



Fundació
La Marató de TV3

21è SIMPOSIUM
Malalties del cor



PAPER DE LES NOVES CARDIOMIOCINES FGF21 I METRNL EN EL DANY CARDÍAC INDUÏT PER L'ALCOHOLISME I LA HIPERTENSIÓ ARTERIAL

Anna Planavila Porta

Facultat de Biologia - Universitat de Barcelona

Joaquim Fernández Solà

Institut d'Investigació Biomèdica August Pi i Sunyer

1. Resum

Actualment, l'alcohol i la hipertensió arterial (HTA) són factors de risc ben identificats de dany cardíac progressiu que acaben provocant insuficiència cardíaca, la qual continua associant-se a una elevada morbiditat i mortalitat. Atès que no s'espera que es controli l'abús de l'alcohol i es pensa que la hipertensió arterial continuarà sent altament prevalent en la població general, s'han de desenvolupar estratègies comunes per evitar el dany cardíac progressiu. El dany cardíac induït per aquests dos factors, HTA i abús d'alcohol, és altament rellevant entre les malalties cardíques i probablement no disminuirà en les pròximes dècades a causa de la dificultat de controlar els factors de risc primaris de la població. En el dany cardíac i insuficiència cardíaca induïts per l'alcohol i l'HTA hi ha processos mecanicistes comuns que condueixen a aquestes afeccions. Algunes vies comunes que involucren la generació de cardiomiocines locals, l'alteració mitocondrial, el dany oxidatiu, la hipertròfia dels miòcits, la fibrosi i l'apoptosi estan implicades i interrelacionades amb l'alcohol i el dany cardíac induït per HTA.

Els resultats experimentals i algunes dades clíniques assenyalen que noves cardiomiocines recentment identificades estan involucrades en la regulació del dany i el remodelatge cardíac. Entre elles, el factor de creixement de fibroblasts-21 (FGF21) sembla tenir un paper rellevant, mentre que les dades preliminars assenyalen que també pot tenir rellevància la participació de la proteïna *meteorin-like* (Metrnl). La nostra hipòtesi és que aquestes cardiomiocines emergents poden ser rellevants en la patogènesi del dany cardíac induït per l'HTA i per l'alcohol. A més, FGF21 i Metrnl poden ser eines terapèutiques per si mateixes que podrien modular la progressió del dany cardíac induït per l'alcohol i l'HTA.

Objectius

1) Definir el paper d'FGF21 i Metrnl en el miocardi en resposta al dany cardíac induït per la hipertensió i l'alcoholisme. Caracteritzar, en un model de ratolí amb miocardiopatia induïda experimentalment (alcoholisme i hipertensió), com la intervenció afecta el sistema FGF21 i Metrnl (sistèmic i específic al cor), i relacionar això amb les alteracions cardíques induïdes (hipertròfia cardíaca, fibrosi, alteracions funcionals i inducció de desregulació metabòlica i inflamatòria cardíaca).

2) Establir si la manca d'un sistema funcional FGF21 i *Metrnl* (ratolins genoanul·lats o *knock-out*) exacerba els efectes nocius cardíacs induïts en el model anterior.

3) Analitzar i validar l'expressió de la proteïna i el gen FGF21/*Metrnl* en mostres cardíques humanes de pacients hipertensos i alcohòlics que desenvolupen cardiomiopaties.

4) Avaluar la influència de l'apoptosi mitocondrial i la funció en el dany cardíac induït per la hipertensió i l'alcohol.

5) Avaluar els efectes i la base mecanicista d'una possible intervenció terapèutica per disminuir els efectes de l'abús de l'alcohol i l'HTA en el dany cardíac. Determinar si el tractament amb FGF21 o *Metrnl* restaura o protegeix la funció cardíaca en un model cel·lular (cardiomiòcits) d'hipertrofia cardíaca induïda per HTA i en els models de ratolí descrits anteriorment.

Metodologia

1. Estudis en animals. Induirem dany cardíac causat per alcohol o hipertensió experimentalment en ratolins deficients per als gens FGF21 o *Metrnl* (en col·laboració amb MMRC) o sobreexpressió (per injecció de virus adenoassociats AAV), pels mètodes següents, que s'utilitzen habitualment:

-Els ratolins adults seran sotmesos a una dieta líquida amb etanol isocalòric al 4% (vol/vol) durant un període de 12 setmanes per induir dany cardíac.

