

PUESTA AL DÍA

Genética y biología molecular en cardiología (IX)

Importancia del factor de necrosis tumoral alfa en la patogenia de la insuficiencia cardíaca

Eduardo Heberto Herrera Garza^a, José Luis Herrera Garza^c, Humberto Rodríguez González^b, Alfonso Treviño Treviño^a, Marcos Ibarra Flores^a y Guillermo Torre Amione^d

^aDepartamentos de Cardiología y ^bCirugía Cardiovascular y Torácica del Centro de Médico del Noreste # 34 del IMSS, Monterrey NL. México. ^cDepartamento de Hematología del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González. Monterrey NL. México. ^dDepartamento de Medicina. Sección de Cardiología. Winters Center for Heart Failure Research. Baylor College of Medicine y The Methodist Hospital. Houston, Texas. EE.UU.

La evidencia clínica y experimental que demuestra los efectos del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) en pacientes con insuficiencia cardíaca continúa acumulándose. Está bien establecido que las concentraciones elevadas de TNF- α aparecen en la circulación de pacientes con insuficiencia cardíaca y que dichas concentraciones tienen una correlación directamente proporcional con la clase funcional en la que éstos se encuentran; asimismo, existe una relación lineal como factor pronóstico. Dichas concentraciones circulantes son las responsables de la disminución en la expresión de receptores miocárdicos de TNF- α observada en la insuficiencia cardíaca.

Por lo demostrado en animales de experimentación, suponemos que el TNF- α es deletéreo para la función miocárdica en seres humanos, al inducir un estado inotrópico negativo en pacientes no trasplantados de corazón. Para sustentar esta suposición está el hecho de que sabemos que la resolución o mejoría de estados de sobrecarga de presión (cardiomiopatía hipertrófica obstructiva, con ablación con etanol) y de volumen (cardiomiopatía dilatada terminal, con asistencia ventricular) va acompañada de disminución de la expresión miocárdica de TNF- α .

El uso de antagonistas específicos del TNF- α circulante en pacientes con insuficiencia cardíaca sintomática ha demostrado ser segura, en primer lugar, y posiblemente eficaz en segundo. En el momento actual se están llevando a cabo estudios multicéntricos que valoran la eficacia de este antagonismo en un número mayor de pacientes. De ser positivos dichos estudios, dispondremos de nuevos elementos terapéuticos para manejar a pacientes con insuficiencia cardíaca avanzada.

El corazón trasplantado presenta un comportamiento diferente que el corazón nativo. Desde etapas tempranas del trasplante cardíaco se observa una expresión aumen-

tada (muy superior a los valores encontrados en pacientes con insuficiencia cardíaca) de TNF- α miocárdico, y dicha expresión, a diferencia de los corazones nativos, no se asocia a disfunción contráctil. Sin embargo, sabemos que un corazón trasplantado desarrolla hipertrofia ventricular temprana, fibrosis, disfunción diastólica y fallo tardío del injerto aun en presencia de arterias coronarias epicárdicas normales, pudiendo implicarse en estos procesos el TNF- α , de acuerdo con la evidencia clínica comunicada.

Palabras clave: *Factor de necrosis tumoral alfa. Insuficiencia cardíaca. Trasplante cardíaco.*

Importance of Tumor Necrosis Factor-Alpha in the Pathogenesis of Heart Failure

Clinical and experimental evidence demonstrating the effects of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in patients with heart failure continues to accumulate. It is well established that high concentrations of TNF- α appear in the circulation of patients with heart failure and that these levels have a directly proportional correlation with the patient's functional class. TNF- α levels also show a linear relation with prognosis. These circulating levels are responsible for the decreased expression of myocardial TNF- α receptors observed in heart failure.

As a result of extrapolation of findings from experimental animals, we assume that TNF- α is deleterious to myocardial function in humans because it induces a negative inotropic state in patients who have not undergone heart transplant. Supporting this assumption is the fact that the resolution or improvement of pressure overload (obstructive hypertrophic cardiomyopathy, by ethanol ablation) and volume overload (terminal dilated cardiomyopathy, by ventricular assistance) states is accompanied by a decrease in myocardial TNF- α expression.

