



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

## **GRADO EN MEDICINA**

### **TRABAJO FIN DE GRADO**

**Nuevas estrategias terapéuticas contra el remodelado  
miocárdico en la estenosis aórtica**

**New therapeutic strategies against myocardial  
remodeling in aortic stenosis**

**Autora: Clara Simón Bernaldo de Quirós**

**Directora: Prof. Dra. M.A. Hurlé González**

**Codirectora: Dra. Raquel García López**

**Santander, junio 2020**

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>4</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>5</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>5</b>
<b>ESTADO ACTUAL DEL TEMA</b> .....	<b>6</b>
1. ESTENOSIS AÓRTICA.....	6
1.1. Definición y etiología.....	6
1.2. Epidemiología.....	6
1.3. Fisiopatología.....	7
1.4. Diagnóstico y tratamiento.....	8
1.5. Pronóstico.....	8
2. REMODELADO MIOCÁRDICO .....	9
3. REMODELADO MIOCÁRDICO EN LA SOBRECARGA DE PRESIÓN.....	10
3.1. Alteraciones del cardiomiocito .....	11
3.2. Modificaciones de la matriz extracelular y desarrollo de fibrosis.....	12
3.3. Activación neurohumoral.....	14
4. REMODELADO INVERSO.....	14
5. FACTORES DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE $\beta$ (TGF- $\beta$ ) .....	15
5.1. Miembros de la superfamilia TGF- $\beta$ .....	16
5.2. Señalización de TGF $\beta$ s y BMPs: vías canónicas y no canónicas.....	18
5.2.1. Vía canónica: SMADs.....	18
5.2.2. Vías no canónicas: no- SMADs .....	20
5.3. Regulación de TGF- $\beta$ y BMP en el remodelado miocárdico.....	22
6. MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DEL REMODELADO MIOCÁRDICO POR SOBRECARGA DE PRESIÓN .....	25
<b>NUEVAS ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS CONTRA EL REMODELADO MIOCÁRDICO EN LA ESTENOSIS AÓRTICA</b> .....	<b>28</b>
<b>DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</b> .....	<b>34</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>37</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>46</b>

## RESUMEN

La estenosis aórtica es la valvulopatía más frecuente en adultos y la que requiere con mayor frecuencia tratamiento quirúrgico en nuestro medio. La sobrecarga de presión en el ventrículo izquierdo secundaria a la estenosis aórtica tiene como consecuencia un remodelado patológico caracterizado por la hipertrofia de los cardiomiocitos y el depósito de componentes de la matriz extracelular (MEC), generando fibrosis cardiaca. El pronóstico desfavorable en un porcentaje considerable de pacientes tras el reemplazo valvular ha creado la necesidad del desarrollo de nuevas terapias farmacológicas dirigidas a modular los mecanismos moleculares relacionados con el remodelado miocárdico secundario a sobrecarga de presión. En los últimos años, la familia de factores de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ha sido identificada como un componente clave en la activación y regulación de este remodelado patológico. La experimentación con modelos animales de sobrecarga de presión permite el estudio de nuevas estrategias terapéuticas relacionadas con la modulación de la señalización por las citoquinas TGF- $\beta$  o BMP. Estos trabajos muestran resultados prometedores contra el remodelado miocárdico debido a la sobrecarga de presión y abren nuevas vías para el estudio de estrategias terapéuticas en la patología de la estenosis aórtica.

*Palabras clave:* estenosis aórtica, sobrecarga de presión, remodelado miocárdico, factor de crecimiento transformante-  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), *bone morphogenetic proteins* (BMPs), dianas terapéuticas

## ABSTRACT

Aortic stenosis is the heart valve disorder most frequently requiring surgery in adult patients. Left ventricle pressure overload secondary to aortic stenosis produces a pathological remodelling characterized by cardiomyocyte hypertrophy and deposition of components of the extracellular matrix which generates cardiac fibrosis. The unfavourable prognosis in a considerable percentage of patients after valve replacement highlights need for the development of new pharmacological therapies against molecular mechanisms associated with myocardial remodelling secondary to pressure overload. The family of transforming growth factors- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) has been identified as a key role in the regulation of this pathological remodelling. The experimental study with animal models of pressure overload allows the study of novel therapeutic strategies related to the modulation of TGF- $\beta$  / BMP signalling. These researches show promising results against the myocardial remodelling under pressure overload and open new ways to the study of new therapeutic strategies in the aortic stenosis pathology.

Key words: aortic stenosis, pressure overload, myocardial remodelling, transforming growth factor beta- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), *bone morphogenetic proteins* (BMPs), therapeutic targets

## INTRODUCCIÓN

La estenosis aórtica (EA) es la patología valvular más frecuente en nuestro medio, y la que requiere con mayor frecuencia tratamiento quirúrgico. Su prevalencia está en continuo aumento debido, principalmente, al incremento de la esperanza de vida poblacional. Constituye un estrés biomecánico para el corazón, provocando una sobrecarga de presión creciente en el ventrículo izquierdo (VI) y desencadenando el remodelado del mismo. Este remodelado miocárdico se caracteriza por la hipertrofia de los cardiomiocitos y por un depósito excesivo y aberrante de componentes de la matriz extracelular (MEC) en un contexto de fibrosis intersticial y perivascular. Si el estrés biomecánico se mantiene en el tiempo, estos cambios conducen al desarrollo de insuficiencia cardiaca.

El único tratamiento eficaz contra la evolución natural de la enfermedad es el reemplazo valvular, que puede realizarse mediante cirugía o de forma percutánea a través de catéter. El proceso de regresión del remodelado tras la liberación de la sobrecarga de presión se denomina remodelado inverso. Sin embargo, la persistencia de alteraciones estructurales en algunos pacientes tras el reemplazo valvular tiene consecuencias negativas sobre el pronóstico a corto y largo plazo, empeorando la calidad de vida y aumentando la morbimortalidad.

El aumento en el conocimiento sobre los mecanismos moleculares que subyacen al remodelado miocárdico patológico secundario a sobrecarga de presión y la necesidad de terapias farmacológicas que mejoren el pronóstico de los pacientes con EA, han motivado la aparición, en los últimos años, de estudios experimentales dirigidos a la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas contra la hipertrofia y la fibrosis cardiaca. Estos estudios han podido llevarse a cabo gracias a modelos animales con sobrecarga de presión, preferentemente mediante la coartación aórtica transversa (TAC), así como su reversión (de-TAC).

Numerosos estudios implican a miembros de la familia de factores de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) en la modulación del remodelado ventricular izquierdo por sobrecarga de presión. Los TGF- $\beta$ s han sido identificados como factores implicados en el desarrollo y mantenimiento del remodelado ventricular izquierdo, promoviendo la hipertrofia de los cardiomiocitos, la síntesis de componentes de la MEC por los fibroblastos y la transición endotelio-mesénquima. Las *Bone Morphogenetic Proteins* (BMPs), al contrario, tienen una función predominantemente anti fibrótica.

En este trabajo se aborda una revisión bibliográfica acerca de las estrategias terapéuticas más recientes dirigidas a modular las diversas vías de señalización de TGF- $\beta$ /BMP con el objetivo de interferir en el remodelado miocárdico patológico secundario a sobrecarga de presión y facilitar así su regresión tras el recambio valvular aórtico como es el caso de la EA.

## OBJETIVOS

Este trabajo tiene como objetivo ofrecer una visión conjunta sobre los fenómenos relacionados con el remodelado miocárdico en la estenosis aórtica. A su vez, se ha realizado una revisión actual de las estrategias terapéuticas relacionadas con las vías de señalización de TGF- $\beta$  y BMP, que se están investigando contra el remodelado miocárdico en la sobre carga de presión del ventrículo izquierdo.

## METODOLOGÍA

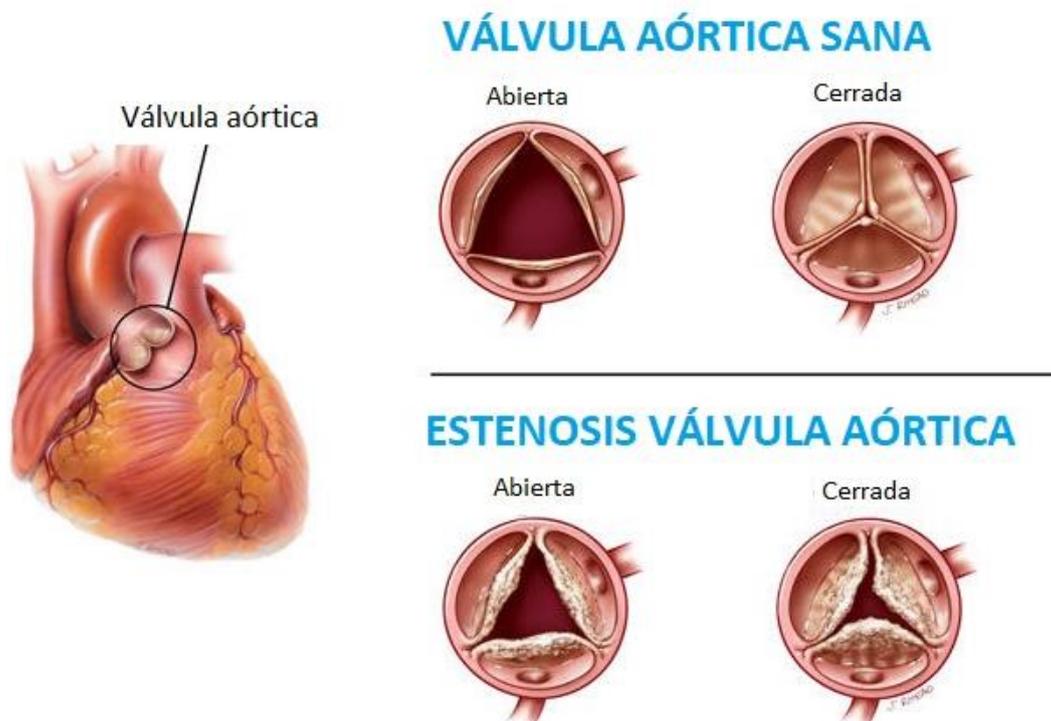
Para la realización de este trabajo se utilizaron las bases de datos de Medline a través de PubMed. Se procedió a revisar artículos científicos de tipo revisión bibliográfica y experimentales principalmente de la última década, relacionados con los temas abordados en este trabajo a través del uso de descriptores como: *estenosis aórtica, sobrecarga de presión, remodelado patológico cardiaco, matriz extracelular, fibrosis, hipertrofia, TGF- $\beta$ , BMPs.*

## ESTADO ACTUAL DEL TEMA

### 1. ESTENOSIS AÓRTICA

#### 1.1. Definición y etiología.

La estenosis valvular aórtica (EA) es una valvulopatía caracterizada por una alteración de la estructura y comportamiento mecánico de las válvulas, produciendo un obstáculo al flujo sanguíneo durante la eyección, lo que condiciona una sobrecarga de presión en el ventrículo izquierdo. La etiología puede ser congénita, pero generalmente es degenerativa. La causa más frecuente de estenosis aórtica en adultos es la acumulación de depósitos de calcio en la válvula que provocan la progresiva rigidez de los velos valvulares (Llano, 2011; Yarbrough *et al.*, 2012) (Figura 1).



**Figura 1:** Representación de la limitación a la apertura de una válvula aórtica calcificada en comparación con una válvula aórtica sana (Imagen modificada de: <https://www.heart-valve-surgery.com/aortic-stenosis-prognosis.php>).

