



**Fundació**  
La Marató de TV3  
21<sup>º</sup> SIMPOSIUM  
Enfermedades del corazón



## **PAPEL DE LAS NUEVAS CARDIOMIOCINAS FGF21 Y METRNL EN EL DAÑO CARDÍACO INDUCIDO POR EL ALCOHOLISMO Y LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

**Anna Planavila Porta**

Facultat de Biologia - Universitat de Barcelona

**Joaquim Fernández Solà**

Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer

## 1. Resumen

Actualmente, el alcohol y la hipertensión arterial (HTA) son factores de riesgo bien identificados para el daño cardíaco progresivo, lo que tiene un gran impacto en la insuficiencia cardíaca con un nivel significativo de morbilidad y mortalidad. Dado que no se espera que se controle el abuso de alcohol y se considera que la hipertensión arterial continuará siendo altamente prevalente en la población general, se deben desarrollar estrategias comunes para evitar el daño cardíaco progresivo. El daño cardíaco inducido por estos dos factores, HTA y abuso de alcohol, es altamente relevante entre las enfermedades cardíacas y probablemente no disminuirá en las próximas décadas debido a la dificultad para controlar los factores de riesgo primarios de la población. En el daño cardíaco e insuficiencia cardíaca inducidos por el alcohol y la HTA hay procesos mecanicistas comunes que conducen a estas afecciones. Vías comunes que involucran la activación de las cardiomiocinas locales, la alteración mitocondrial, el daño oxidativo, la hipertrofia de los miocitos, la fibrosis y la apoptosis están implicadas e interrelacionadas en el daño cardíaco inducido por el alcohol y la HTA.

Los resultados experimentales y algunos datos clínicos señalan que las nuevas cardiomiocinas recientemente identificadas están involucradas en la regulación del daño cardíaco y la remodelación. Entre ellas, el factor de crecimiento de fibroblastos-21 (FGF21) parece desempeñar un papel relevante, mientras que los datos preliminares señalan que también puede tener relevancia la participación de la proteína *meteorin-like* (Metrnl). Nuestra hipótesis es que estas cardiomiocinas emergentes pueden ser relevantes en la patogénesis del daño cardíaco inducido por la HTA y por el alcohol. Además, FGF21 y Metrnl pueden constituir herramientas terapéuticas por sí mismas para modular la progresión del daño cardíaco inducido por HTA y por el alcohol.

### Objetivos

1) Definir el papel de la expresión de FGF21 y Metrnl en el miocardio durante el daño cardíaco inducido por el alcohol y la hipertensión. En un modelo de ratón con cardiomiopatía inducida experimentalmente (alcoholismo e hipertensión), caracterizar cómo la intervención afecta el sistema FGF21 y Metrnl (sistémico y específico en el corazón), y relacionar esto con las alteraciones cardíacas inducidas (hipertrofia

cardíaca, fibrosis, alteraciones funcionales e inducción de desregulación metabólica e inflamatoria cardíaca).

2) Establecer si la falta de un sistema funcional FGF21 y *Metrnl* (ratones *knockout*) exacerba los efectos nocivos cardíacos inducidos en el modelo anterior.

3) Analizar y validar la expresión del gen y la proteína FGF21/*Metrnl* en muestras cardíacas humanas de pacientes hipertensos y alcohólicos que desarrollan cardiomiopatías.

4) Evaluar la influencia de la apoptosis mitocondrial y la función en el daño cardíaco inducido por la hipertensión y el alcohol.

5) Evaluar los efectos y la base mecanicista de una posible intervención terapéutica para disminuir los efectos del abuso del alcohol y la HTA en el daño cardíaco. Determinar si el tratamiento con FGF21 o *Metrnl* restaura o protege la función cardíaca en un modelo celular (cardiomiocitos) de hipertrofia cardíaca inducida por HTA y modelos de ratón descritos anteriormente.