-La hipertensió s'induirà per la infusió d'angiotensina-II (0,7 mg/kg/dia) mitjançant la implantació subcutània de minibombes osmòtiques durant una setmana.

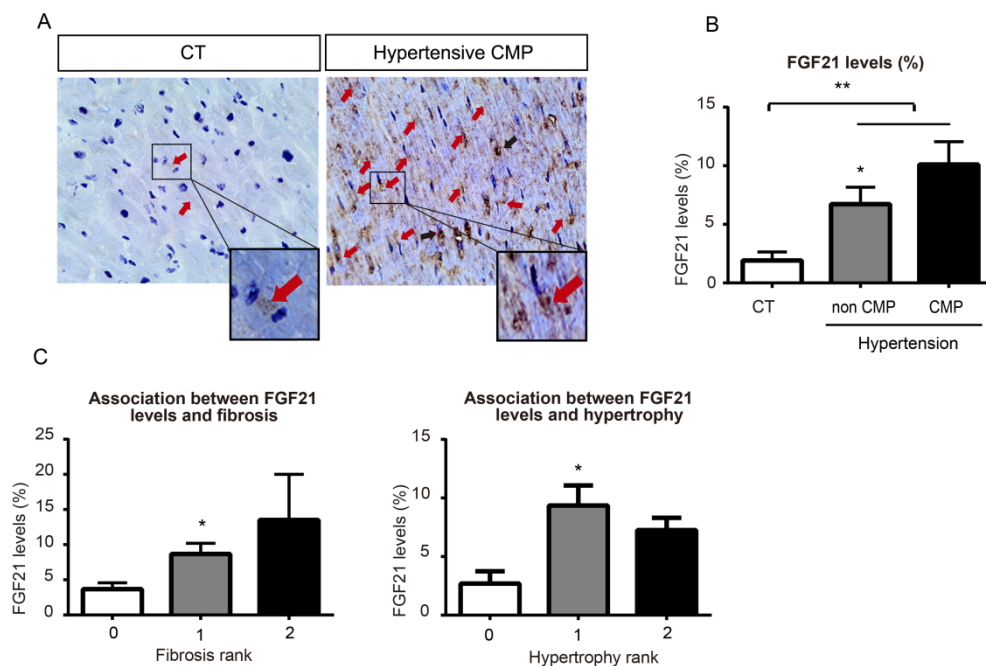
2. Mostres humanes. Durant un període de 5 anys, els cors dels subjectes que van patir mort cerebral d'origen traumàtic o cerebrovascular es van recol·lectar consecutivament a l'Hospital Clínic de Barcelona. Hi va haver 52 cors de donants menors de 70 anys que no eren adequats per al trasplantament i estaven disponibles per a fins d'estudi científic. D'aquests donants, alguns patien alcoholisme i d'altres hipertensió. A més, 7 cors de persones prèviament sanes no eren aptes per a la implantació a causa de la manca d'un receptor compatible o per no tenir la mida suficient; aquests donants van ser tractats com a subjectes de control.

2. Resultats

1) PAPER D'FGF21 DURANT LA CARDIOMIOPATIA INDUÏDA PER HIPERTENSIÓ

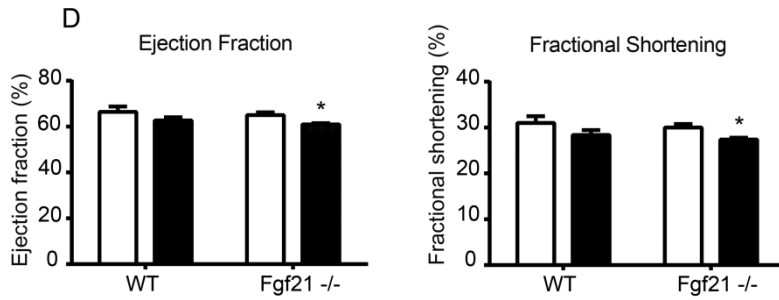
L'expressió d'FGF21 està incrementada en el cor de pacients hipertensos

Els nivells de la proteïna FGF21 van ser significativament superiors en el teixit cardíac dels donants hipertensos, especialment en aquells que van desenvolupar cardiomiopatia en comparació amb els cors control (A, B). Els nivells de proteïna FGF21 en el miocardi es van correlacionar amb el grau d'hipertrofia dels cardiomiòcits i la fibrosi intersticial (C).

