

Palabras clave

Hormona liberadora de tirotrófina, corazón, hipertrofia, fibrosis, roedores.

Abreviaturas utilizadas

AII: angiotensina II
ADN: ácido desoxirribonucleico
ANP: péptido natriurético auricular
ARN: ácido ribonucleico
ATI: receptor de angiotensina II 1
BNP: péptido natriurético cerebral
ET: endotelina
ETa: receptor de endotelina A
SHR: rata espontáneamente hipertensa
SNC: sistema nervioso central
TGF β 1: *transforming growth factor Beta 1*
TRH: hormona liberadora de tirotrófina
WKY: wistar kyoto
 β MHC: cadena pesada de miosina tipo beta

Síntesis Inicial

En las últimas dos décadas, numerosos trabajos han descrito la presencia del sistema de la Hormona Liberadora de Tirotrófina en el tejido cardíaco de roedores. Hasta el presente se desconoce su función, aunque recientemente diversos autores han aportado resultados que sugieren la participación de este sistema en el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda.

La TRH es un tripéptido (p-Glu-His-Pro-NH₂) inicialmente identificado en el hipotálamo y luego en gran parte del SNC y en tejidos extra-neurales, como intestino, páncreas y próstata.¹ En la actualidad se han descrito numerosas acciones de la TRH tanto centrales como periféricas, independientes de la producción de hormonas tiroideas. La presencia de un sistema de TRH localizado en el núcleo paraventricular y preóptico del hipotálamo sugirió un rol directo en la fisiología cardiovascular, que incluye la demostración de que la TRH participa de la regulación de la presión arterial en roedores.²

Durante la década del '90 se ha identificado al sistema de la TRH en el corazón. A diferencia del sistema TRH hipotalámico, el sistema de TRH cardíaco es estimulado por los glucocorticoides y por testosterona, y, por el con-

trario, no se ve afectado por cambios en los niveles de la hormona T₃.

Años más tarde, el grupo de Hasegawa describe un efecto inotrópico de la TRH sobre el miocardio, lo que sugiere que este efecto podría ser mediado por un aumento en la corriente de calcio.³ Luego, el trabajo de Socci y colaboradores demostró que la TRH modula la contractilidad cardíaca en experimentos utilizando corazón aislado de rata e involucrando al receptor de la TRH.⁴ Tiempo más tarde, estos resultados fueron confirmados *in vivo* en experimentos con perros e *in vitro* utilizando miocitos en cultivo.⁵

Con el advenimiento de las técnicas de *microarrays* de ADN, Jin y colaboradores identificaron al gen del precursor de la TRH (preproTRH) como uno de los genes inducidos en el ventrículo izquierdo en ratas con falla cardíaca a las

8 semanas después de provocado el infarto de miocardio. Estos resultados ubicaron al sistema de la TRH cardíaco en la larga lista de sistemas que participan de la fisiología cardíaca, a pesar de que hasta la fecha el rol de la TRH cardíaca permanece incierto. Si bien la administración de TRH exógena en dosis farmacológicas ha ayudado a identificar los potenciales efectos de la TRH, la investigación acerca de su función endógena a través de sus receptores específicos en el tejido cardíaco ha sido dificultosa por la falta de antagonistas comerciales.

