



INFLAMACIÓN. FIBROSIS. CARDIOPROTECCIÓN

Antonio Lax Pérez

Dr. Bioquímica. Grupo Investigación Clínica y Traslacional en Cardiología. IMIB-Arrixaca

ÍNDICE

1. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR. INTRODUCCIÓN

1.1. Cardiopatía isquémica

1.1.1. Causas de la Cardiopatía isquémica

1.1.2. Formación de la lesión miocárdica

1.1.3. Efectos metabólicos de la isquemia

1.1.4. Efectos estructurales de la isquemia

2. INFLAMACIÓN

2.1. Activación de la respuesta inflamatoria tras el daño miocárdico

2.2. Citoquinas. Desencadenantes de la producción de reactantes de fase aguda

2.3. Quimioquinas

2.4. Las metaloproteinasas (MMPs)

2.5. Implicación de la respuesta inflamatoria en la curación de la zona infartada

3. FIBROSIS

3.1. Matriz extracelular en el músculo cardíaco

3.2. Activación del proceso fibrótico en el seno del miocardio

3.3. Rutas de señalización implicadas en la activación de fibrosis

3.3. Histomorfología de la fibrosis en miocardio dañado

4. CARDIOPROTECCIÓN

4.1. Cardioprotección endógena en la rehabilitación cardiovascular

4.2. Cardioprotección farmacológica

4.3. Cardioprotección metabólica

BIBLIOGRAFÍA

1. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) se definen como un grupo de condiciones que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos. A pesar de la tendencia decreciente mostrada en las tres últimas décadas en los países desarrollados, en la actualidad, las ECV en su conjunto, son la principal causa de mortalidad y hospitalización en la población española. Las tres principales ECV son, la enfermedad cardiaca isquémica, la enfermedad cerebrovascular y la insuficiencia cardiaca, que, en conjunto, son responsables del 74% de la mortalidad por causas vasculares (Figura 1).

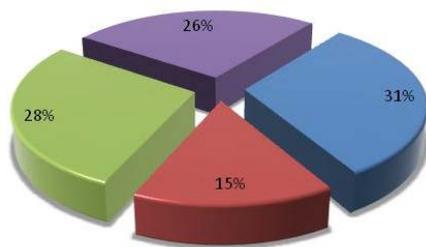


Figura 1. Mortalidad proporcional por las principales ECV en España. En rojo insuficiencia cardíaca, en verde enfermedades cerebrovasculares, en azul enfermedades isquémicas del corazón y en violeta el resto de enfermedades cardiovasculares.

Aunado a esto, la enfermedad cardiaca isquémica y la enfermedad cerebrovascular constituyen, respectivamente, la tercera y cuarta causa de pérdida de años de vida ajustados por discapacidad (1). Estas ocurren de manera súbita cuando un vaso sanguíneo que aporta sangre al corazón o al cerebro queda obstruido. La causa más frecuente es la formación de depósitos de grasa en las paredes de los vasos sanguíneos que irrigan el corazón o el cerebro.

1.1 Cardiomiopatía isquémica

La isquemia cardíaca se define como la situación en la que el corazón recibe un aporte sanguíneo inadecuado para mantener sus funciones esenciales, con la consecuente carencia de oxígeno. Los tejidos biológicos necesitan obtener energía para sobrevivir a partir del metabolismo de moléculas que posee el propio órgano como reserva, o de moléculas que llegan a las células por la circulación sanguínea, donde el oxígeno juega un papel importante. En el caso del tejido miocárdico, la función es estrictamente dependiente de la irrigación sanguínea dado que, en su carácter de órgano altamente aerobio, el corazón posee una escasa reserva energética en caso de deficiente aporte sanguíneo.

1.1.1.- Causas de la cardiopatía cardíaca

El mecanismo fisiopatológico que con más frecuencia subyace a la isquemia miocárdica es la obstrucción parcial o total de una arteria coronaria por un trombo provocado por la rotura o erosión de una placa de ateroma preexistente en la luz arterial, produciendo complicaciones clínicas secundarias a la isquemia o necrosis miocárdica (2,3). El tipo y grado de oclusión (total o parcial) y la duración de la isquemia producida por la trombosis aguda coronaria determinan la extensión del tejido necrosado o isquémico y la severidad del evento agudo. Esta patología representa un proceso prolongado, caracterizado por un aporte sanguíneo insuficiente.

1.1.2.- Formación de la lesión miocárdica.

Inicialmente, el estrechamiento —en forma de placas ateroscleróticas—, de las arterias coronarias puede ser lo suficientemente grave como para ocasionar una angina estable cuando hay esfuerzo o estrés (Figura 2).

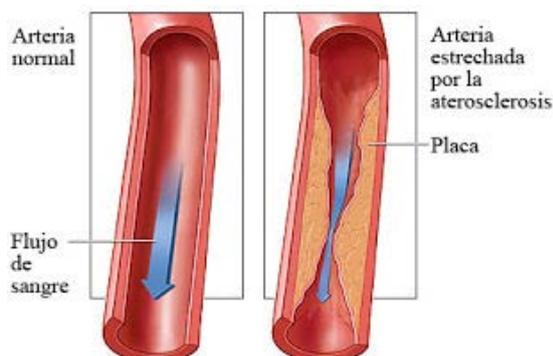


Figura 2. Aterosclerosis. Enfermedad de la capa media e íntima de las arterias que consiste en acumulación de colesterol que genera una reacción inflamatoria y da como resultado las placas de aterosclerosis que producen endurecimiento de la pared de las arterias y otro tipo de lesiones a largo plazo en el endotelio vascular. Los lugares más frecuentes donde se pueden desarrollar placas de aterosclerosis son: arterias que tienen mayor turbulencia y donde hay bifurcaciones; aorta, arterias renales, cerebrales, coronarias, polígono de Willis, miembros inferiores.

Sin embargo, este estrechamiento en algunas ocasiones puede ser asintomático. Por razones que aún no se conocen bien, las placas alcanzan un punto en el que se rompen. Bajo estas circunstancias se puede formar un tapón compuesto por plaquetas y coágulos sanguíneos haciendo que un vaso sanguíneo ya estrecho se vuelva más susceptible de bloquearse por completo. Esta situación inestable puede

progresar a una oclusión completa del vaso, con infarto del músculo cardíaco (ataque cardíaco).

El infarto agudo de miocardio (IAM) es un problema sanitario de primer nivel. Si bien su mortalidad en la fase aguda se ha reducido en los últimos años, su pronóstico a medio y largo plazo sigue siendo malo debido a la repercusión estructural y funcional que conlleva la necrosis miocárdica. Tras el IAM, se ponen en marcha una serie de mecanismos de reparación local en el tejido infartado, fundamentalmente inflamación y fibrosis, que condicionan un riesgo de arritmia ventricular y de deterioro de la función miocárdica sistólica y diastólica, así como otros en el tejido no infartado, fundamentalmente fibrosis e hipertrofia, con una función inicial compensadora pero que en la evolución conllevan cambios estructurales patológicos y pérdida de la función cardíaca. Es por ello, que el IAM conlleva un elevado riesgo de muerte y evolución a insuficiencia cardíaca (IC), la cual se caracteriza por la incapacidad del corazón para ejercer su función. La IC es un grave problema de salud pública que afecta a cerca del 1% de la población mayor de 40 años y en torno al 10% en mayores de 70 años. Es en la actualidad la patología cardiovascular más costosa en países industrializados (2% del presupuesto sanitario) y la primera causa de hospitalización en adultos mayores de 60 años. A pesar de los avances terapéuticos, tras su diagnóstico el riesgo de muerte al año es del 20-50% según la población, superior al de la mayoría de cánceres. Todo ello ha hecho que los sistemas sanitarios estén desarrollando sistemas de atención específica para esta entidad, y que se haya fomentado la investigación en esta área. Por todo esto, existe una clara necesidad de nuevas estrategias que puedan alterar la evolución de la enfermedad, aliviar los síntomas y prolongar la vida del paciente.

1.1.3.- Efectos metabólicos en la isquemia

Se sabe que entre un 60-70% de la energía que utiliza el miocardio se obtiene por oxidación aerobia de ácidos grasos mientras que el resto procede de la utilización de carbohidratos, cuerpos cetónicos y aminoácidos. El principal efecto de la isquemia miocárdica es la disfunción metabólica de las mitocondrias causada por la disminución en la entrega de oxígeno a los tejidos, lo que causa una disminución en la formación de ATP por la fosforilación oxidativa (4). A los pocos segundos de interrumpirse el flujo

coronario ya aparecen cambios fisiológicos y bioquímicos característicos de la isquemia. Ante la disminución de la presencia de oxígeno, las células del músculo cardíaco cambian los ácidos grasos por la glucosa como combustible, se disminuye la síntesis aeróbica de ATP en las mitocondrias y se activan la glucólisis anaerobia. La traducción de estos hechos es la rápida extinción de fosfatos de alta energía y el aumento del lactato a nivel tisular. Puesto que la demanda de energía de los cardiomiocitos supera a la energía obtenida a partir de la glucólisis anaerobia, el ATP que queda disponible es rápidamente hidrolizado por las múltiples ATPasas implicadas en la actividad contráctil y en el mantenimiento de la homeostasis iónica y en consecuencia los niveles de ADP y Pi se acumulan. Este último es el principal responsable del fallo contráctil total que se instaura durante los primeros segundos de isquemia. La acumulación de catabolitos, como el lactato y H⁺ provenientes de otras vías hace que el pH descienda rápidamente hasta valores de acidosis severa con lo que se inhibe la glucólisis anaerobia y se produce un aumento dramático de la osmolaridad intra y extracelular, causando edema intracelular. Al mismo tiempo, la reducción de los niveles de ATP propicia un fracaso para mantener el potencial de membrana y un fallo de la función cardíaca que conducen a la muerte celular. Para contrarrestar la acidosis derivada de la puesta en marcha de la glucólisis anaerobia se activan los sistemas de transporte iónico del sarcolema que van asociados a una entrada de Na⁺ al interior de la célula (5), como el intercambiador Na⁺/H⁺ y el cotrasportador de Na⁺/HCO₃⁻. Todos estos fenómenos hacen que la concentración de Na⁺ comience a elevarse después de algunos minutos de isquemia. Además la caída ATP y la disminución en el pH intracelular, induce un aumento neto de Ca²⁺ en el citosol atribuido fundamentalmente a un fallo de la bomba Ca²⁺-ATPasa del retículo sarcoplásmico (SERCA 2a) (figura 3).

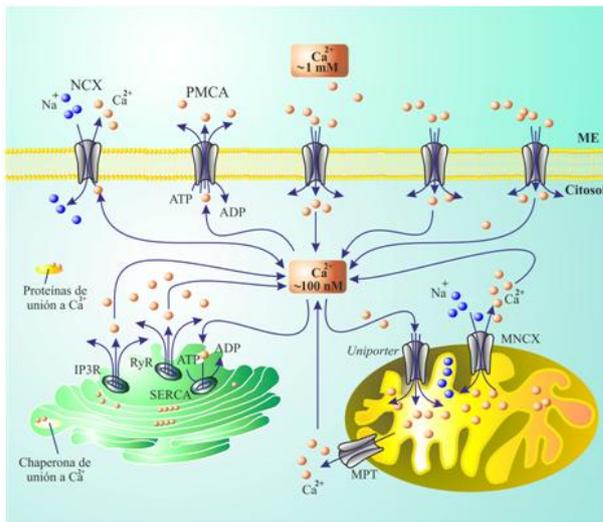


Figura 3. Sistemas que controlan el Ca^{2+} citosólico en el cardiomiocito. Los aumentos del Ca^{2+} citosólico se producen por entrada de Ca^{2+} desde el medio externo (ME) a través de canales específicos de la membrana plasmática o por salida de Ca^{2+} almacenado en el RS/RE a través de los receptores de rianodina (RyR) y de IP_3 (IP_3R). El intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ mitocondrial (MNCX) y el PTP también provocan aumentos del Ca^{2+} citosólico. Los descensos de la concentración del Ca^{2+} citosólico se producen por intervención de las bombas PMCA y SERCA, el intercambiador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ de la membrana plasmática (NCX) y el uniporte de Ca^{2+} de la mitocondria.

Estudios recientes han caracterizado el mecanismo de acoplamiento de energía y el de inhibición de SERCA 2a, una proteína clave en la regulación intracelular de Ca^{2+} . Usando microsomas aislados de músculo esquelético de conejo, han determinado que una disminución en el pH del medio de ensayo afectaba no solo al transporte de Ca^{2+} hacia el interior del retículo sarcoplásmico, sino también a la actividad SERCA 2a (6). Este enzima/transportador induce la relajación diastólica del miocardio y su alteración funcional se ha relacionado con la cardiomiopatía dilatada y el fallo cardíaco congestivo. El Ca^{2+} constituye el principal determinante de la contractilidad cardíaca y los mecanismos que regulan su concentración intracelular controlan la fuerza de contracción (sístole) y relajación (diástole). La señal de Ca^{2+} en los cardiomiocitos sufre variaciones fisiológicas relacionadas con el ciclo de sístole-diástole. Cuando la elevación de Ca^{2+} intracelular es más pronunciada y permanente produce efectos patológicos (7,8). En otros estudios se ha determinado que la sobre-expresión de canales de Ca^{2+} aumenta la entrada de Ca^{2+} externo produciendo hipertrofia cardíaca y apoptosis (9).

1.1.4.- Efectos estructurales de la isquemia

Después de un episodio isquémico, el tejido miocárdico puede recuperarse si se restaura el flujo sanguíneo en un intervalo de 15 a 20 minutos y, puesto que no se ha detectado ninguna lesión estructural, es posible pensar que las células son capaces de

mantener su integridad hasta dicho límite. Transcurrido este tiempo se ha consumido todo el glucógeno celular, apareciendo alteraciones estructurales de gran importancia, tales como que las miofibrillas sufren un estiramiento excesivo y el sarcolemma desarrolla áreas de separación. También es evidente la presencia de lesiones en la membrana celular. Si se produce una reducción significativa de los compuestos de alta energía, necesarios para mantener el equilibrio iónico de la membrana, las células acumulan sodio y pierden potasio; como consecuencia, se produce una entrada excesiva de iones cloruro que se acompaña de hinchazón celular, llegando finalmente a la lisis y muerte de la célula. Si el episodio isquémico es eliminado en este momento y el tejido miocárdico recupera su irrigación sanguínea, se desarrolla un proceso de contractura.

2. INFLAMACIÓN

El infarto de miocardio se asocia con una respuesta inflamatoria local, que *a priori* es requisito imprescindible para la curación del tejido dañado y la formación de la cicatriz (10–12).

2.1. Activación de la respuesta inflamatoria tras el daño miocárdico

Como se describió anteriormente, la oclusión de la arteria coronaria reduce de forma crítica el flujo de sangre a una zona concreta del miocardio, modificando de manera notable el metabolismo energético de la zona afectada (véase página 5). Esta condición isquémica —falta de nutrientes y oxígeno—, induce la muerte de las células afectadas. Aunque el mecanismo predominante de muerte en los cardiomiocitos en el corazón infartado es por oncosis, se han descrito otros procesos de muerte celular —que no implican inflamación—, muerte celular por apoptosis (7,8). Las células que mueren por oncosis, a diferencia de las que mueren por apoptosis, liberan su contenido intracelular —literalmente “estallan”— al medio extracelular lo que induce una intensa respuesta inflamatoria circundante mediante la activación de mecanismos inmunes innatos.

En las oclusiones de coronarias de tan solo 5 min, se observan anomalías funcionales del miocardio reperfundido durante solo 24-48 h. Estas anomalías no suponen una lesión letal y el miocardio isquémico se recupera en última instancia. Esta

anormalidad funcional transitoria “miocardio aturdido” aunque se relaciona con la formación de especies con oxígeno reactivo (13,14), muestra poca o ninguna evidencia de una reacción inflamatoria. Por el contrario, cuando el periodo de isquemia se prolonga en el tiempo sí que se produce una respuesta inflamatoria local; esta respuesta aumenta si el tejido isquémico es reperfundido.