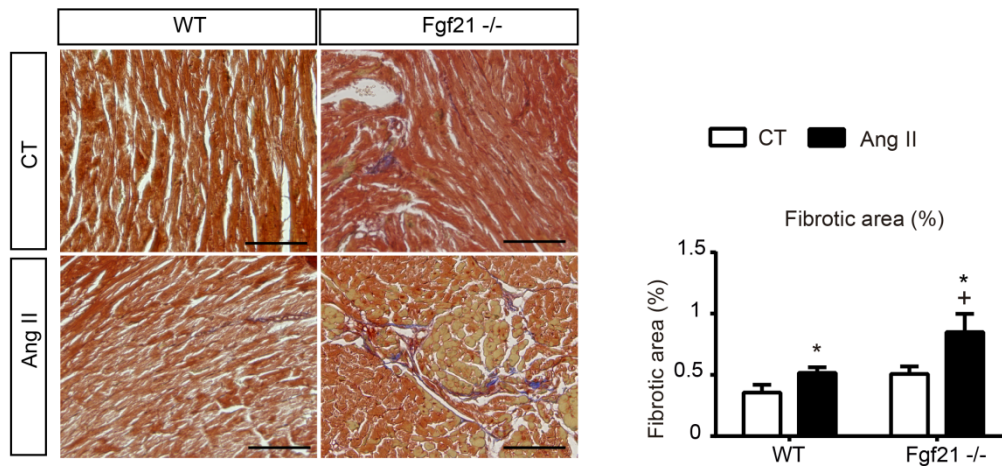


La manca d'FGF21 empitjora el remodelatge cardíac i incrementa la fibrosi en la malaltia cardíaca hipertensiva

Vam analitzar l'impacte de la deficiència d'FGF21 en la morfologia cardíaca 1 setmana després de la infusió d'AngII en ratolins wt i FGF21^{-/-}. Els mesuraments per ecocardiografia van revelar que tant la fracció d'ejecció (EF) com la fracció d'escurçament (FS) es van reduir significativament en els ratolins FGF21^{-/-} hipertensos, cosa que indica una disfunció cardíaca clara.

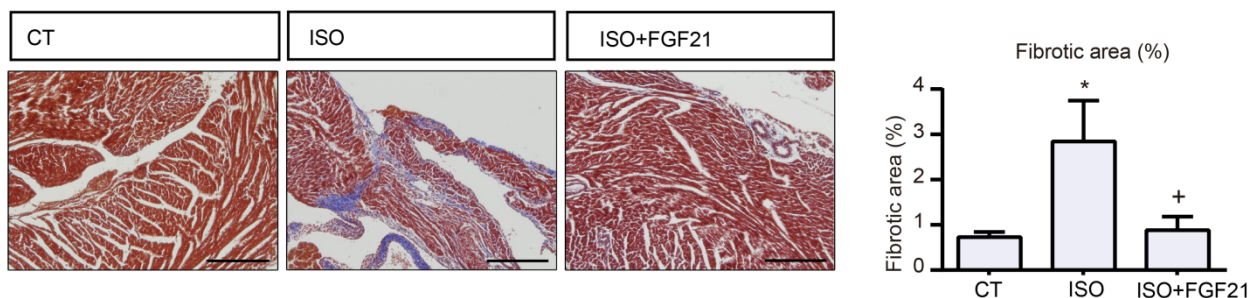


L'anàlisi dels cors mitjançant la tinció amb colorant tricròmic de Masson va mostrar evidències de certa fibrosi en ratolins hipertensos wt, però va mostrar un augment significatiu en les àrees fibròtiques en els cors de ratolins FGF21^{-/-} després del tractament amb AngII en comparació amb ratolins hipertensos wt.