## **Metodología**

**1. Estudios en animales.** Induciremos experimentalmente daño cardíaco mediante alcohol o hipertensión en el ratón deficiente para los genes FGF21 o *Metrnl* (generado en colaboración con MMRC) o sobreexpresión (por inyección de virus adenoasociados AAV), por los siguientes métodos comúnmente utilizados:

- Los ratones adultos serán sometidos a una dieta líquida con etanol isocalórico al 4% (vol/vol) durante un período de 12 semanas para inducir daño cardíaco.
- La hipertensión será inducida por la infusión de angiotensina-II (0,7 mg/kg/día) mediante la implantación subcutánea de minibombas osmóticas durante una semana.

**2. Muestras humanas.** Durante un período de 5 años, los corazones de los sujetos que sufrieron muerte cerebral de origen traumático o cerebrovascular se recolectaron consecutivamente en el Hospital Clínic de Barcelona. Hubo 52 corazones de donantes menores de 70 años que no eran adecuados para el trasplante y estaban disponibles para fines de estudio científico. De estos donantes, algunos sufrían alcoholismo y otros

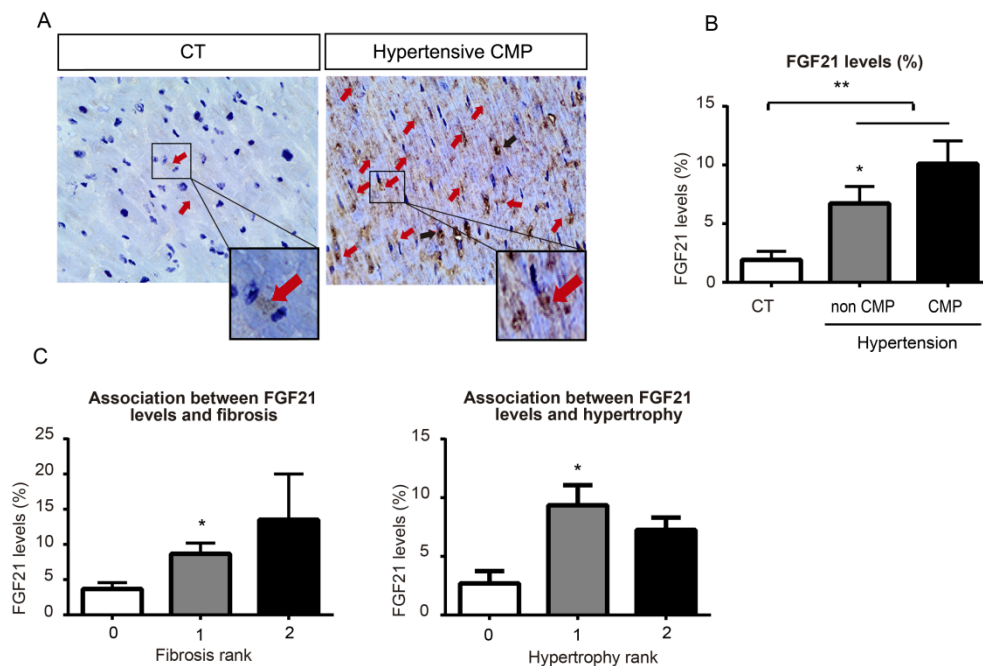
hipertensión. Además, 7 corazones de personas previamente sanas no eran aptos para la implantación debido a la falta de un receptor compatible o debido a tener un tamaño insuficiente; estos donantes fueron tratados como sujetos de control.

