;10:369-74.
5. 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 ischaemic coronary syndrome. *Arch Cardiol Mex*. 2009;79:54-62.
6. Goldring SR. Pathogenesis of bone and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2003;42 Suppl 2:ii11-6.
7. Bultink IE, Vis M, van der Horst-Bruinsma IE, Lems WF. Inflammatory rheumatoid disorders and bone. *Curr Rheumatol Rep*. 2012;14:224-30.
8. Jiménez Morales S, Velázquez Cruz R, Ramírez Bello J, et al. Tumor necrosis factor alpha is a common genetic risk factor for asthma, juvenile rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus in a Mexican pediatric population. *Hum Immunol*. 2009;70:251-6.
9. 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(17):6361-73.
10. Velázquez Cruz R, Jiménez Morales S, Ramírez Bello J, et al. Lupus eritematoso sistémico (LES): genómica de la enfermedad. *Gac Med Mex*. 2012;148:371-80.
11. Fisher SA, Lanchbury JS, Lewis CM. Meta-analysis of four rheumatoid arthritis genome-wide linkage studies: confirmation of a susceptibility locus on chromosome 16. *Arthritis Rheum*. 2003;48:1200-6.
12. Yeo TW, De Jager PL, Gregory SG, et al. A second major histocompatibility complex susceptibility locus for multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2007;61:228-36.
13. Howson JM, Walker NM, Clayton D, Todd JA; Type I Diabetes Genetics Consortium. Confirmation of HLA class II independent type 1 diabetes associations in the major histocompatibility complex including HLA-B and HLA-A. *Diabetes Obes Metab*. 2009;Suppl 1:31-45.
14. Ramírez-Bello J, Vargas Alarcón G, Tovilla-Zárate C, Fragoso JM. Single nucleotide polymorphisms (SNPs): functional implications of regulatory-SNP (rSNP) and structural RNA (srSNPs) in complex diseases. *Gac Med Mex* 2013(2)149:220-8.
15. 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.
16. 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;51:605-12.
17. [Internet] Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?chooseRs=all&go=Go&locusId=7124.
18. Popa OM, Bojinca M, Bojinca V, et al. A pilot study of the association of tumor necrosis factor alpha polymorphisms with psoriatic arthritis in the romanian population. *Int J Mol Sci*. 2011;12:5052-9.
19. Phelan JD, Thompson SD, Glass DN. Susceptibility to JRA/JIA: complementing general autoimmune and arthritis traits. *Genes Immun*. 2006;7:1-10.
20. Hohjoh 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.
21. 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.
22. Gooz M. ADAM-17: the enzyme that does it all. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2010;45:146-69.
23. Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryo Gene Expr*. 2010;20:87-103.
24. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ*. 2003;10:45-65.
25. Chen G, Goeddel DV. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science*. 2002;296:1634-5.
26. 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.
27. Wong ET, Tergaonkar V. Roles of NF- κ B in health and disease: mechanisms and therapeutic potential. *Clin Sci (Lond)*. 2009;116:451-65.
28. Zúñiga J, Vargas-Alarcón G, Hernández-Pacheco G, Portal-Celhay C, Yamamoto-Furusho JK, Granados J. Tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphisms in Mexican patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Genes Immun*. 2001;2:363-6.
29. Lee YH, Bae SC, Song GG. TNF promoter -308A/G and -238A/G polymorphisms and juvenile idiopathic arthritis: a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2012;39:8497-503.
30. Zhang H, Park Y, Wu J, et al. Role of TNF-alpha in vascular dysfunction. *Clin Sci (Lond)*. 2009;116:219-30.
31. Trajkov D, Mishevskova-Perchinkova S, Karadzova-Stojanovska A, Petlichkovski A, Strezova A, Spiroski M. Association of 22 cytokine gene polymorphisms with rheumatoid arthritis in population of ethnic Macedonians. *Clin Rheumatol*. 2009;28:1291-300.
32. Kivity S, Ehrenfeld M. Can we explain the higher prevalence of autoimmune disease in women? *Expert Rev Clin Immunol*. 2010;6:691-4.