FGF21 protegeix contra la fibrosi cardíaca

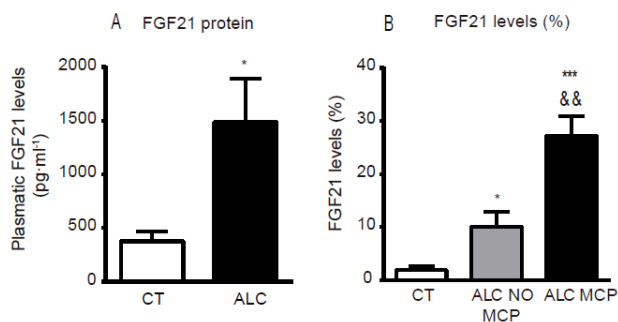
La inducció de fibrosi cardíaca en un model de ratolí mitjançant tractament amb isoproterenol (ISO) va mostrar com el tractament amb FGF21 durant 7 dies protegia enfront del desenvolupament de la fibrosi.



2) PAPER D'FGF21 DURANT LA CARDIOMIOPATIA INDUÏDA PER L'ALCOHOLISME

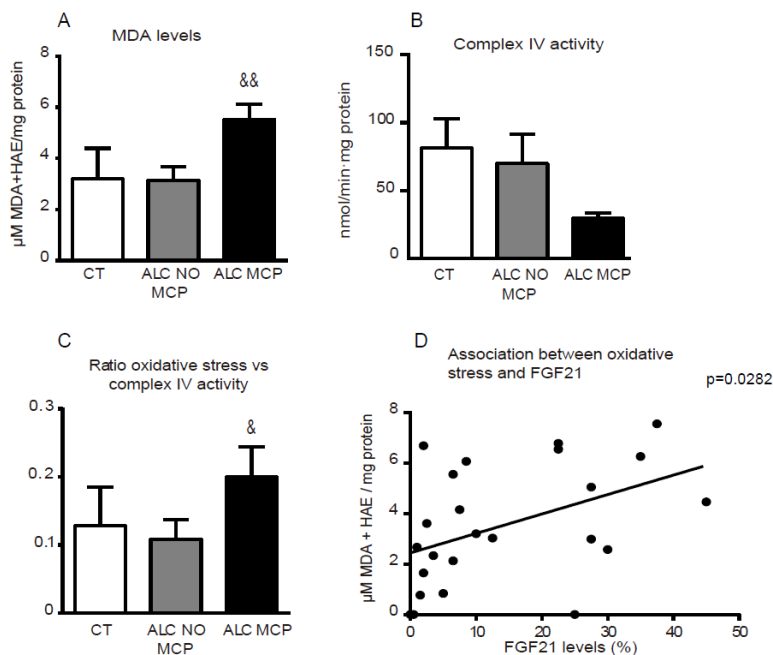
L'expressió d'FGF21 està incrementada en el cor de pacients alcohòlics

Vam trobar un augment significatiu dels nivells circulants d'FGF21 en pacients alcohòlics enfront de no alcohòlics (A). Els cors de donants cardíacs alcohòlics van presentar un augment significatiu en la proteïna FGF21 (B). Finalment, els nivells de proteïna FGF21 en el miocardi es van associar amb el grau d'hipertròfia dels cardiomiòcits i la fibrosi intersticial.



L'estrès oxidatiu s'indueix en pacients alcohòlics que desenvolupen cardiomiopatia i s'associa positivament amb els nivells de proteïna FGF21 en el miocardi

La peroxidació lipídica en aquests cors es va mesurar mitjançant la determinació dels nivells d'MDA com un indicador d'estrès oxidatiu. Els nivells d'MDA van augmentar significativament en els cors dels pacients alcohòlics (A). L'anàlisi posterior de l'activitat del complex mitocondrial IV indica una clara tendència a reduir-se en el miocardi dels pacients alcohòlics amb miocardiopatia (B). L'estrès oxidatiu enfront de l'activitat del complex IV també es va incrementar significativament en els cors dels pacients alcohòlics miocardiopàtics (C). Finalment, trobem que l'estrès oxidatiu avaluat mitjançant la determinació dels nivells d'MDA es va associar directament, positivament i significativament amb l'expressió d'FGF21 en el miocardi (D).