## 2. Resultados

### 1) PAPEL DE FGF21 DURANTE LA CARDIOMIOPATÍA INDUCIDA POR HIPERTENSIÓN

**La expresión de FGF21 está incrementada en el corazón de pacientes hipertensos.**

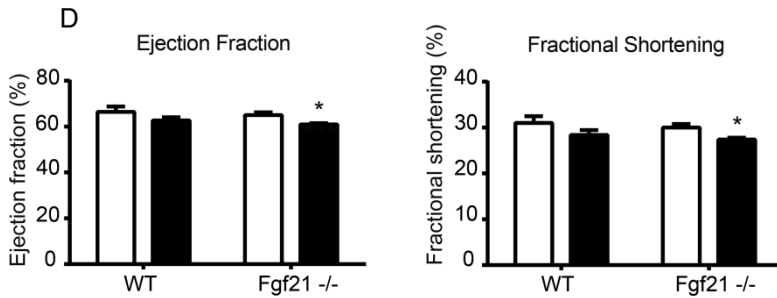
Los niveles de la proteína FGF21 fueron significativamente mayores en el tejido cardíaco de los donantes hipertensos, especialmente aquellos que desarrollaron cardiomiopatía en comparación con los corazones control (A, B). Los niveles de proteína FGF21 en el miocardio se correlacionaron con el grado de hipertrofia de los cardiomiocitos y fibrosis intersticial (C).



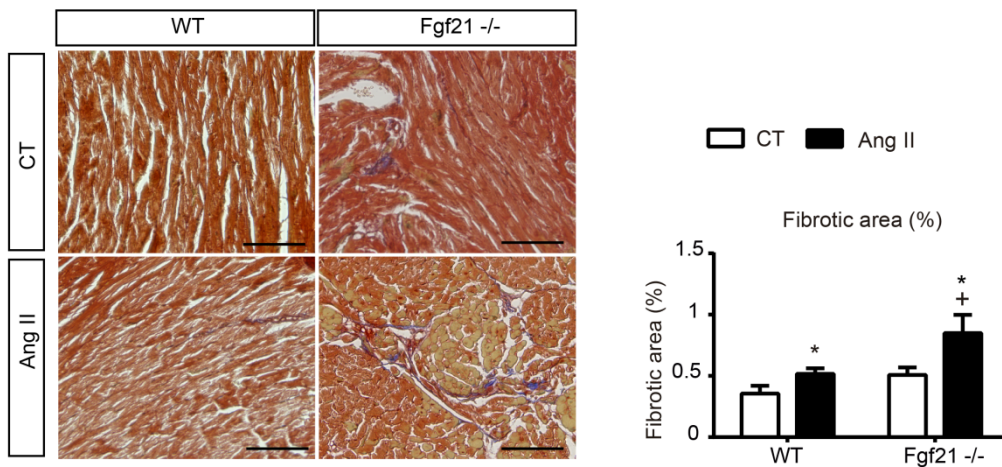
### La falta de FGF21 deteriora el remodelado cardíaco e incrementa la fibrosis en la enfermedad cardíaca hipertensiva

Analizamos el impacto de la deficiencia de FGF21 en la morfología cardíaca después de 1 semana de infusión de AngII en ratones wt y *Fgf21*<sup>-/-</sup>. Las mediciones por ecocardiografía revelaron que tanto la fracción de eyección (EF) como la fracción de

acortamiento (FS) se redujeron significativamente en los ratones FGF21<sup>-/-</sup> hipertensos, lo que indica una disfunción cardíaca clara en los ratones FGF21<sup>-/-</sup> hipertensos.

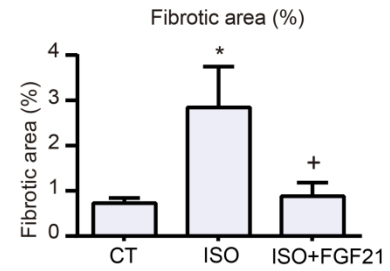
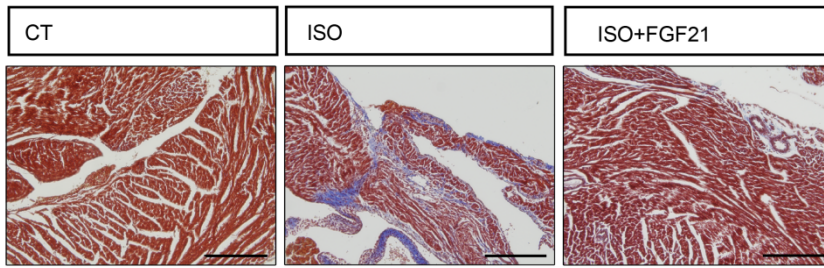


El análisis de los corazones mediante la tinción tricrómica de Masson mostró evidencias de cierta fibrosis en ratones hipertensos wt, pero mostró un aumento significativo en las áreas fibróticas en los corazones de ratones Fgf21<sup>-/-</sup> tras el tratamiento con AngII en comparación con ratones hipertensos wt.