La primera evidencia experimental que demostró que la inflamación puede expandir la lesión miocárdica vino como resultado de la aplicación de estrategias anti-inflamatorias en modelos animales de isquemia miocárdica y reperfusión; La administración sistémica de corticosteroides disminuye el tamaño del infarto en un modelo canino de infarto de miocardio (15). Esta evidencia llevó a un estudio clínico usando metilprednisolona en pacientes con infarto agudo de miocardio, lo que dio lugar a resultados catastróficos, aumento de la incidencia de arritmias ventriculares e incremento significativo del tamaño por infarto (16). Investigaciones posteriores sugirieron que la administración de corticosteroides inhibe el proceso inflamatorio por disminución del número de leucocitos infiltrantes, así como el retraso de la curación y la deposición de colágeno en la zona dañada (17). Existen evidencias que demuestran que la reperfusión mejora la reparación de los tejidos y que este efecto está mediado por la mejora de la respuesta inflamatoria (18–20). Otros estudios han planteado la posibilidad de desarrollar tratamientos específicos que sean capaces de mitigar la lesión inflamatoria sin interferir con la cicatrización del miocardio tras infarto agudo de miocardio; la reducción de la generación de factores quimiotácticos por el agotamiento del complemento (21), o la administración de inhibidores de la lipoxigenasa (22) y antagonistas de leucotrieno B4 (LTB4) fueron capaces de reducir el tamaño del infarto. El uso de otros procedimientos experimentales dirigidos a la reducción del número de neutrófilos, tales como el uso de anticuerpos anti-neutrófilos (23), neutrófilos ozono antimetabolitos (24) o filtros de neutrófilos (25) también tuvieron éxito en la reducción de lesiones relacionadas con isquemia en algunos modelos experimentales. Así mismo, el uso de quelantes de radicales libres, cuya acción es la eliminación de especies con oxígeno reactivo también fueron eficaces en la reducción de tamaño del infarto o la sensibilidad a la isquemia (26).



Más allá de su papel tradicional como un "sistema de alerta" contra microorganismos patógenos, esta inmunidad innata también sirve como un sofisticado sistema molecular que protege de "señales de peligro" por activación de vías inflamatorias. En el miocardio infartado se activan varias vías inmunitarias innatas, entre las que se encuentra la activación de la señalización a través del *membrane-bound toll-like receptor* (27,28). La transducción de la señal de activación de estas vías inmunes innatas converge en la activación del factor de transcripción nuclear NF- κ B que impulsa la producción de citoquinas inflamatorias y quimioquinas. La activación e implicación de este factor en lesión cardíaca así como su función se ha evaluado recientemente (29). Estudios iniciales, usando modelos murinos de infarto de miocardio, demostraron que el bloqueo de la actividad de este factor de transcripción reduce de forma significativa la extensión del infarto (30). NF- κ B se activa por un gran número de agentes, entre las que se incluyen varias citoquinas, como el TNF- α o la IL- 1β , así como por radicales libres generados en la zona dañada. Este factor regula la expresión de un gran número de genes: los implicados en la respuesta inflamatoria, adherencia celular así como los implicados en el control de crecimiento celular (31). Varios estudios han caracterizado, usando modelos experimentales de infarto de miocardio, las fuentes y los mecanismos implicados en la activación de la cascada de estas citoquinas (11,32). Está establecida la implicación de células mastocíticas como una fuente importante de citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento. Los estudios llevados a cabo por el grupo de Gordon y Galli en 1990, usando un modelo experimental murino, identificaron la liberación de TNF- α desde las células mastocíticas peritoneales de estos animales (33,34). La presencia de TNF- α en células mastocíticas caninas de forma constitutiva, llevo a pensar que tras un infarto de miocardio se produce la liberación de TNF- α , siendo este el activador *upstream* de la cascada inflamatoria. Usando modelos caninos de infarto de miocardio por oclusión de las coronarias, varios grupos han demostrado que tras la ligación, se produce la liberación de histamina y TNF- α (35). Además en estudios experimentales *in vitro*, se ha demostrado que tras el daño se produce la degranulación de las células mastocíticas y la liberación de moléculas proinflamatorias. C5a, adenosina e incluso la generación de diferentes especies con oxígeno reactivo pueden ser los responsables de la degranulación inmediata de las células mastocíticas tras el daño miocárdico. Por

otra parte, otros ensayos *in vitro* han mostrado la liberación de IL-6 de células mononucleares. De forma interesante, la incubación de estas células con anticuerpos que neutralizan la acción de TNF- α bloquea la liberación de IL-6. Estos ensayos sugieren un papel importante de TNF- α como un inductor de citoquinas. La degranulación de las células mastocíticas, parece estar confinada al área dañada y ahí es donde se produce la liberación de TNF- α que induce la expresión y liberación de IL-6 por parte de células mononucleares infiltradas tras el daño. Obviamente, el papel del TNF- α en el escenario miocárdico dañado, es mucho más complejo (36,37) y no se encuadra solo como mero activador de la cascada de citoquinas. Otros estudios han mostrado su implicación en la fase de curación. Aquí su localización no está restringida al área dañada o incluso a la zona en riesgo sino que se extiende a la zona del miocardio no dañado.

La señalización a través de Interleuquina (IL) -1, induce la síntesis de quimioquinas en el miocardio infartado y estimula la infiltración de leucocitos (38). El procesamiento del precursor inactivo de IL-1 (pro-IL1 β) por una proteasa llamada caspasa 1, genera la forma activa de esta interleuquina. La actividad de caspasa 1 está fuertemente regulada por complejos multiprotéicos denominados inflamomas; Estas plataformas moleculares controlan la maduración y el procesamiento de IL-1 β (39). Parece que la acumulación de especies con oxígeno reactivo así como el incremento del nivel de K⁺, desempeñan un papel importante en la regulación de la actividad del inflamoma en fibroblastos cardíacos sometidos a hipoxia/reoxigenación (40).

La liberación de este tipo de citoquinas, así como la presencia del factor de crecimiento transformante β (TGF- β), el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), factores como el de crecimiento epidérmico (EGF) o el de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) estimulan la síntesis y liberación de metaloproteasas (MMP) (41,42).

2.2. Citoquinas. Desencadenantes de la producción de reactantes de fase aguda

Las citoquinas son péptidos señalizadores o mediadores químicos que se producen como respuesta a una agresión a un tejido, y causan la respuesta inflamatoria (43). En la tabla 1 se enumeran los principales componentes de las familias de citoquinas.

TABLA 1. Grupos principales de citoquinas

Nombre del grupo	Principales componentes
Interleuquinas	IL-1 α 18
Interferones	IFN- α , β , γ
Factores de necrosis tumoral	TNF- α , β
Quimioquinas	Linfotactina, MPC-1, IL8, RANTES, proteína inflamatoria macrofágica 1 α
Factores estimulantes de la formación de colonias (CSF)	CSF para granulocitos, macrófagos
Factores de crecimiento (GF)	Fibroblástico, derivado de plaquetas, epidérmico, similar a la insulina (<i>insulin-like</i>), transformador, eritropoyetina

En general, las citoquinas actúan a través de receptores de alta afinidad de la superficie celular. La mayoría de citoquinas son moléculas multifuncionales que ejercen diferentes acciones en las diferentes células sobre las que actúan. La acción que inducirán variará a su vez según sean las condiciones microambientales. Las funciones de las citoquinas se solapan, siendo pocas las que tienen una única función. Las citoquinas suelen actuar de forma local, ya sea autocrina o paracrina, pero alguna, como la IL-6, tiene funciones endocrinas. La producción de citoquinas, incluyendo las proinflamatorias, es una respuesta fisiológica a la lesión tisular. Su principal función es la coordinación de la eliminación de microorganismos invasores y la eliminación de tejidos lesionados. De esta forma se evita la estimulación excesiva del sistema inmune, que podría inducir reacciones de hipersensibilidad. Las citoquinas proinflamatorias que inician la respuesta inflamatoria son la IL-1, la IL-6 y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Estas moléculas suelen actuar en compañía de otras citoquinas como las IL-8, 10, 11, 12, 18 y el IFN- γ . Además, cuando las citoquinas actúan se producen multitud de mediadores de inflamación, ya sean proteicos como el fragmento del complemento C5a, o lipídicos como el factor activador plaquetario. Estos mediadores tendrán acciones sinérgicas, induciéndose su producción entre ellos, e induciendo la producción de otras citoquinas que frenarán o aumentarán las vías de autocontrol. Las citoquinas también son responsables de la finalización correcta de la respuesta

inflamatoria. A continuación repasaremos brevemente el papel de alguna de estas moléculas que están relacionadas con la aterosclerosis:

2.2.1. Interleuquina 1

La mayoría de células nucleadas producen IL-1. Sin embargo, los principales productores de IL-1 en la inflamación son los macrófagos. La IL-1 α y la IL-1 β se unen a dos tipos diferentes de receptores, el IL1RI (que se une mejor con IL-1 α que con IL-1 β) y el IL1RII (mejor con IL-1 β). El ILRI para IL-1 se encuentra en linfocitos T, fibroblastos, células endoteliales y hepatocitos. Por su parte, ILRII se encuentra en linfocitos B, neutrófilos y células de la médula ósea. Además hay algunos tipos celulares que presentan ambos tipos de receptores. El antagonista natural de la IL-1 es un antagonista del receptor de IL-1 (IL1Ra), que compite con IL-1 en la unión con los receptores de la superficie celular sin que desencadene las respuestas celulares típicas de la IL-1. No induce ningún cambio bioquímico ni endocrinológico cuando se inyecta por vía intravenosa en sujetos sanos. Los efectos de IL-1 son variados. Tiene un papel principal en la cascada inflamatoria y es uno de los mayores inductores de la síntesis hepática de marcadores de inflamación, los reactantes de fase aguda. La IL-1 también tiene un papel central en el inicio de las reacciones inflamatorias, ya que recluta respuestas inmunes específicas al regular al alza las células inmunitarias. Además, actúa directamente en el hipotálamo (es el principal inductor de fiebre y el vínculo más importante entre el sistema inmunitario y el sistema neuroendocrino).

2.2.2. Interleuquina 4

La IL-4 es, junto a la IL-10, una de las principales interleuquinas anti-inflamatorias. Inicialmente se describió a la IL-4 como un factor estimulador de células B. Posteriormente se han conocido multitud de acciones diferentes. Las funciones de mayor relevancia son la modulación de las funciones de los macrófagos, la diferenciación de las células T, la inducción de la producción de IgE en las células B, la inhibición de la producción de TNF, IL-1 β , IL-6, ICAM-1 y de óxido nítrico (NO) (mediante la inhibición de la transcripción del gen de iNOS). Por tanto, IL-4 es una

molécula que interviene en la regulación de la producción de anticuerpos, en la hematopoyesis, en la inflamación, en la respuesta de las células T frente a estímulos y, finalmente, en la regulación de las propiedades adhesivas del endotelio. No en vano, la IL-4 se ha definido como «el prototipo de citoquina inmunorreguladora». Se trata de una molécula que se expresa en células T helper de tipo 2 (Th2), en CD4 + NK1.1 +, en basófilos y en eosinófilos. El receptor funcional de la IL-4 es un dímero formado por la cadena IL-4R y la cadena compartida con otras interleuquinas. La cadena IL-4R también forma parte del receptor de la IL-13, lo que puede explicar en parte la similitud de acciones entre las dos moléculas. Asimismo, se debe destacar que la IL-4 y el interferón tienen un mutuo antagonismo en sus funciones.

2.2.3. Interleuquina 6

La IL-6 se produce en multitud de tejidos diferentes. Los principales productores son los monocitos estimulados, fibroblastos y células endoteliales. Los principales estímulos fisiológicos para la producción de IL-6 en los monocitos son la IL-1 y las endotoxinas bacterianas. La IL-6 actúa enlazándose con un receptor específico de alta afinidad (IL6R), que está ampliamente distribuido en las células linfoides y no linfoides. El IL6R está formado por dos glicoproteínas de membrana: gp80, que se liga a IL-6 con baja afinidad, y gp130, que se liga al complejo IL-6-gp80 y transduce la señal a través de la membrana plasmática. Los monocitos, hepatocitos, linfocitos B activados y linfocitos T CD4 y CD8 expresan gp80 de IL6R. La IL-6 induce la diferenciación terminal de los linfocitos B, el crecimiento y la diferenciación citotóxica de linfocitos T, y estimula la producción normal de células sanguíneas. La IL-6 es otro regulador importante de la síntesis hepática de proteínas de fase aguda.

2.2.4. Factor de necrosis tumoral α

El factor de necrosis tumoral (TNF), se sintetiza en células de la estirpe monocito/macrofágica y en los linfocitos. Su producción se induce mediante endotoxinas bacterianas, antígenos de hongos o virus y C5a, y también por otras citoquinas como IL-1. Se han identificado dos tipos de receptores para TNF: p55 (55-60 kDa), de menor afinidad y p75 (75-80 kDa), el de mayor afinidad. La mayoría de las células (excepto los eritrocitos) expresan ambos receptores. Es posible que éstos

desencadenen acciones diferentes: p55 estaría implicado en la citotoxicidad, actividad antiviral y proliferación de fibroblastos, mientras que p75 actuaría en la proliferación de timocitos primarios y de linfocitos T. Las acciones del TNF están favorecidas por el tinterferón a través del aumento de la expresión del receptor de 75 kDa. La rotura proteolítica de los receptores de TNF produce formas solubles que se liberan de las superficies celulares, regulando a la baja los receptores de TNF. El TNF se descubrió a raíz de sus acciones en la necrosis hemorrágica y la regresión de algunos tumores. Además, el TNF es un potente inductor de los efectos sistémicos de la inflamación como fiebre, hipotensión, taquicardia y respuesta de hormonas relacionadas con el estrés.

2.2.5. Interferón- γ

El IFN- γ es un potente activador de macrófagos, estimula neutrófilos y linfocitos B 74 e induce la síntesis de IL-1 y TNF. El receptor de IFN- γ está formado por dos polipéptidos de membrana. Ambas cadenas, α y β , son necesarias para unirse con el ligando y para la transducción de señales. La expresión del receptor de IFN- γ es constitutiva en todos los tipos celulares excepto los eritrocitos. El IFN γ , como los demás miembros de la familia de interferones, tiene potentes funciones antivirales y antiproliferativas. Sin embargo, la relevancia fisiológica de IFN- γ proviene de sus propiedades inmunomoduladoras. Este induce la expresión de muchas moléculas clave, entre las que se incluyen los antígenos de clase I y II, óxido nítrico sintetasa (NOS) y citoquinas (como la IL-1). Además es una de las principales citoquinas responsables de la activación y regulación de la actividad funcional de monocitos y macrófagos, regula la inmunidad humoral a través de las células T CD4 + e influye en la producción de inmunoglobulinas en las células B. También regula la producción de varios componentes del complemento y algunas proteínas de fase aguda, ya sea mediante efectos directos sobre los hepatocitos y macrófagos o mediante la inducción de otras moléculas, y regula la síntesis y actividad de otras citoquinas, sobre todo IL-1, IL-2 y TNF.