The use of specific antagonists of circulating TNF- α in patients with symptomatic heart failure has been demonstrated to be safe and possibly effective. At present, multicenter studies are under way to assess the efficacy of this antagonism in a larger number of patients. If the results of

Sección patrocinada por el Laboratorio Dr. Esteve

Correspondencia: Dr. G. Torre Amione.
6550 Fannin, MS: SM 1901 Houston TX 77030. EE.UU.
Correo electrónico: gtorre@bcm.tmc-edu

these studies are favorable, we will have new therapeutic elements for managing patients with advanced heart failure.

The transplanted heart behaves differently from the native heart. From the early stages of HTx, myocardial TNF- α expression is greatly increased (much more than in patients with heart failure) and not associated with contractile dysfunction, in contrast with what occurs in the native heart. However, we know that the transplanted heart soon develops ventricular hypertrophy, fibrosis, diastolic dysfunction, and late graft failure, even in the presence of normal epicardial coronary arteries. Clinical evidence suggests that TNF- α may be involved in these processes.

Key words: *Tumor necrosis factor-alpha. Heart failure. Heart transplant.*

INTRODUCCIÓN

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) es una hormona polipeptídica producida por monocitos/macrófagos activados. Esta citocina modula una serie de procesos biológicos, como la mediación de la defensa del huésped contra el crecimiento de células neoplásicas (de donde se origina su nombre)^{1,2} y el incremento en la expresión de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II. También se le ha implicado en el desarrollo de caquexia⁴ en estados de choque por vasodilatación marcada, sostenida y resistente a vasopresores (debido al aumento en la producción de óxido nítrico, al estimular el incremento en la expresión de la forma inducible de la sintetasa de óxido nítrico)⁵ y es, además, una molécula efectora en varios procesos inflamatorios.

Es creciente la evidencia que implica al TNF- α con la patogenia de la insuficiencia cardíaca. Sabemos que el corazón sano no produce TNF- α , pero sí el miocardio insuficiente. Experimentalmente, se ha demostrado que los ratones transgénicos que sobrepresan de manera crónica TNF- α miocárdico desarrollan hipertrofia cardíaca, fibrosis, posteriormente cardiomiopatía dilatada y mueren de forma prematura⁶.

Demostramos, en un subestudio del estudio SOLVD, que existe una correlación directa entre las concentraciones circulantes de TNF- α y la clase funcional, de acuerdo con la New York Heart Association (NYHA)⁷, encontrada en los pacientes del estudio.

En el presente artículo analizaremos la evidencia experimental y humana que apoya el papel causal del TNF- α en la patogenia de la insuficiencia cardíaca.

EL CORAZÓN: FUENTE DE TNF- α

Estudios experimentales realizados *in vivo* han corroborado la producción de TNF- α por parte de miocitos adultos altamente purificados bajo la esti-

mulación por lipopolisacáridos, mientras que los miocitos estimulados con vehículo no presentaron esta producción⁸. Este hallazgo dio paso a estudios que trataban de explicar el origen de la producción de TNF- α por el miocardio enfermo. Para ello se diseñó un modelo de sobrecarga de presión y/o volumen de corazones en preparado de Langendorff, demostrando la expresión de ARNm para el TNF- α ⁹. Ante este resultado fue posible especular con la producción de TNF- α por el miocardio de pacientes con insuficiencia cardíaca. Demostramos, como se aprecia en la figura 1, que el miocardio humano insuficiente, y no el normal, expresa TNF- α ¹⁰. El siguiente paso fue demostrar que la presencia de TNF- α miocárdico no correspondía con la transferencia pasiva de dicha citocina circulante, sino que era en sí producida en el mismo ventrículo disfuncionante. Existen comunicaciones que demuestran la discordancia entre los valo-