33. Karmakar S, Kay J, Gravallese EM. Bone damage in rheumatoid arthritis: mechanistic insights and approaches to prevention. *Rheum Dis Clin North Am*. 2010;36:385-404.
34. Müller-Ladner U, Pap T, Gay RE, Neidhart M, Gay S. Mechanisms of disease: the molecular and cellular basis of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2005;1:102-10.
35. Hahn YS, Kim JG. Pathogenesis and clinical manifestations of juvenile rheumatoid arthritis. *Korean J Pediatr*. 2010;53:921-30.
36. Rodríguez-Carreño AA, Zúñiga J, Hernández-Pacheco G, et al. Tumor necrosis factor-alpha -308 promoter polymorphism contributes independently to HLA alleles in the severity of rheumatoid arthritis in Mexicans. *J Autoimmun*. 2005;24:63-8.
37. Takeuchi T, Miyasaka N, Tatsuki Y, et al. Baseline tumour necrosis factor alpha levels predict the necessity for dose escalation of infliximab therapy in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:1208-15.
38. Lee YH, Ji JD, Song GG. Tumor necrosis factor-alpha promoter -308A/G polymorphism and rheumatoid arthritis susceptibility: a meta-analysis. *J Rheumatol*. 2007;34:43-9.
39. Schmeling H, Horneff G. Tumour necrosis factor alpha promoter polymorphisms and etanercept therapy in juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int*. 2007;27:383-6.
40. Basic J, Pavlovic D, Jevticov-Stojanov T, et al. Etanercept reduces matrix metalloproteinase-9 level in children with polyarticular juvenile idiopathic arthritis and TNF-alpha-308GG genotype. *J Physiol Biochem*. 2010;66:173-80.
41. 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(3):489-95.
42. Brinkman BM, Zuijdeest D, Kaijzel EL, Breedveld FC, Verweij CL. Relevance of the tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) -308 promoter polymorphism in TNF alpha gene regulation. *J Inflamm*. 1995-1996;46:32-41.
43. Okamoto A, Fujio K, Okamura T, Yamamoto K. Regulatory T-cell-associated cytokines in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:463412.
44. Yap DY, Lai KN. Cytokines and their roles in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus: from basics to recent advances. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:365083.
45. López P, Gutiérrez C, Suárez A. IL-10 and TNFalpha genotypes in SLE. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:838390.
46. Jacob N, Stohl W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2011;13:228.

47. Zúñiga J, Vargas-Alarcón G, Hernández-Pacheco G, Portal-Celhay C, Yamamoto-Furusho JK, Granados J. Tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphisms in Mexican patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Genes Immun.* 2001;2:363-6.
48. Zou YF, Feng XL, Pan FM, Su H, Tao JH, Ye DQ. Meta-analysis of TNF-alpha promoter -238A/G polymorphism and SLE susceptibility. *Autoimmunity.* 2010;43:264-74.
49. Zou YF, Feng XL, Tao JH, et al. Meta-analysis of TNF- α promoter -308A/G polymorphism and SLE susceptibility in Asian populations. *Rheumatol Int.* 2011;31:1055-64.
50. Tunbridge WM, Evered DC, Hall R, et al. The spectrum of thyroid disease in a community: the Whickham survey. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1977;7:481-93.
51. Turner Y, Huber A. The etiology of autoimmune thyroid disease: a story of genes and environment. *J Autoimmun.* 2009;32:231-9.
52. Morshed SA, Latif R, Davies TF. Delineating the autoimmune mechanisms in Graves' disease. *Immunol Res.* 2012;54:191-203.
53. Anvari M, Khalilzadeh O, Esteghamati A, et al. Graves' disease and gene polymorphism of TNF- α , IL-2, IL-6, IL-12, and IFN- γ . *Endocrine.* 2010;37:344-8.
54. Heufelder AE, Bahn RS. Detection and localization of cytokine immunoreactivity in retro-ocular connective tissue in Graves' ophthalmopathy. *Eur J Clin Invest.* 1993;23:10-7.
55. Quadbeck B, Stucke M, Eckstein AK, Heise DJ, Mann K, Giesecke RK. Dysregulation of TNF/TNFR superfamily members: a systemic link between intra- and extrathyroidal manifestations in Graves' disease. *Scand J Immunol.* 2006;64:523-30.