Las ratas SHR utilizadas como un buen modelo de la hipertensión esencial del humano presentan una progresión gradual hacia la hipertrofia miocárdica, con marcada fibrosis, disfunción del ventrículo izquierdo y falla cardíaca. La hipertensión en estas ratas aparece alrededor de las 8 semanas de vida y luego se establece, lo que induce una marcada hipertrofia y falla cardíaca en la adultez alrededor de las 24 semanas de edad, acompañada por una significativa inducción en la expresión de los genes que codifican a los componentes de la matriz extracelular. Asociado a la alteración en la expresión de genes se observa una marcada fibrosis, que conlleva a una disfunción del ventrículo izquierdo. Fue utilizando este modelo que se estudió la expresión del sistema de la TRH (precursor (ARNm), péptido y su receptor específico) a dos edades que representan el estado normal del ventrículo (7 semanas) y cuando ya se observa una marcada hipertrofia del ventrículo izquierdo (18 semanas). A favor de los resultados obtenidos con *microarrays*, se observó la inducción de más de 10 veces de la expresión del precursor de TRH, acompañada de un significativo aumento en la expresión del receptor específico y del tripéptido en el ventrículo izquierdo hipertrofiado del grupo de 18 semanas, sin observar cambios en el resto de los tejidos cardíacos. Basados en esos resultados, surgió la hipótesis acerca de que la TRH fuera promotora del daño cardíaco y que su inhibición podría ser capaz de prevenir la hipertrofia ventricular izquierda en las SHR. La inhibición prolongada de TRH se logró al utilizar una inyección intracardiaca (bajo ecógrafo en el animal anestesiado) de ARN de interferencia contra TRH o un ARN de interferencia control (*scrambled*) diseñados mediante un software comercial, cada dos semanas, hasta el final del experimento (8 semanas). Como era predecible, el tratamiento que normalizó la expresión y el contenido de TRH en los animales de 18 semanas de edad no produjo cambios en la presión arterial y, sin embargo, a pesar de la elevada carga de trabajo, normalizó el índice de hipertrofia (peso corazón/peso corporal), previno la hipertrofia de los miocitos y la fibrosis del ventrículo izquierdo además de atenuar la expresión de uno de los marcadores de hipertrofia, el péptido natriurético B.⁶

El mencionado estudio demuestra la eficiente prevención de la hipertrofia cardíaca en un modelo de hipertrofia cardíaca con inhibición de TRH mediante ARN de interferencia y da surgimiento a nuevos interrogantes. La inhibición de TRH con la consecuente prevención de hipertrofia cardíaca, aun en presencia de hipertensión grave, ¿es beneficiosa o, por el contrario, acrecentará el riesgo de desarrollar una falla cardíaca más grave?

De acuerdo a la ley de Laplace, un aumento en el grosor de la pared del ventrículo izquierdo intentaría compensar la carga de trabajo y hasta podría pensarse como adaptativa, por ende, su inhibición desencadenaría un aumento de la gravedad de la falla cardíaca, especulación que debería ser probada con un experimento más prolongado. Por otro lado, este mismo experimento muestra que la hipertrofia y la fibrosis pueden ser prevenidas mediante la inhibición del sistema de la TRH cardíaco, independientemente de la carga de trabajo, implicando mecanismos específicos del tejido, autócrinos y/o paracrinos, regulables por la TRH cardíaca, lo que sugiere que solo cambios hemodinámicos no son suficientes en el desarrollo de hipertrofia cardíaca.

El modelo de la rata espontáneamente hipertensa ha sido estudiado extensamente y así se han demostrado diversas alteraciones en los sistemas renina angiotensina, endotelinas, simpático, entre otros, que contribuyen a las afecciones cardiovasculares y cardíacas que presentan estos animales. Sobre la base de estas observaciones surgió el interrogante acerca de si la sobreexpresión de TRH cardíaca podría inducir el fenotipo del ventrículo hipertrofiado en una rata por lo demás normal, como las ratas de la cepa Wistar.

Siguiendo esa línea de investigación, Schuman y colaboradores desarrollaron un modelo de sobreexpresión de TRH cardíaca en la rata Wistar macho de 8 semanas de edad. Mediante inyección intracardiaca se administró un plásmido desnudo eucariota que incluye el cADN del precursor de la TRH de rata bajo el promotor fuerte del citomegalovirus (PCMV-TRH), usando como control la inyección del plásmido sin el cADN de TRH (PCMV-Con) y luego de 4 semanas se evaluaron distintos marcadores de fibrosis e hipertrofia entre ambos grupos.