#### 1.2. Epidemiología.

La EA es la valvulopatía de mayor prevalencia en el adulto y la que requiere más frecuentemente tratamiento quirúrgico en nuestro medio. Dicha prevalencia está en aumento debido, principalmente, al aumento de la esperanza de vida poblacional (Gozdzik *et al.*, 2019), y a la ausencia de farmacoterapia dirigida a prevenir o reducir la progresión de la estenosis valvular y las consecuencias fisiopatológicas y clínicas sobre

la función ventricular izquierda (Lindman *et al.*, 2016). La prevalencia de la EA grave varía desde el 0,2% a los 50-59 años al 1,3% a los 60-69, el 3,9% a los 70-79 y hasta el 9,8% a los 80-89 años. Se estima que en 2025 hasta 1,3 millones de pacientes en Europa y casi 1 millón en Estados Unidos sufrirán una EA sintomática grave, y que estas cifras se habrán doblado en 2050 (Morís *et al.*, 2016). Es más frecuente en hombres que en mujeres (Zhang *et al.*, 2019).

La patología esclerodegenerativa es la más común para conducir al desarrollo de EA. Por lo tanto, los factores asociados con el desarrollo de la estenosis aórtica son muy similares a los de la aterosclerosis: el sexo masculino, niveles elevados de LDL (lipoproteína de baja densidad) y lipoproteína (a), hipertensión arterial (HTA), tabaco, diabetes mellitus (DM), síndrome metabólico y procesos inflamatorios activos, como la artritis reumatoide o el lupus eritematoso sistémico (Gozdzik *et al.*, 2019). El desarrollo de la EA tiende a ocurrir antes en personas con válvulas aórticas bicúspides (congénitas) y en aquellas con trastornos del metabolismo del calcio, como ocurre en la insuficiencia renal (Lewin & Otto, 2005).

### 1.3. Fisiopatología.

La valvulopatía aórtica calcificada es, con diferencia, la forma más frecuente de estenosis aórtica en todo el mundo. Antiguamente se creía que las enfermedades asociadas a la calcificación de la válvula aórtica se debían a un proceso degenerativo y pasivo de depósito de calcio, ahora se sabe que en realidad es una enfermedad activa que incluye el depósito de lipoproteínas, inflamación crónica, transición osteoblástica de las células intersticiales valvulares y una calcificación activa de las valvas. La producción excesiva y desorganizada de las fibras de colágeno también es un factor determinante, ya que la fibrosis aumenta la rigidez de la válvula aórtica y podría promover la mineralización de esta (Lindman *et al.*, 2016). En conjunto supone una rigidez progresiva de los velos valvulares y, como consecuencia, una limitación de la apertura durante la eyección ventricular (Gozdzik *et al.*, 2019). El riesgo cardiovascular global aumenta por 1.5-2 en presencia de calcificación de la válvula aórtica, incluso en ausencia de estenosis valvular (Grimard *et al.*, 2016). Se ha observado que los hombres presentan una mayor prevalencia de calcificación en lesiones ateroscleróticas y en válvulas cardíacas en comparación con las mujeres en cualquier década de la vida. Las bases biológicas y las implicaciones clínicas de estas observaciones pueden tener un gran valor en el desarrollo de tratamientos farmacológicos personalizados en función del sexo para la prevención de patologías y disfunciones valvulares y vasculares relevantes (Zhang *et al.*, 2019).

Cuando la reducción del área valvular aórtica supera el 50% con respecto a la normal, la obstrucción al flujo eyectivo provoca aumento significativo de la presión sistólica del ventrículo izquierdo (VI), prolongación del periodo eyectivo y reducción de las presiones sistólica y diastólica aórticas. En adultos con EA, la obstrucción eyectiva progresa de manera gradual, lo que contribuye a que la enfermedad sea asintomática durante décadas gracias al mantenimiento del gasto cardíaco debido al desarrollo de la hipertrofia compensatoria del VI y un progresivo gradiente de presión transvalvular. En fases avanzadas, se produce una insuficiencia del VI para bombear todo el volumen de sangre que recibe a través de la válvula mitral, lo que condiciona una dilatación

ventricular progresiva, deterioro de la fracción de eyección y aumento de las presiones de llenado ventriculares y de la circulación pulmonar. El aumento de la presión sistólica ventricular, la masa ventricular y el tiempo de eyección condicionan una disminución de la perfusión miocárdica y un aumento del consumo de oxígeno, favoreciendo la isquemia y el deterioro funcional del VI (Dweck *et al.*, 2013). Esta fase final suele coincidir con el desarrollo de la sintomatología típica: angina, síncope, arritmias e insuficiencia cardiaca (Gozdzik *et al.*, 2019). El inicio de los síntomas se identifica con la estenosis clínicamente significativa y la necesidad de cirugía urgente. Algunos pacientes con EA grave, especialmente ancianos, pueden no desarrollar los síntomas clásicos inicialmente y solo presentar una disminución de la tolerancia al ejercicio. Otros pueden tener una presentación más aguda, en ocasiones por síntomas precipitados por otras enfermedades o tratamientos (Grimard *et al.*, 2016).

#### 1.4. Diagnóstico y tratamiento.

La ecocardiografía Doppler ha reemplazado al cateterismo cardiaco como método de elección para el diagnóstico y seguimiento de la EA (Lindman *et al.*, 2016). Ningún tratamiento farmacológico ha demostrado retrasar la progresión o mejorar la supervivencia de la patología valvular aórtica. El tratamiento más efectivo para la eliminación de la sobrecarga de presión crónica secundaria a la estenosis aórtica es el reemplazamiento valvular aórtico, pues ha demostrado reducir la mortalidad y mejorar los síntomas y calidad de vida de los pacientes (Dobson *et al.*, 2016). Tradicionalmente está indicado en pacientes con EA grave (gradiente transvalvular máximo  $\geq 4$  m/s y área valvular aórtica  $\leq 1$  cm<sup>2</sup>) y sintomática, en un periodo menor de 30 días tras el inicio de los síntomas (Gozdzik *et al.*, 2019). También está recomendado para pacientes asintomáticos con EA grave acompañada de disfunción sistólica del VI (fracción de eyección menor del 50%) y en pacientes asintomáticos con estenosis moderada-grave que van a someterse a cirugía cardiaca por otra razón (Grimard *et al.*, 2016). El reemplazo se puede realizar mediante cirugía o mediante implante percutáneo a través de catéter (TAVI). El TAVI es actualmente el tratamiento de elección para pacientes con EA inoperable y la opción terapéutica de preferencia para los pacientes de alto riesgo (Morís *et al.*, 2016). La evidencia sugiere que las mujeres tienen una morbimortalidad superior preoperatoria. Existe controversia en cuanto si el sexo tiene impacto o no en la supervivencia tras el reemplazo valvular quirúrgico, sin embargo, las mujeres parecen tener una mayor supervivencia a largo plazo tras el TAVI. La mayor esperanza de vida y otros factores como el remodelado VI y la fibrosis miocárdica podrían estar implicados (Dobson *et al.*, 2016).

#### 1.5. Pronóstico.

El reemplazo aórtico tiene como resultado una regresión significativa (20-30%) de la masa ventricular izquierda en un año tras el remplazo valvular (Treibel *et al.*, 2017). Sin embargo, el seguimiento a largo plazo de pacientes intervenidos sugiere que el reemplazo valvular no revierte completamente los cambios mal adaptativos que ocurren a nivel del remodelado cardiaco asociada a la sobrecarga de presión. Esto podría conllevar a la persistencia de anomalías en la función diastólica y a un aumento de la morbimortalidad (Yarbrough *et al.*, 2012). La fibrosis miocárdica es un marcador pronóstico adverso en pacientes con EA, multiplicando el riesgo de mortalidad x6-8 a

largo plazo. Las causas que explican este aumento de mortalidad incluyen la arritmia ventricular y el remodelado ventricular adverso (Dobson *et al.*, 2016). La regresión postoperatoria de la hipertrofia VI es un predictor independiente de una mayor probabilidad de supervivencia a largo plazo (Ali *et al.*, 2011). Por tanto, es necesario el desarrollo de estrategias terapéuticas que favorezcan el remodelado inverso tras la cirugía de recambio valvular. Asimismo, el estudio de estas estrategias terapéuticas debe centrarse en modular los mecanismos moleculares que estén relacionados con el mantenimiento o promoción del remodelado patológico (Hellowell & Margulies, 2010).

## 2. REMODELADO MIOCÁRDICO

El corazón es un órgano capaz de adaptar su estado trófico a las necesidades sistémicas de cada individuo en cada fase vital a través del remodelado miocárdico. El componente principal de la pared del VI son los cardiomiocitos, que debido a su tamaño son el principal contribuyente a la masa cardíaca, pero solo representan el 30% de la celularidad. El 70% restante lo componen fibroblastos, células musculares lisas, células endoteliales y gliocitos (Tirziu *et al.*, 2010). Los cardiomiocitos se diferencian de forma terminal poco después del nacimiento, siendo incapaces de dividirse posteriormente. Por tanto, el incremento de la masa cardíaca tiene lugar principalmente por hipertrofia. Esta puede ser excéntrica, cuando las sarcómeras se acumulan en serie en el cardiomiocito de manera longitudinal (incremento del diámetro cavitario) o concéntrica, cuando las nuevas sarcómeras se añaden en paralelo aumentando el diámetro transversal (Pitoulis & Terracciano, 2020).

La hipertrofia no debe considerarse patológica necesariamente, condiciones como el ejercicio o el embarazo dan lugar a una hipertrofia fisiológica o adaptativa. La hipertrofia adaptativa es aquella que se produce en respuesta al aumento del trabajo cardíaco ante un estrés biomecánico (por ej. sobrecarga de presión o de volumen, postinfarto etc.) en ausencia de disfunción cardíaca. Esta respuesta del miocardio, mediada por una serie de respuestas celulares, permite preservar la función cardíaca, ya que ayudaría a normalizar la tensión de la pared ventricular manteniendo la función sistólica. Cuando el estrés biomecánico es mantenido en el tiempo, los mecanismos que en principio serían adaptativos, ya que permiten preservar la función cardíaca a corto plazo, se vuelven patológicos, comprometiendo la función cardíaca (Bing *et al.*, 2019; Samak *et al.*, 2016). La hipertrofia patológica se asocia a numerosas patologías cardiovasculares como parte del fenómeno de remodelado miocárdico (Dobaczewski *et al.*, 2011). Y se considera que la hipertrofia del ventrículo izquierdo es un factor independiente y el más importante de riesgo de morbimortalidad (Pitoulis & Terracciano, 2020).

El remodelado miocárdico patológico se define como el conjunto de eventos moleculares y celulares que acontecen tras un infarto miocárdico, que desencadena cambios en la estructura, morfología, dimensiones y función de las cavidades cardíacas. Los procesos que subyacen al remodelado miocárdico patológico incluyen pérdida de cardiomiocitos, hipertrofia, alteración de la homeostasis de la matriz extracelular (MEC), fibrosis, alteraciones metabólicas y disfunción mitocondrial. Estos procesos actúan de manera solapada teniendo un efecto perjudicial sobre la estructura y función cardíaca.