### FGF21 protege contra la fibrosis cardíaca

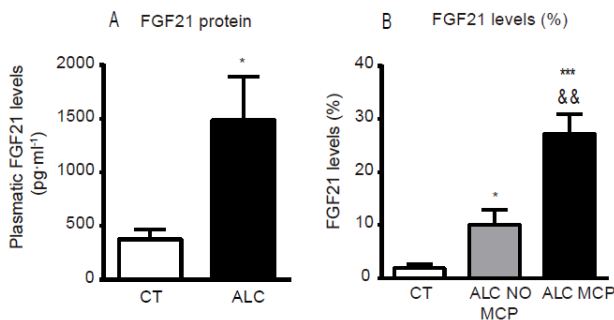
La inducción de fibrosis cardíaca en un modelo de ratón mediante tratamiento con isoproterenol (ISO) mostró cómo el tratamiento con FGF21 durante 7 días protegía frente al desarrollo de la fibrosis.



## 2) PAPEL DE FGF21 DURANTE LA MIOCARDIOPATÍA INDUCIDA POR EL ALCOHOLISMO

### La expresión de FGF21 está incrementada en el corazón de pacientes alcohólicos

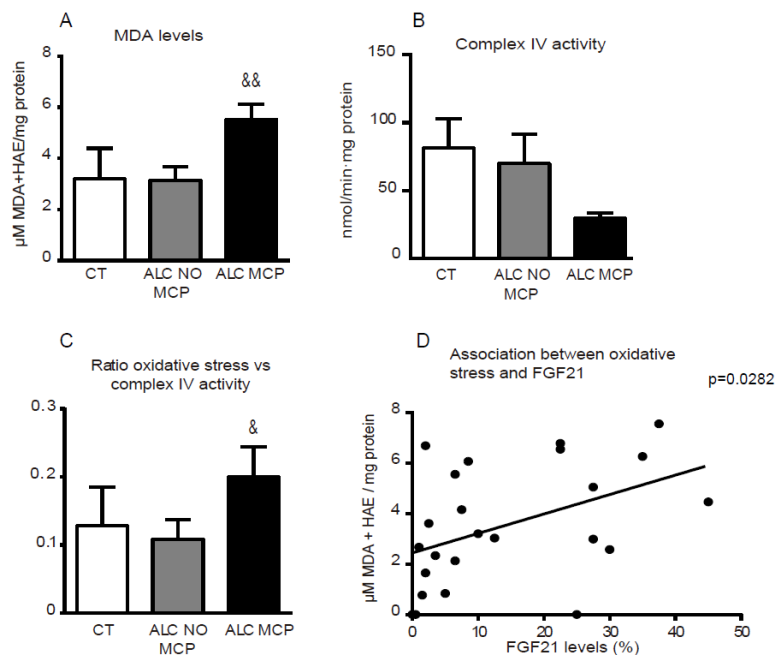
Encontramos un aumento significativo de los niveles circulantes de FGF21 en pacientes alcohólicos frente a no alcohólicos (A). Los donantes cardíacos alcohólicos mostraron un aumento significativo en la tinción de FGF21 tanto en áreas perinucleares como en áreas citoplasmáticas de cardiomiocitos (B). Finalmente, los niveles de proteína FGF21 en el miocardio se asociaron con el grado de hipertrofia de cardiomiocitos y fibrosis intersticial.