56. Nakkuntod J, Wongsurawat T, Charoenwongse P, Snabboon T, Sridama V, Hirankarn N. Association of TNF-alpha, TNF-beta, IFN-gamma and IL-1Ra gene polymorphisms with Graves' disease in the Thai population. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2006;24:207-11.
57. Udalova IA, Richardson A, Denys A, et al. Functional consequences of a polymorphism affecting NF-kappaB p50-p50 binding to the TNF promoter region. *Mol Cell Biol.* 2000;20:9113-9.
58. Kammoun-Krichen M, Bougacha-Elleuch N, Rebai A, Mnif M, Abid M, Ayadi H. TNF gene polymorphisms in Graves' disease: TNF-308A/G meta-analysis. *Ann Hum Biol.* 2008;35:656-61.
59. Li N, Zhou Z, Liu X, et al. Association of tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) polymorphisms with Graves' disease: A meta-analysis. *Clin Biochem.* 2008;41:881-6.
60. Gu LQ, Zhu W, Pan CM, et al. Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) polymorphisms in Chinese patients with Graves' disease. *Clin Biochem.* 2010;43:223-7.
61. Waldron-Lynch F, Herold KC. Immunomodulatory therapy to preserve pancreatic β -cell function in type 1 diabetes. *Nat Rev Drug Discov.* 2001;10:439-52.
62. Singh B, Nikoopour E, Huszarik K, Elliott JF, Jevnikar AM. Immunomodulation and regeneration of islet Beta cells by cytokines in autoimmune type 1 diabetes. *J Interferon Cytokine Res.* 2011;31:711-9.
63. Rabinovitch A, Suárez-Pinzón WL. Cytokines and their roles in pancreatic islet beta-cell destruction and insulin-dependent diabetes mellitus. *Biochem Pharmacol.* 1998;55:1139-49.
64. Dursun H, Cinaz P, Bideci A, Guven A, Aybay C, Elbeg S. Serum levels of sL-selectin and tumour necrosis factor-alpha in children with type 1 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2007;44:1-5.
65. Ishizuka N, Yagui K, Tokuyama Y, et al. Tumor necrosis factor alpha signaling pathway and apoptosis in pancreatic beta cells. *Metabolism.* 1999;48:1485-92.
66. Lawrence MC, Naziruddin B, Levy MF, Jackson A, McGlynn K. Calcineurin/nuclear factor of activated T cells and MAPK signaling induce TNF-[alpha] gene expression in pancreatic islet endocrine cells. *J Biol Chem.* 2011;286:1025-36.
67. Uno S, Imagawa A, Okita K, et al. Macrophages and dendritic cells infiltrating islets with or without beta cells produce tumour necrosis factor-alpha in patients with recent-onset type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2007;50:596-601.
68. Lechleitner M, Koch T, Herold M, Dzien A, Hoppichler F. Tumour necrosis factor-alpha plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors. *J Intern Med.* 2000;248:67-76.
69. Planas R, Carrillo J, Sánchez A, et al. Gene expression profiles for the human pancreas and purified islets in type 1 diabetes: new findings at clinical onset and in long-standing diabetes. *Clin Exp Immunol.* 2010;159:23-44.
70. Luczyński W, Stasiak-Barmuta A, Juchniewicz A, et al. Tne mRNA expression of pro-and anti-inflammatory cytokines in T regulatory cells in children with type 1 diabetes. *Folia Histochem Cytopiol.* 2010;48:93-100.
71. Dursun H, Cinaz P, Bideci A, Guven A, Aybay C, Elbeg S. Serum levels of sL-selectin and tumour necrosis factor-alpha in children with type 1 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2007;44:1-5.
72. Kumar R, Goswami R, Agarwal S, Israni N, Singh SK, Rani R. Association and interaction of the TNF-alpha gene with other pro- and anti-inflammatory cytokine genes and HLA genes in patients with type 1 diabetes from North India. *Tissue Antigens.* 2007;69:557-67.
73. Boraska V, Zeggini E, Groves CJ, et al. Family-based analysis of tumor necrosis factor and lymphotoxin-alpha tag polymorphisms with type 1 diabetes in the population of South Croatia. *Hum Immunol.* 2009;70:195-9.