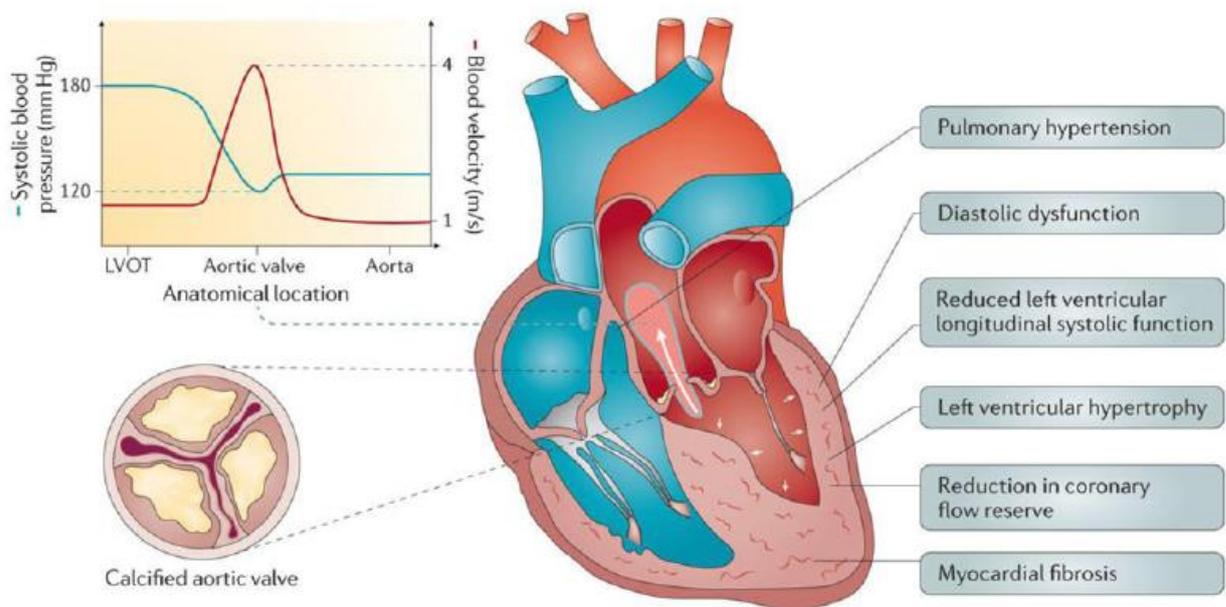
La muerte de cardiomiocitos es crucial para el desarrollo de disfunción cardiaca y la progresión de la enfermedad. Además, la fibrosis junto con la hipertrofia cardiaca y una disfunción progresiva de la contractilidad y la relajación, dirigen juntos la evolución pernicioso del remodelado miocárdico (Schirone *et al.*, 2017).

Las alteraciones de las proteínas implicadas en el transporte de calcio también tienen un papel importante, contribuyendo a la disminución de la liberación de calcio durante la sístole y su aumento durante la diástole, contribuyendo a la reducción de la contractilidad. Por último, la activación neurohumoral, como el sistema renina-angiotensina-aldosterona, aumenta la síntesis de proteínas implicadas en la inflamación, muerte celular y proliferación de fibroblastos (Sciarretta *et al.*, 2009; Gibb & Hall, 2018).

### 3. REMODELADO MIOCÁRDICO EN LA SOBRECARGA DE PRESIÓN

El estrés biomecánico provocado por la sobrecarga de presión promueve el remodelado miocárdico, participando numerosos factores humorales. La liberación compensatoria de catecolaminas, junto con otras hormonas y respuestas miocárdicas intrínsecas, aumenta la contractilidad para mantener el gasto cardiaco. Sin embargo, la exposición mantenida a factores de crecimiento desencadena una hipertrofia cardiaca. Si no se corrige la sobrecarga de presión, se producen alteraciones en la contractilidad, electrofisiología, metabolismo y estructura cardiacas, contribuyendo al deterioro de la función sistólica del VI (Schirone *et al.*, 2017). Desde un punto de vista fenotípico, el remodelado miocárdico por sobrecarga de presión se caracteriza inicialmente por el incremento del espesor relativo de la pared sin incremento significativo de la masa VI (remodelado concéntrico) que evoluciona posteriormente, al aumentar ésta, hacia la hipertrofia concéntrica (Lindman *et al.*, 2016).

La primera manifestación clínica es la disfunción diastólica, reflejada por una elevación de la presión de llenado del VI, con una fracción de eyección (FE) preservada, pero con una incapacidad para aumentar el gasto cardiaco si fuera necesario (LeGrice *et al.*, 2012). La hipertrofia se acompaña por una disminución significativa de la densidad capilar y un aumento de las presiones transmuralas, provocando un aumento de la resistencia vascular coronaria y una reducción de la reserva de flujo coronario en pacientes con EA. Esto tiene como consecuencia la incapacidad de suplir las demandas de oxígeno del miocardio provocando isquemia miocárdica, que conduce a la muerte de cardiomiocitos (Lindman *et al.*, 2016). Las fibras de colágeno que aumentan progresivamente rodeando a los cardiomiocitos limitan la elongación de las fibras musculares durante la diástole y, por tanto, reduce la habilidad para generar fuerza durante la sístole. Como consecuencia, se produce la dilatación del VI y un fracaso funcional del mismo que se traduce en una reducción de la FE (Niestrawska *et al.*, 2020) (Figura 2).



**Figura 2:** Remodelado patológico y función alterada del ventrículo izquierdo en respuesta a la sobrecarga de presión por EA. De abajo a arriba: fibrosis miocárdica, reducción de la reserva de flujo coronaria, hipertrofia ventricular izquierda, reducción de la función sistólica longitudinal del ventrículo izquierdo, disfunción diastólica e hipertensión pulmonar (Lindman *et al.*, 2016).

La muerte celular progresiva en el corazón con sobrecarga crónica es considerada entre las causas principales de remodelado miocárdico (Schirone *et al.*, 2017). Se ha demostrado, en el miocardio sometido a estrés biomecánico que desarrolla insuficiencia cardíaca, que la transición de la hipertrofia compensadora a la disfunción ventricular progresiva está mediada principalmente por la disminución del número de cardiomiocitos debido al aumento de los fenómenos de apoptosis (Narula *et al.*, 2000; Díez *et al.*, 1998). A su vez, existen varias hipótesis sobre la disminución de cardiomiocitos, por un lado, podría ser un mecanismo compensador para eliminar cardiomiocitos hipertrofiados y disfuncionales; por otro, podría deberse a un fallo de los mecanismos de supervivencia de los cardiomiocitos sometidos a estrés biomecánico (Anversa *et al.*, 1998).

### 3.1. Alteraciones del cardiomiocito

El remodelado miocárdico por sobrecarga de presión se caracteriza de forma inicial, desde el punto de vista fenotípico, por el aumento del espesor relativo de la pared sin incremento significativo de la masa VI, que evoluciona a la hipertrofia concéntrica, reflejada por la adición de sarcómeros en paralelo junto con el crecimiento del diámetro de los cardiomiocitos (Pitoulis & Terracciano, 2020).

El proceso de remodelado miocárdico implica una expresión alterada de proteínas contráctiles. La miosina de cadena pesada (MHC) se considera el motor molecular de la contracción cardíaca. La MHC consta de dos isoformas “ $\alpha$ ” y “ $\beta$ ”. Las cadenas pesadas tienen un dominio con actividad ATPasa que libera la energía necesaria para promover

la contracción, comportándose como transductor químico-mecánico. Esta actividad ATPasa es la que determina la principal diferencia de ambas isoformas de MHC, siendo la actividad de MHC $\alpha$  (“miosina rápida”) hasta 3 veces mayor que la de MHC $\beta$  (“miosina lenta”). En el corazón de humanos adultos, al igual que ocurre en otros mamíferos, hay una mayor proporción de MHC- $\beta$ , mientras que en el caso de los roedores existe un mayor predominio de MHC $\alpha$ . En modelos experimentales de insuficiencia cardiaca por sobrecarga de presión en roedores se ha observado un incremento de MHC- $\beta$  (“miosina lenta”) a expensas de una disminución de MHC- $\alpha$  (“miosina rápida”). Estos cambios provocan una reducción de la velocidad máxima de acortamiento de la sarcómera asociado con un menor consumo energético (Scheuer & Buttrick, 1987). Además, en humanos con insuficiencia cardiaca la capacidad ATPasa miofibrilar está marcadamente reducida a pesar de que la magnitud del cambio de isoformas en el miocardio VI no es tan acusada como en el ratón, porque esta sólo constituye el 10% de la MHC total (Gupta, 2007).

Por último, se ha observado un fenómeno de desdiferenciación de las células miocárdicas en modelos animales de daño miocárdico bajo sobrecarga de presión en ratas y conejos (Driesen *et al.*, 2009; Izumo *et al.*, 1988). Este proceso se caracteriza por un cambio en la estructura de los sarcómeros, pasando de ser una estructura bien organizada a convertirse en un complejo menos denso y desorganizado, acompañado de cambios metabólicos y moleculares característicos de cardiomiocitos fetales. Se ha descrito que durante el remodelado patológico cardiaco se produce la expresión de genes característicos de las fases más tempranas del desarrollo fetal, expresión de factores de transcripción como Gata4, Nkx2.5 y Mef2c (Bloomekatz *et al.*, 2016).

### 3.2. Modificaciones de la matriz extracelular y desarrollo de fibrosis

La matriz extracelular (MEC) contribuye en gran medida a las propiedades biomecánicas del tejido. Su organización, composición y densidad son dinámicas. Está compuesta por la lámina basal y la matriz intersticial (Spinale, 2007). Entre sus funciones están (i) soporte estructural, (ii) contracción coordinada y conjunta del tejido, (iii) medio de distribución de señales intercelulares, nutrientes y migración de fibroblastos. Las proteínas fibrilares determinan la rigidez y resistencia mecánica del tejido cardiaco. Las moléculas de colágeno fibrilar de tipo I y III son las más abundantes en el corazón adulto sano (Fan *et al.*, 2012; Eghbali & Weber, 1990).

Los fibroblastos, al contrario que los cardiomiocitos, son capaces de dividirse y producir hiperplasia. En el miocardio representan una población celular pobremente diferenciada en comparación con otros tipos celulares (miocitos, células endoteliales, células musculares lisas etc.) (Souders *et al.*, 2009). Su función es la del mantenimiento de la homeostasis de la MEC produciendo la expresión, síntesis y modificación del colágeno fibrilar entre otros (Goldsmith *et al.*, 2014). Durante el remodelado se estimula e incrementa la síntesis de precursores de las moléculas de colágeno tipo I y tipo III. Para que se produzca su acumulación es preciso que también se asocie una menor degradación mediante la inhibición de las metaloproteinasas (MMPs), enzimas encargadas de degradar los componentes de MEC. La acumulación de fibras de colágeno tipo I y tipo III incrementa la rigidez de la pared ventricular, lo que puede comprometer su distensibilidad y facilitar la aparición de disfunción diastólica (Javier Díez *et al.*, 2001;

Stewart *et al.*, 2010). En la estenosis aórtica hay un aumento del depósito de colágeno de tipo III en los estadios iniciales de la enfermedad, y de tipo I a medida que el proceso progresa. El acúmulo de colágeno tipo I aumenta la rigidez de la pared ventricular, comprometiendo su distensibilidad y facilitando la aparición de disfunción diastólica (Niestrawska *et al.*, 2020). En las fases iniciales de la sobrecarga de presión, la deposición de colágeno es proporcional a la hipertrofia, produciendo fibrosis intersticial y perivascular. Esta fibrosis altera la arquitectura del miocardio VI y las células contráctiles, propiciando el desarrollo de disfunción sistólica (Porter & Turner, 2009).

En condiciones patológicas, como la hipertrofia por sobrecarga de presión, también participan en el remodelado cardíaco los miofibroblastos, que sintetizan matriz extracelular en grandes cantidades. Su origen es múltiple: (i) diferenciación de los fibroblastos bajo el estímulo de factores neurohumorales, (ii) diferenciación de células hematopoyéticas circulantes derivadas de la médula ósea y (iii) transición endotelio mesenquimal (Zeisberg & Kalluri, 2010). Los miofibroblastos se activan en condiciones normales, durante procesos reparativos, y sufren apoptosis al finalizar su función. En la fibrosis patológica la persistencia de estas células tiene como resultado el remodelado de la matriz extracelular. Su presencia es precoz en la miocardiopatía por sobrecarga de presión y está regulada por múltiples factores como el sistema renina-angiotensina-aldosterona, TGF- $\beta$ , endotelina-1 etc. (Javier Díez *et al.*, 2001). Los miofibroblastos producen una matriz extracelular de características diferentes a la del tejido sano, porque modifican el equilibrio entre las metaloproteinasas y las inhibidoras de metaloproteinasas (TIMPs) favoreciendo la fibrosis. Este desequilibrio podría contribuir a la dilatación del VI y a la disminución de la fracción de eyección del VI, así como a la transición de disfunción diastólica a disfunción sistólica e insuficiencia cardíaca en fases avanzadas de la hipertrofia por sobrecarga de presión (Givvimani *et al.*, 2010).