### El estrés oxidativo se induce en pacientes alcohólicos que desarrollan cardiomiopatía y se asocia positivamente con los niveles de proteína FGF21 en el miocardio

La peroxidación lipídica en estos corazones se midió mediante la determinación de los niveles de MDA como un indicador de estrés oxidativo. Los niveles de MDA aumentaron significativamente en los corazones de los pacientes alcohólicos (A). El análisis posterior de la actividad del complejo mitocondrial IV indica una clara tendencia a reducirse en el miocardio de los pacientes alcohólicos con cardiomiopatía (B). El estrés oxidativo frente a la actividad del complejo IV también se incrementó significativamente en los corazones de los pacientes alcohólicos cardiomiopáticos (C). Finalmente, encontramos que el estrés oxidativo evaluado mediante los niveles de MDA

se asoció directa, positiva y significativamente con la expresión de FGF21 en el miocardio (D).



### 3) PAPEL DE LA PROTEÍNA *METEORIN-LIKE* (*Metrn1*) EN LA ENFERMEDAD CARDÍACA

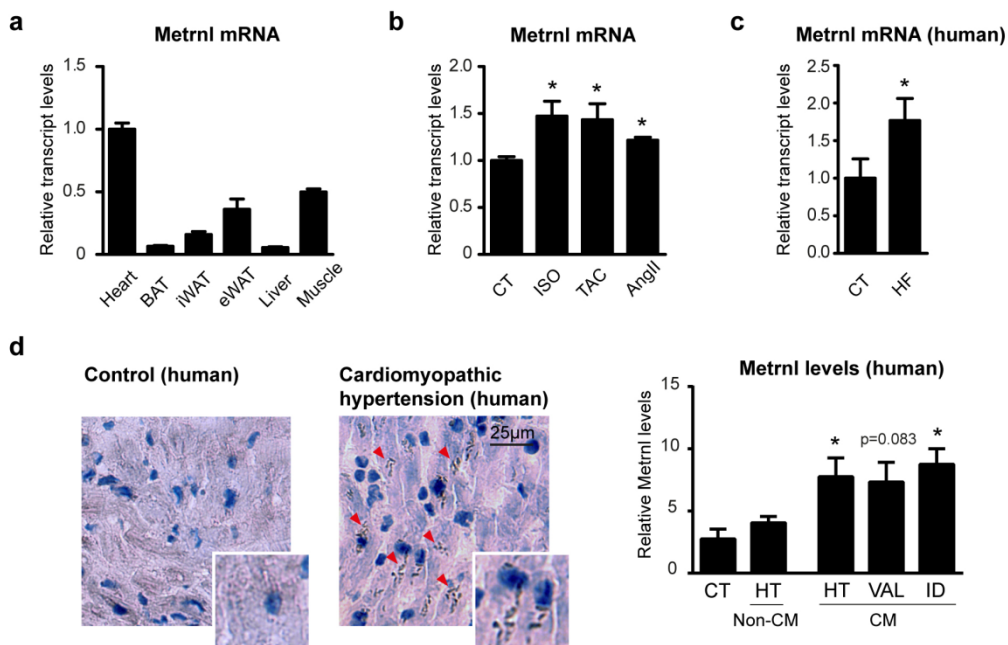
#### ***Metrn1* es un nuevo biomarcador pronóstico para la insuficiencia cardíaca humana**

Examinamos el valor predictivo de *Metrn1* circulante en una gran cohorte de 446 pacientes con insuficiencia cardíaca (edad media: 66,7 años [59-76 años], 72,4% hombres y mediana de fracción de eyección del ventrículo izquierdo [FEVI] del 34,8%) para evaluar el riesgo de mortalidad. En un análisis multivariable integral que incluyó *Metrn1*, edad, sexo, FEVI, etiología isquémica y la presencia de diabetes e hipertensión, solo *Metrn1* (HR 1,175 [IC 95% 1,009-1,369];  $p = 0,038$ ), edad (HR 1,055 [IC 95%: 1,039-1,071];  $p < 0,001$ ) y sexo (HR 0,690 [IC 95% 0,483-0,985];  $p = 0,041$ ) fueron predictores independientes de muerte por todas las causas. Curiosamente, solo la edad (HR 1,05 [IC 95% 1,03-1,07];  $p < 0,001$ ), *Metrn1* (HR 1,12 [IC 95% 1,08-1,71];  $p = 0,008$ ) y la etiología isquémica (HR 1,70 [IC 95% 1,10-2,65];  $p = 0,018$ ) fueron predictores independientes de muerte cardiovascular.