74. Feng RN, Li Y, Sun CH. TNF 308G/A polymorphism and type 1 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009;85:e4-7.
75. Krolja M, Hadžija M, Medvidović EP, et al. Genetic evaluation of the TNF- α -238G>A and -308G>A promoter polymorphisms in Croatian patients with type I diabetes. *Hum Immunol.* 2010;71:1228-32.
76. Poser CM. The epidemiology of multiple sclerosis: a general overview. *Ann Neurol.* 1994;36 Suppl 2:S180-93.
77. Hellings N, Raus J, Stinissen P. Insights into the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Immunol Res.* 2002;25:27-51.
78. Hu W, Lucchinetti CF. The pathological spectrum of CNS inflammatory demyelinating diseases. *Semin Immunopathol.* 2009;31:439-53.
79. Mc Guire C, Beyaert R, van Loo G. Death receptor signalling in central nervous system inflammation and demyelination. *Trends Neurosci.* 2011;34:619-28.
80. Reynolds R, Roncaroli F, Nicholas R, Radotra B, Gveric D, Howell O. The neuropathological basis of clinical progression in multiple sclerosis. *Acta Neuropathol.* 2011;122:155-70.
81. Fletcher JM, Lalor SJ, Sweeney CM, Tubridy N, Mills KH. T cells in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clin Exp Immunol.* 2010;162:1-11.
82. Nylander A, Hafler DA. Multiple sclerosis. *J Clin Invest.* 2012;122:1180-8.
83. Weber MS, Hemmer B, Cepok S. The role of antibodies in multiple sclerosis. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1812:239-45.
84. Rohovsky-Kochan C, Molinari D, Cook SD. Cytokine secretion profile of myelin basic protein-specific T cells in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2000;6:69-77.
85. Caminero A, Comabella M, Montalban X. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), anti-TNF- α and demyelination revisited: an ongoing story. *J Neuroimmunol.* 2011;234:1-6.
86. Montgomery SL, Bowers WJ. Tumor necrosis factor-alpha and the roles it plays in homeostatic and degenerative processes within the central nervous system. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2012;7:42-59.
87. Paintlia MK, Paintlia AS, Singh AK, Singh I. Synergistic activity of interleukin-17 and tumor necrosis factor- α enhances oxidative stress-mediated oligodendrocyte apoptosis. *J Neurochem.* 2011;116:508-21.
88. Benvenuto R, Paroli M, Buttinielli C, et al. Tumour necrosis factor-alpha synthesis by cerebrospinal-fluid-derived T cell clones from patients with multiple sclerosis. *Clin Exp Immunol.* 1991;84:97-102.
89. Trenova AG, Manova MG, Kostadinova II, et al. Clinical and laboratory study of pro-inflammatory and antiinflammatory cytokines in women with multiple sclerosis. *Folia Med (Plovdiv).* 2011;53:29-35.
90. Alatab S, Maghbooli Z, Hosseini-Nezhad A, Khosrofar M, Mokhtari F. Cytokine profile, Foxp3 and nuclear factor- κ B ligand levels in multiple sclerosis subtypes. *Minerva Med.* 2011;102:461-8.
91. Martins TB, Rose JW, Jaskowski TD, et al. Analysis of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine serum concentrations in patients with multiple sclerosis by using a multiplexed immunoassay. *Am J Clin Pathol.* 2011;136:696-704.
92. Lindquist S, Hassinger S, Lindquist JA, Sailer M. The balance of proinflammatory and trophic factors in multiple sclerosis patients: effects of acute relapse and immunomodulatory treatment. *Mult Scler.* 2011;17:851-66.
93. Ristić S, Lovrecić L, Starcević-Cizmarević N, et al. Tumor necrosis factor-alpha -308 gene polymorphism in Croatian and Slovenian multiple sclerosis patients. *Eur Neurol.* 2007;57:203-7.
94. Sarial S, Shokrgozar MA, Amirzargar A, et al. IL-1, IL-1R and TNFalpha gene polymorphisms in Iranian patients with multiple sclerosis. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2008;7:37-40.