2.2.6. Interleuquina 10

La IL-10 es uno de los principales inhibidores de la síntesis de citoquinas, disminuye la función de los macrófagos e inhibe la producción de citoquinas proinflamatorias. La IL-10 (18 kDa) está producida por los linfocitos T, linfocitos B y macrófagos activados por antígenos o productos bacterianos. La producción de IL-10 se inhibe mediante IFN- γ e IL-4. La IL-10 actúa a través de su receptor de la superficie celular, que está relacionado estructuralmente con la familia de IFN, lo que es interesante dada la relación antagónica entre IL-10 e IFN- γ . La IL-10 disminuye la expresión de antígenos de clase II en macrófagos e inhibe la producción de citoquinas. El resultado es la inhibición de la síntesis de citoquinas por los linfocitos T helper activados y por los linfocitos natural killer. Otros efectos antiinflamatorios importantes de la IL-10 son la inhibición de la producción de NO e intermediarios de oxígeno en macrófagos, así como la inhibición de la adherencia de macrófagos.

2.3. Quimioquinas

Junto con las citoquinas, otras moléculas pro-inflamatorias que se liberan en la zona dañada y que favorecen la extravasación de leucocitos en el miocardio infartado son las quimioquinas (44). Las quimioquinas liberadas en el infarto permanecen unidas, en la superficie endotelial y en la matriz extracelular a glucosaminoglucanos —repeticiones de disacáridos en los cuales uno de los dos azúcares es siempre la N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina—. Estas interacciones favorecen la concentración de quimioquinas en las zonas dañadas (45). De forma interesante, el perfil de expresión de estas moléculas así como las interacciones que se producen entre estas con sus receptores expresados en subpoblaciones de leucocitos, determinan el tipo de infiltrado leucocitario en la zona afectada. Sabemos que los neutrofilos son reclutados de forma temprana mientras que los monocitos pro-inflamatorios y los linfocitos lo hacen después. La transmigración leucocitaria en la zona infartada requiere la interacción física con las células del endotelio vascular involucrando una serie de reacciones en cascada que conducen finalmente a la transmigración celular. Las citoquinas proinflamatorias como interleuquina 1 (IL-1) e interleuquina 6 (IL-6), el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y factores como el de crecimiento epidérmico (EGF) o el de

crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) estimulan la síntesis de MMP. La depleción de neutrófilos en un modelo animal de infarto de miocardio con reperfusión posterior, condujo a una marcada reducción del tamaño del infarto (23) lo que sugiere que la extensión del daño por isquemia/reperfusión depende en gran medida de la infiltración de neutrófilos a la zona dañada (46,47). Estos neutrófilos pueden liberar al pro-oxidantes y proteasas que posibilitan la expresión de mediadores capaces de amplificar el reclutamiento celular (48,49). La infiltración de neutrófilos se regula a través de una compleja secuencia de pasos moleculares que comprometen a diversas moléculas de selectinas e integrinas, la cuales median la migración leucocitaria y la adhesión el endotelio. Los neutrófilos marginados ejercen potentes efectos citotóxicos a través de la liberación de enzimas proteolíticas y de la molécula de adhesión intercelular ICAM-1 expresada en los cardiomiocitos. La proteína quimiotáctica de los monocitos (MCP-1) se induce en el miocardio infartado, provocando el reclutamiento de células mononucleares en las áreas dañadas. Los macrófagos derivados de los monocitos y los mastocitos producen citoquinas y factores de crecimiento que son necesarios para la proliferación fibroblástica y la neovascularización, llevando a una reparación efectiva y a la cicatrización. En este punto la liberación de citoquinas inhibitorias, como la IL-10 pueden jugar un papel en la supresión de la respuesta inflamatoria aguda y en la regulación del metabolismo de la matriz extracelular. Los fibroblastos, en la zona de la cicatriz sufren cambios fenotípicos, y comienzan a expresar marcadores de células musculares lisas.

2.4. Las metaloproteinasas (MMPs)

Las MMPs son una familia de endopeptidasas dependientes de Zn^{+2} , producidas por diversos tipos celulares (endotelio, músculo liso y monocitos), que degradan numerosos componentes de la matriz extracelular y otras proteínas no relacionadas. Las MMPs se sintetizan y secretan como pro-enzimas inactivas y poseen un dominio propeptídico rico en cisteínas, capaz de plegarse e interactuar con el Zn^{2+} del dominio catalítico, lo que impide su actividad enzimática. La activación de las MMPs requiere la escisión del dominio pro-peptídico. Se clasifican en subgrupos basados en su estructura, especificidad por el sustrato y unión a membranas: colagenasas (MMP-1, 8 y 13), estromalinas (MMP-3, 10 y 11), gelatinasas (MMP-2 y

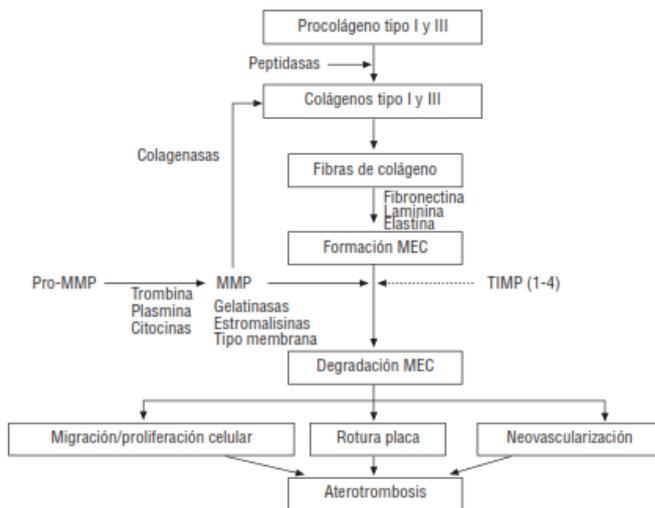


Figura 3. Síntesis y degradación de la matriz extracelular (MEC) en aterosclerosis: balance metaloproteasas (MPP)/inhibidores de las metaloproteasas (TIMP).

9), tipo membrana (MT-MMP) y otras (matrilisina, metaloelastasa, etc.). La actividad de las MMPs está regulada, dentro y fuera de las células, de tres formas: transcripcional, postraduccional y a través de interacción con inhibidores específicos. Diversos factores de crecimiento, citoquinas, trombina y hormonas aumentan su expresión transcripcional, mientras que la heparina, el factor transformante beta ($TGF-\beta$) y los corticoides la inhiben. La activación extracelular de zimógenos latentes (pro-MMP) representaría el segundo punto de control: el principal activador fisiológico de las MMPs es la plasmina, que convierte las formas latentes en activas mediante proteólisis del enlace propéptido y la exposición del dominio catalítico (50). Otras enzimas, como la trombina, el factor Xa y las propias MMPs también poseen la capacidad de activar a MMPs. Finalmente, hay un control de la actividad de MMPs mediado por inhibidores específicos (TIMP), de los que se han descrito 4 miembros (TIMP-1, 2, 3 y 4). Los TIMP inhiben las MMPs mediante unión irreversible a la forma activa de la enzima. En resumen, el balance proteolítico dependerá de la concentración relativa de activadores e inhibidores (figura 3).

2.5. Implicación de la respuesta inflamatoria en la curación de la zona infarta

La implicación de la inflamación inducida por la reperfusión, en la reparación del tejido dañado se ha planteado en varios estudios experimentales (51,52). El corazón humano adulto contiene aproximadamente de 4 a 5 billones de cardiomiocitos; debido a que el miocardio tiene una capacidad regeneradora endógena insignificante, la pérdida de una importante cantidad de músculo cardíaco conduce finalmente a la formación de una cicatriz. La reparación cardíaca depende de una respuesta inflamatoria magníficamente orquestada que sirve no solo para limpiar la herida de las células muertas y restos de la matriz extracelular, sino que también proporciona señales moleculares claves para la activación de las células reparativas. Es cada vez más evidente que una oportuna represión y contención de las señales inflamatorias son necesarias para conseguir una reparación efectiva y para prevenir el desarrollo de remodelado adverso. Una inflamación excesiva en el proceso agudo puede incrementar la degradación de la matriz extracelular y ocasionar la ruptura del tejido cardíaco. Así mismo la prolongación de la reacción inflamatoria puede perjudicar la deposición de colágeno, y dar lugar a formación de una cicatriz con reducida resistencia a la tracción, aumentando la dilatación de la cámara. Del mismo modo, una mayor expresión de mediadores pro-inflamatorios, en la zona dañada, puede activar vías pro-apoptóticas e inducir más pérdida de cardiomiocitos. Finalmente una contención defectuosa de la reacción inflamatoria, puede producir extensión del infiltrado inflamatorio en el miocardio no dañado, mejorando la fibrosis con empeoramiento de la función diastólica. Desde una perspectiva evolutiva la reacción inflamatoria paralela a una lesión se desarrollada para proteger a los organismos de las desastrosas consecuencias de patógenos infecciosos. Estas presiones evolutivas pueden inducir respuestas inflamatorias endógenas prolongadas e intensas que pueden ser excesivas para los requisitos delicados del miocardio lesionado.

Actualmente se acepta que la inhibición y la resolución de la inflamación son procesos biosintéticos activos que requieren el reclutamiento de efectores celulares y la activación de mediadores moleculares que inhiben la inflamación. Debido a la importancia de los mecanismos inflamatorios y reparativos en la remodelación cardíaca, alteraciones en los procesos de regulación de la inflamación, pueden ser responsables de la remodelación, lesión e insuficiencia cardíaca en un gran número de

pacientes que sobreviven a un infarto de miocardio. La infiltración de células mononucleares y mastocíticas parece dirigir este proceso de reparación a través de una cascada compleja de acontecimientos donde están involucradas varias citoquinas y otros factores de crecimiento (Figura 4). Los peligros potenciales de las estrategias anti-inflamatorias descritas anteriormente han llevado a extensos estudios sobre el papel de la inflamación en la reparación cardíaca.

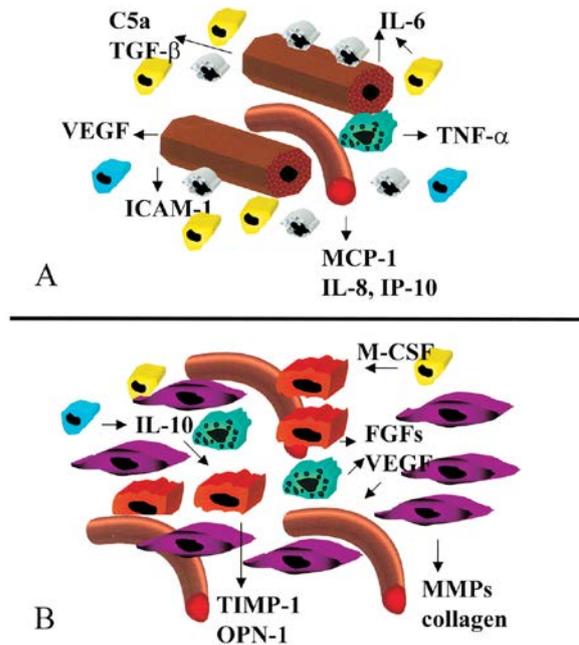


Figura 4. Diagrama esquemático de eventos celulares asociados con la respuesta inflamatoria en los infartos de miocardio con reperfusión. (A) En las primeras 24 h de reperfusión aparece infiltrado por neutrófilos (gris), monocitos (amarillo) y linfocitos (cian). El reclutamiento de leucocitos está regulada por la activación del complemento, la liberación de TGF- β , y la inducción de quimioquinas (MCP-1 y IL-8). Células mastocíticas (verde) liberan histamina y TNF- α que induce el inicio de la cascada de citoquinas, lo que conduce a la síntesis de IL-6 en las células mononucleares y los miocitos (marrón). Posteriormente, los miocitos estimulados por estas citoquinas, en la zona del borde, expresan ICAM-1 pudiendo ser susceptibles a la lesión citotóxica mediada por neutrófilos. En esta etapa, se liberan los factores: VEGF, IL-8, MCP-1. (B) Durante la fase de curación, los monocitos infiltrados se diferencian en macrófagos (naranja). Los macrófagos se acumulan en la cicatriz y secretan una variedad de factores de crecimiento y citoquinas, lo que induce la proliferación de fibroblastos. Los linfocitos y un subconjunto de los macrófagos producen IL-10, que puede tener un papel en la supresión de la respuesta inflamatoria y en la remodelación tisular mediante la regulación de la expresión de las metaloproteinasas y sus inhibidores. Abreviaturas: factor de crecimiento transformante- β , TGF- β ; IL, interleucina; Molécula de adhesión intercelular-1, ICAM-1; Proteína quimiotáctica de monocitos-1, MCP-1; El interferón- γ proteína inducible-10, IP-10; Factor de Necrosis Tumoral- α , TNF- α ; Vascular Endotelial Growth Factor, VEGF; Macrófagos factor estimulante de colonias, M-CSF; Metaloproteinasas de la matriz, MMP; Inhibidor Tisular de metaloproteinasas-1, TIMP-1; Osteopontina-1, OPN-1; Factores de crecimiento de fibroblastos, FGF.

3. FIBROSIS

La función fisiológica principal de la matriz extracelular (MEC) es mantener la integridad del tejido miocárdico y, en consecuencia, preservar la función de la bomba cardíaca. La deposición de colágeno se modula por factores hormonales, factores de crecimiento, citoquinas, proteínas reguladoras y/o factores hemodinámicos. Se precisa un balance apropiado en la síntesis de la matriz extracelular y su degradación para la morfogénesis normal y el mantenimiento de la arquitectura del tejido (53). La acumulación excesiva de colágeno conduce a la disfunción diastólica y sistólica ventricular y en último término contribuye al desarrollo de insuficiencia cardíaca. Por consiguiente, aunque el remodelado inicialmente sea una respuesta de adaptación, se convierte gradualmente en mala adaptación y conduce a la descompensación progresiva.

La síntesis de precursores del colágeno, tales como el propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I (PINP) y el propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III (PIIINP) es un proceso altamente regulado en las células, mientras que su deposición depende de un equilibrio entre las metaloproteinasas matriciales (MMP) y los inhibidores de tejido de las MMP (TIMPs) (53,54). IL-6 y el TNF de manera autocrina o paracrina induce incremento en la expresión y síntesis de colágeno por las células del miocardio lo cual conduce a un desequilibrio y a una alteración en la arquitectura de la matriz extracelular del miocardio. Por lo tanto, la medición del recambio del colágeno cardíaco mediante la utilización de marcadores serológicos es una herramienta útil para controlar la reparación del tejido cardíaco. En este contexto, puede medirse la concentración sérica del PIIINP, como marcador del recambio del colágeno en la insuficiencia cardíaca (55).

Esta acumulación de matriz deja el órgano rígido e inflexible, incapaz de funcionar correctamente y relajarse. La fibrosis cardíaca después de un infarto de miocardio (IM) desempeña un papel clave en la regulación de la función del corazón y en el desarrollo a insuficiencia cardíaca (56,57).

3.1. Matriz extracelular en el músculo cardíaco

El músculo cardíaco es el principal componente del miocardio, ocupando casi un 70% del volumen de la pared ventricular en condiciones normales. Los cardiomiocitos tienen forma de cilindro elipsoide, de unos 80 a 100 μm de longitud, y están interconectados entre sí para formar una red celular tridimensional. Se disponen en capas, separados por planos de clivaje, y están acoplados por una extensa red de tejido conectivo extracelular, la matriz extracelular (MEC). También pueden existir algunas conexiones a través de puentes musculares entre distintas capas de músculo. La red de tejido conectivo extracelular se organiza en tres niveles de jerarquía, respetando la misma distribución que en el músculo esquelético: el endomisio, que es el que rodea e interconecta los miocardiocitos entre sí; el perimisio, que establece conexiones entre el miocardiocito y los capilares, y el epimisio, que envuelve a un grupo de miocardiocitos. La MEC está formada esencialmente por colágeno, proteína de la cual se han descrito 18 tipos, 5 de los cuales pueden identificarse en el miocardio: I, III, IV, V y VI. Los tipos IV y V forman parte de las membranas basales de las células cardíacas; el tipo VI se encuentra en el intersticio asociado a otros tipos de colágeno; los tipos I y III forman la mayor parte de la MEC, contribuyendo en un 80 y 20% respectivamente. El colágeno tipo I forma fibras gruesas con forma de bastones, de unos 50 a 150 nm de diámetro, muy resistentes a la deformación, por lo cual compone partes que requieren de gran fortaleza, como las válvulas y las cuerdas tendinosas de los aparatos subvalvulares, que pueden considerarse como una extensión de la MEC; el colágeno tipo III forma redes laxas de finas fibrillas, formando tejidos laxos y deformables. La proporción de colágeno tipos I y III en el miocardio tiene menor expresión en el feto y aumenta gradualmente en la vida adulta. La tasa de recambio en el corazón normal es de aproximadamente de un 5% por día. La síntesis de colágeno se lleva a cabo por diferentes tipos de células en el corazón: los fibroblastos y las células musculares lisas sintetizan todos los tipos de colágeno, las células endoteliales sintetizan todos excepto el VI y los miocitos producen el tipo IV. La degradación de colágeno puede realizarse a través de dos vías: la intracelular y la extracelular, esta última a través de las metaloproteinasas. El metabolismo del colágeno es altamente sensible a las condiciones de carga mecánica, lo cual puede

desviar el balance entre síntesis y degradación, llevando así a cambios rápidos en la composición del colágeno (58).