3) PAPER DE LA PROTEÏNA *METEORIN-LIKE* (Metrnl) EN LA PATOLOGIA CARDÍACA

Metrnl és un nou biomarcador pronòstic per a la insuficiència cardíaca humana

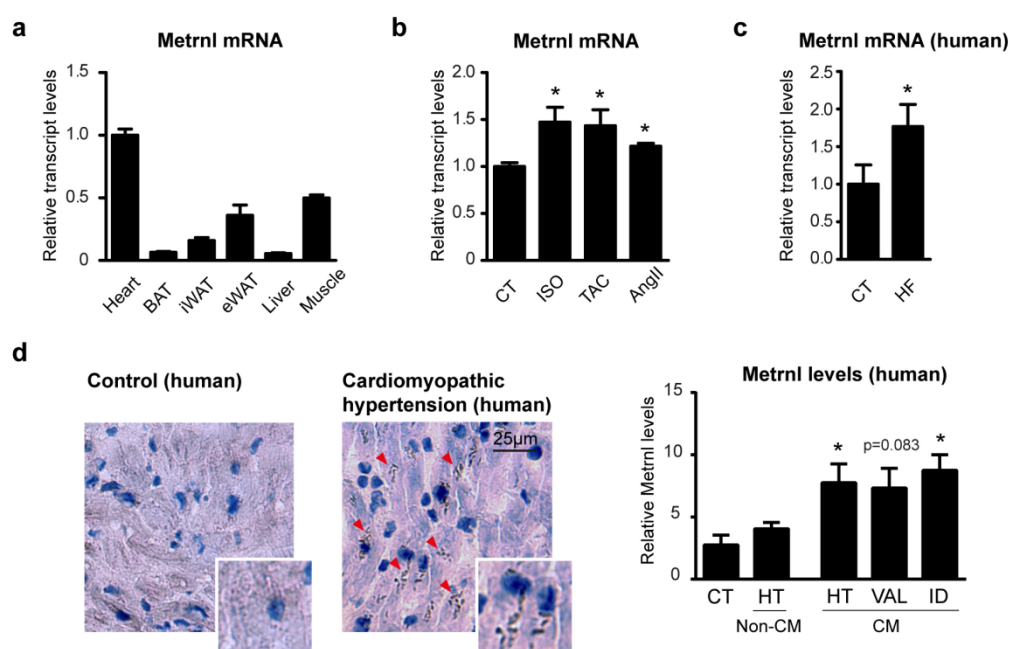
Vam examinar el valor predictiu de la Metrnl circulant en una gran cohort de 446 pacients amb insuficiència cardíaca (edat mitjana: 66,7 anys [59-76 anys], 72,4% homes i mitjana de fracció d'ejecció del ventricle esquerre [FEVE] del 34,8%) per avaluar el risc de mortalitat. En una anàlisi multivariable integral que va incloure Metrnl, edat, sexe, FEVE, etiologia isquèmica i la presència de diabetis i hipertensió, només Metrnl (HR 1,175 [IC 95% 1,009-1,369]; $p = 0,038$), edat (HR 1,055 [IC 95%: 1,039-1,071]; $p < 0,001$) i sexe (HR 0,690 [IC 95% 0,483-0,985]; $p = 0,041$) van ser predictors independents de mort per a totes les causes. Curiosament, només l'edat (HR 1,05 [IC 95% 1,03-1,07]; $p < 0,001$), Metrnl (HR 1,12 [IC 95% 1,08-1,71]; $p = 0,008$) i l'etiologia isquèmica (HR 1,70 [IC 95% 1,10-2,65]; $p = 0,018$) van ser predictors independents de mort cardiovascular.

Metrnl està altament expressada al cor i està regulada per l'estrès cardíac en ratolins i humans

Vam trobar que els nivells d'expressió de Metrnl al cor eren més alts que els trobats en qualsevol altre teixit, inclosos els que anteriorment es consideraven fonts de Metrnl, com el teixit adipós i el musculoesquelètic (A). La inducció d'hipertròfia cardíaca en