La maniobra mostró ser eficiente ya que se observó un aumento significativo de la expresión del precursor de TRH, su receptor específico y del péptido en el grupo tratado con el PCMV-TRH respecto al grupo control. Mas aún, y a favor de la hipótesis, la sobreexpresión de TRH, única alteración en este modelo, se vio acompañada por un aumento significativo de reconocidos marcadores de hipertrofia, como el BNP y el ANP. Asimismo, este grupo de animales presentó un aumento significativo de la expresión de β MHC y colágeno de tipo III, que fueron confirmados por estudios de histología e inmunohistoquímica en los que se observó un aumento del diámetro de los miocitos y un aumento de la expresión de componentes de la matriz extracelular solo en el grupo con sobreexpresión de TRH. Estos resultados, comparados con la estrategia anterior (inhibición de TRH en la SHR), demostraron que la maniobra de sobreexpresión exógena de TRH no alcanza el incremento de TRH observado en las SHR, el cual fue de alrededor de 10 veces; sin embargo, a pesar de que la maniobra de sobreexpresión en las ratas Wistar solo incrementó la expresión de TRH 2,5 veces respecto al grupo control, este aumento fue capaz de disparar a los marcadores de hipertrofia, así como de inducir a los fibroblastos en la expresión de componentes de la matriz extracelular.⁷ Basados en estos datos se podría especular que si la sobreexpresión

se hubiera mantenido en el tiempo (mediante adenovirus o lentivirus), tal vez se hubiera alcanzado un fenotipo más marcado. Aun así, este trabajo demuestra por primera vez que solo el aumento de TRH en el ventrículo induce el fenotipo de hipertrofia en una rata normal.

Durante el desarrollo de la falla cardíaca se demostraron numerosos cambios respecto a marcadores de hipertrofia, colágenos, componentes de la matriz extracelular, metaloproteasas, etc. La AII y el TGF- β 1 han sido descritos como reguladores de muchos de estos cambios, mas aún, AII induce la expresión y secreción de TGF- β 1 en fibroblastos cardíacos y recientemente se ha descrito que un aumento de TGF- β 1 antecede a la inducción de colágeno I y III. Sobre la base de estos datos es que se evaluó en estos experimentos la expresión de ambos genes angiotensinógeno y TGF- β 1. Sorprendentemente, no se observaron diferencias en ninguno de los dos genes entre ambos grupos de animales, lo que indica que el efecto inducido por TRH no activaría río abajo a la vía AII-TGF- β 1; así, la hipertrofia mediada por TRH podría involucrar nuevas vías y abre posibilidades de nuevos blancos en la enfermedad cardíaca.

En los últimos años se ha demostrado en el sistema nervioso, en áreas extrahipotalámicas que participan de la regulación cardiovascular, que la leptina (hormona liberada por el adipocito), a través de su receptor específico, induce la expresión de TRH; de hecho, ratas obesas hiperleptinémicas poseen un aumento de TRH extrahipotalámica.⁸ Recientemente se han descrito receptores de leptina en corazón⁹, lo que abre la posibilidad de que este mecanismo de aumento de TRH inducido por leptina esté involucrado en los defectos cardíacos observados en los neonatos de ratas obesas hiperleptinémicas, en los cuales se ha observado una marcada fibrosis e hipertrofia.¹⁰ Futuras investigaciones serán necesarias para abordar la posible interacción de la TRH cardíaca con el sistema leptinérgico.

Los resultados comentados sugieren que en situaciones en las cuales el sistema de la TRH cardíaca está hiperactivado, su inhibición sería protectora para el corazón.

Finalmente, aparece un último interrogante a discutir: ¿es el aumento e hiperactividad del sistema de la TRH cardíaco un paso importante para la predisposición del desarrollo de hipertrofia cardíaca?

A favor podríamos mencionar que ambos tipos de receptores específicos de TRH (de tipo 1 y de tipo 2) poseen similar afinidad por su ligando y siguen la vía trasduccional mediada por la familia de proteínas G y fosfolipasa C. Es bien conocida que la vía de las proteínas G es central en la hipertrofia miocárdica, más aún, receptores acoplados también a la proteína G, como el α adrenérgico, el AT1 y el ETa, actúan sobre ella induciendo hipertrofia y proliferación de fibroblastos.

Observaciones de diversos grupos indicarían que los fibroblastos son la fuente más importante de TRH, aunque se ha observado la presencia del precursor de TRH en cultivo de cardiomiocitos de ratas neonatos también lo son, aunque en mucha menor cantidad que lo observado en fibroblastos.

