

Papel de la leptina en la fibrosis cardiaca asociada a la obesidad en ratas

**Iván Martínez Redondo. Gemma Lafuente Gómez.
Nuria Lafuente Gómez. Esther Lagunas Caballero.**

Grado en Medicina. Universidad Complutense de Madrid.

Ivanma02@ucm.es

Tutora

María Victoria Cachafeiro Ramos

Facultad de Medicina.

vcara@ucm.es

Resumen: Objetivo: El objetivo del estudio fue valorar el posible papel de la leptina en la fibrosis cardiaca asociada a la obesidad. Material y métodos: Se utilizaron ratas Wistar macho que fueron alimentadas con una dieta con alto contenido en grasa (obeso; 33.5% grasa), o estándar (3.5% grasa) durante 6 semanas. Resultados: En comparación con el grupo control, los animales obesos mostraron un incremento mayor del peso corporal (26%) y de la presencia cardiaca de aniones superóxido, además de hipertrofia y fibrosis cardiaca. No se observaron diferencias en los niveles de presión arterial ni en la función cardiaca (valorado por ecocardiograma) entre ambos grupos. La cuantificación de la expresión de niveles proteicos mediante Western blot mostró un incremento en los niveles cardiacos de leptina, colágeno I, galectina 3 y el factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta) en los animales del grupo obeso en comparación con los del grupo control. Sin embargo, se observó una reducción en los de la metaloproteinasa (MMP-2) pero no cambios en los de su inhibidor TIMP-1. Los niveles cardiacos de leptina se correlacionaron directamente con los de colágeno total, colágeno I y TGF-beta, e indirectamente con los de MMP-2. Conclusiones: Los datos sugieren que la leptina producida localmente a nivel cardíaco podría participar en la fibrosis observada en el corazón de los animales obesos mediante la modulación de los niveles de colágeno.

Palabras clave: estrés oxidativo. Fibrosis. Leptina. Miofibroblastos cardiacos. Obesidad.

INTRODUCCIÓN

La incidencia de la obesidad ha aumentado drásticamente en los últimos años,

afectando a todas las edades. La obesidad está asociada a un incremento en la mortalidad total, especialmente de origen cardiovascular, jugando un papel central en el desarrollo de distintas patologías, como la diabetes mellitus tipo 2, hipertensión e hiperlipidemia⁽¹⁾.

La obesidad se asocia con cambios funcionales y estructurales del sistema cardiovascular. El remodelado cardiaco es una alteración común observada en pacientes obesos, aunque su patrón no está bien establecido. El remodelado cardiaco puede implicar tanto cambios fenotípicos en los miocitos, como en la matriz extracelular, que pueden ser debidos tanto a factores hemodinámicos como a factores locales producidos por la grasa ectópica acumulada en el corazón⁽²⁾. La grasa epicárdica produce adipoquinas que pueden tener efectos directos en el miocardio al no haber estructuras fasciales entre dicha grasa y el miocardio⁽³⁾. Dentro de estas adipoquinas, la leptina ha sido el centro de atención como un potencial mediador de las alteraciones cardiacas observadas en la obesidad. Se ha comprobado que ejerce acciones hipertróficas y profibróticas en cardiomiocitos, y prooxidantes en células endoteliales, que pueden afectar a la función cardiaca⁽⁴⁾. En concreto, el objetivo de este estudio fue valorar el posible papel de la leptina en la fibrosis cardiaca asociada a la obesidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon dos grupos experimentales, cada uno de ellos integrado por ocho ratas Wistar macho de 150g (Harlan Ibérica, Barcelona, España). Uno de los grupos fue alimentado con una dieta rica en grasas (obesos, 33.5% grasa; Harlan Teklad #TD.03307, MN, USA); mientras que el grupo control fue alimentado con una dieta estándar (3.5% grasa; Harlan Teklad #TD.2014, MN, USA) durante seis semanas.

El Comité para el Cuidado y Uso de los Animales de experimentación de la Universidad Complutense de Madrid aprobó todos los procedimientos experimentales de acuerdo con las normas de cuidado ético de animales experimentales de la Unión Europea.

Se efectuaron mediciones semanales del peso y los niveles de presión arterial sistólica medida de manera indirecta en la cola del animal. Además, el consumo de agua y comida se determinó durante el periodo experimental. Al final del periodo de evolución se valoró la estructura y la función sistólica del corazón mediante una ecocardiografía transtorácica, para la cual se empleó una Acuson Sequoia 256 (Siemens Medical Solutions, Germany) conectada a un transductor lineal de 15 MHz. Se tomaron registros en 2D para medir las dimensiones de la cavidad del ventrículo izquierdo, así como el grosor del septo interventricular y la pared posterior del corazón.