La fibrosis miocárdica es determinante en la transición de la hipertrofia compensadora a la insuficiencia cardíaca (Weber *et al.*, 2013), ya que altera la arquitectura del miocardio ventricular izquierdo, provocando una heterogeneidad anatómica y comprometiendo la unidad de sus células contráctiles, lo que propicia el desarrollo de disfunción sistólica (Javier Díez *et al.*, 2001). Se han descrito dos patrones distintos de fibrosis miocárdica. Por un lado, la **fibrosis reactiva**, la cual es dominante en etapas tempranas de la hipertrofia secundaria a sobrecarga de presión, sigue una distribución difusa en el miocardio y no presenta necrosis celular (Niestrawska *et al.*, 2020). Esta fibrosis difusa es reversible y se ha demostrado su regresión tras el reemplazo valvular (Bing *et al.*, 2019). Por otro lado, a medida que la sobrecarga de presión persiste, se produce una pérdida de cardiomiocitos y su reemplazo por colágeno tipo I, dando paso a la **fibrosis reparativa**, la cual es irreversible. Los miofibroblastos son los responsables de la formación de tejido cicatricial tras la muerte de los cardiomiocitos. Estos miofibroblastos activos transforman el tejido fibroso en un “secretoma vivo” que promueve la síntesis de péptidos y factores de crecimiento que actúan como efectores de sus respectivas vías de señalización y promueven la síntesis de colágeno I y, por lo tanto, de fibrosis (Niestrawska *et al.*, 2020; Bomb *et al.*, 2016; Weber *et al.*, 2013).

### 3.3. Activación neurohumoral

Los mecanismos por los cuales la activación neurohumoral promueve el remodelado miocárdico no son bien conocidos. Se cree que el estiramiento mecánico de cardiomiocitos y fibroblastos desencadena diversas señales intracelulares a través de activación de integrinas, deformación del sarcolema y liberación de factores humorales (Javier Díez *et al.*, 2001).

La liberación de factores humorales como la angiotensina II, la endotelina-1, el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), los factores de crecimiento de tejido conectivo y fibroblastos (FGF) y los TGF- $\beta$ s amplifica y dispersa acciones desencadenadas por otros factores humorales, como la noradrenalina, o por el propio estiramiento mecánico. Las señales intracelulares puestas en marcha por los diversos mediadores inducidos por el estrés biomecánico se convierten en información que accede al núcleo de las células miocárdicas, dando lugar a cambios en la transcripción de numerosos genes. La respuesta final de las células miocárdicas al estrés biomecánico conduce a la hipertrofia de los cardiomiocitos y al remodelado de la MEC (Creemers & Pinto, 2011; Porter & Turner, 2009; Javier Díez *et al.*, 2001).

## 4. REMODELADO INVERSO

El remodelado inverso es un proceso complejo que implica la regresión de algunas de las alteraciones estructurales y funcionales patológicas desarrolladas en el miocardio durante el periodo de sobrecarga de presión tras la eliminación del estrés hemodinámico mediante la substitución valvular (quirúrgica o a través de catéter) (Fairbairn *et al.*, 2013). Un remodelado inverso generalmente no representa un restablecimiento del fenotipo miocárdico normal, si no que engloba un conjunto de nuevas adaptaciones asociadas a una mejora de la función cardiaca y del pronóstico. Este proceso demuestra la bidireccionalidad de la plasticidad miocárdica. La comprensión clínica y biológica del remodelado inverso permanece incompleta, pues las vías moleculares específicas responsables no están bien definidas. Existe una variabilidad interpersonal en la capacidad de regresión del remodelado patológico, pero se desconocen las bases de esta heterogeneidad (Hellowell & Margulies, 2010).

En estudios de seguimiento postquirúrgico se ha observado que la regresión de la hipertrofia se inicia de forma inmediata, alcanzando el pico en aproximadamente un año, pero el proceso se alarga durante años y, en ocasiones, la masa del VI no llega a normalizarse nunca. La probabilidad de reversibilidad de los daños estructurales del VI es inversamente proporcional al tiempo de evolución de la estenosis aórtica y a su gravedad. Un remodelado excesivo, por tanto, asocia una probabilidad más baja de recuperar la normalidad de la masa VI tras la cirugía (Yarbrough *et al.*, 2012). La disfunción sistólica y una respuesta desfavorable al ejercicio en pacientes con FE preservada pueden mantenerse durante muchos años tras el reemplazo valvular (Gozdzik *et al.*, 2019).

Villari *et al.* (1995) contribuyeron a esclarecer lo que se sabe sobre los efectos de la EA sobre la estructura y función del miocardio, antes y después de la AVR. Examinaron el efecto del reemplazo valvular en los componentes de la MEC a nivel cardiaco. El reemplazo valvular se asoció con disminución en la fibrosis intersticial a corto y largo plazo en comparación con los valores previos a la cirugía, pero no se normalizó con el paso del tiempo. Demostraron que aproximadamente un 20% de los pacientes con estenosis aórtica mostraban algún grado de intolerancia al ejercicio de 5 a 10 años tras la cirugía. Weidemann *et al.* (2009) apoyaron la hipótesis de que el reemplazo valvular no revertiría completamente la fibrosis miocárdica inducida por la EA. En su estudio concluyeron que el reemplazo valvular en pacientes con EA provoca menor mejoría funcional en pacientes con fibrosis grave en comparación con aquellos pacientes con menor grado de fibrosis. Azevedo *et al.* (2010) observaron que grados mayores de fibrosis miocárdica se asociaban con una disminución de la supervivencia después del reemplazo valvular.

## 5. FACTORES DE CRECIMIENTO TRANSFORMANTE $\beta$ (TGF- $\beta$ )

Se han estudiado numerosos marcadores moleculares en el contexto de la EA (Tabla 1), pero uno de los que más interés ha captado en esta patología por su relevancia en el desarrollo del remodelado miocárdico y su complejidad de señalización es la citoquina TGF- $\beta$ .

**Tabla 1:** Potenciales marcadores moleculares en la estenosis aórtica (Tabla traducida de Yarbrough *et al.*, 2012).

TABLA 1: Potenciales marcadores moleculares en la estenosis aórtica.	
<b>Osteopontina</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Glicofosfoproteína que estimula la diferenciación de miofibroblastos en osteoblastos.</li> <li>• Los niveles séricos están aumentados en la EA.</li> </ul>
<b>Proteína C reactiva</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reactante de fase aguda que está aumentado en estados inflamatorios (ej. EA).</li> <li>• Los niveles séricos pueden usarse para predecir la gravedad de los síntomas asociados a EA.</li> </ul>
<b>BNP</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los niveles de esta hormona cardiaca endógena se correlacionan con la clasificación de síntomas de la <i>New York Heart Association</i> y están elevadas en pacientes con sobrecarga de presión secundaria a EA.</li> </ul>
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Citoquina que induce activación de fibroblastos y producción de colágeno (fibrosis) en respuesta a sobrecarga de presión.</li> </ul>

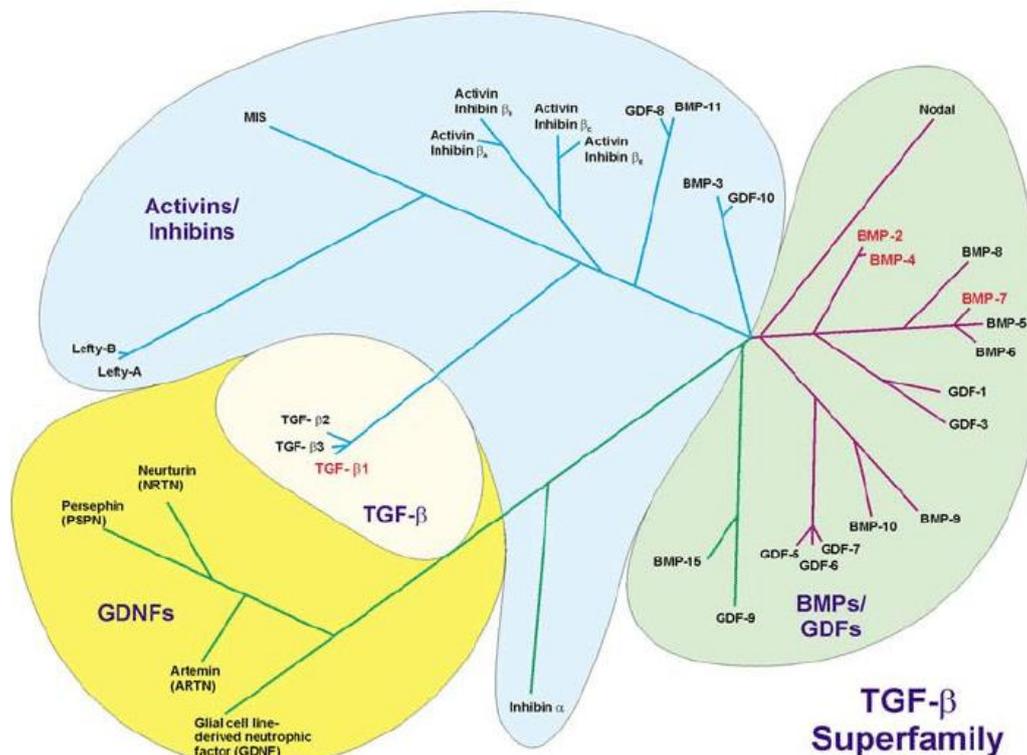
<b>Cardiotrofina-1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Citoquina derivada de fibroblastos cardiacos que induce hipertrofia de miocitos y estimula el crecimiento de fibroblastos.</li> </ul>
<b>Péptidos derivados del colágeno</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Debido a que los niveles séricos de péptidos derivados del colágeno reflejan la síntesis y degradación de colágeno, su medida podría ser utilizada para valorar la gravedad y progresión de los estados de sobrecarga de presión.</li> </ul>
<b>MMPs</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enzimas proteolíticas dependientes de Zinc que degradan la MEC del miocardio.</li> <li>• Modulan vías de señalización interactuando con citoquinas o sus receptores.</li> </ul>
<b>TIMPs</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteínas endógenas que se unen a MMPs y regulan su actividad proteolítica.</li> <li>• TIMP-1 y -2 han ido más investigadas en el marco de la IC.</li> </ul>

La superfamilia de factores de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ) está formada por un conjunto de citoquinas pleiotrópicas y multifuncionales que juegan un papel importante en la señalización intercelular y que se encuentran implicadas, tanto durante la embriogénesis como en la edad adulta, en una amplia variedad de fenómenos celulares: migración, adhesión, proliferación, diferenciación, apoptosis celular, reparación de tejidos y producción de matriz extracelular (Goumans & ten Dijke, 2018; Dobaczewski *et al.*, 2011). Las alteraciones en la expresión y/o estructura de estas citoquinas o de sus vías de señalización se han correlacionado con diversas patologías, incluyendo enfermedades cardiovasculares, trastornos fibróticos y cáncer. La intervención terapéutica dirigida a normalizar la señalización alterada de la vía TGF- $\beta$  se presenta como un área emergente de investigación (Goumans & ten Dijke, 2018).