3.1.1. Metabolismo del colágeno.

a) Biosíntesis: a nivel cardiaco el proceso ocurre en el fibroblasto y consiste en 8 pasos enzimáticos diferentes: síntesis intracelular de las procadenas α , hidroxilación selectiva de prolina y lisina a través de la enzima prolil-4 hidroxilasa que tiene como cofactores al hierro, 2-oxoglutarato, O₂ y ácido ascórbico, glicosilación de serinas hidroxiladas, formación de las triple hélices de procolágeno (hasta este paso se trata de procesos intracelulares), secreción hacia el espacio extracelular, remoción de los propéptidos y conversión en moléculas menos solubles, autoensamblaje de fibrillas de colágeno y agregación en fibras. A su vez existen varios factores de crecimiento y citoquinas que también influyen en la expresión génica y la síntesis de colágeno (Tabla 2).

<i>Aumentan la síntesis de colágeno</i>	<i>Disminuyen la síntesis de colágeno</i>
Angiotensina II	Bradikinina
Aldosterona	Metaloproteinasas de la matriz
Endotelina I	Factor de necrosis tumoral α (TNF - α)
Enzima convertidora de angiotensina	Catecolaminas
Prolil 4 hidroxilasa	Hormona paratiroidea
Inhibidor tisular de las metaloproteinasas	Hormona tiroidea
Retinoides (vitamina A)	Glucocorticoides
Factor transformador de crecimiento β 1 (TGF - β 1)	Interleukina I (II -1)
Factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF)	
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)	
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	
Factor transformador de crecimiento α (TGF - α)	
Factor básico de crecimiento del fibroblasto (bFGF)	
Factor de crecimiento tipo insulina (IGF)	
Interleukina I (II - 1)	
Esteroides y progesterona	
Hormona de crecimiento	

TABLA 2. Factores que influyen en la síntesis de colágeno

b) Degradación: en el corazón, la degradación del colágeno está mediada por metaloproteinasas de la matriz dependientes del Zinc (MMPs) (véase página 18). La estructura genérica de las MMPs está formada por cuatro regiones bien determinadas:

un propéptido señal, un propéptido, un dominio catalítico y un dominio tipo pexina. Este último es el que les confiere especificidad de sustrato. La mayoría de las MMPs son sintetizadas como zimógenos inactivos y secretados al espacio extracelular como proenzimas. Los principales tipos de MMP son las colagenasas y las gelatinasas. Las primeras son las MMP 1, 8 y 13, que clivan fundamentalmente los colágenos I y III con una mínima cantidad de proteólisis; las gelatinasas incluyen las MMP 2 y 9, y degradan sobre todo colágenos fibrilares desnaturalizados y colágenos tipo IV y V de las membranas basales. Una vez que la colagenasa se une a la fibrilla y comienza su acción, continúa unida a su sustrato hasta que haya sido completamente degradada, a menos que sea inhibida o controlada. Por ello existe un mecanismo natural de protección contra la degradación incontrolada por las colagenasas, que son los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs). Estos se coexpresan como complejos fuertemente unidos a las MMP (complejos enzima – inhibidor). 10 Los TIMPs también son sintetizados y secretados por los fibroblastos y su expresión génica esta estrictamente controlada a nivel transcripcional. Se unen a los sitios activos de las MMPs y bloquean el acceso al sustrato de la MEC. Estos complejos se forman en una relación estequiométrica 1:1 y son un importante sistema endógeno de regulación de la actividad de las MMPs in vivo.

La tasa de síntesis de colágeno en el miocardio es bastante lenta, 0,56% por día en estudios realizados en ventrículos de perro, y es más lenta que la de las proteínas no colágenas, que es de 7,2% por día. A su vez la vida media del colágeno miocárdico es de 80 a 120 días, 10 veces más que la de las proteínas no colágenas. Todo esto sugiere que el exceso de MEC colágena y el aumento de la fibrosis intersticial se desarrollan muy gradualmente, si bien este proceso puede ser acelerado en diversas ocasiones. Sin embargo, en esas circunstancias suele predominar el proceso de degradación, y el reemplazo de la MEC colágena, así que la degradación es necesariamente lenta, lo cual crea ventanas de vulnerabilidad para un remodelado adverso, como ocurre después de un IAM.

3.2. Activación del proceso fibrótico en el seno del miocardio

Si bien la causa más común de miocardiopatía es la enfermedad coronaria, existen también otras causas muy frecuentes que pueden terminar en una dilatación global de las cámaras cardíacas y el consiguiente deterioro de la función ventricular izquierda que, en algún momento de la evolución, llevarán al paciente a desarrollar insuficiencia cardíaca, como pueden ser las sobrecargas de volumen y/o presión, miocardiopatías tóxicas, defectos congénitos del metabolismo, miocarditis o miocardiopatías idiopáticas. Independientemente de su etiología, todas las causas de insuficiencia cardíaca convergen en una vía final común con una contractilidad disminuida y un remodelado fisiopatológico, manifestado especialmente por fibrosis, es decir, un aumento de volumen del compartimiento intersticial generado por la hiperplasia y la producción alterada de proteínas del tejido conectivo del fibroblasto cardíaco. Esta fibrosis genera un aumento de la rigidez miocárdica y contribuye de manera significativa al deterioro de la función contráctil (57). La insuficiencia cardíaca terminal se asocia con un aumento significativo de la MEC colágena, pérdida de miocardiocitos en la pared del ventrículo izquierdo, hipertrofia excéntrica y disminución de la relación masa/volumen de la pared de ventrículo izquierdo. En relación al colágeno, aumenta la cantidad de colágenos tipo I, III, IV y VI, y también de fibronectina, laminina y vimentina. La relación entre colágenos tipo I y tipo III (I/III) está disminuida. En la figura 5 se observan claramente una sección de miocardio fibrosado de 2 semanas de evolución tras IM.

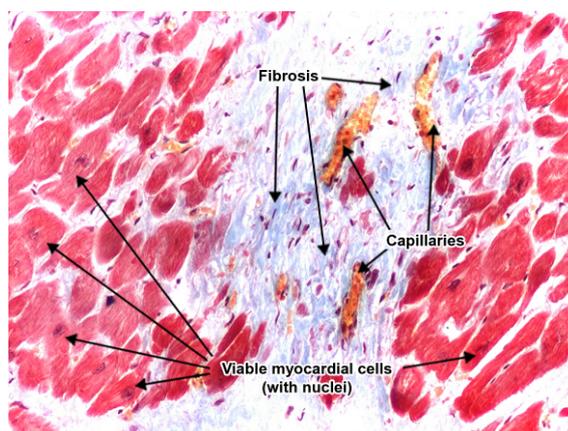


Figura 5.- Fibrosis miocárdica difusa. (Tinción Masson, obj. x10). Las células miocárdicas viables (rojo) con núcleos (marrón), rodeada por fibrosis rica en colágeno (azul). La fibrosis ha sustituido por completo las células del miocardio necróticas. Capilares (con glóbulos rojos-amarillos naranja).

Tras el daño miocárdico, estas proteínas de naturaleza fibrótica se empiezan a acumular alrededor de las arterias coronarias de forma intramiocítica y luego se extienden entre los cardiomiocitos. A este proceso se le conoce como “fibrosis perivascular reactiva e intersticial”. Este engrosamiento de la matriz extracelular acentúa aún más la disminución del suministro de nutrientes y energía al cardiomiocito y al mismo tiempo hace que la carga de trabajo del músculo cardíaco se incremente en respuesta a la hipertensión sistémica. Este desajuste acelera la muerte celular e induce la activación de los fibroblastos para que sintetizen matriz destinada a sustituir estas células muertas. Se forman así "microcicatrices", o "cicatrices", según el tamaño de la lesión que alteran la contractilidad cardíaca. Es de destacar que otros tejidos metabólicamente activos, tales como los riñones, también desarrollan este tipo de fibrosis intersticial durante la hipertensión (59).

Es importante comprender los eventos que de forma inicial se activan en el proceso fibrótico tras el IM, como por ejemplo, la activación perivascular y, más tarde intersticial de los fibroblastos. En la actualidad está perfectamente establecido que durante el remodelado cardíaco, los fibroblastos se diferencian a miofibroblastos. Estos últimos son los responsables de la síntesis de los componentes de la matriz extracelular. Los miofibroblastos proliferan rápidamente, son células α -SMA positivas y poseen propiedades contráctiles y secretoras (60). Se han propuesto varios modelos que podrían inducir la activación del fibroblasto: (1) El sistema renina-angiotensina-aldosterona se cree que desempeña un papel importante en la modulación de la actividad de los fibroblastos cardíacos (61); (2) Pero también parece claro, que la presión intracoronaria conduce directamente a la activación y al cambio fenotípico de los fibroblastos a miofibroblastos.

3.2.1. Cicatrización cardíaca y transición epitelio-mesenquimal.

Durante décadas se ha creído que la fibrosis cardíaca, o cicatrización cardíaca, era un proceso irreversible que conduce a alteraciones funcionales del miocardio y, en definitiva, a anomalías de la contractilidad cardíaca (disfunción sistólica) y de relajación (disfunción diastólica). Un estudio reciente realizado por Elisabeth M. Zeisberg, indica que, al igual que muchas "cosas seguras" en medicina y en ciencia, nos obliga a repensar si el desarrollo de la fibrosis y sus efectos adversos que tienen sobre la

función cardíaca son irreversibles. La fibrosis cardíaca tiene varias causas, entre ellas la isquemia y el infarto, las miocardiopatías y miocarditis, todas ellas con seguimiento a corto y largo plazo debido a la disfunción de la bomba y a la rigidez miocárdica. Los tratamientos se prescriben de acuerdo a los síntomas, sin embargo, un alto porcentaje de las personas afectadas sufren insuficiencia cardíaca o muerte súbita de causa cardíaca. La fibrosis se asocia con alteraciones de la estructura normal del corazón a nivel de los cardiomiocitos y a una deposición y acumulación excesiva de proteínas de la matriz extracelular. Los mediadores celulares de la fibrosis predominantemente son los fibroblastos, cuyo origen es incierto. En general, se supone que los fibroblastos adultos se originan de las células embrionarias mesenquimatosas y que aumentan en número únicamente como consecuencia de la proliferación de los fibroblastos adultos residentes. Esta hipótesis ha sido cuestionada por un estudio que sugiere que, durante los procesos fibrosantes, los fibroblastos derivados de la médula ósea y las células epiteliales también contribuyen a la acumulación de fibroblastos, por medio de un proceso llamado transición epitelio-mesenquimal. Esta transición es fundamental para el desarrollo embrionario del corazón, ya que es el medio por el cual las células mesenquimales que forman el “cojín” auriculoventricular, que son las formas primordiales de las válvulas y los septos del corazón adulto, derivan del endocardio. Las señales inductivas, como el factor de crecimiento transformador beta y las proteínas morfogénicas óseas, están diseñadas para regular la transición. El grupo de Zeisberg evaluó la hipótesis de que la fibrosis cardíaca se produce, en parte, por medio de la acumulación de fibroblastos aportados por la transición epitelio-mesenquimal. Al colocar bandas aórticas en el corazón de ratones y luego marcar y rastrear permanentemente las células de origen endotelial, los investigadores demostraron que éstas se sometían a la transición epitelio-mesenquimática durante la fibrosis cardíaca contribuyendo a la reserva total de fibroblastos cardíacos. Además, demostraron que los niveles de expresión de los marcadores mesenquimales eran mucho mayores, y que los marcadores de las células endoteliales eran sustancialmente inferiores en el corazón fibrótico que en el no fibrótico. Los autores observaron que TGF- β 1, un conocido promotor de la fibrosis cardíaca, es capaz de inducir la transición epitelio-mesenquimal, mientras que la proteína morfogenética ósea 7, un antagonista de la vía de TGF- β , conserva el fenotipo endotelial y revierte o impide la transición

inducida por TGF- β 1 (y, por lo tanto, la fibrosis, figura 6). Además, la investigación puso de manifiesto que es posible reducir la fibrosis cardíaca inducida por TGF- β 1 en ratones con sólo la mitad del nivel normal del factor de transcripción Smad3, un miembro del proceso de señalización de TGF- β que es activado por TGF- β 1.

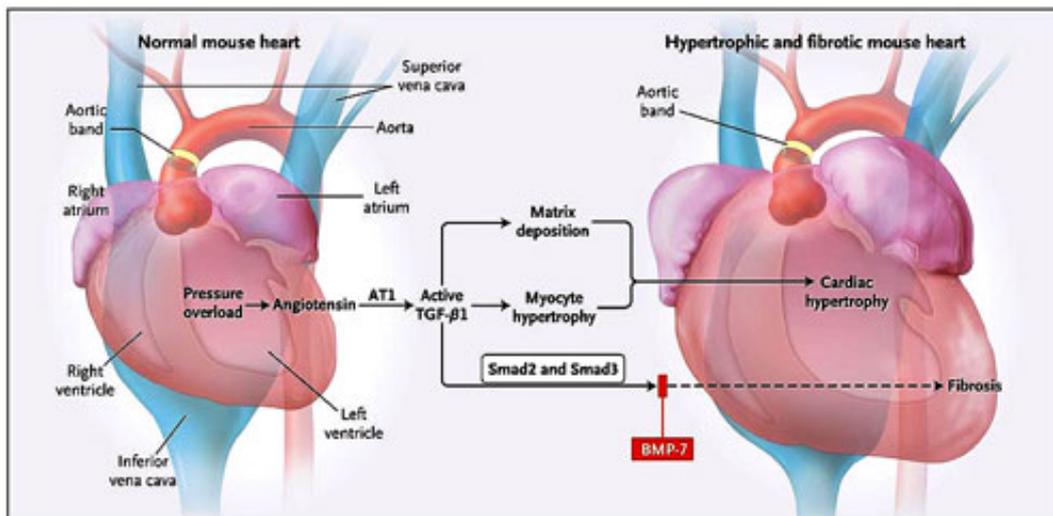


Figura 6.- Hipertrofia cardíaca y fibrosis en un modelo de ratón

Elisabeth Zeisberg y colaboradores demostraron recientemente que la transformación del factor de crecimiento beta1 impulsa la transición endotelio-mesenquimal. También manifestaron que esta transición impulsa la fibrosis cardíaca, inducida por bandas aórticas, con la consiguiente hipertrofia. TGF- β 1 afecta a esta transición mediante la activación de las moléculas Smad2 y Smad3; miembros de la familia TGF, la proteína morfogenética ósea 7 (BMP-7), controla esta transición y la protege contra la fibrosis inducida cuando se administra antes del bandeo. AT1 denota la angiotensina II tipo 1.