Basados en que se ha demostrado la presencia de receptores específicos de TRH en los fibroblastos, sumado a que la inhibición de TRH previene la acumulación de estas células en el corazón, podríamos especular acerca del efecto de la TRH sobre el crecimiento de los fibroblastos cardíacos por mecanismos autócrinos y/o parácrinos. Asimismo, dado que la TRH actúa sobre la regulación de la función del miocito, la TRH liberada principalmente desde los fibroblastos podría contribuir al *cross-talk* entre miocitos y fibroblastos durante el desarrollo de hipertrofia cardíaca.

Es bien conocido que en el desarrollo de hipertrofia cardíaca hay numerosos sistemas involucrados, aun así el desbalance del calcio ha sido descrito como una importante vía común al desarrollo de esta patología. De hecho, múltiples vías que estimulan la proliferación celular que incluyen PKC, MAP cinasas, cinasas dependientes de la vía Ca/calmodulina, etc., son activadas por TRH.¹¹ Así, la TRH, actuando a través de su receptor específico, activaría el calcio intracelular en cardiomiocitos y fibroblastos, alterando la homeostasis del calcio y contribuyendo al desarrollo de la hipertrofia cardíaca.

Finalmente, estos hallazgos permiten ubicar al sistema de la TRH cardíaco como un sistema involucrado en el desarrollo de hipertrofia, el cual puede ser efectivamente bloqueado por oligonucleótidos iRNA específicos, lo que previene el desarrollo de hipertrofia y de fibrosis en el corazón de roedores frente a una hipertensión marcada y estable comparable a la esencial.

Resultados provenientes de cultivos celulares permitirán conocer cuáles son los mecanismos moleculares que median la acción de la TRH en el tejido cardíaco.

Bibliografía sugerida

1. del Rio-García, J. y Smyth, D.G. Distribution of pyroglutamylpeptide amides related to thyrotropin-releasing hormone in the central nervous system and periphery of the rat. *J Endocrinology* 1990; 127:445-450.
2. García, S.I. y Pirola, C.J. Thyrotropin-releasing hormone in cardiovascular pathophysiology. *Regulatory Peptides* 2005; 128:239-246.
3. Hasegawa, J.; Hirai, S., Kotake H, Hisatome I, Mashiba H. Inotropic effect of thyrotropin-releasing hormone on the guinea pig myocardium. *Endocrinology* 1988; 123:2805-2811.
4. Soccì, R.; Kolbeck, R.C. y Meszaros, L.G. Positive inotropic effect of thyrotropin-releasing hormone on isolated rat hearts. *General Physiology and Biophysics* 1996;15:309-316.
5. Wilber, J.F. y Xu, A.H. The thyrotropin-releasing hormone gene: Cloning, characterization, and transcriptional regulation in the central nervous system, heart, and testis. *Thyroid*. 1998; 8:897-901.
6. Schuman, M.L.; Landa, M.S., Toblli JE y col. Cardiac Thyrotropin-Releasing Hormone mediates left ventricular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2011; 57:103-109.
7. Schuman, M.; Landa, M.S., Peres Diaz LS y col. Demostración de la participación del sistema de la Hormona Liberadora de Tirotrófina (TRH) en el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda (HVI) de la rata utilizando un sistema de sobreexpresión e inhibición *in vivo*. *Medicina* 2009; vol 69 (supl I), pag 54-55.
8. Landa, M.S.; Garcia, S.I.; Schuman ML y col. Knocking Down of the diencephalic thyrotropin-releasing hormone precursor gene normalizes obesity-induced hypertension in the rat. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2007; 5: E1388-E1394.

9. Purdham, D.M.; Zou, M.X.; Rajapurohitam, V. y Karmazyn, M. Rat heart is a site of leptin production and action. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology* 2004; 287:H2877-H2884.
10. Corrigan, N.; Brazil, D.P. y McAuliffe, F. Fetal cardiac effects of maternal hyperglycemia during pregnancy. *Birth defects research, Clinical and molecular teratology* 2009; 85:523-530.
11. Wang, Y.H. y Maurer, R.A. A role for the mitogen-activated protein kinase in mediating the ability of thyrotropin-releasing hormone to stimulate the prolactin promoter. *Molecular Endocrinology* 1999; 13:1094-1104.