Posteriormente se sacrificaron los animales y se determinó el peso del corazón, que se normalizó por la longitud de la tibia, para evitar la interferencia del peso corporal como factor de confusión. Además, se determinó el área de fibrosis intersticial en relación con la superficie total del tejido cardíaco. Para ello, se analizaron las muestras con el programa de análisis Metamorph 7.0 (Molecular Devices Corporation, USA) tras haberlas deshidratado, fijado en parafina y teñido con tinción rojo sirio. Además se analizó el tamaño de los cardiomiocitos en cortes de corazón teñidos con hematoxilina-eosina.

La presencia de aniones superóxido en el tejido cardíaco se valoró mediante intensidad de fluorescencia inducida por dihidroetidio y cuantificado con el programa Metamorph a partir de la media de tres medidas tomadas en cada animal.

La técnica de Western Blot se empleó para valorar los niveles proteicos de diferentes mediadores profibróticos en las muestras de tejido.

Los datos se expresan como la media $\pm$ error estándar. El test de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para comprobar que los datos siguen una distribución normal. La asociación entre las variables se estudió con el coeficiente de correlación de Pearson, y el test t de Student se empleó para valorar si las medias entre los grupos eran estadísticamente diferentes.

RESULTADOS

Al cabo de las seis semanas de seguimiento, se comprobó que el incremento relativo en el peso corporal fue un 26% mayor en las ratas obesas que en las ratas del grupo control. De hecho, ya desde la primera semana se pudo observar que la ganancia de peso era significativamente mayor en el grupo obeso. En cuanto al estudio ecocardiográfico, se determinó que los parámetros estructurales y funcionales del ventrículo izquierdo eran similares en ambos grupos. Tampoco se observaron diferencias en los niveles de presión arterial sistólica (Tabla 1).

A nivel molecular, las ratas del grupo obeso mostraron niveles cardíacos de leptina más altos que las del grupo control (Fig. 1), aunque no se observaron diferencias en los niveles de adiponectina (datos no mostrados). Asimismo, las ratas obesas presentaron un mayor grado de fibrosis cardíaca (comprobado por el mayor volumen relativo de colágeno), mayor presencia de aniones superóxido y mayores niveles de colágeno I, galectina-3 y TGF-beta en comparación con el grupo control, si bien presentaron niveles similares de CTGF (factor de crecimiento de tejido conectivo) (Fig. 1). Además, mostraron una reducción en los niveles de MMP-2, mientras que los de TIMP-1, su inhibidor, se mantuvieron sin cambios, lo que parece indicar una menor degradación de colágeno al verse reducida la actividad de la MMP-2 (Fig. 1).

	CONTROL	OBESAS
PESO CORPORAL (g)	321.2±9.7	362.7±8.6**
PAS (mmHg)	119.5±2.2	118.8±3.2
PESO RELATIVO DEL CORAZÓN (g/cm tibia)	0.021±0.001	0.024±0.001*
SIV (mm)	1.96±0.16	1.89±0.21
PP (mm)	2.25±0.2	1.65±0.28
DTSVI (mm)	2.6±0.29	2.16±0.29
DTDVI (mm)	4.49±0.5	3.99±0.4
FE (%)	79.2±5.4	82.2±3.8

Tabla 1. Peso corporal, presión arterial, peso relativo del corazón y parámetros ecocardiográficos en el grupo control y en el grupo obeso. PAS: presión arterial sistólica. SIV: grosor del septo interventricular, PP: grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo; DTSVI: diámetro sistólico final del VI; DTDVI: diámetro diastólico final (del VI); FE fracción de eyección. Los datos representan la media ± error estándar de la media de ocho animales. *p < 0.05 comparado con el grupo control. **p < 0.01 comparado con el grupo control.

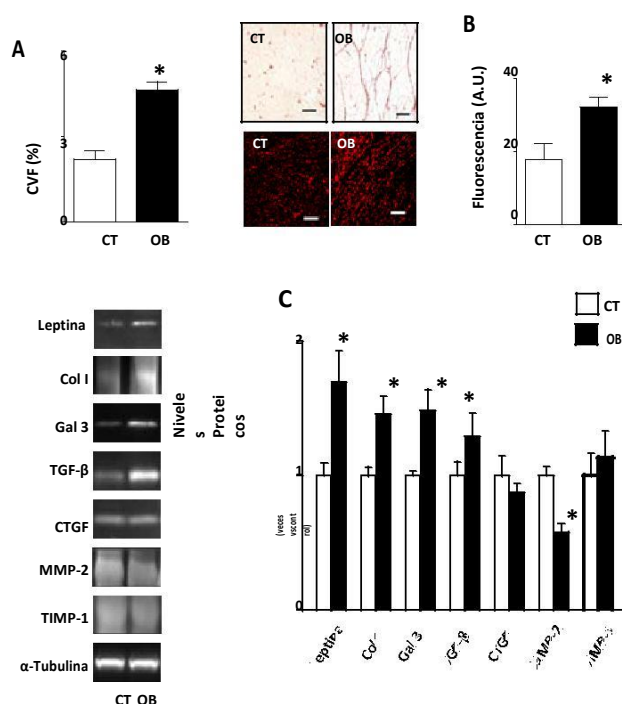


Figura 1. A. Contenido relativo de colágeno cardíaco (CVF) en ratas controles y obesas. B. Cuantificación por fluorescencia de la producción de aniones superóxido en ambos grupos. C. Niveles cardíacos de leptina, colágeno I, galectina 3, TGF-beta, CTGF, MMP-2 y TIMP-1 en el grupo control y en el grupo obeso.