La superfamilia TGF- β tiene más de 40 miembros, incluido el TGF- β , factor de crecimiento transformador tipo B, y proteínas morfogénicas óseas. Los miembros de esta superfamilia parecen conducir a la fibrosis en el corazón, los riñones, los pulmones y el hígado. Se han descrito tres diferentes isoformas de TGF β , con TGF- β 1 encontrándose predominantemente en el sistema cardiovascular. TGF- β 1 se sintetiza como una proteína inactiva anclada en la matriz extracelular, y es estimulada por la angiotensina II, que la convierte en la forma biológicamente activa (figura 6). La forma activa se une a los receptores y estimula a Smad2 y Smad3 (que también participan en

las vías de señalización de las proteínas morfogénicas del hueso). La identificación de la sobre regulación de TGF- β 1, Smad2 y Smad3 en los corazones fibróticos bandeados apoya la idea de que esta vía es importante para el desarrollo y la progresión de la cicatrización cardíaca y la hipertrofia del órgano (figura 6).

Otras investigaciones apuntan a una tercera vía de activación de la fibrosis, que no es independiente del control hormonal y/o la presión arterial, y que estaría relacionada con las células inflamatorias que se infiltran invariablemente en el tejido cardíaco cuando este se somete a una sobrecarga (Figura 7).

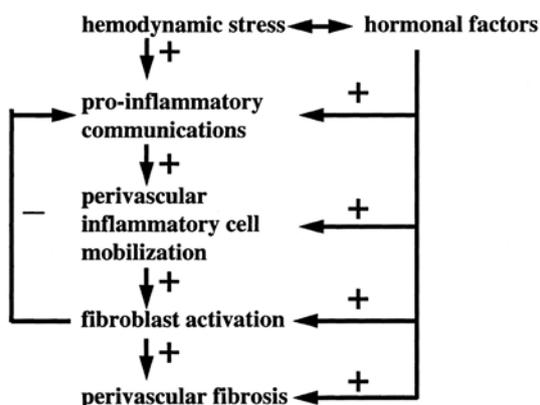


Figura 7. Cascada de eventos que conducen a una fibrosis perivascular durante una sobrecarga de presión.

3.2.2. Fibrosis cardíaca y respuesta inflamatoria. Sistema peptidérgico como mediador proinflamatorio y profibrogénico

En paralelo con la inducción de proteínas quimio-atrayentes así como proinflamatorias en la pared arterial, péptidos vasoactivos como la angiotensina II, la bradiquinina y endotelinas, podrían desempeñar un papel más directo en la inducción de la actividad de los fibroblastos y macrófagos. La presencia de receptores AT1 para angiotensina II en fibroblastos (62) y su acoplamiento en la señalización intracelular se ha evaluado en animales y seres humanos (63). Angiotensina II es un mitógeno para fibroblastos de corazón de rata recién nacida (64), y también aumenta la producción de colágeno (65), endotelina y la expresión de FGF- β en fibroblastos de corazón adulto (66). Por lo tanto, de forma directa o indirectamente, la angiotensina II es un agente profibrogénico. Recientemente, se ha propuesto que los efectos tróficos de la angiotensina II sobre los miocitos cardíacos podrían estar mediados por los

fibroblastos cardíacos y que el agente de comunicación intercelular podría ser el sistema de la endotelina. Angiotensina II activa las células monocíticas aumentando la movilización del Ca^{2+} dentro de estas células. Así se incrementa la adhesión de células monocíticas al endotelio y la secreción de moléculas proinflamatorias tales como el factor tumoral necrosante (TNF). Se ha demostrado recientemente que angiotensina II es capaz de aumentar la actividad lipoxigenasa en monocitos.

3.3. Rutas de señalización implicadas en la activación de fibrosis

Se han descrito varias rutas de señalización implicadas en la activación del proceso fibrótico tras el daño cardíaco(67,68). En la actualidad, una de las rutas más estudiadas es la que implica a Galectina-3(69).

3.3.1. Galectinas

Las galectinas son un grupo de lectinas animales con gran afinidad a los beta-galactósidos o residuos galactósidos presentes en diferentes glicoproteínas de la membrana plasmática y la matriz extracelular. Estas proteínas reconocen de forma específica unidades repetitivas, a través de un dominio altamente conservado, de 135 aminoácidos, denominado dominio de reconocimiento de carbohidratos (DRC) (70). Actualmente, se han descrito 15 miembros de esta familia de proteínas en los mamíferos, las cuales se clasifican de acuerdo a su estructura en galectinas “prototipo”, “quimera” y “repeticiones en tándem” como se representa en la figura 8 (71).

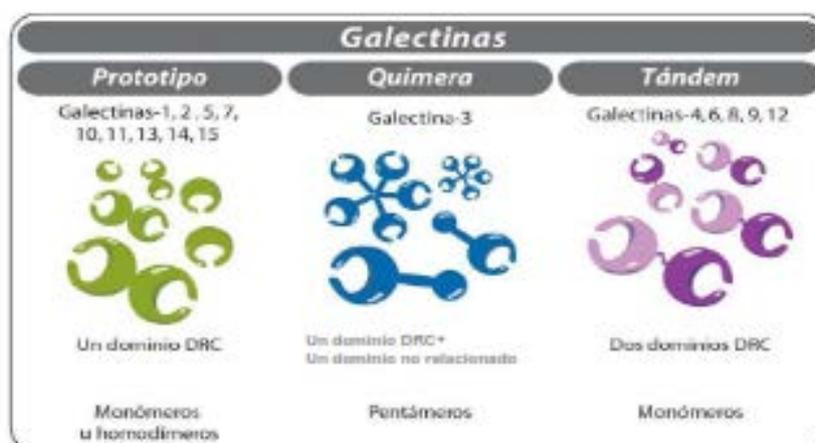


Figura 8. Clasificación estructural de las galectinas

Las galectinas “prototipo” (gal-1, -2, -5, -7, -10, -13, -14 y -15) poseen un único DRC. La galectina-3 (Gal-3) es la única galectina tipo “quimera” descrita y posee un DRC y otro dominio no relacionado que facilita su oligomerización (72). Las galectinas del tipo “repeticiones en tándem” (gal-4, -6, -8, -9, y -12) poseen dos DRC en una misma cadena polipeptídica (70).

Las galectinas son proteínas pleiotrópicas ampliamente distribuidas en diferentes tejidos, como el cardíaco y encontradas en células epiteliales, células dendríticas y células inflamatorias. Las galectinas se sintetizan en el citoplasma de las células y se dirigen al núcleo o se secretan al espacio extracelular, donde se unen a los glicanos de la matriz extracelular o de la superficie celular (71) como se muestra en la figura 9. Se localizan tanto intracelular como extracelularmente y pueden detectarse sobre la superficie celular a través de su unión lectina-carbohidrato y ejercer funciones en ambos compartimentos (72).

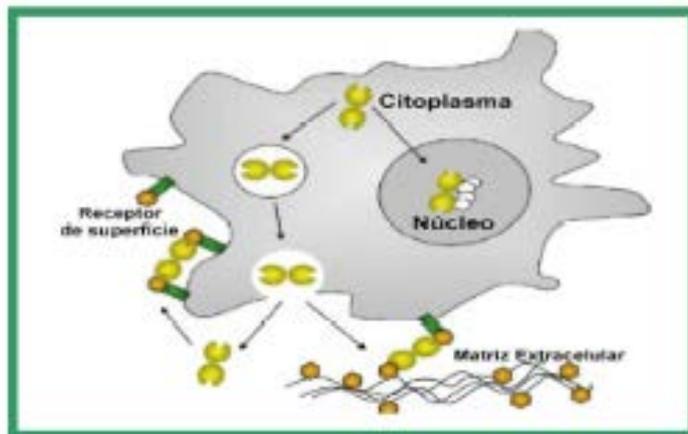


Figura 9.- Localización extracelular y subcelular de las galectinas. Modificado de (71).

Las galectinas están involucradas en procesos tales como el crecimiento y la supervivencia celular, son también capaces de modular las adhesiones celulares e inducir la migración celular. Intracelularmente, pueden regular el crecimiento y la supervivencia celular al interactuar con proteínas citoplásmicas y nucleares, a través de interacciones proteína-proteína, lo que afecta a las vías de señalización intracelulares (73). Actualmente se ha observado que las galectinas juegan un papel importante en diversos procesos fisiológicos y patológicos, incluyendo la respuesta

inmune e inflamatoria, el desarrollo y la progresión tumoral, la degeneración neuronal, la aterosclerosis o la fibrosis. La mayoría de los datos, in vivo, sugieren que durante la inflamación aguda en el miocardio infartado, Gal-3 tiene principalmente un papel proinflamatorio, mientras que en la fase crónica se asocia a la fibrogénesis.

3.3.1.1. Galectina 3

Galectina-3 es expresada por macrófagos cuando se activan, eosinófilos, neutrófilos y mastocitos (74). Hay muchos ligandos para la galectina-3, algunos de ellos están en la matriz extracelular como la laminina o la fibronectina (75,76). Gal-3 está presente en la mayoría de los tejidos en condiciones normales y se sobre-expresa en el miocardio especialmente tras IM (77–79). Aunque hasta la fecha está perfectamente establecida su implicación en la activación del proceso fibrótico tras IM, no ha sido hasta hace relativamente poco, usando un modelo experimental de IM, se ha cuantificado y evaluado sus niveles durante el IM (69). Gal-3 induce la proliferación de los fibroblastos en el miocardio, la deposición de colágeno, y la disfunción ventricular en ratas (80); se han encontrado sitios de unión a gal-3 en fibroblastos cardíacos de rata y en el seno de la matriz extracelular (ECM) (80). Varios estudios han estudiado vías de señalización implicadas en la activación de la fibrosis a través de gal-3. Recientemente el grupo de Ferial Azibani en 2012 mostró que Gal-3 a través de la activación de smad-3 es una señal para la activación del fibroblasto tras IM (81). Gal-3 se ha propuesto como un biomarcador asociado al recambio la ECM en IC (82,83). Los niveles séricos de gal-3 en pacientes con IC correlacionan de forma significativa con otros biomarcadores establecidos para el recambio de la ECM tales como el PIIINP (véase página 22), MMP-2 (véase página 18) o el TIMP-1 (véase página 18) (83).

3.3. Histomorfología de la fibrosis en miocardio dañado

Desde el punto de vista histomorfológico, las alteraciones del colágeno adoptan dos patrones: fibrosis difusa o focal (Figura 10).

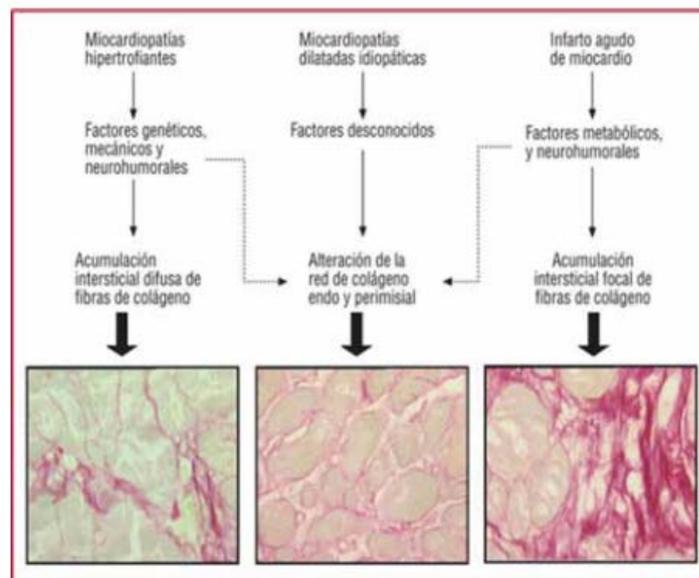


Figura 10. Patrones histomorfológicos resultantes de la alteración del equilibrio síntesis/degradación de colágeno fibrilar en distintos tipos de cardiopatías. (Biopsias endomiocárdicas humanas tratadas con rojo de Picosirio que tiñe de rojo las fibras de colágeno; magnificación× 100). Tomado de: Jiménez Navarro MF, Díez Martínez J, Delgado Jiménez JF, Crespo Leiro MG. La insuficiencia cardíaca en el año 2005. Rev Esp Cardiol. 2006;59(Sup):55-65.

La fibrosis difusa se observa en miocardiopatías hipertrofiantes, como la cardiopatía hipertensiva, la miocardiopatía diabética, la miocardiopatía hipertrófica y la cardiopatía de la estenosis aórtica. La fibrosis focal se asocia con la cardiopatía isquémica, sobre todo la que cursa con infarto de miocardio. La alteración de la red de colágeno se da en la miocardiopatía dilatada idiopática y en las cardiopatías crónicas que han evolucionado hasta la fase de dilatación. Las relaciones entre las alteraciones del colágeno miocárdico y las alteraciones de la función cardíaca todavía no están claras y no pueden contemplarse aisladas de posibles alteraciones de otros componentes de la MEC que también influyen en la rigidez de la cámara ventricular durante la diástole (como la fibronectina) o la contractilidad sistólica del miocardio (integrinas) (55). En los últimos años se ha suscitado un notable interés por el desarrollo de marcadores no invasivos de las alteraciones del colágeno cardíaco, así como por la exploración de medidas terapéuticas dirigidas a restablecer el equilibrio entre su síntesis y su degradación. En el ámbito diagnóstico y junto con el empleo de métodos de imagen como la resonancia magnética cabe destacar la determinación sanguínea de PICP producido en los tejidos cuando una molécula de colágeno tipo I se forma a partir de su precursor. Existe evidencia sobre la utilidad de la determinación



sérica de PICP como marcador de la cuantía del depósito miocárdico de fibras de colágeno tipo I en pacientes hipertensos con IC (55,84). De tal manera que el desequilibrio de la síntesis/degradación de la matriz extracelular (MEC) altera críticamente la estructura del miocardio, compromete la función y la geometría del ventrículo produciendo la activación de mecanismos regulatorios neurohormonales e inmunoinflamatorios lo cual a su vez perpetúan y magnifican las respuestas celulares y los cambios moleculares que mantendrán la cadena de eventos en progresión hacia la insuficiencia cardíaca.

4. CARDIOPROTECCIÓN

La cardioprotección hace referencia a la prevención frente al daño vascular coronario y al daño en los miocitos cardíacos. La cardioprotección se obtiene por mecanismos internos del organismo y/o a través del uso de diversos fármacos. Esto involucra la vasodilatación, inhibición de la generación de radicales con oxígeno reactivo el aumento de los niveles de ATP tisular y la reducción del daño microvascular.

4.1. *Cardioprotección endógena en la rehabilitación cardiovascular*

Los programas de rehabilitación cardiovascular (RC) se definen como un conjunto de medidas terapéuticas para el cuidado integral de los pacientes con enfermedad cardiovascular; su recomendación se considera segura, útil y efectiva (clase I-A), especialmente en sujetos con enfermedad coronaria e insuficiencia cardíaca crónica (85,86). Hay evidencia científica del impacto favorable de los programas de RC en el proceso fisiopatológico de estas enfermedades y de la reducción de la mortalidad entre un 20 y un 25%. No obstante, están subutilizados en todo el mundo. En Estados Unidos, menos del 30% de los pacientes elegibles son referidos a estos programas (87). A partir de estas reflexiones de beneficio y subutilización contradictoria de estos programas, decidimos que es necesario apoyar el nivel de evidencia del beneficio que producen. Por lo tanto, brindamos en nuestra revisión justificaciones novedosas a nivel molecular sobre la potencialidad de la RC para generar cardioprotección endógena, centrándonos en la capacidad del ejercicio físico para inducir un fenotipo cardioprotector contra el daño generado por la isquemia-reperfusión (IR) y en las

adaptaciones cardioprotectoras que el ejercicio físico genera en el tejido vascular y el sistema autónomo. Para una mejor comprensión de los efectos cardioprotectores del ejercicio físico contra el daño por IR, creemos prudente dejar claro cuáles son los cambios celulares que se producen en esta circunstancia.