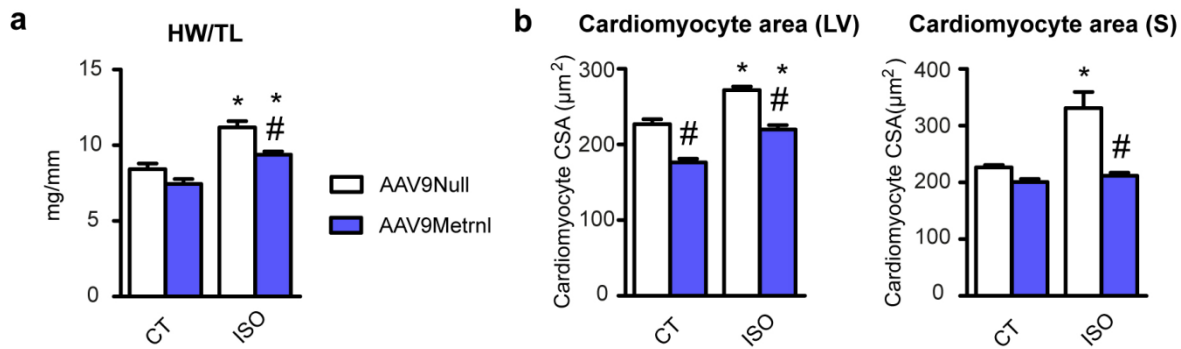
diferents models experimentals de ratolí basada en el tractament amb l'agent hipertròfic isoproterenol (ISO), constricció aòrtica transversal (TAC) i hipertensió induïda per angiotensina II (AngII), va fer augmentar significativament els nivells d'expressió de *Metn1* al cor (B).

A més, els nivells d'expressió de *Metn1* es van induir significativament en el cor de pacients humans que pateixen insuficiència cardíaca (C). L'anàlisi immunohistoquímica va revelar un augment significatiu en els nivells de la proteïna *Metn1* en pacients afectats per diferents tipus de cardiomiopatia (hipertensiva, valvular i idiopàtica) (D).



La sobreexpressió cardíaca específica de *Metn1* prevé el desenvolupament d'hipertròfia cardíaca

La relació HW/TL (indicativa de desenvolupament d'hipertròfia cardíaca) es va reduir significativament en ratolins en què l'expressió de *Metn1* al cor havia estat induïda per la injecció d'AAV9-*Metn1* (A). L'examen histològic de les seccions del ventricle esquerre (LV) i del septe (S) tenyides amb hematoxilina i eosina (H&E) van confirmar que l'àrea dels cardiomiòcits era significativament més petita en els ratolins tractats amb ISO injectats amb AAV9-*Metn1* que en els ratolins tractats amb ISO injectats amb el vector nul AAV9 (B). La cardioprotecció es va confirmar mitjançant ecocardiografia.



3. Rellevància i possibles implicacions futures

Aquest estudi ha avaluat el paper de les cardiomiocines FGF21 i Metrnl en el dany cardíac induït per hipertensió i alcoholisme en un disseny coordinat amb mostres humanes i models animals experimentals.

A continuació es detallen les troballes principals i la seva rellevància:

- Hem descobert que la proteïna Metrnl és una cardioquina que promet ser un nou agent terapèutic per a malalties cardíques i també un nou biomarcador per al pronòstic en pacients amb insuficiència cardíaca.
- FGF21 també augmenta en resposta al procés de remodelatge cardíac enfront de la lesió per alcohol i de les cardiomiopaties hipertensives. Aquest fet permet considerar l'ús d'aquesta cardioquina com un nou agent terapèutic en assajos clínics o bé com a nou biomarcador clínic per avaluar la gravetat de la cardiomiopatia.
- FGF21 actua directament al cor i el protegeix de la malaltia cardíaca hipertensiva, que afecta especialment el desenvolupament de la fibrosi. Prevenir, o almenys inhibir, l'acumulació de nivells patològics de teixit fibròtic en el miocardi és un objectiu terapèutic important. Els enfocaments conceptuals actuals per a les intervencions terapèutiques se centren a evitar i inhibir la fibrosi, per tant, proposem FGF21 com un agent antifibròtic per al tractament de la malaltia cardíaca hipertensiva.

4. Bibliografia 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 (enviat).

Fernández Solà J.
The effects of alcohol on the heart: Alcoholic cardiomyopathy.
Nutrients 2020-review (enviat).

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 (versió en anglès) 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.