### 5.1. Miembros de la superfamilia TGF- $\beta$

En la superfamilia TGF- $\beta$  se agrupan diversas subfamilias en base a sus características estructurales y funcionales (Figura 3), entre las que destacan:

- **TGF-  $\beta$ s** (TGF-  $\beta$ 1, TGF-  $\beta$ 2 y TGF-  $\beta$ 3): TGF- $\beta$ 1 es la isoforma más prevalente y se encuentra en cardiomiocitos, fibroblastos, células endoteliales, células de la musculatura lisa vascular, macrófagos y otras células hemáticas (Annes *et al.*, 2003).
- **Activinas e inhibinas**
- **BMPs** (“bone morphogenetic proteins”)
- **GDFs** (“growth and differentiation factors”).



**Figura 3:** La superfamilia TGF-β organizada en subgrupos (Weiskirchen & Meurer, 2013).

La subfamilia de TGF-βs es una de las mejores caracterizadas del sistema cardiovascular humano. TGF-β ha sido identificado extensamente como un factor clave en el desarrollo de fibrosis, ejerciendo un papel central en las respuestas maladaptativas cardiacas secundarias a la sobrecarga mantenida de presión en modelos animales y en humanos (McVicker & Bennett, 2017; Dobaczewski *et al.*, 2011).

Por otro lado, las citoquinas *bone morphogenetic proteins* (BMPs) representan 20 de los 33 miembros descritos de la superfamilia TGF-β en humanos, y son conocidos por ser reguladores esenciales de la estructura y función del sistema cardiovascular. En los últimos años son numerosos los estudios que demuestran el papel fundamental desempeñado por las BMPs en el desarrollo y mantenimiento de la homeostasis en el corazón y en el sistema circulatorio. Mutaciones en los genes de los transductores de la vía de señalización BMP se han asociado con múltiples enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión arterial pulmonar (Orriols *et al.*, 2017) y la telangiectasia hemorrágica hereditaria (Morikawa *et al.*, 2011). Estudios recientes apoyan el papel protector de la señalización vía BMP en el remodelado cardiaco post infarto (Guo *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2014) y, pacientes con coronariopatía, muestran una expresión aberrante de transductores de la vía BMP (Morrell *et al.*, 2016).

Los TGF-β y las BMPs pertenecen a la misma superfamilia, sin embargo, cada uno muestra una vía de señalización única a través de proteínas específicas que determinan respuestas, a menudo, opuestas (Massagué *et al.*, 2012). Numerosas evidencias sobre la comunicación cruzada entre TGF-β y BMPs se han observado en fenómenos de fibrosis de los principales órganos: riñones, hígado, pulmones y corazón (Dituri *et al.*, 2019). Así mismo, ambas subfamilias están en el punto de mira en el campo de investigación cardiovascular desde hace décadas (Goumans & ten Dijke, 2018), por lo tanto, conocer

y entender los mecanismos de señalización responsables de los efectos mediados por TGF- $\beta$  y BMPs es fundamental para diseñar nuevas estrategias terapéuticas dirigidas hacia el remodelado miocárdico patológico en la EA.

## 5.2. Señalización de TGF $\beta$ s y BMPs: vías canónicas y no canónicas

Los TGF- $\beta$ s son sintetizados por muchos tipos de células como precursores inactivos que son secretados como complejos latentes a la matriz extracelular. Para la activación de TGF- $\beta$  se requiere su liberación de los complejos de anclaje a la matriz extracelular. Esta liberación puede llevarse a cabo por interacción con trombospondina 1, plasmina, metaloproteinasas de la matriz (MPP-2 y MPP-9), integrina  $\beta$ -6, pH ácido, aumento de la glucemia etc. La activación de una pequeña parte de estos complejos latentes es capaz de generar una respuesta celular máxima (Annes *et al.*, 2003; Goraksha-Hicks & Rathmell, 2009).

Todas las proteínas de la familia TGF- $\beta$  se unen y activan complejos heterotetraméricos de receptores de membrana clasificados como tipo I (T $\beta$ RI) y tipo II (T $\beta$ RII) en base a su estructura. Ambos contienen un dominio quinasa citoplasmático con actividad serina-treonina quinasa y actividad tirosina quinasa, por tanto, estos receptores están clasificados como quinasas de doble especificidad (Valdimarsdottir *et al.*, 2006). Estos receptores se dividen en dos subfamilias en base a sus características estructurales y funcionales (Massagué, 1998):

- Receptores tipo I (T $\beta$ RI): también llamados ALK (*Activin receptor-like kinase*). Existen siete tipos (ALK1-7).
- Receptores tipo II (T $\beta$ RII): existen cinco tipos: ActR-II, ActR-IIB, T $\beta$ R-II, BMPR-II y AMHR-II.

TGF $\beta$  y activina se unen a los receptores tipo I ALK4, ALK5, ALK7 y al receptor T $\beta$ R-II. Los BMPs se unen a los receptores tipo I ALK1, ALK2, ALK3 y ALK6 y a los receptores tipo II ActR-II, ActR-IIB y BMPR-II (Massagué, 1998; Nickel *et al.*, 2019).

La unión del ligando induce el ensamblaje de dos receptores tipo I y dos receptores tipo II en complejos heterotetraméricos que permiten que el receptor tipo II, que tiene una actividad quinasa constitutiva, fosforile las regiones del dominio citoplasmático del receptor tipo I, estimulando su actividad serina-treonina quinasa, con la subsiguiente fosforilación de distintas proteínas que actúan como efectores intracelulares propagando la señal. A partir de este punto existen dos vías por las cuales los miembros de la familia del TGF- $\beta$  pueden desencadenar la respuesta celular (Hata & Chen, 2016):

- La vía de señalización dependiente de proteínas Smad o vía canónica
- La vía independiente de proteínas Smad o vía no canónica

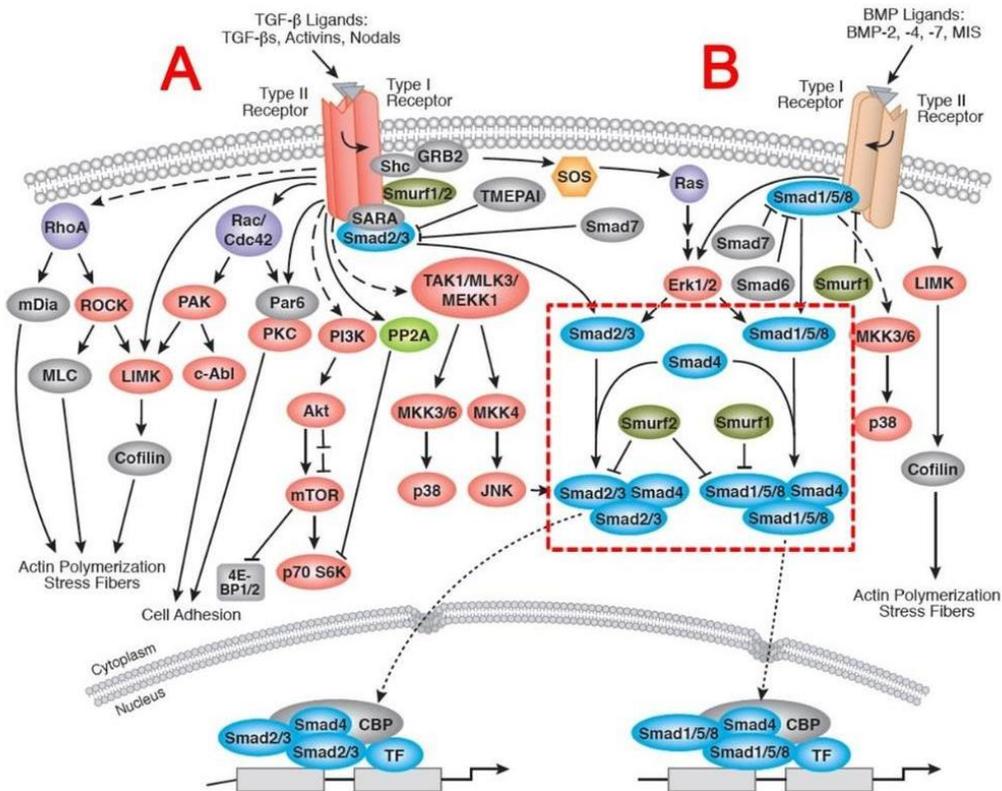
### 5.2.1. Vía canónica: SMADs

Su denominación deriva de la fusión de los nombres de los dos primeros miembros descritos de esta familia: “Sma” en *Caenorhabditis elegans* y “Mad” en *Drosophila*. Las SMADs son proteínas intracelulares que actúan como factores de transcripción para regular la expresión de genes. Están formadas por dos dominios globulares,

denominados MH-1 (N-terminal) y MH-2 (C-terminal), unidos por un segmento de enlace. La función principal del MH-1 es la de unión al ADN. MH-2 es responsable de mediar la interacción proteína-proteína con numerosas proteínas reguladoras y efectoras, incluidos los receptores TGF- $\beta$ , ciertas proteínas de anclaje citoplasmáticas, cofactores de unión a ADN específicos de linaje y modificadores de cromatina (Macías *et al.*, 2015).

La familia SMAD en humanos incluye ocho miembros clasificados en tres subfamilias según su función:

- R-SMADs: SMAD-1, -2, -3, -5 y -8. Son fosforiladas por los receptores tipo I. TGF- $\beta$  señala a través de SMAD-2 y SMAD-3, mientras que los BMPs señalan a través de SMAD-1, -5 y -8 (Macías *et al.*, 2015).
- Co-SMADs: SMAD-4. Se unen a las R-SMADs formando complejos que actúan como reguladores transcripcionales, así como reclutando co-reguladores transcripcionales específicos.
- I-SMADs: SMAD-6 y -7. Actúan como inhibidores de la señalización TGF- $\beta$ , evitando la activación de las R-SMADs y co-SMADs (Valdimarsdottir *et al.*, 2006). Carecen de dominio MH-1, pero mantienen el MH-2. SMAD-7 actúa como un inhibidor, en general, de todas las TGF- $\beta$ s, mientras que SMAD-6 bloquea preferentemente la señalización de BMP (Hata & Chen, 2016).



**Figura 4:** Vías de señalización canónicas (SMAD). A: señalización por TGF- $\beta$ s y activinas a través de SMAD-2 y -3. B: señalización por BMPs a través de SMAD-1, -5 y -8 (Merino, 2014).

La señalización de TGF- $\beta$  por la vía canónica ocurre mediante la fosforilación de R-SMADs (Figura 4). La unión de las R-SMADs a los receptores tipo I requiere la transfosforilación de los receptores tipo I por los de tipo II. Tras esta unión las R-SMADs sufren una fosforilación en una región específica en el extremo carboxi terminal del dominio MH-2, induciendo cambios conformacionales y su activación, así como la formación de complejos compuestos por R-SMADs y Co-SMADs (SMAD-4). Generalmente, los receptores específicos de TGF- $\beta$ s y activinas fosforilan a SMAD-2 y SMAD-3, mientras que los receptores específicos de BMPs fosforilan a SMAD-1, SMAD-5 y SMAD-8. SMAD-4 es un mediador común esencial en las vías de señalización TGF- $\beta$ /activina y BMP. Los complejos formados por R-SMADs y Co-SMADs se translocan al núcleo donde se acumulan y, solos o en asociación con subunidades de unión al ADN, activan genes diana uniéndose a promotores específicos (Kawabata & Miyazono, 1998; Chaikuad & Bullock, 2016; Massagué, 1998).

En estado basal, las proteínas SMAD van y vienen del citoplasma al núcleo mediante el contacto con nucleoporinas. Sin embargo, los complejos activados de SMADs requieren factores nucleares de importación y exportación (importinas y exportinas) para su translocación. En el núcleo, los complejos SMAD4-R-SMAD se unen a otros factores de transcripción para el reconocimiento y la regulación de la transcripción de genes diana. Las horquillas de unión al ADN en SMAD-1,-2,-3 y -5 son secuencias de aminoácidos idénticas que reconocen la secuencia de ADN "CAGAC" (que corresponde al SBE o "SMAD binding element"). Las SMAD-1 y SMAD-5, activadas por BMPs, se unen a elementos ricos en "GC" además de los SBEs canónicos (CAGAC), lo que podría explicarse por las diferencias en la posición de las horquillas de unión al ADN entre las R-SMADs. Por tanto, el reconocimiento de secuencias de ADN específicas por los diferentes complejos SMAD está dictado por las preferencias por distintos "SBEs" y diferentes cofactores transcripcionales (Massagué, 2012).