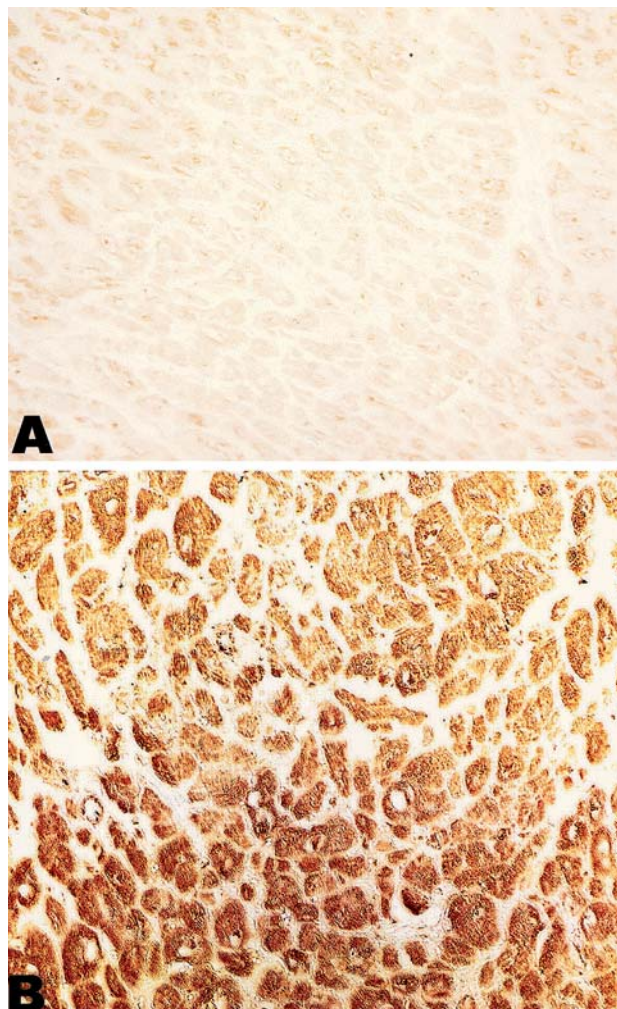


Fig. 1. Corazón humano normal (A) y miocardio insuficiente (B) teñidos con un anticuerpo policlonal anti-TNF- α . Como se aprecia, no existe expresión de TNF- α en el miocardio normal, pero ésta es abundante en el miocardio insuficiente.

res circulantes de TNF- α y la expresión del mismo en el miocardio de pacientes con insuficiencia cardíaca en estadio terminal, por lo que argumentamos que la expresión miocárdica de TNF- α está compartimentalizada y no es el resultado de la transferencia pasiva de éste en la circulación¹¹.

RECEPTORES MIOCÁRDICOS DE TNF- α

Debido a que los efectos biológicos del TNF- α son mediados gracias a la unión con un receptor, para implicar esta citocina en la patogenia de la insuficiencia cardíaca resultó indispensable evidenciar la presencia de receptores miocárdicos para el TNF- α . Existen 2 receptores miocárdicos de TNF- α : el receptor 1 de TNF- α (R1-TNF- α) y el receptor 2 de TNF- α (R2-TNF- α). A pesar de que ambos se expresan en la misma proporción en el miocardio sano y de que presentan el mismo grado de afinidad para la fijación de TNF- α , demostramos que el efecto inotrópico negativo del TNF- α está regulado por el R1-TNF- α , efecto que se encuentra mediado por la prevención en el incremento en la concentración de calcio intracelular durante la sístole y gracias a su conocida interacción con la vía del óxido nítrico.

RECEPTORES PERIFÉRICOS DE TNF- α

Existen dos proteínas solubles fijadoras de TNF- α : el receptor soluble 1 de TNF- α (sR1-TNF- α) y el receptor soluble 2 de TNF- α (sR2-TNF- α). Ambas son fragmentos de las regiones extracelulares de los receptores para el TNF- α 1 y 2, respectivamente, de la membrana celular^{12,13} y conservan su capacidad para fijarse al TNF- α . Dicha unión permite anular o contrarrestar los efectos biológicos del TNF- α en los cardiomiocitos, y se ha demostrado que dicha capacidad neutralizadora es superior para el sR1-TNF- α ¹⁴.

Hemos sugerido la presencia de un eje de TNF- α -receptor de TNF- α que apoya la teoría de la relación entre esta citocina y la insuficiencia cardíaca, debido a la evidencia del incremento en las concentraciones circulantes de sR1-TNF- α y sR2-TNF- α , en pacientes con insuficiencia cardíaca entre moderada y severa¹⁵. Al igual que los receptores betaadrenérgicos, la expresión miocárdica de receptores para TNF- α se encuentra reducida de manera importante en pacientes con insuficiencia cardíaca. La conjunción de 3 hechos –la elevación de las concentraciones circulantes y miocárdicas (aunque no en las mismas proporciones) de TNF- α , el incremento periférico de las proteínas fijadoras para el mismo y la disminución de la expresión de sus receptores miocárdicos– sugiere el intento del organismo para atenuar los efectos deletéreos del TNF- α , al incrementar el grado de anulación periférica y la reducción del campo de actuación en el órgano blanco