4.1.1. ¿QUÉ OCURRE DURANTE LA ISQUEMIA-REPERFUSIÓN (I/R)?

La magnitud del daño de la I/R está determinada por la duración de la isquemia. Los niveles del daño van desde el generado por una breve agresión que resulta en un daño no permanente, hasta los generados por eventos duraderos que pueden llevar a la disfunción eléctrica cardíaca y la muerte celular. Las isquemias que duran hasta 5 min (figura 11) no causan disfunción contráctil ventricular o muerte celular, pero pueden producir arritmias.

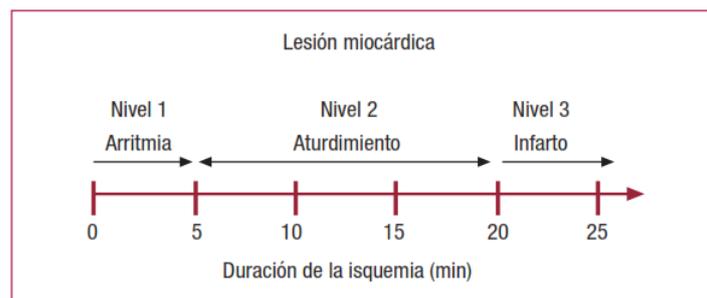


Figura 11. Magnitud de la lesión miocárdica según el tiempo de duración de la isquemia.

Las isquemias que duran hasta 20 min producen disfunción contráctil ventricular pero no muerte celular, y las que duran más de 20 min son las que producen muerte celular. El daño en la reperfusión ocurre durante sus primeros 60 s, y su magnitud está determinada por la duración de la isquemia. En la I/R hay depleción de energía, acumulación de metabolitos, estrés oxidativo y sobrecarga de calcio; la extensión del daño depende de la magnitud de estos cambios. En la isquemia (figura 12, panel A), con la pérdida de oxígeno viene un inmediato cese de la producción de ATP mitocondrial, lo que dispara un incremento de la glucólisis anaeróbica para tratar de compensar la necesidad de energía. Como resultado, se incrementan las concentraciones de iones de hidrógeno y ácido láctico en el citosol, lo que genera una inhibición de la glucólisis anaeróbica con la depleción total de energía. Las



concentraciones intracelulares de Na^+ se incrementan porque el pH intracelular bajo activa el intercambiador sodio-hidrógeno (NHE) en el sarcolema y porque, junto con la falta de energía, se inhibe en el sarcolema la bomba Na^+ / K^+ dependiente de ATP. En esta situación también se inhibe la bomba de Ca^{2+} del sarcolema y del retículo sarcoplásmico. La depleción de ATP también deriva en la apertura de los canales de K^+ dependientes de ATP del sarcolema y las mitocondrias. La apertura de estos canales se considera un mecanismo de defensa para reducir las especies con oxígeno reactivo generadas durante la reperfusión (88,89). Con el retorno del oxígeno durante la reperfusión (figura 12, panel B), la mitocondria genera una gran cantidad de ROS. La sobrecarga de Na^+ intracelular continúa durante la fase inicial de la reperfusión, porque los NHE son activados por ROS y, como aún hay escasez de ATP, hay una demora en la reactivación de las bombas de Na^+ / K^+ y Ca^{2+} dependientes de ATP en el sarcolema. La alta concentración de Na^+ hace que el intercambiador $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ (NCE) actúe de manera inversa, produciendo una sobrecarga de Ca^{2+} en el citosol y la mitocondria. La sobrecarga de Ca^{2+} deriva en una mayor producción de ROS y la activación de proteasas, como las calpaínas, que generan degradación de proteínas, entre ellas la ATPasa- Ca^{2+} de retículo sarcoplásmico (SERCA2a). Esta situación conduce a una disfunción de las proteínas contráctiles (88,90). La sobrecarga de Ca^{2+} y ROS produce la apertura de los poros de permeabilidad transitoria mitocondriales (mPTP). La apertura de estos poros inespecíficos de gran conductancia en la membrana mitocondrial produce la liberación de citocromo c al citosol, lo que induce la activación de las caspasas (91). Si la lesión por la I/R es grave, los poros permanecen abiertos y la célula muere vía oncosis; si es moderada, vía apoptosis, y si es ligera, se produce la recuperación (92,93).

4.1.2. ¿CÓMO PROTEGE EL EJERCICIO FÍSICO DEL DAÑO POR ISQUEMIA-REPERFUSIÓN?

El ejercicio físico per se o mediante la inducción de preacondicionamiento isquémico (PI) genera adaptaciones moleculares de magnitud citoprotectora, con la expresión y modulación genética de un fenotipo cardioprotector que mitiga casi todos los mecanismos fisiopatológicos del daño por I/R. Según las investigaciones de Powers y colaboradores (94), entre los mecanismos que el ejercicio induce para generar cardioprotección contra el daño por I/R, parecen no ser esencial el incremento de



proteínas de choque térmico, el incremento en la expresión de la ciclooxigenasa 226 y el alto nivel de proteínas de estrés del retículo endoplásmico. Por lo tanto, nos centraremos en los mecanismos que han resultado ser condición *sine qua non* para esta protección, como el incremento de la protección antioxidante, los cambios en el metabolismo y la expresión de proteínas mitocondriales, el incremento en la expresión y la apertura de los canales de K^+_{ATP} mitocondriales y del sarcolema y la atenuación de la activación de las calpaínas por la I/R.

Protección antioxidante

La producción de ROS, la acumulación de iones de hidrógeno y la generación de especies reactivas de nitrógeno desempeñan un papel muy importante en el complejo fisiopatológico del daño por I/R. La mitocondria es la fuente primaria en la producción de ROS durante la I/R (95). En un modelo animal, se ha comprobado que el ejercicio físico protege al cardiomiocito del estrés oxidativo que genera la I/R y a sus mitocondrias del daño estructural asociado a esta (96). Hay consenso en que el incremento de la protección antioxidante generada por el ejercicio se debe a un incremento en la expresión de las enzimas manganeso y cobre-cinc superóxido dismutasas (MnSOD y Cu-ZnSOD), glutatión peroxidasa 3 (GpX-3) y las catalasas (CAT)(97,98). De las SOD, la más importante es la MnSOD, y sólo se incrementa con ejercicios de alta intensidad. Estudios recientes han demostrado que la MnSOD es esencial para la protección completa contra el infarto miocárdico y la taquicardia ventricular inducidos por I/R (99).

Cambios en el metabolismo y la expresión proteica mitocondrial

Las mitocondrias cardiacas del subsarcolema e intermiofibrilares contribuyen en la protección inducida por el ejercicio físico contra el daño por I/R mediante algunas de las siguientes vías: la reducción en la producción de ROS por las mitocondrias cardiacas; las mitocondrias son más resistentes a la apertura de los mPTP inducida por el Ca^{2+} , lo que evita que se desencadenen potentes mecanismos apoptóticos; la inducción de una reducción en la expresión mitocondrial de la monoaminoxidasa A, que parece ser una fuente importante de estrés oxidativo.

***Papel de los canales de K^+ _{ATP} mitocondriales y del sarcolema***

La activación de los canales de K^+ _{ATP} mitocondriales atenúa la sobrecarga de Ca^{2+} y, por lo tanto, previene la apertura de los mPTPs y el daño que esto ocasiona, aunque algunos investigadores desestiman que el ejercicio induzca este mecanismo (100). El mecanismo protector del ejercicio se asocia más con la apertura de los canales K^+ _{ATP} del sarcolema, que permiten una aceleración de la repolarización por incremento en la salida de K^+ y un acortamiento de la duración del potencial de acción. Como resultado de este acortamiento, se previene la sobrecarga de Ca^{2+} por la reducción del tiempo de apertura de los canales de Ca^{2+} tipo L (101).

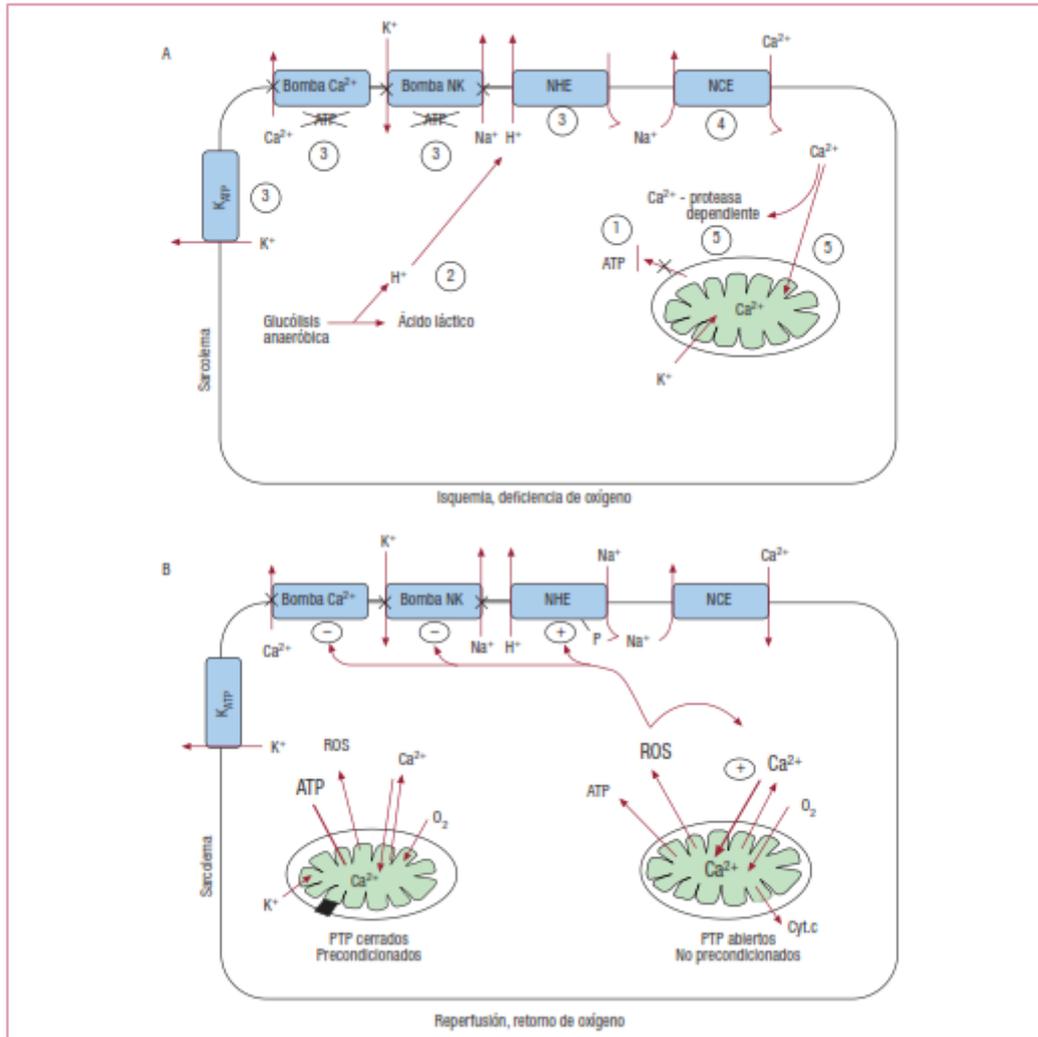


Figura 12. Algunos eventos que ocurren durante la isquemia (A) y durante la reperfusión (B). Los números en el panel A representan la secuencia de eventos. En el panel B se visualiza cómo la mitocondria puede responder si está preconditionada o no ante una forma inespecífica de preconditionamiento y el papel de los mPTP. El K^+ está entrando en la mitocondria por la apertura de los canales de K^+ sensibles a ATP mitocondriales. ATP: adenosintrifosfato; Cyt.c: citocromo C; NCE: intercambiador Na ; NHE: intercambiador Na^+/H^+ ; PTP: poros de permeabilidad transitoria; ROS: especies con oxígeno reactivo.

Atenuación de la activación de las calpaínas inducida por isquemia/reperfusión

Las calpaínas son unas proteasas dependientes de Ca^{2+} con dos isoformas (calpaína I y calpaína II), que se activan por una exposición prolongada a niveles altos de Ca^{2+} en el citosol y contribuyen al daño por I/R. French y colaboradores (102) mostraron que la inhibición de las calpaínas atenuaba la disfunción contráctil inducida por I/R y que el ejercicio redujo la activación de las calpaínas asociada a I/R, porque mejoró la protección antioxidativa con incremento de la MnSOD y las CAT y previno la degradación de la SERCA2a y fosfolambano, mecanismos adaptativos que generan una reducción de la concentración de Ca^{2+} en el citosol y, por lo tanto, atenuación de la activación de las calpaínas, que depende de Ca^{2+} .

Umbral y duración de la sesiones de ejercicio para lograr cardioprotección

Para lograr los efectos cardioprotectores mediante el ejercicio físico, la duración de una sesión de ejercicio debe ser de al menos 60 min, con una intensidad en que la frecuencia cardiaca de entrenamiento sea el 75% del consumo pico de oxígeno. Hay evidencias de que la cardioprotección contra el aturdimiento miocárdico inducida por el ejercicio persiste a los 9 días de haber cesado el entrenamiento y se pierde totalmente a los 18 días (90,103).

Inducción de preacondicionamiento isquémico por ejercicio físico. Cardioprotección y potencial aplicación en la rehabilitación cardiovascular

Desde hace más de 5 años, la American Heart Association (AHA) reconoce el PI inducido por el ejercicio como un mecanismo cardioprotector potente, de utilidad dentro de los programas de RC en pacientes con enfermedad coronaria avanzada, en quienes la realización de ejercicios a umbrales isquémicos incrementa la tolerabilidad miocárdica para enfrentarse a ulteriores situaciones de estrés isquémico prolongado, con la consiguiente reducción del daño miocárdico y el riesgo de sufrir taquiarritmias ventriculares letales (104). A partir de evidencias científicas, se considera segura la implementación de esta modalidad de RC, que debe ser individualizada y con vigilancia electrocardiográfica estricta, para que, durante una sesión de entrenamiento de 60 min, el paciente alcance de forma intermitente el umbral isquémico y lo mantenga durante periodos > 90 s y < 5 min. Según algunos autores (105), los mecanismos

moleculares del PI para generar un fenotipo citoprotector son diversos: los que dependen de la modalidad —si es primera o segunda ventana de protección— o de la naturaleza de la isquemia preconditionante. Entre estos mecanismos se incluyen principalmente la apertura de los canales de K⁺ del sarcolema y mitocondriales, el incremento en la actividad y expresión de la MnSOD, de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) y la inhibición de la apertura de los mPTP durante la reperfusión.

Efectos vasculares del ejercicio físico que se relacionan con cardioprotección

El ejercicio físico, per se o con la inducción de PI, ejerce efectos favorables en el sistema vascular que generan cardioprotección. Hambrecht y colaboradores (106), realizaron el primer estudio en humanos que evaluó el efecto de un programa de ejercicio físico en la función endotelial coronaria, y encontraron que un programa de 4 semanas con ejercicios aeróbicos mejoró la función coronaria y que ese efecto se perdió parcialmente después de 5 meses de haber designado a los pacientes a un programa de menor intensidad en sus casas. El estrés de cizallamiento laminar generado por el ejercicio produce estímulos mecánicos en el citoesqueleto endotelial que se transforman en vías de señalización bioquímicas a nivel molecular que promueven una mejor función endotelial. Entre estas señalizaciones se incluyen la fosforilación y activación de la eNOS con el incremento en la producción de óxido nítrico (NO), el incremento en la expresión y activación de las enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPX que, junto con la reducción en la expresión de la oxidasa del NADPH y de los receptores AT1 de la angiotensina II, producen una reducción de ROS y de la vasoconstricción mediada por la angiotensina II. Está en debate si el ejercicio físico per se o sólo cuando induce isquemia genera incremento de las células progenitoras endoteliales (CPE) en la médula ósea mediante la estimulación del factor de crecimiento endotelial, el factor de crecimiento placentario y el sistema de metaloproteinasas. Este incremento de las CPE permite mantener, en situaciones críticas, la capa de células endoteliales.