#### ***Metrn1* está altamente expresada en el corazón y está regulada por el estrés cardíaco en ratones y humanos**

Encontramos el nivel de expresión más alto en el corazón, donde el nivel de ARNm de *Metrn1* era más alto que el encontrado en cualquier otro tejido, incluidos los que anteriormente se consideraban fuentes de *Metrn1*, como el tejido adiposo y el musculoesquelético (A). La inducción de hipertrofia cardíaca en distintos modelos experimentales en ratones basada en el tratamiento con el agente hipertrófico isoproterenol (ISO), constricción aórtica transversal (TAC) e hipertensión inducida por angiotensina II (AngII) aumentó significativamente los niveles de expresión de *Metrn1* en el corazón del ratón (B).

Además, los niveles de expresión de *Metrn1* se indujeron significativamente en el corazón de pacientes humanos que padecían insuficiencia cardíaca (C). El análisis inmunohistoquímico reveló un aumento significativo en los niveles de proteína *Metrn1* en pacientes afectados por distintos tipos de miocardiopatía (hipertensiva, valvular e idiopática) (D).

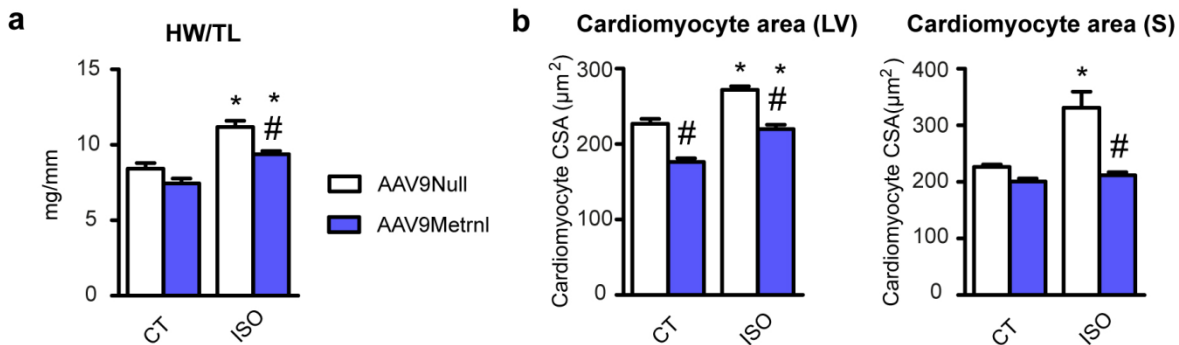


### La sobreexpresión cardíaca específica de *Metrn1* previene el desarrollo de hipertrofia cardíaca

La relación HW/TL (indicativa del desarrollo de hipertrofia cardíaca) se redujo significativamente en ratones en los que la expresión de *Metrn1* en el corazón había sido inducida por la inyección de AAV9-*Metrn1* (A). El examen histológico de las secciones de LV y de septo (S) teñidas con hematoxilina y eosina (H&E) confirmaron que el CSA era significativamente menor en los ratones tratados con ISO inyectados



con AAV9-Metrnl que en los ratones tratados con ISO correspondientes inyectados con el vector nulo AAV9 (B). Confirmamos la cardioprotección por ecocardiografía.



### 3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

Este estudio ha evaluado el papel de las cardiomiocinas FGF21 y Metrnl en el daño cardíaco inducido por el alcoholismo y la hipertensión en un diseño coordinado con muestras humanas y modelos animales experimentales.