Entre los mecanismos que regulan la señalización mediada por TGF- $\beta$ s, BAMBI ("BMP and activin membrane-bound inhibitor") es una proteína transmembrana con dominios extracelulares y transmembranales estructuralmente similares a los de los receptores tipo I. Sin embargo, tiene una porción intracelular relativamente corta que carece de dominio con actividad enzimática serina-treonina quinasa. La ausencia de dicho dominio convierte a BAMBI en un pseudo-receptor incapaz de transmitir la señal al interior de la célula, por tanto, regula negativamente la señalización vía TGF- $\beta$ /BMPs/activinas formando complejos receptoriales en los que substituye al receptor tipo I (Onichtchouk *et al.*, 1999).

### 5.2.2. Vías no canónicas: no-SMADs

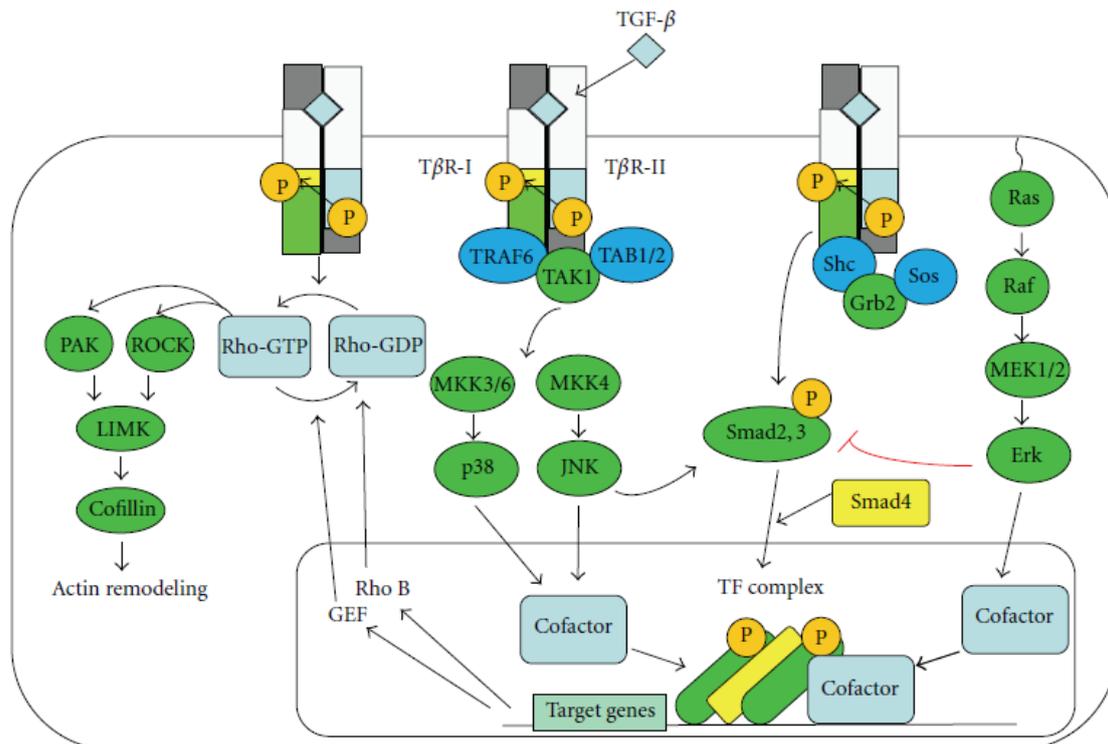
Los receptores activados también señalizan a través de otras proteínas, que forman parte de las vías de señalización no canónicas o no-SMADs (Figura 5). Los mecanismos de acción que utilizan se pueden clasificar en tres tipos: vías de señalización no-SMAD que modifican directamente la función de SMADs, proteínas no-SMAD cuya función es modulada directamente por SMADs y que transmiten señales a otras vías, y proteínas no-SMAD que interactúan o son fosforiladas directamente por receptores TGF- $\beta$  y no afectan necesariamente la función de las SMADs (Moustakas y Heldin, 2005). Incluyen (Zhang, 2017):

- La ruta de las MAPK (“mitogen-activated protein kinase”), que se dividen en ERKs (“extracellular signal-regulated kinases”), JNK (“c-Jun amino terminal kinase”) y p38.
- La vía de IKK (I $\kappa$ B quinasa), PI3K (“phosphatidylinositol-3 kinase”) y Akt.
- La vía de las GTPasas tipo Rho.

Se ha propuesto que la activación de MAPK y PI3K complementa y converge con la señalización vía SMADs, aunque también pueden antagonizar la señalización vía canónica en otros contextos. Los enlaces bioquímicos entre los receptores TGF- $\beta$  y las vías MAPK y PI3K son complejos e incluyen a TRAF6 (“tumor necrosis factor receptor-associated factor 6”), mTORC y otros mediadores. Debido a una falta de información estructural, se desconoce si la activación de estas vías está directamente acoplada a los receptores TGF- $\beta$ , si es el resultado de la activación colateral de otros receptores o si es consecuencia de una comunicación cruzada de la red de señalización. En cualquier caso, las vías de MAPK y PI3K son rutas de señalización importantes para los receptores tirosina quinasa, “inputs” metabólicos y estrés ambiental (*Massagué, 2012*).

Una de las funciones biológicas más importantes del TGF- $\beta$  es la de la transición epitelio-mesénquima (MET), el cual es un proceso fisiológico necesario para el desarrollo embrionario, que puede convertirse en patológico asociado a metástasis tumorales y fibrosis. La activación de las rutas Erk, JNK/p38, RhoA y PI3K/Akt es uno de los pasos necesarios para la MET mediada por TGF- $\beta$ .

La vía ERK regula un subconjunto de genes diana conocidos por su función en el remodelado de la interacción célula-matriz extracelular y la movilidad celular. ERK también puede fosforilar SMADs (-1,-2,-3) para regular su actividad. La vía JNK/p38 es esencial para la apoptosis inducida por TGF- $\beta$ /BMP, actuando de manera coordinada con la vía SMAD. La vía de las GTPasas tipo Rho juega un papel importante en el control de la organización dinámica del citoesqueleto, en la movilidad celular y expresión de genes. La vía PI3K está implicada en la reorganización de los filamentos de actina mediada por TGF- $\beta$  y en la migración celular, también juega un papel en la proliferación de fibroblastos y la transformación morfológica mediadas por TGF- $\beta$ . Además, antagoniza algunos efectos mediados por SMADs, como la apoptosis y la inhibición del crecimiento inducida por TGF- $\beta$  (*Zhang, 2009*).



**Figura 5:** Vías de señalización no-SMAD mediadas por miembros de la familia TGF- $\beta$  (Yoshimatsu & Watabe, 2011).

### 5.3. Regulación de TGF- $\beta$ y BMP en el remodelado miocárdico.

#### TGF- $\beta$

Los TGF- $\beta$ s juegan un papel clave en el remodelado del ventrículo izquierdo mediando el crecimiento de cardiomiocitos, la proliferación de fibroblastos y transdiferenciación a miofibroblastos, la síntesis de elementos de la matriz extracelular y la transición epitelio-mesenquimal para el reclutamiento de fibroblastos (Goumans & Ten Dijke, 2018; Villar *et al.*, 2009). En el corazón, las tres isoformas de TGF- $\beta$  están presentes en cardiomiocitos, fibroblastos, células endoteliales, células de la musculatura lisa vascular, macrófagos y otras células hemáticas (Annes *et al.*, 2003). TGF- $\beta$ 1 es la isoforma más estudiada dentro del sistema cardiovascular. Además, la fibrosis cardiaca está mediada en parte por el TGF- $\beta$ 1, el cual es un potente estimulador de la producción de colágeno por parte de los fibroblastos cardiacos (Ruiz-Ortega *et al.*, 2007). La expresión de TGF- $\beta$ 1 se ha observado que aumenta durante el desarrollo de procesos patológicos como la hipertrofia cardiaca, la cardiomiopatía dilatada y la estenosis aórtica (Goumans & Ten Dijke, 2018).

La producción de TGF- $\beta$  se correlaciona con la progresión de la fibrosis en hígado, pulmón, riñón y corazón. En el hígado, TGF- $\beta$  promueve la proliferación y migración de las células estrelladas y promueve su diferenciación a miofibroblastos (Fabregat *et al.*, 2016). A nivel renal la sobreexpresión de TGF- $\beta$  promueve la síntesis y depósito de ECM a través de la activación SMAD3 (Samarakoon *et al.*, 2013). A nivel pulmonar, el TGF- $\beta$  se considera la citoquina pro-fibrosis más importante, promoviendo la

transdiferenciación de los fibroblastos pulmonares a miofibroblastos durante la fibrosis pulmonar (Aschner et al., 2016). La fibrosis miocárdica es dirigida de forma primaria por un aumento local de TGF- $\beta$  (Dituri et al., 2019).

Villar et al., (2009) investigaron en ratones sometidos a coartación del arco aórtico (TAC) y en pacientes con EA grave la contribución de TGF- $\beta$ 1 al remodelado miocárdico secundario a la sobrecarga de presión. Los niveles preoperatorios de TGF- $\beta$ 1 en plasma fueron elevados en comparación con los controles y, un año después del reemplazo valvular, los valores de TGF- $\beta$ 1 plasmáticos disminuyeron en los pacientes con EA, pero no alcanzaron los valores de pacientes control. Los niveles plasmáticos preoperatorios de TGF- $\beta$ 1 eran proporcionales al grado de sobrecarga de presión del VI del paciente con EA, lo que sugiere una correlación directa entre la severidad de la patología y la liberación de TGF- $\beta$ 1 al plasma. Además, los niveles plasmáticos de TGF- $\beta$ 1 se correlacionaron positivamente con los niveles de expresión miocárdica de genes asociados a la hipertrofia miocárdica y a la fibrosis. Se correlacionaron positivamente con los efectores de la vía de señalización TGF- $\beta$  SMAD-2 y TAK-1 y con los elementos de la MEC como el colágeno tipo I y III y la fibronectina, así como con las miosinas. Los ratones sometidos a TAC mostraron la misma respuesta que los pacientes con EA.