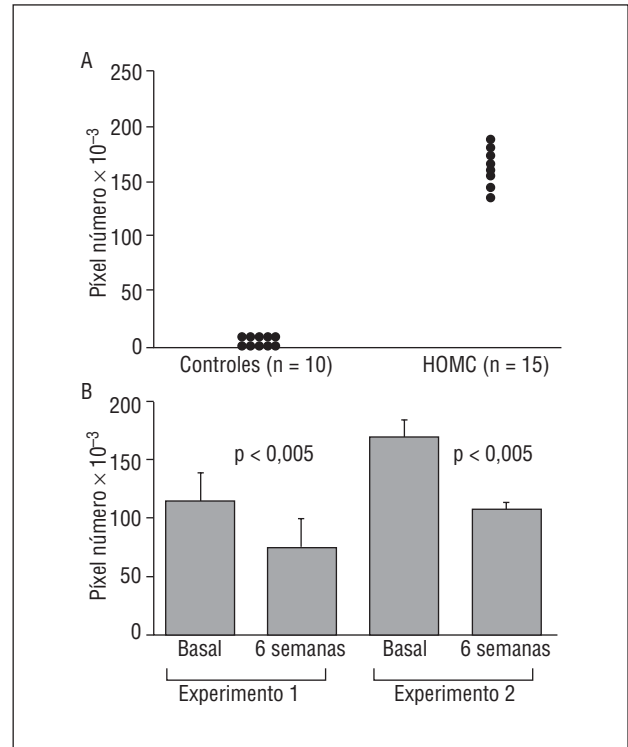


Fig. 2. Expresión de factor de necrosis tumoral alfa en miocardio sano y en miocardio de pacientes con cardiomiopatía hipertrófica obstructiva (CMHO). A: valores en píxeles (unidad arbitraria) en tejido miocárdico de controles normales (10) y de pacientes con CMHO teñidos con anticuerpos específicos antifactor de necrosis tumoral alfa. Como se demuestra, el miocardio normal no expresa factor de necrosis tumoral alfa mientras que todas las muestras de CMHO contienen valores elevados de factor de necrosis tumoral alfa. B: muestras miocárdicas de pacientes con CMHO basales y 6 semanas después de la terapia de reducción no quirúrgica del septo interventricular. Las muestras fueron teñidas para factor de necrosis tumoral alfa. Los datos de 2 experimentos por separado demuestran una reducción del 35 y 36%, respectivamente, en la expresión miocárdica de factor de necrosis tumoral alfa.

(miocardio). Esta conjunción de sucesos fortalece la implicación del TNF- α en la patogenia de la insuficiencia cardíaca.

EVIDENCIA CLÍNICA

La hipótesis de que el TNF- α desempeña un papel en la patogenia de la insuficiencia cardíaca ya ha sido clínicamente probada. Como hemos mencionado con anterioridad, nuestro grupo demostró una relación directamente proporcional entre la clase funcional (I-III de la NYHA) en la que se encuentre el paciente y las concentraciones circulantes del TNF- α . Recientemente, se ha comunicado un análisis de citocinas realizado a 1.200 pacientes aleatorizados en el estudio VEST, del cual se desglosan algunos puntos importantes: el primero es que la concentración de TNF- α circulante es similar en pacientes en clase funcional III y IV, pero los valores de sR1-TNF- α y de sR2-TNF- α sí presentan correlación directa con la clase funcional III y IV,

y la última y más importante es que tanto el TNF- α , como el sR1- TNF- α y el sR2- TNF- α fueron significativos como predictores independientes de mortalidad¹⁶.

Para demostrar la relación existente entre TNF- α y la hipertrofia ventricular analizamos biopsias endomiocárdicas del septo interventricular en pacientes con diagnóstico de cardiomiopatía hipertrófica obstructiva familiar y encontramos una sobreexpresión miocárdica de TNF- α ; asimismo, como se aprecia en la figura 2, demostramos la reducción significativa ($p < 0,005$) del 36% (comparado con la determinación basal) en la expresión miocárdica del mismo a las 6 semanas de la realización de ablación septal con etanol a estos pacientes¹⁷. Estos cambios se acompañaron de disminución en la hipertrofia ventricular izquierda y aumento en los volúmenes ventriculares izquierdos medidos por ecocardiografía. Esta evidencia permite sugerir que el TNF- α puede desempeñar un papel en la patogenia de la hipertrofia ventricular secundaria a estados de sobrecarga de presión.