Se encontró una correlación directa entre los niveles de leptina con el contenido de colágeno cardíaco ($r^2=0.748$, $p<0.0001$) y los niveles de TGF-beta ($r^2=0.421$, $p<0.03$).

Los niveles de MMP-2 ($r^2=-0.429$, $p<0.03$), por su parte, se correlacionaron indirectamente con los de leptina.

DISCUSIÓN

La obesidad está asociada con alteraciones cardíacas que incluyen la fibrosis, pero los mecanismos subyacentes no se conocen completamente. Los datos obtenidos en este estudio avalan el papel determinante de la leptina debido a que el incremento de los niveles de esta adipoquina se acompaña de un aumento en la fibrosis intersticial. De hecho, se encontró una correlación positiva entre la leptina cardíaca y el contenido de colágeno.

La leptina ejerce un efecto profibrótico en el corazón, el cual parece implicar no solamente una mayor síntesis, sino también una menor degradación de matriz extracelular. Los animales obesos muestran mayores niveles de colágeno I y menores de MMP-2 que los animales control, que están directa e indirectamente correlacionados con los niveles cardíacos de leptina respectivamente.

Este efecto profibrótico inducido por leptina parece estar mediado por la galectina 3, ya que sus niveles son mayores en los animales obesos que en los controles. Diversos estudios han demostrado que la galectina-3 es un factor profibrótico y proinflamatorio en diferentes situaciones patológicas⁽⁵⁾.

Por su parte, los niveles de TGF-beta (un factor profibrótico bien establecido) están correlacionados directamente con los de leptina y colágeno en el corazón. Un aumento de los niveles de este factor se observa en el grupo de ratas obesas, lo que apoya su posible participación en la fibrosis miocárdica observada en los animales obesos. Sin embargo, no se observaron diferencias en los niveles de CTGF entre los animales obesos y controles, lo que indicaría que este factor de crecimiento no parece jugar un papel central en la fibrosis cardíaca asociada a la obesidad, al menos en este período de evolución, aunque no podemos descartar su posible implicación en las primeras fases de la fibrosis cardíaca.

CONCLUSIONES

En conclusión, nuestros datos muestran que la obesidad se asocia con la aparición temprana de fibrosis cardíaca, que podría jugar un papel importante en los cambios cardíacos estructurales y funcionales que se asocian con un aumento del peso corporal. La leptina, producida localmente en el corazón, podría estar implicada en la aparición de fibrosis, modulando tanto la síntesis como la degradación de colágeno⁽⁶⁾.

Este estudio contribuye al entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos implicados en el daño cardíaco asociado a la obesidad, un problema importante de salud que se relaciona con una mayor morbilidad y mortalidad, especialmente de origen cardiovascular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Zalesin KC, Franklin BA, Miller WM, Peterson ED, McCullough PA. Impact of obesity on cardiovascular disease. *Med Clin North Am* 2011;95:919-6 937.
2. Litwin SE. Cardiac remodeling in obesity: time for a new paradigm. *JACC 19 Cardiovasc Imaging* 2010;3:275-277.
3. Iacobellis G, Malavazos AE, Corsi MM. Epicardial fat: from the 30 biomolecular aspects to the clinical practice. *Int J Biochem Cell Biol* 2011;43:1651-1654.
4. Luaces M, Cachoeiro V, Garcia-Munoz-Najar A, Medina M, Gonzalez N, 15 Cancer E, et al. Anatomical and functional alterations of the heart in morbid obesity. Changes after bariatric surgery. *Rev Esp Cardiol* 2012;65:14-21.
5. de Boer RA, Voors AA, Muntendam P, van Gilst WH, van Veldhuisen DJ. 10 Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. *Eur J Heart Fail* 2009;11:811-817.
6. Martínez-Martínez E, Jurado-López R, Valero-Muñoz M, Bartolomé MV, Ballesteros S, Luaces M, Briones AM, López-Andrés N, Miana M, Cachoeiro V. Leptin induces cardiac fibrosis through galectin-3, mTOR and oxidative stress: potential role in obesity. *J HYPERTENS*. 2014. Citado en PubMed PMID: 24583846.

Recibido: 17 marzo 2014.

Aceptado: 26 abril 2014.