Efectos del ejercicio físico en el sistema autónomo que se relacionan con cardioprotección



Es ampliamente conocido que un programa de entrenamiento físico produce evolutivamente una reducción del incremento de la frecuencia cardiaca y del consumo miocárdico de oxígeno (MVO_2) para una misma carga de trabajo. En los pacientes con enfermedad coronaria, estos cambios de la frecuencia cardiaca tienen un efecto favorable en el umbral isquémico, son cardioprotectores y mejoran la calidad de vida (90). Actualmente ha cobrado gran interés la capacidad del infarto de miocardio (IM) para generar una remodelación de la regulación autonómica cardiaca, con inestabilidad eléctrica y propensión a sufrir taquiarritmias ventriculares malignas, y la capacidad del ejercicio físico para generar un remodelado inverso y reducir tal propensión. El IM produce una remodelación de la regulación del sistema autónomo sobre el sistema cardiovascular, al reducir la regulación parasimpática y alterar la relación de los adrenorreceptores beta miocárdicos, incrementando la expresión y la actividad de los adrenorreceptores beta 2, mientras que los beta 1 permanecen constantes. Esto deriva en una desregulación del Ca^{2+} con sobrecarga intracelular y potencialidad para desarrollar arritmias malignas. Por lo tanto, las intervenciones que aumenten la actividad parasimpática y reduzcan la actividad adrenérgica cardiaca podrían también proteger contra la fibrilación ventricular. Hay suficiente evidencia científica en modelos animales y humanos de la capacidad de un programa de ejercicio físico tras un IM para producir una remodelación inversa en la regulación del sistema autónomo sobre el sistema cardiovascular y proteger contra la fibrilación ventricular (107,108).

4.1.3. *Postacondicionamiento isquémico (POSI)*

El fenómeno de POSI fue descrito por Zhao y colaboradores en 2003 al demostrar en un modelo canino con oclusión transitoria de la coronaria descendente anterior que la aplicación de ciclos cortos y repetidos de I/R realizados justo en el ciclo de la reperusión reducía el tamaño del infarto a niveles similares a los obtenidos con el preacondicionamiento isquémico (109). Se ha propuesto que el postacondicionamiento comparte las mismas vías de cardioprotección que el preacondicionamiento. Estas incluirían receptores de membrana acoplados a proteínas G y activados por moléculas liberadas al medio extracelular en el inicio de la

reperfusión, como los receptores A_{2A} y A_{2B} de adenosina, el receptor de bradiquinina B₂, los receptores de opioides δ y γ y la guanilato ciclasa particulada (110,111).

Otra vía de señalización que ha sido implicada en el postcondicionamiento es la NO/GMPc; el uso de inhibidores de la NO sintasa y de la guanilato ciclasa soluble (uno de los enzimas responsables de la síntesis del GMPc) previene la protección otorgada por el POSI. Esta vía actuaría a través de la PKG, la cual activaría la PKC; esta quinasa sensibilizaría el receptor A_{2B} de adenosina y/o inhibiría la apertura del mPTP (110,111).

La inhibición de la apertura de los canales mitoKATP también revierte la protección por POSI; el efecto que su apertura tiene en el cardiomiocito reperfundido y las causas de esa apertura, sin embargo, no están bien definidas (110,111).

Uno de los modelos propuestos para explicar la protección por POSI es la activación de las quinasas RISK. Bajo esta denominación se incluyen aquellas quinasas cuya activación es considerada como favorecedora de la supervivencia de la célula. Entre ellas destacan las MAPKS, ERK1/2, y la vía PI3K/Akt. Estas vías conducirían a la activación de la óxido nítrico sintasa, la inhibición del mPTP, la prevención de la apoptosis y la inhibición de GSK3 β (110,111). Sin embargo, puede que la vía RISK no sea esencial en el POSI. Estudios recientes, no han encontrado diferencias en la fosforilación de estas quinasas en el miocardio porcino postcondicionado respecto al control (112).

También se ha descrito la implicación de radicales con oxígeno reactivo, del sulfuro de hidrógeno, de la quinasa de esfingosina (SPK) y de la vía JAK-STAT en la señalización de la protección por POSI (111).

Las características del POSI lo convierten en una maniobra terapéutica factible en pacientes con infarto de miocardio tratados con angioplastia primaria, en los que el balón que se infla para desobstruir el trombo se puede hinchar y desinchar repetidamente para realizar el protocolo de POSI. De hecho, ya se han realizado ensayos clínicos con esta estrategia tanto en infarto de miocardio como en cirugía y los resultados han sido positivos en todos ellos. Sin embargo, el POSI tiene limitaciones como terapia. Por un lado, no se puede realizar en pacientes tratados con trombolisis. Además, la variabilidad en la efectividad de los protocolos entre modelos

experimentales y grupos de investigación hace albergar dudas sobre la óptima eficiencia del protocolo seleccionado en todos los pacientes; no solo eso, sino que algunos estudios han observado la pérdida de la protección en animales hiperlipidémicos, hipertensos, diabéticos y ancianos. Por estos motivos, desarrollar terapias farmacológicas que imiten el POSI ampliaría el rango de pacientes tratables y optimizaría la eficacia y seguridad del tratamiento cardioprotector.

4.2. *Cardioprotección farmacológica*

Tal como se describió anteriormente, la activación de la ruta RISK induce cardioprotección. Existen evidencias de que la vía RISK u otras asociadas a citoprotección pueden ser *gatilladas* por distintas moléculas, hormonas y/o fármacos en intensidades variables, introduciendo el concepto de precondicionamiento farmacológico (PCF) y postcondicionamiento farmacológico (PostCF) (111,113). Fármacos tales como opiodes, anestésicos inhalatorios y estatinas son cardioprotectores al activar de una u otra forma la vía RISK (114–116). Es importante diferenciar entre fármacos cardioprotectores, de aquellos con propiedades pre o postcondicionantes. Los primeros hacen referencia al desarrollo de protección miocárdica en tanto el fármaco esté presente en concentraciones plasmáticas circulantes efectivas, pero cuyo efecto protector se pierde en ausencia del fármaco. El concepto de condicionamiento implica que la protección miocárdica no se pierde en ausencia del fármaco, sino que se mantiene aún cuando no sea detectable en la circulación. Este concepto de farmacoprotección y condicionamiento cardiaco está cada vez más difundido y se utiliza clínicamente en situaciones de manejo de pacientes con alto riesgo cardiovascular sometidos a procedimientos terapéuticos, ya sean médicos o quirúrgicos. En cirugía cardiaca y no cardiaca de pacientes coronarios se pregona el uso de fármacos cardioprotectores para evitar la ocurrencia de eventos coronarios agudos y disminuir los daños asociados a isquemia y reperfusión coronaria.

4.3. *Cardioprotección metabólica*

En la isquemia disminuye el contenido de glucógeno y, por tanto, hay reducción del sustrato glicolítico. La infusión de insulina y glucosa, durante la isquemia moderada, aumenta el contenido de ATP celular destinado a la ATPasa de la bomba



Na⁺/K⁺, por lo que desciende la carga osmolar y mejoran las consecuencias del fenómeno isquemia-reperusión (117).

BIBLIOGRAFÍA

1. Flores-Mateo G, Grau M, O'Flaherty M, Ramos R, Elosua R, Violan-Fors C, et al. [Analyzing the coronary heart disease mortality decline in a Mediterranean population: Spain 1988-2005]. *Rev Esp Cardiol*. 2011 Nov;64(11):988–96.
2. Davies MJ. The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart Br Card Soc*. 2000 Mar;83(3):361–6.
3. Arbab-Zadeh A, Nakano M, Virmani R, Fuster V. Acute coronary events. *Circulation*. 2012 Mar 6;125(9):1147–56.
4. Taegtmeyer H. Cardiac metabolism as a target for the treatment of heart failure. *Circulation*. 2004 Aug 24;110(8):894–6.
5. Noll T, Schäfer M, Schavier-Schmitz U, Piper HM. ATP induces dephosphorylation of myosin light chain in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2000 Sep;279(3):C717–23.
6. Soler F, Fortea M-I, Lax A, Fernández-Belda F. Dissecting the hydrolytic activities of sarcoplasmic reticulum ATPase in the presence of acetyl phosphate. *J Biol Chem*. 2002 Oct 11;277(41):38127–32.
7. Soler F, Lax A, Fernández-Belda F. Cellular death linked to irreversible stress in the sarcoplasmic reticulum: the effect of inhibiting Ca(2+) -ATPase or protein glycosylation in the myocardial cell model H9c2. *Arch Biochem Biophys*. 2007 Oct 15;466(2):194–202.
8. Lax A, Soler F, Fernández-Belda F. Cytoplasmic Ca²⁺ signals and cellular death by apoptosis in myocardial H9c2 cells. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Sep;1763(9):937–47.
9. Muth JN, Bodi I, Lewis W, Varadi G, Schwartz A. A Ca(2+)-dependent transgenic model of cardiac hypertrophy: A role for protein kinase Calpha. *Circulation*. 2001 Jan 2;103(1):140–7.
10. Entman ML, Smith CW. Postreperfusion inflammation: a model for reaction to injury in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 1994 Sep;28(9):1301–11.
11. Frangogiannis NG, Youker KA, Rossen RD, Gwechenberger M, Lindsey MH, Mendoza LH, et al. Cytokines and the microcirculation in ischemia and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*. 1998 Dec;30(12):2567–76.
12. Mehta JL, Li DY. Inflammation in ischemic heart disease: response to tissue injury or a pathogenetic villain? *Cardiovasc Res*. 1999 Aug 1;43(2):291–9.
13. Bolli R. Oxygen-derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction (“stunned myocardium”). *J Am Coll Cardiol*. 1988 Jul;12(1):239–49.
14. Bolli R, Marbán E. Molecular and cellular mechanisms of myocardial stunning. *Physiol Rev*. 1999 Apr;79(2):609–34.
15. Libby P, Maroko PR, Bloor CM, Sobel BE, Braunwald E. Reduction of experimental myocardial infarct size by corticosteroid administration. *J Clin Invest*. 1973 Mar;52(3):599–607.



16. Roberts R, DeMello V, Sobel BE. Deleterious effects of methylprednisolone in patients with myocardial infarction. *Circulation*. 1976 Mar;53(3 Suppl):I204–6.
17. Kloner RA, Fishbein MC, Lew H, Maroko PR, Braunwald E. Mummification of the infarcted myocardium by high dose corticosteroids. *Circulation*. 1978 Jan;57(1):56–63.
18. Richard V, Murry CE, Reimer KA. Healing of myocardial infarcts in dogs. Effects of late reperfusion. *Circulation*. 1995 Oct 1;92(7):1891–901.
19. Jugdutt BI. Effect of reperfusion on ventricular mass, topography, and function during healing of anterior infarction. *Am J Physiol*. 1997 Mar;272(3 Pt 2):H1205–11.
20. Frangogiannis NG, Mendoza LH, Lindsey ML, Ballantyne CM, Michael LH, Smith CW, et al. IL-10 is induced in the reperfused myocardium and may modulate the reaction to injury. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2000 Sep 1;165(5):2798–808.
21. Maroko PR, Carpenter CB, Chiariello M, Fishbein MC, Radvany P, Knostman JD, et al. Reduction by cobra venom factor of myocardial necrosis after coronary artery occlusion. *J Clin Invest*. 1978 Mar;61(3):661–70.
22. Shappell SB, Taylor AA, Hughes H, Mitchell JR, Anderson DC, Smith CW. Comparison of antioxidant and nonantioxidant lipoxygenase inhibitors on neutrophil function. Implications for pathogenesis of myocardial reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990 Feb;252(2):531–8.
23. Romson JL, Hook BG, Kunkel SL, Abrams GD, Schork MA, Lucchesi BR. Reduction of the extent of ischemic myocardial injury by neutrophil depletion in the dog. *Circulation*. 1983 May;67(5):1016–23.
24. Mullane KM, Read N, Salmon JA, Moncada S. Role of leukocytes in acute myocardial infarction in anesthetized dogs: relationship to myocardial salvage by anti-inflammatory drugs. *J Pharmacol Exp Ther*. 1984 Feb;228(2):510–22.
25. Engler RL, Dahlgren MD, Morris DD, Peterson MA, Schmid-Schönbein GW. Role of leukocytes in response to acute myocardial ischemia and reflow in dogs. *Am J Physiol*. 1986 Aug;251(2 Pt 2):H314–23.
26. Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, Abrams GD, Lucchesi BR. Canine myocardial reperfusion injury. Its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Circ Res*. 1984 Mar;54(3):277–85.
27. Arslan F, Smeets MB, O'Neill LAJ, Keogh B, McGuirk P, Timmers L, et al. Myocardial ischemia/reperfusion injury is mediated by leukocytic toll-like receptor-2 and reduced by systemic administration of a novel anti-toll-like receptor-2 antibody. *Circulation*. 2010 Jan 5;121(1):80–90.
28. Mann DL. The emerging role of innate immunity in the heart and vascular system: for whom the cell tolls. *Circ Res*. 2011 Apr 29;108(9):1133–45.
29. Gordon JW, Shaw JA, Kirshenbaum LA. Multiple facets of NF- κ B in the heart: to be or not to NF- κ B. *Circ Res*. 2011 Apr 29;108(9):1122–32.



30. Morishita R, Sugimoto T, Aoki M, Kida I, Tomita N, Moriguchi A, et al. In vivo transfection of cis element “decoy” against nuclear factor-kappaB binding site prevents myocardial infarction. *Nat Med*. 1997 Aug;3(8):894–9.
31. Stancovski I, Baltimore D. NF-kappaB activation: the I kappaB kinase revealed? *Cell*. 1997 Oct 31;91(3):299–302.
32. Frangogiannis NG, Burns AR, Michael LH, Entman ML. Histochemical and morphological characteristics of canine cardiac mast cells. *Histochem J*. 1999 Apr;31(4):221–9.
33. Gordon JR, Galli SJ. Mast cells as a source of both preformed and immunologically inducible TNF-alpha/cachectin. *Nature*. 1990 Jul 19;346(6281):274–6.
34. Gordon JR, Burd PR, Galli SJ. Mast cells as a source of multifunctional cytokines. *Immunol Today*. 1990 Dec;11(12):458–64.
35. Frangogiannis NG, Lindsey ML, Michael LH, Youker KA, Bressler RB, Mendoza LH, et al. Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF-alpha, initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation*. 1998 Aug 18;98(7):699–710.
36. Belosjorow S, Schulz R, Dörge H, Schade FU, Heusch G. Endotoxin and ischemic preconditioning: TNF-alpha concentration and myocardial infarct development in rabbits. *Am J Physiol*. 1999 Dec;277(6 Pt 2):H2470–5.
37. Sack MN, Smith RM, Opie LH. Tumor necrosis factor in myocardial hypertrophy and ischaemia--an anti-apoptotic perspective. *Cardiovasc Res*. 2000 Feb;45(3):688–95.
38. Bujak M, Dobaczewski M, Chatila K, Mendoza LH, Li N, Reddy A, et al. Interleukin-1 receptor type I signaling critically regulates infarct healing and cardiac remodeling. *Am J Pathol*. 2008 Jul;173(1):57–67.
39. Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell*. 2010 Mar 19;140(6):821–32.
40. Kawaguchi M, Takahashi M, Hata T, Kashima Y, Usui F, Morimoto H, et al. Inflammasome activation of cardiac fibroblasts is essential for myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation*. 2011 Feb 15;123(6):594–604.
41. Folgueras AR, Pendás AM, Sánchez LM, López-Otín C. Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies. *Int J Dev Biol*. 2004;48(5-6):411–24.
42. Uría JA, Jiménez MG, Balbín M, Freije JM, López-Otín C. Differential effects of transforming growth factor-beta on the expression of collagenase-1 and collagenase-3 in human fibroblasts. *J Biol Chem*. 1998 Apr 17;273(16):9769–77.
43. Miller MD, Krangel MS. Biology and biochemistry of the chemokines: a family of chemotactic and inflammatory cytokines. *Crit Rev Immunol*. 1992;12(1-2):17–46.
44. Frangogiannis NG. Chemokines in ischemia and reperfusion. *Thromb Haemost*. 2007 May;97(5):738–47.