La sobreexpresión de TNF- α miocárdico no sólo se observa en estados que cursan con sobrecarga de presión, sino también en pacientes con estados de sobrecarga volumétrica con corazones dilatados a pesar del tratamiento médico óptimo. Precisamente, nuestro grupo ha comunicado el hallazgo de concentraciones elevadas de TNF- α miocárdico en pacientes con diagnóstico de cardiomiopatía terminal de etiología no isquémica que, por su estado de gravedad, fueron sometidos a asistencia ventricular izquierda tipo Novacor o Heart Mate. Nuestro análisis de TNF- α consistió en la determinación cuantitativa de éste en el miocardio, en el tejido del ápex del ventrículo izquierdo tomado en el momento de la colocación de la cánula ventricular. Dicho análisis basal fue comparado con la determinación de TNF- α en tejido miocárdico del ventrículo izquierdo tomado en el momento del trasplante cardíaco (TC) o en el remanente de tejido que quedó adherido a la cánula apical cuando ésta fue retirada de pacientes que pudieron ser destetados con éxito de la asistencia ventricular izquierda y continuar con una buena clase funcional, sin necesidad de la asistencia ventricular ni el TC. Comunicamos, por primera vez en la bibliografía médica, la disminución significativa (con respecto a la determinación basal, en el momento de la colocación de la asistencia ventricular) de la expresión miocárdica de TNF- α consecutivo (sin relación con el tiempo de asistencia) de la asistencia ventricular izquierda, que funciona haciendo desaparecer la sobrecarga volumétrica impuesta al ventrículo asistido y permitiendo que dicho ventrículo pase a una etapa de «reposo obligado». Un hallazgo adicional fue que aquellos pacientes que fueron destetados de la asistencia ventricular y no requirieron de TC (tras haber mejorado su función ventricular tras un período variable de asistencia) demostraron las reducciones

más importantes en la expresión miocárdica de TNF- α ¹⁸. Estos hallazgos nos llevan a 3 consideraciones importantes:

1. Si el ventrículo disfuncionante puede recuperarse tras un período variable de asistencia, los sistemas de asistencia ventricular podrían ser utilizados de una manera más libre como puente a la recuperación y ya no sólo como puente al TC.

2. Si la disminución en la expresión miocárdica de TNF- α se asocia a la recuperación de la función ventricular, se genera un campo para explorar el uso de agentes que bloqueen los efectos biológicos del TNF- α para mejorar las condiciones de pacientes con insuficiencia cardíaca.

3. La realización de biopsias endomiocárdicas del ventrículo derecho para la determinación seriada de TNF- α miocárdico a pacientes sometidos a asistencia ventricular podría generar información útil para predecir aquellos que pueden ser contemplados para destete de la asistencia ventricular en vez de efectuárseles un TC.

ANTAGONISMO DEL TNF- α EN PACIENTES CON INSUFICIENCIA CARDÍACA

Hasta el momento sólo 2 fármacos que bloquean los efectos biológicos del TNF- α han sido utilizados en pacientes con insuficiencia cardíaca, la pentoxifilina y el etanercept.

La pentoxifilina (supresor de la producción de TNF- α) fue utilizada en un reducido grupo de pacientes con insuficiencia cardíaca y demostró, en un estudio doble ciego, una disminución en la expresión de TNF- α y un incremento en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, comparado con el placebo¹⁹. Desafortunadamente, por el reducido número de pacientes ($n = 28$) y la inespecificidad del fármaco, es difícil sustentar que la mejoría se deba en realidad al efecto de la pentoxifilina sobre el TNF- α .