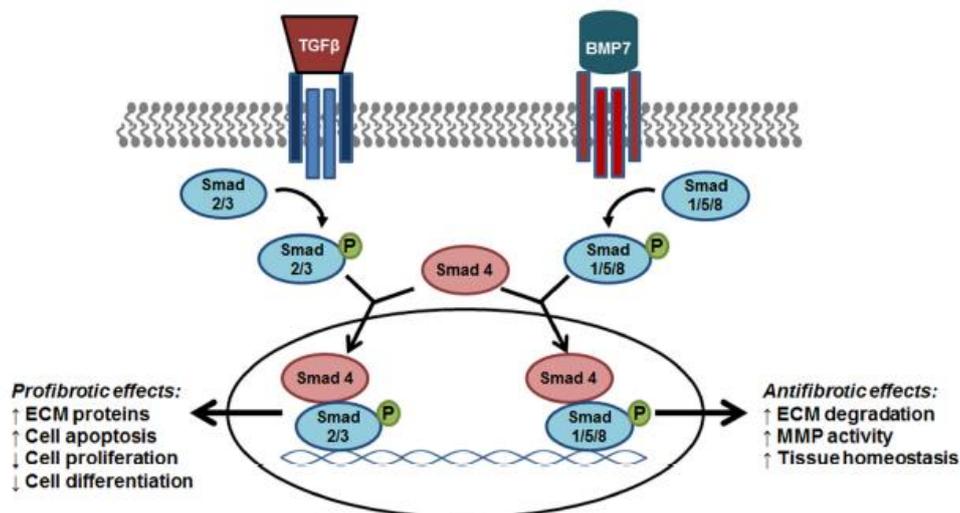
En el remodelado miocárdico inducido por TGF- $\beta$ , tanto las vías SMAD como las no-SMAD están implicadas a nivel transcripcional (Goumans & Ten Dijke, 2018). La deficiencia de SMAD-3 en la sobrecarga de presión del ventrículo izquierdo disminuye la fibrosis intersticial reduciendo el depósito de colágeno. Los fibroblastos con déficit de SMAD-3 muestran menos transdiferenciación a miofibroblastos y menor producción de colágeno en respuesta a TGF- $\beta$  (Dobaczewski et al. 2010). Esto sugiere que bloquear las vías TGF- $\beta$ /SMAD-3 puede ser una oportunidad de tratamiento en procesos fibróticos. Por otro lado, TGF- $\beta$ 1 induce hipertrofia de cardiomiocitos a través de la vía no canónica por activación de TAK1 (vía TGF- $\beta$ 1/TAK1-p38MAPK) durante la sobrecarga de presión miocárdica, induciendo hipertrofia cardiaca y disfunción sistólica grave (Zhang et al., 2000). La sinergia entre el TGF- $\beta$  y la vía HER2/Ras/MAPK a menudo conduce a la secreción de factores de crecimiento y citoquinas adicionales, incluyendo el propio TGF- $\beta$ , el cual promueve la transición epitelio-mesénquima y la invasión celular. Las JNK quinasas, en cambio, parecen regular negativamente la expresión autocrina de TGF- $\beta$ 1. MEK/Erk ha sido observado como un regulador positivo de la transcripción genética de SMAD-3 en células epiteliales y de músculo liso (Guo y Wang, 2013).

## **BMPs**

Las BMPs (“Bone Morphogenetic Proteins”) forman una de las subfamilias más amplia de la familia TGF- $\beta$  y engloba a citoquinas que juegan un papel esencial en muchos aspectos de la comunicación celular en organismos avanzados, tanto en el desarrollo embriogénico como en la homeostasis y regeneración de tejidos en el adulto, así como la regulación de la función y estructura cardiovascular. Las BMPs actúan como un importante regulador endocrino de las funciones cardiovascular, metabólica y hematopoyética (Miyazawa & Miyazono, 2017; Nickel et al. 2019). La actividad mediada por BMPs es predominantemente anti-fibrótica, a menudo en antagonismo con TGF- $\beta$ , aunque existen estudios que respaldan que la señalización vía BMP puede reforzar la de TGF- $\beta$  (Dituri et al. 2019); según Katsuno et al., (2018) en su estudio *in vitro* con células

epiteliales humanas, la señalización vía BMP puede fortalecer la de TGF- $\beta$ , a través de la activación de la proteína arginina metiltransferasa 1 (PRMT1), cuya sobreexpresión se ha observado en carcinomas. La PRMT1 metila a SMAD-6/7 (inhibidoras) provocando su disociación del receptor tipo I y permitiendo la unión y activación de SMAD-1/3/5, para finalmente promover la transición epitelio mesénquima (EMT) durante la fibrosis.

**BMP-7** fue descubierta hace 30 años como un factor crítico en el desarrollo y la formación de hueso (Ozkaynak *et al.*, 1990) y, posteriormente, se ha demostrado su importancia en la homeostasis de los órganos y, específicamente, como un mecanismo opuesto a las acciones profibróticas de TGF- $\beta$  (McVicker & Bennett., 2017; Weiskirchen & Meurer, 2013) (Figura 6). Recientemente estudiaron en ratones TAC y de-TAC la modulación de BMP-7 utilizando (i) BMP-7 recombinante, (ii) anticuerpo anti-BMP-7 y (iii) un ratón knock-out heterocigoto (BMP-7<sup>+/-</sup>). El tratamiento con la proteína recombinante BMP-7 en ratones TAC atenúa y frena el desarrollo del remodelado miocárdico. Asimismo, en los ratones de-TAC el tratamiento con esta proteína facilita el remodelado inverso y por el contrario se ve exacerbado al tratar los ratones de-TAC con el anticuerpo anti-BMP-7 o en los heterocigotos BMP-7<sup>+/-</sup> (Merino *et al.*, 2016). Otro estudio reciente en cultivos de fibroblastos cardiacos (Chen *et al.*, 2016) concluyó que BMP-7 puede regular la vía TGF- $\beta$ /SMAD-3 activando las SMADs 1/5 y reduciendo los niveles de expresión de colágeno I y  $\alpha$ -SMA. Dentro del campo cardiovascular, diferentes estudios han demostrado que BMP-7 ralentiza la progresión de la calcificación arterial tanto en humanos como en ratones con diabetes e hiperlipidemia (Zhang *et al.*, 2019; Davies *et al.*, 2003; Freedman *et al.*, 2009).



**Figura 6:** el efecto anti fibrótico de la señalización BMP-7/SMAD. La fosforilación de SMAD-1/5/8 mediada por BMP-7 conlleva la transcripción de genes diana que se oponen a los efectos fibrogénicos inducidos por la señalización TGF- $\beta$ -SMAD-2/3. Los efectos anti fibróticos son: un aumento de la degradación de la matriz extracelular (ECM), aumento de la actividad de la metaloproteinasa de la matriz (MMP) y una regulación positiva de la homeostasis tisular (McVicker & Bennett, 2017).

Por otro lado, la bibliografía también recoge el estudio de diferentes BMPs en relación con el remodelado cardíaco. **BMP-10** ha sido asociado a la reducción de la fibrosis y a la mejora de la función cardíaca a raíz de modelos de infarto de miocardio en ratones (Morrell *et al.*, 2016). **BMP-2** ha demostrado ser capaz de neutralizar la acción de TGF- $\beta$ 1 en la fibrosis cardíaca. Wang *et al.* (2012) observaron que, en cardiomiocitos en cultivo, BMP-2 promueve la formación del complejo SMAD-6/Smurf1, que revierte los efectos pro-fibróticos del TGF- $\beta$ 1 promoviendo la degradación de su receptor y alterando la activación de SMAD-3 dependiente de TGF- $\beta$ . Otra citoquina de la familia de BMPs estudiada en el remodelado miocárdico patológico es BMP-4. BMP-4 es una citoquina mecanosensible y proinflamatoria (Sorescu *et al.*, 2004). Se ha descrito que **BMP-4** puede elevarse de forma aguda o crónica en la hipertrofia patológica secundaria a la sobrecarga de presión, lo que no ocurre en la hipertrofia fisiológica inducida por ejercicio (Morrell *et al.*, 2016).

## 6. MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DEL REMODELADO MIOCÁRDICO POR SOBRECARGA DE PRESIÓN

Los modelos animales son de gran importancia en el estudio de la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares y en el desarrollo y mejora de los procedimientos de diagnóstico, preventivos y terapéuticos (Rai *et al.*, 2018). El conocimiento de las bases moleculares y celulares de la biología cardiovascular se ha obtenido principalmente de modelos animales experimentales de pequeño tamaño, particularmente ratones (Dixon & Spinale, 2009). Aunque los modelos animales nunca se asemejan completamente a la realidad observada en la clínica, sí que permiten obtener información directa de determinados fenómenos relacionados con la enfermedad, así como la utilización de procedimientos invasivos y difícilmente aplicables en estudios clínicos. Aun así, se debe de ser prudente a la hora de extrapolar los resultados experimentales a la práctica clínica. Por otro lado, no hay que olvidar la existencia de una normativa y unos procedimientos de regulación de la experimentación cuya finalidad es evitar el sufrimiento de los animales durante el desarrollo de los estudios experimentales. Entre las principales limitaciones se encuentran las diferencias existentes entre la enfermedad humana y la inducida experimentalmente, así como las diferencias en los mecanismos de regulación genética o en los factores que determinan las funciones cardíaca y vascular (Chorro *et al.*, 2009).

Gran parte del conocimiento sobre los mecanismos moleculares de fibrosis miocárdica viene de estudios experimentales en animales tales como perros, cerdos, ovejas y roedores. El coste reproductivo y de mantenimiento de los roedores es mucho menor que el de los animales de mayor tamaño, lo que aumenta el número de animales en el estudio y mejora la capacidad estadística. Por tanto, los roedores tienden a ser los animales experimentales más prevalentes. Estos modelos animales pueden ser producidos mediante diferentes técnicas, principalmente cirugía, farmacología y manipulación genética (Ding *et al.*, 2020).

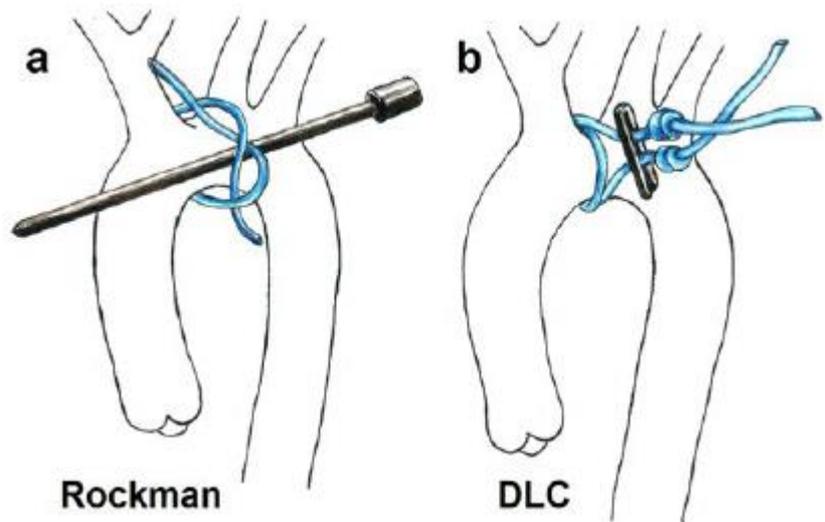
Los modelos animales que reproducen experimentalmente la hipertrofia del ventrículo izquierdo debido a la sobrecarga de presión y su regresión son fundamentales para el

conocimiento de los mecanismos moleculares y celulares implicados, así como para la identificación de nuevas estrategias terapéuticas.

El modelo más popular es la coartación aórtica transversa (TAC). Fue validado por primera vez por Rockman *et al.* y representa una herramienta útil para simular patologías cardíacas con sobrecarga de presión en el ventrículo izquierdo, como es el caso de la estenosis aórtica (Rockman *et al.*, 1991; Rai *et al.*, 2018). Esta consiste en la colocación de un cerclaje con sutura quirúrgica en el segmento medio del arco aórtico transverso, entre los orígenes del tronco arterial braquiocefálico y la arteria carótida primitiva izquierda. Ligando el arco aórtico se eleva la poscarga, teniendo como resultado la hipertrofia del ventrículo izquierdo y el remodelado tisular, el cual es caracterizado por el aumento del diámetro de los cardiomiocitos, la acumulación de colágeno intercelular y alteración de la función del VI, conduciendo al final al desarrollo de insuficiencia cardíaca (IC) y a la muerte. Para determinar el grado de sobrecarga de presión producida por la ligadura aórtica, se usa una sonda Doppler de alta frecuencia para medir la ratio entre las velocidades de flujo sanguíneo y las arterias carótidas derecha e izquierda. La cuantificación del gradiente de presión a través de la estenosis aórtica y la estratificación de la hipertrofia ventricular izquierda son las grandes ventajas de este modelo. El grado de constricción determina el nivel de desarrollo de hipertrofia y el marco temporal en el cual se desarrolla la dilatación y la IC. Los ratones de mayor edad (>12 meses) tardan más en desarrollar una respuesta adaptativa de las arterias carótidas al TAC, por lo que desarrollan una miocardiopatía dilatada más rápido que los ratones más jóvenes (3-4 meses) (DeAlmeida *et al.*, 2010). En general, a partir de las cuatro semanas de TAC comienza a observarse deterioro de la función sistólica del VI y mortalidad de los animales, que progresan en las semanas siguientes hasta llegar a la insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) en torno a 8-10 semanas tras la constricción. Las principales limitaciones de la técnica de TAC de Rockman son la elevada mortalidad perioperatoria, en parte debido al daño traumático que sufre la aorta durante la intervención, defectos en la reproducibilidad del grado de estenosis y el requerimiento de personal bien entrenado.