95. Losonczi E, Bencsik K, Nagy ZF, et al. Tumour necrosis factor alpha gene (TNF-alpha) -376 polymorphism in Hungarian patients with primary progressive multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2009;208:115-8.
96. Shahbazi M, Roshandel D, Omidnyia E, Rshaidbaghan A. Interaction of HLA-DRB1 *1501 allele and TNF-alpha -308G/A single nucleotide polymorphism in the susceptibility to multiple sclerosis. *Clin Immunol.* 2011;139:277-81.
97. Nada MA, Labib DA. Tumor necrosis factor alpha gene -376 polymorphism and susceptibility to multiple sclerosis: an Egyptian study. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2011;6:142-7.
98. Mirowska-Guzel D, Gromadzka G, Mach A, Czlonkowski A, Czlonkowska A. Association of IL1A, IL1B, ILRN, IL6, IL10 and TNF- α polymorphisms with risk and clinical course of multiple sclerosis in a Polish population. *J Neuroimmunol.* 2011;236:87-92.
99. Dong YX, Xu ZR, Lin PY. Association among serous and cerebrospinal fluid TNF-alpha level, gene polymorphisms of TNF-alpha and multiple sclerosis in Han nationality of southern China. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2006;23:677-9.
100. Yang Y, Sun R, Yang H, Zheng F, Gong F. -308G>A of TNF- α gene promoter decreased the risk of multiple sclerosis: a meta-analysis. *Mult Scler.* 2011;17:658-65.

101. Xu L, Yuan W, Sun H, et al. The polymorphisms of the TNF- α gene in multiple sclerosis?—a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2011;38:4137-44.
102. Nasir A, Greenber JD. TNF antagonist safety in rheumatoid arthritis: updated evidence from observational registries. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2007;65:178-81.
103. Zhu LJ, Yang X, Yu X. Anti-TNF-alpha therapies in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:465898.
104. Aringer M, Graninger WB, Steiner G, Smolen JS. Safety and efficacy of tumor necrosis factor alpha blockade in systemic lupus erythematosus—an open-label study. *Arthritis Rheum.* 2004;50:3161-9.
105. Titelbaum DS, Degenhardt A, Kinkel RP. Anti-tumor necrosis factor alpha-associated multiple sclerosis. *Am J Neuroradiol.* 2005;26:1548-50.
106. Gurantz D, Yndestad A, Halvorsen B, et al. Etanercept or intravenous immunoglobulin attenuates expression of genes involved in post-myocardial infarction remodeling. *Cardiovasc Res.* 2005;67:106-15.
107. Casallo Blanco S, Aragón Díez A, Marcos Sánchez F, Cantalejo Moreira MA, Joya Seijo D, Vicente Martín C. Infliximab and acute myocardial infarction. *An Med Interna.* 2005;22:301-2.
108. Abedin M, Scheurich D, Reimold SC, Reimold AM. Acute coronary syndrome after infliximab infusion. *Cardiol Rev.* 2006;14:50-2.
109. Kang MJ, Lee YH, Lee J. Etanercept-induced systemic lupus erythematosus in a patient with rheumatoid arthritis. *J Korean Med Sci.* 2006;21:946-9.
110. Miller EA, Ernst JD. Anti-TNF immunotherapy and tuberculosis reactivation: another mechanism revealed. *J Clin Invest.* 2009;119:1079-82.
111. Tack CJ, Kleijwegt FS, Van Riel PL, Roep BO. Development of type 1 diabetes in a patient treated with anti-TNF-alpha therapy for active rheumatoid arthritis. *Diabetologia.* 2009;52:1442-4.
112. Fernández-Espartero MC, Pérez-Zafra B, Naranjo A, et al. Demyelinating disease in patients treated with TNF antagonists in rheumatology: data from BIOBADASER, a pharmacovigilance database, and a systemic review. *Semin Arthritis Rheum.* 2011;40:330-7.
113. Ghosh S. Biological therapies: lessons from multiple sclerosis. *Dig Dis.* 2012;30:383-6.
114. Theodossiadis PG, Markomichelakis NN, Sfikakis PP. Tumor necrosis factor antagonists: preliminary evidence for an emerging approach in the treatment of ocular inflammation. *Retina.* 2007;27:399-413.