A continuación se detallan los principales hallazgos y su relevancia:

- Descubrimos que Metrnl es una nueva cardioquina que promete ser un nuevo agente terapéutico para enfermedades cardíacas y también un nuevo biomarcador para el pronóstico en pacientes con insuficiencia cardíaca.
- FGF21 también aumenta en respuesta al proceso de remodelación cardíaca frente a la lesión por alcohol y a las cardiomiopatías hipertensivas. Este hecho permite considerar el uso de esta cardioquina como un nuevo agente terapéutico en ensayos clínicos o como nuevo biomarcador clínico para evaluar la gravedad de la cardiomiopatía.
- FGF21 se dirige directamente al corazón y lo protege de la enfermedad cardíaca hipertensiva, que afecta especialmente el desarrollo de la fibrosis. Prevenir, o al menos inhibir, la acumulación de niveles patológicos de tejido fibrótico en el miocardio es un objetivo terapéutico importante. Los enfoques conceptuales actuales para las intervenciones terapéuticas se centran en evitar e inhibir la fibrosis, por lo tanto,

proponemos Fgf21 como un agente antifibrótico para el tratamiento de la enfermedad cardíaca hipertensiva

#### 4. Bibliografía científica generada

Rupérez C, Ferrer-Curriu G, Guitart-Mampel M, Garrabou G, Zamora M, Crispi F, Fernández Solà J, Lupón J, Bayes-Genis A, F. Villarroya, Planavila A.

*Meteorin-like is a cardiokine that protects heart against cardiac hypertrophy and acts as a new biomarker for heart failure.*

Science Translational Medicine (enviado).

Fernández Solà J.

*The effects of alcohol on the heart: Alcoholic cardiomyopathy.*

Nutrients 2020-review (enviado).

Fernández Solà J.

*Aspectes clínics i fisiopatològics de la miocardiopatia alcohòlica.*

Revista de la Reial Acadèmia de Medicina de Catalunya 2019; 34 (1): 20-26.

Ferrer-Curriu G, Redondo-Angulo I, Guitart-Mampel M, Rupérez C, Mas-Stachurska A, Sitges M, Garrabou G, Villarroya F, Fernández Solà J, Planavila A.

*Fibroblast growth factor-21 protects against fibrosis in hypertensive heart disease.*

The Journal of Pathology. 2019 May;248(1):30-40. FI: 6.253. D1.

Rupérez C, Lerin C, Ferrer-Curriu G, Cairo M, Mas-Stachurska A, Sitges M, Villarroya J, Giralt M, Villarroya F, Planavila A.

*Autophagic control of cardiac steatosis through FGF21 in obesity-associated cardiomyopathy.*

Int J Cardiol. 2018 Jun 1;260:163-170. FI: 6.189. Q1.

Fernández Solà J.

*Reversibility of alcoholic cardiomyopathy.*

Rev Esp Cardiol 2018 (versión en inglés) Apr 10. pii: S1885-5857(18)30090-2. FI: 1,120. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2017.12.023>.

FernándezSolà J, Estruch R.

*Alcoholic Cardiomyopathy; Old and new insights.*

J Alcoholism & Drug Dependence. 2017; 5 (6): 10000293. DOI 10.4172/2329-6488.1000293. FI: 1,57.

Redondo-Angulo I, Mas-Stachurska A, Sitges M, Tinahones FJ, Giralt M, Villarroya F, Planavila A.

*Fgf21 is required for cardiac remodeling in pregnancy.*

Cardiovasc Res. 2017 May 4. doi:10.1093/cvr/cvx088. FI: 6,29. Q1.

Planavila A, Fernández Solà J, Villarroya F.

*Cardiokines as Modulators of Stress-Induced Cardiac Disorders.*

Adv Protein Chem Struct Biol. 2017;108:227-256. Review. FI: 3,036.

Fernández Solà J, Planavila Porta A.

*New Treatment Strategies for Alcohol-Induced Heart Damage.*

Int J Mol Sci. 2016 Sep 29;17(10). Review. FI: 3,257.

Fernández-Solà J, Planavila Porta A.

*The role of myostatin in alcohol and hypertensive cardiac diseases.*

Medical Research Archives, vol. 4, núm 1,1-15, Jun 2016. Review. FI: 2,645.