El etanercept recombinante humano es un antagonista específico de los efectos biológicos del TNF- α y un dímero compuesto por dos moléculas de la porción extracelular del R2-TNF- α , fusionados a la porción Fc de una IgG1 humana. Este fármaco se fija al TNF- α biológicamente activo y previene su interacción con los receptores de TNF- α fijos a la membrana. Su papel en la insuficiencia cardíaca ha sido analizado en 2 estudios controlados con placebo. En el primero de ellos, un estudio de seguridad en pacientes en clase funcional III y IV con concentraciones circulantes de TNF- $\alpha > 3$ pg/ml, no se presentaron efectos colaterales cardíacos, algunos pacientes obtuvieron una mejoría sintomática y en la caminata de 6 min se asociaron a una reducción del 85% de las concentraciones biológicamente activas de TNF- α ²⁰. El segundo fue un estudio doble ciego, controlado con placebo, donde se valoraron 2 dosis de etaner-

cept (5 y 12 mg/m²) con un corto seguimiento de 3 meses²¹. El estudio demostró una tendencia a la mejoría de la clase funcional y calidad de vida; los resultados más consistentes se dieron en el grupo de 12 mg/m². Ambas investigaciones han servido como sustento para la puesta en marcha de 3 estudios: RE-NAISSANCE, RECOVER y RENEWAL, todos ellos multicéntricos y que valoran el papel de etanercept en la insuficiencia cardíaca en un mayor número de pacientes y con un seguimiento más prolongado.

TNF- α MIOCÁRDICO Y TRASPLANTE CARDÍACO

Al igual que otros grupos, demostramos un incremento en la expresión de TNF- α miocárdico en el injerto cardíaco^{22,23}, que es persistente y no presenta correlación con el grado histológico de rechazo celular ni con alteraciones en la función sistólica del injerto. Sabemos que, a nivel experimental, la sobreexpresión crónica de TNF- α miocárdico desencadena hipertrofia ventricular como primer acontecimiento, así como fibrosis, crecimiento cardíaco y, posteriormente, la muerte. Con estos antecedentes postulamos que la sobreexpresión miocárdica de esta citocina en injertos cardíacos de pacientes sometidos a TC se asocia al desarrollo temprano de hipertrofia ventricular en el injerto. Para confirmar esta hipótesis diseñamos el análisis de biopsias endomiocárdicas seriadas de 9 pacientes en su primer año posterior a un TC y comparamos la masa ventricular izquierda por ecocardiograma en pacientes que desarrollaron hipertensión arterial después de un trasplante pulmonar y un TC. El estudio proporcionó resultados interesantes: primero, el incremento en la masa ventricular izquierda fue significativamente superior en los pacientes del grupo de TC, a pesar de que ambos grupos presentaban cifras tensionales similares; segundo, encontramos un incremento significativo en el contenido total de colágena, colágena tipo I y colágena tipo III en el miocardio; tercero, detectamos un incremento significativo (del 47%) en el tamaño de los miocitos, y, por último, demostramos una sobreexpresión miocárdica de TNF- α desde etapas tempranas del TC y dicha expresión, aunque discretamente menor a partir del segundo mes, fue siempre alta²⁴. Al igual que en estudios previos, no encontramos relación alguna entre la sobreexpresión de TNF- α y el grado de rechazo celular ni con la aparición de disfunción ventricular sistólica. Las conclusiones más importantes que obtenemos de este estudio son las siguientes:

1. La hipertrofia ventricular que ocurre en pacientes sometidos a TC es independiente del grado de hipertensión arterial. Dicha hipertrofia ventricular aparece de manera paralela a la sobreexpresión de TNF- α miocárdico, citocina que por sí misma es capaz de inducir hipertrofia. La aparición tan temprana de hipertrofia

ventricular izquierda y la ausencia de la misma en pacientes sometidos a trasplante pulmonar parece orientar a un origen inmunológico como explicación de este acontecimiento. La asociación entre hipertrofia cardíaca y respuestas mediadas por calcineurina podría ser descartada en estos pacientes, ya que todos ellos recibieron ciclosporina A o tacrolimus, ambos conocidos inhibidores de la calcineurina.

2. A pesar de que nuestros resultados demuestran una sobreexpresión miocárdica de TNF- α y una función ventricular preservada, esta información contrasta con lo que hemos descrito con anterioridad con respecto al efecto inotrópico negativo en el pacientes con insuficiencia cardíaca no trasplantados; hay que recordar que experimentalmente ya se ha probado que ratones transgénicos que sobreexpresan TNF- α miocárdico presentan hipertrofia ventricular importante con función sistólica preservada como primer acontecimiento antes de desarrollar el fenotipo dilatado.