45. Proudfoot AEI, Handel TM, Johnson Z, Lau EK, LiWang P, Clark-Lewis I, et al. Glycosaminoglycan binding and oligomerization are essential for the in vivo activity of certain chemokines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Feb 18;100(4):1885–90.
46. Jolly SR, Kane WJ, Hook BG, Abrams GD, Kunkel SL, Lucchesi BR. Reduction of myocardial infarct size by neutrophil depletion: effect of duration of occlusion. *Am Heart J*. 1986 Oct;112(4):682–90.
47. Litt MR, Jeremy RW, Weisman HF, Winkelstein JA, Becker LC. Neutrophil depletion limited to reperfusion reduces myocardial infarct size after 90 minutes of ischemia. Evidence for neutrophil-mediated reperfusion injury. *Circulation*. 1989 Dec;80(6):1816–27.
48. Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 1999 Sep;43(4):860–78.
49. Hansen PR. Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation*. 1995 Mar 15;91(6):1872–85.
50. Orbe J, Montero I, Rodríguez JA, Belouqui O, Roncal C, Páramo JA. Independent association of matrix metalloproteinase-10, cardiovascular risk factors and subclinical atherosclerosis. *J Thromb Haemost JTH*. 2007 Jan;5(1):91–7.
51. Araki S, Izumiya Y, Rokutanda T, Ianni A, Hanatani S, Kimura Y, et al. Sirt7 Contributes to Myocardial Tissue Repair by Maintaining TGF- β Signaling Pathway. *Circulation*. 2015 Jul 22;
52. Matsushima S, Sadoshima J. The role of sirtuins in cardiac disease. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2015 Jul 31;ajpheart.00053.2015.
53. Westermann D, Lindner D, Kasner M, Zietsch C, Savvatis K, Escher F, et al. Cardiac inflammation contributes to changes in the extracellular matrix in patients with heart failure and normal ejection fraction. *Circ Heart Fail*. 2011 Jan;4(1):44–52.
54. Roselló-Lletí E, Rivera M, Bertomeu V, Cortés R, Jordán A, González-Molina A. [Interleukin-4 and cardiac fibrosis in patients with heart failure]. *Rev Esp Cardiol*. 2007 Jul;60(7):777–80.
55. Jiménez-Navarro MF, Gómez-Doblas JJ, Cabrera-Bueno F, Cruz-Ocaña E, Rodríguez-Bailón I, Ruiz-Galdón M, et al. [Collagen synthesis and heart failure]. *Rev Esp Cardiol*. 2005 Aug;58(8):975–8.
56. van den Borne SWM, Diez J, Blankesteyn WM, Verjans J, Hofstra L, Narula J. Myocardial remodeling after infarction: the role of myofibroblasts. *Nat Rev Cardiol*. 2010 Jan;7(1):30–7.
57. Porter KE, Turner NA. Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling. *Pharmacol Ther*. 2009 Aug;123(2):255–78.
58. Weber KT. Cardiac interstitium in health and disease: the fibrillar collagen network. *J Am Coll Cardiol*. 1989 Jun;13(7):1637–52.
59. Xu Y, Appay MD, Heudes D, Lemoine R, Hinglais N, Michel JB, et al. Colocalization of collagen overexpression and inflammatory cell infiltration in the two-kidney one-clip rat

- model from the early days of hypertension onward. *Virchows Arch Int J Pathol.* 1998 Mar;432(3):267–77.
60. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002 May;3(5):349–63.
 61. Weber KT, Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation.* 1991 Jun;83(6):1849–65.
 62. Villarreal FJ, Dillmann WH. Cardiac hypertrophy-induced changes in mRNA levels for TGF-beta 1, fibronectin, and collagen. *Am J Physiol.* 1992 Jun;262(6 Pt 2):H1861–6.
 63. Nickenig G, Geisen G, Vetter H, Sachinidis A. Characterization of angiotensin receptors on human skin fibroblasts. *J Mol Med Berl Ger.* 1997 Mar;75(3):217–22.
 64. Sadoshima J, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts. Critical role of the AT1 receptor subtype. *Circ Res.* 1993 Sep;73(3):413–23.
 65. Zhou G, Kandala JC, Tyagi SC, Katwa LC, Weber KT. Effects of angiotensin II and aldosterone on collagen gene expression and protein turnover in cardiac fibroblasts. *Mol Cell Biochem.* 1996 Jan 26;154(2):171–8.
 66. Hahn AW, Jonas U, Bühler FR, Resink TJ. Activation of human peripheral monocytes by angiotensin II. *FEBS Lett.* 1994 Jun 27;347(2-3):178–80.
 67. Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2004 May;18(7):816–27.
 68. Rosenbloom J, Mendoza FA, Jimenez SA. Strategies for anti-fibrotic therapies. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Jul;1832(7):1088–103.
 69. Sanchez-Mas J, Lax A, Asensio-Lopez MC, Fernandez-Del Palacio MJ, Caballero L, Garrido IP, et al. Galectin-3 expression in cardiac remodeling after myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2014 Mar 1;172(1):e98–101.
 70. Cooper D, Illarregui JM, Pessoa SA, Croci DO, Perretti M, Rabinovich GA. Multiple functional targets of the immunoregulatory activity of galectin-1: Control of immune cell trafficking, dendritic cell physiology, and T-cell fate. *Methods Enzymol.* 2010;480:199–244.
 71. Vasta GR. Galectins as pattern recognition receptors: structure, function, and evolution. *Adv Exp Med Biol.* 2012;946:21–36.
 72. Rabinovich GA, Toscano MA, Jackson SS, Vasta GR. Functions of cell surface galectin-glycoprotein lattices. *Curr Opin Struct Biol.* 2007 Oct;17(5):513–20.
 73. Liu F-T. Regulatory roles of galectins in the immune response. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005 Apr;136(4):385–400.
 74. Krześlak A, Lipińska A. Galectin-3 as a multifunctional protein. *Cell Mol Biol Lett.* 2004;9(2):305–28.



75. Domic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Apr;1760(4):616–35.
76. de Boer RA, Yu L, van Veldhuisen DJ. Galectin-3 in cardiac remodeling and heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2010 Mar;7(1):1–8.
77. de Boer RA, Lok DJA, Jaarsma T, van der Meer P, Voors AA, Hillege HL, et al. Predictive value of plasma galectin-3 levels in heart failure with reduced and preserved ejection fraction. *Ann Med*. 2011 Feb;43(1):60–8.
78. Tsai T-H, Sung P-H, Chang L-T, Sun C-K, Yeh K-H, Chung S-Y, et al. Value and level of galectin-3 in acute myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19(12):1073–82.
79. Weir RAP, Petrie CJ, Murphy CA, Clements S, Steedman T, Miller AM, et al. Galectin-3 and cardiac function in survivors of acute myocardial infarction. *Circ Heart Fail*. 2013 May;6(3):492–8.
80. Sharma UC, Pokharel S, van Brakel TJ, van Berlo JH, Cleutjens JPM, Schroen B, et al. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation*. 2004 Nov 9;110(19):3121–8.
81. Azibani F, Benard L, Schlossarek S, Merval R, Tournoux F, Fazal L, et al. Aldosterone inhibits antifibrotic factors in mouse hypertensive heart. *Hypertension*. 2012 Jun;59(6):1179–87.
82. Cheng JM, Akkerhuis KM, Battes LC, van Vark LC, Hillege HL, Paulus WJ, et al. Biomarkers of heart failure with normal ejection fraction: a systematic review. *Eur J Heart Fail*. 2013 Dec;15(12):1350–62.
83. Lin Y-H, Lin L-Y, Wu Y-W, Chien K-L, Lee C-M, Hsu R-B, et al. The relationship between serum galectin-3 and serum markers of cardiac extracellular matrix turnover in heart failure patients. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2009 Nov;409(1-2):96–9.
84. López Salazar B, Ravassa Albéniz S, Arias Guedón T, González Miqueo A, Querejeta R, Díez Martínez J. [Altered fibrillar collagen metabolism in hypertensive heart failure. Current understanding and future prospects]. *Rev Esp Cardiol*. 2006 Oct;59(10):1047–57.
85. Balady GJ, Williams MA, Ades PA, Bittner V, Comoss P, Foody JM, et al. Core components of cardiac rehabilitation/secondary prevention programs: 2007 update: a scientific statement from the American Heart Association Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention Committee, the Council on Clinical Cardiology; the Councils on Cardiovascular Nursing, Epidemiology and Prevention, and Nutrition, Physical Activity, and Metabolism; and the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. *Circulation*. 2007 May 22;115(20):2675–82.
86. Smith SC, Allen J, Blair SN, Bonow RO, Brass LM, Fonarow GC, et al. AHA/ACC guidelines for secondary prevention for patients with coronary and other atherosclerotic vascular disease: 2006 update: endorsed by the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation*. 2006 May 16;113(19):2363–72.
87. Lavie CJ, Milani RV. Cardiac rehabilitation and exercise training in secondary coronary heart disease prevention. *Prog Cardiovasc Dis*. 2011 Jun;53(6):397–403.



88. Shinmura K, Tamaki K, Sato T, Ishida H, Bolli R. Prostacyclin attenuates oxidative damage of myocytes by opening mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels via the EP3 receptor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005 May;288(5):H2093–101.
89. Starnes JW, Taylor RP. Exercise-induced cardioprotection: endogenous mechanisms. *Med Sci Sports Exerc*. 2007 Sep;39(9):1537–43.
90. Gielen S, Schuler G, Adams V. Cardiovascular effects of exercise training: molecular mechanisms. *Circulation*. 2010 Sep 21;122(12):1221–38.
91. Lax A, Soler F, Fernández-Belda F. Mitochondrial damage as death inducer in heart-derived H9c2 cells: more than one way for an early demise. *J Bioenerg Biomembr*. 2009 Aug;41(4):369–77.
92. Baines CP. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 2009 Mar;104(2):181–8.
93. Halestrap AP. Calcium, mitochondria and reperfusion injury: a pore way to die. *Biochem Soc Trans*. 2006 Apr;34(Pt 2):232–7.
94. Powers SK, Quindry JC, Kavazis AN. Exercise-induced cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2008 Jan 15;44(2):193–201.
95. Adlam VJ, Harrison JC, Porteous CM, James AM, Smith RAJ, Murphy MP, et al. Targeting an antioxidant to mitochondria decreases cardiac ischemia-reperfusion injury. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2005 Jul;19(9):1088–95.
96. Ascensão A, Ferreira R, Magalhães J. Exercise-induced cardioprotection--biochemical, morphological and functional evidence in whole tissue and isolated mitochondria. *Int J Cardiol*. 2007 Apr 12;117(1):16–30.
97. Hamilton KL, Quindry JC, French JP, Staib J, Hughes J, Mehta JL, et al. MnSOD antisense treatment and exercise-induced protection against arrhythmias. *Free Radic Biol Med*. 2004 Nov 1;37(9):1360–8.
98. Brown DA, Lynch JM, Armstrong CJ, Caruso NM, Ehlers LB, Johnson MS, et al. Susceptibility of the heart to ischaemia-reperfusion injury and exercise-induced cardioprotection are sex-dependent in the rat. *J Physiol*. 2005 Apr 15;564(Pt 2):619–30.
99. Lennon SL, Quindry JC, Hamilton KL, French JP, Hughes J, Mehta JL, et al. Elevated MnSOD is not required for exercise-induced cardioprotection against myocardial stunning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Aug;287(2):H975–80.
100. Domenech R, Macho P, Schwarze H, Sánchez G. Exercise induces early and late myocardial preconditioning in dogs. *Cardiovasc Res*. 2002 Aug 15;55(3):561–6.
101. Gross GJ, Peart JN. KATP channels and myocardial preconditioning: an update. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Sep;285(3):H921–30.
102. French JP, Quindry JC, Falk DJ, Staib JL, Lee Y, Wang KKW, et al. Ischemia-reperfusion-induced calpain activation and SERCA2a degradation are attenuated by exercise training and calpain inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006 Jan;290(1):H128–36.



103. Kavazis AN. Exercise preconditioning of the myocardium. *Sports Med Auckl NZ*. 2009;39(11):923–35.
104. Leon AS, Franklin BA, Costa F, Balady GJ, Berra KA, Stewart KJ, et al. Cardiac rehabilitation and secondary prevention of coronary heart disease: an American Heart Association scientific statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Cardiac Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity), in collaboration with the American association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation. *Circulation*. 2005 Jan 25;111(3):369–76.
105. Tomai F. Warm up phenomenon and preconditioning in clinical practice. *Heart Br Card Soc*. 2002 Feb;87(2):99–100.
106. Hambrecht R, Wolf A, Gielen S, Linke A, Hofer J, Erbs S, et al. Effect of exercise on coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2000 Feb 17;342(7):454–60.
107. Sloan RP, Shapiro PA, DeMeersman RE, Bagiella E, Brondolo EN, McKinley PS, et al. Impact of aerobic training on cardiovascular reactivity to and recovery from challenge. *Psychosom Med*. 2011 Mar;73(2):134–41.
108. Buchheit M, Millet GP, Parisy A, Pourchez S, Laursen PB, Ahmaidi S. Supramaximal training and postexercise parasympathetic reactivation in adolescents. *Med Sci Sports Exerc*. 2008 Feb;40(2):362–71.
109. Zhao Z-Q, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang N-P, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003 Aug;285(2):H579–88.
110. Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol Rev*. 2007 Dec;59(4):418–58.
111. Hausenloy DJ. Signalling pathways in ischaemic postconditioning. *Thromb Haemost*. 2009 Apr;101(4):626–34.
112. Skyschally A, van Caster P, Boengler K, Gres P, Musiolik J, Schilawa D, et al. Ischemic postconditioning in pigs: no causal role for RISK activation. *Circ Res*. 2009 Jan 2;104(1):15–8.
113. Hausenloy DJ, Yellon DM. Reperfusion injury salvage kinase signalling: taking a RISK for cardioprotection. *Heart Fail Rev*. 2007 Dec;12(3-4):217–34.
114. Sanada S, Asanuma H, Minamino T, Node K, Takashima S, Okuda H, et al. Optimal windows of statin use for immediate infarct limitation: 5'-nucleotidase as another downstream molecule of phosphatidylinositol 3-kinase. *Circulation*. 2004 Oct 12;110(15):2143–9.
115. Pratt PF, Wang C, Weihrauch D, Bienengraeber MW, Kersten JR, Pagel PS, et al. Cardioprotection by volatile anesthetics: new applications for old drugs? *Curr Opin Anaesthesiol*. 2006 Aug;19(4):397–403.



116. Fryer RM, Pratt PF, Hsu AK, Gross GJ. Differential activation of extracellular signal regulated kinase isoforms in preconditioning and opioid-induced cardioprotection. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001 Feb;296(2):642–9.
117. Apstein CS, Gravino FN, Haudenschild CC. Determinants of a protective effect of glucose and insulin on the ischemic myocardium. Effects on contractile function, diastolic compliance, metabolism, and ultrastructure during ischemia and reperfusion. *Circ Res.* 1983 May;52(5):515–26.