Con lo anteriormente expuesto podemos especular que el miocardio trasplantado no es «normal» y que la sobreexpresión de TNF- α podría ser el origen de la hipertrofia ventricular temprana encontrada con tanta frecuencia en estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Maury CPJ. Tumour necrosis factor-an overview. *Acta Med Scand* 1986; 220: 387-394.
2. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Nat Acad Sci USA* 1975; 72: 3666-3670.
3. Le J, Vilcek J. Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 1987; 56: 234-248.
4. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 1990; 323: 236-241.
5. Landry DW, Oliver JA. Mechanisms of disease: the pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med* 2001; 345: 588-595.
6. Herrera GE, Cubillos GA, Stetson SJ, Cano NR, Herrera FF, Durand JB et al. Factor de necrosis tumoral- α : un mediador en la patogénesis de la insuficiencia cardíaca. *Arch Inst Cardiol Mex* 1999; 69: 462-468.
7. Herrera GE, Stetson SJ, Cubillos GA, Vooletich MT, Farmer JA, Torre-Amione G. Tumor necrosis factor- α : s mediator of disease progression in the failing human heart. *Chest* 1999; 115: 1170-1174.
8. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Durand JB, Bies RD, Young JB. Tumor necrosis factor- α and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation* 1996; 93: 704-711.
9. Kapadia S, Lee J, Torre AG, Birdsall HH, Ma TS, Mann DL. Tumor necrosis factor- α gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration. *J Clin Invest* 1995; 96: 1042-1052.
10. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Bies RD, Lebovitz R, Mann DL. Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium. *Circulation* 1995; 92: 1487-1494.

11. Kapadia S, Oral H, Lee J, Nakano M, Taffet GE, Mann DL. Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor- α gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ Res* 1997; 81: 187-195.
12. Seckinger P, Izaaz S, Dayer JM. A human inhibitor of tumor necrosis factor- α . *J Exp Med* 1988; 167: 1511-1516.
13. Engelmann H, Aderka D, Rubinstein M, Rotman D, Wallach D. A tumor necrosis factor binding protein purified to homogeneity from human urine protects cells from tumor necrosis factor toxicity. *J Biol Chem* 1989; 264: 11974-11980.
14. Peetre C, Thysell H, Grubb A, Olson I. A tumor necrosis factor binding protein is present in human biological fluids. *Exp Hematol* 1988; 41: 414-419.
15. Kapadia S, Torre-Amione G, Yokoyama T, Mann DL. Soluble TNF binding proteins modulate the negative inotropic properties of TNF- α in vitro. *Am J Physiol* 1995; 37: H517-H525.
16. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation* 2001; 103: 2055-2059.
17. Nagueh SF, Stetson SJ, Lakkis NM, Killip D, Perez-Verdia A, Entman ML et al. Decreased expression of tumor necrosis factor - alfa and regression of hypertrophy after nonsurgical septal reduction therapy for patients with hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Circulation* 2001; 103: 1844-1850.
18. Torre-Amione G, Stetson SJ, Youker KA, Durand JB, Radovanecvic B, Delgado RM et al. Decreased expression of tumor necrosis factor-alfa in failing human myocardium after mechanical circulatory support: a potential mechanism of cardiac recovery. *Circulation* 1999; 100: 1189-1193.
19. Silwa K, Skudicky D, Candy G, Wisenbaugh T, Sareli P. Randomized investigation of effects of pentoxifylline on left ventricular performance in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 1998; 351: 1091-1093.
20. Deswal A, Bozkurt B, Seta Y. Safety and efficacy of a soluble p75 TNF receptor (Enbrel, Etanercept) in patients with advanced heart failure. *Circulation* 1999; 99: 3224-3226.
21. Bozkurt B, Torre-Amione G, Soram OZ. Results of a multidose phase I trial with tumor necrosis factor receptor p(75) fusion protein (Etanercept) in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1999; A184-A185.
22. Torre-Amione G, MacLellan WR, Kapadia S. Tumor necrosis factor- α is persistently expressed in cardiac allografts in the absence of histological or clinical evidence of rejection. *Transplant Proc* 1998; 30: 875-877.
23. Álvarez CM, Fernández D, Builes M, Zavaleta J, Restrepo LM, Villegas A et al. Intragraft cytokine expression in heart transplants with mild or no histological rejection. *Clin Transplant* 2001; 15: 228-235.
24. Stetson SJ, Perez-Verdia A, Mazur W, Farmer JA, Koerner M, Weilbaecher DG et al. Cardiac hypertrophy after transplantation is associated with persistent expression of tumor necrosis factor-alfa. *Circulation* 2001; 104: 676-681.