Merino *et al.* (2018) proponen un modelo de TAC alternativo al clásico (técnica de Rockman), el cual genera un grado de estenosis totalmente controlado y predefinido adecuado al diámetro del arco aórtico individual de cada ratón. El DLC (“double loop-clip”) genera una estenosis del arco aórtico customizada y, por tanto, una reducción proporcional y una sobrecarga de presión del VI homogénea y estandarizada. Esto facilita una constricción precisa, predecible, totalmente controlada y estable, que puede realizarse fácilmente por personal de laboratorio con un entrenamiento quirúrgico básico (Merino *et al.*, 2018) (Figura 7).

**Figura 7:** Representación de técnicas de TAC. La técnica de Rockman (a) se realiza anudando una ligadura que rodea la aorta junto con una cánula de calibre 27G que se retira inmediatamente después de fijar el nudo. La técnica de DLC (Double loop-clip) (b) utiliza una sutura (preparada antes de la operación) con dos nudos separados por una distancia predeterminada que define



el grado de constricción, que se enlaza dos veces alrededor del arco aórtico. Después se pone un microclip bajo ambos nudos, lo que produce el grado preasignado de estenosis (Imagen modificada de Merino *et al.*, 2018).

Otros métodos para crear modelos de sobrecarga de presión en animales es la coartación de la aorta ascendente y de la aorta abdominal. El primero proporciona una sobrecarga mayor y más rápida en el VI. En cambio, el segundo deja intacta una porción mayor de la circulación, a fin de una posible compensación, y es principalmente usado para el estudio del daño cardiovascular en la hipertensión (Yuejia Ding *et al.*, 2020; DeAlmeida *et al.*, 2010).

Asimismo, se han desarrollado modelos que reproducen el proceso de regresión del remodelado tras la liberación del estrés hemodinámico, tal y como sucede en la clínica de la estenosis aórtica tras el recambio valvular aórtico. Estos modelos se basan en la coartación quirúrgica de la aorta durante periodos variables, seguida de la retirada de la ligadura, mediante la técnica de de-TAC, y el seguimiento de los animales (Merino, 2014). Los ratones se siguen con ecocardiografía para analizar el curso temporal de la recuperación morfofuncional y, tras el sacrificio del animal, se estudia en el tejido del corazón la reversión de los cambios estructurales y sus mecanismos moleculares. Utilizando este modelo, se evidenció que la duración de la sobrecarga de presión es un factor determinante asociado al grado de regresión del remodelado que se produce tras la eliminación de la sobrecarga. Después de la retirada de la constricción, existe una primera fase en la que se produce una disminución considerable de la masa miocárdica, y, por lo tanto, de la hipertrofia. En un estudio se observó que, en ratones sometidos a TAC, la disminución de la masa del ventrículo izquierdo era del 25% una semana después de la cirugía de de-TAC (Gao *et al.*, 2005).

Por último, hay que añadir que los avances tecnológicos han permitido originar, en ratón modelos con alteraciones en sitios específicos del genoma. En los denominados ratones *knock-out* (inactivación genética mediante recombinación homóloga), se inactivan genes específicos para conseguir información sobre su función en patologías determinadas. Por otra parte, en los denominados ratones *knock-in* se reemplazan o se mutan determinados genes y se analizan sus patrones de expresión, así como los efectos de estas variaciones en fenómenos concretos (Rai *et al.*, 2018; Chorro FJ *et al.*, 2009). Se

han realizado determinaciones *in vivo* efectuadas en modelos murinos con modificaciones genéticas de sobreexpresión, delección o mutación que producen hipertrofia y fibrosis cardiaca, y que aportan información sobre los factores que determinan la función sistólica y diastólica, así como los tratamientos farmacológicos que las modifican. Por ejemplo, Kandalam et al. (2011) utilizaron un modelo de ratón con delección de TIMP-2 (TIMP2<sup>-/-</sup>) sometidos a TAC para determinar el papel de TIMP-2 en la respuesta cardiaca al estrés biomecánico, concluyendo que la pérdida de TIMP-2 conduce a un aumento de la disfunción y remodelado cardiaco secundario a sobrecarga de presión.

## NUEVAS ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS CONTRA EL REMODELADO MIOCÁRDICO EN LA ESTENOSIS AÓRTICA

El creciente conocimiento sobre las bases moleculares y la regulación de las vías de señalización de TGF- $\beta$  y BMP, así como los mecanismos implicados en el desarrollo y progresión del remodelado miocárdico patológico secundario a la sobrecarga de presión han permitido la creación de una importante red de investigación sobre nuevos tratamientos dirigidos a paliar y/o prevenir los cambios maladaptativos del ventrículo izquierdo, determinados por la fibrosis y la hipertrofia de los cardiomiocitos, en enfermedades cardiovasculares caracterizadas por sobrecarga de presión como la estenosis aórtica. Esta búsqueda de terapias farmacológicas complementarias a la cirugía en la EA ha sido motivada por la alta prevalencia de dicha enfermedad y el limitado pronóstico en pacientes con EA grave tras el reemplazo valvular. En este apartado se hace una revisión de algunas de las estrategias terapéuticas que modulan las vías de señalización TGF- $\beta$  y/o BMP utilizadas en los últimos años en estudios experimentales con modelos de sobrecarga de presión (Tabla 2).

**Tabla 2:** Nuevas estrategias terapéuticas contra el remodelado miocárdico en la sobrecarga de presión modulando las vías de señalización TGF- $\beta$ /BMP.

Modelo animal	Estrategia	Alteración vías TGF- $\beta$ /BMP	Efectos sobre el remodelado	Referencia
Ratón (TGF- $\beta$ 1 <sup>platelet-KO</sup> -LDLR*).	KO para TGF- $\beta$ 1 derivado de plaquetas	Reducción de SMAD 2 fosforilado	Prevención desarrollo de estenosis aórtica	Varshney et al., 2019

TAC en ratón	Inhibición farmacológica de HuR*	Disminución expresión TGF- $\beta$ 1	Disminución hipertrofia VI y fibrosis	Green <i>et al.</i> , 2019
TAC en rata	<i>Mimic</i> de miR-101a	Silenciamiento TGF $\beta$ RI	Disminución de la fibrosis	Zhou <i>et al.</i> , 2018
TAC en ratón	Ácido gálico	Reducción expresión y fosforilación SMAD-3	Disminuye la hipertrofia, disfunción y fibrosis cardíacas	Jin <i>et al.</i> , 2018
TAC en ratón	Activador de SIRT-1: SRT1720	Reducción fosforilación SMAD-2/3	Disminución de la hipertrofia VI y fibrosis	Bugyei-Twum <i>et al.</i> , 2018
TAC y de-TAC en ratón	BMP-7 recombinante humano	Disminución señalización vía TGF- $\beta$ / Aumento señalización vía BMP-7	Disminución de la fibrosis y la hipertrofia cardíacas. Mejora de la regresión de la hipertrofia VI.	Merino <i>et al.</i> , 2016
TAC en ratón	Deleción de BAMBI (knockout)	Aumento de la señalización por TGF- $\beta$	Exacerbación del remodelado miocárdico	Villar <i>et al.</i> , 2013
Coartación aorta ascendente en rata	AAV9.miR-1	Disminución expresión TGF- $\beta$ 1	Regresión hipertrofia Detención progresión	Karakikes <i>et al.</i> , 2013
TAC en ratón	Inhibidor de BMP-4: DMH-1	Inhibición de transcripción vía de señalización de BMP-4	Disminución de la fibrosis e hipertrofia cardíacas.	Sun <i>et al.</i> , 2012
TAC en ratón	Anticuerpo neutralizador anti-TGF- $\beta$	Bloqueo TGF- $\beta$	Disminución de la fibrosis miocárdica	Koitabashi <i>et al.</i> , 2011
TAC en ratón	<i>Tamoxifen-inducible TBR2 conditional</i>	Inactivación genética del	Disminución de la fibrosis intersticial e	Koitabashi <i>et al.</i> , 2011

	<i>knockdown</i> (cKD)	receptor TGF- $\beta$ tipo 2 (T $\beta$ R2)	hipertrofia cardiaca.	
TAC en ratón	Inducción del receptor mutante DnTGF $\beta$ RII mediante Zn <sup>2+</sup>	Disminución de la vía de señalización de TGF- $\beta$ a través del receptor TGF- $\beta$ tipo 2	Disminución fibrosis intersticial. Aumento de la dilatación y disfunción VI.	Lucas JA <i>et al.</i> , 2010

\***LDLR**: receptor de *Low-Density Lipoprotein* (LDL); \***HuR**: proteína antígeno humano R

Un estudio reciente sobre el papel de TGF- $\beta$ 1 en la estenosis aórtica (**Varshney *et al.***, 2019), demostró que el **TGF- $\beta$ 1 derivado de plaquetas** puede contribuir directamente a la progresión de esta patología. Para estudiar la progresión de la EA utilizaron un modelo murino de EA, utilizando una cepa de ratones *Ldlr*<sup>-/-</sup> *Apob*<sup>100/100</sup> (LDLR) y acelerando la progresión de la estenosis aórtica mediante una dieta alta en grasas. Con ayuda del microscopio electrónico de barrido y técnicas de inmunotinción identificaron plaquetas activadas ancladas a las células endoteliales valvulares con un aumento de SMAD-2 fosforilado. Para estudiar el papel específico del TGF- $\beta$ 1 derivado de plaquetas en la EA utilizaron un modelo de ratón con TGF- $\beta$ 1 plaquetario inhibido (TGF- $\beta$ 1<sup>platelet-KO</sup>-LDLR), en el que observaron una disminución de la progresión de la EA y de SMAD-2 fosforilado, así como unos niveles menores de miofibroblastos en la válvula aórtica en comparación con los controles. Esto sugiere que el TGF- $\beta$ 1 derivado de plaquetas desencadena la progresión de la EA provocando un aumento de la señalización en células endoteliales valvulares y su transformación en miofibroblastos productores de colágeno. Por tanto, la inhibición del TGF- $\beta$ 1 derivado de plaquetas podría atenuar o prevenir enfermedades con fibrosis en las que interviene la activación plaquetaria, como es el caso de la estenosis aórtica.

El estudio de los receptores de TGF- $\beta$ , también ha sido abordado ampliamente en modelos animales por sobrecarga de presión. Un estudio en ratones sometidos a TAC, (**Koitabashi *et al.***, 2011) estudiaron la acción en el remodelado del VI al neutralizar la acción de TGF- $\beta$ . Se administró a un grupo de animales TAC un anticuerpo neutralizador de **TGF-  $\beta$**  y observaron: (i) supresión de la activación SMAD en el intersticio (no en miocitos, por lo que la activación no canónica está conservada) y (ii) disminución marcada de la fibrosis, sin afectar al grado de disfunción y dilatación cardíacas. También estudiaron la inactivación del receptor de TGF- $\beta$  tipo 2 y observaron una inhibición de todas las respuestas maladaptativas (inhibición de SMADs y TAK1 en miocitos e intersticio). Por último, el bloqueo del receptor TGF-  $\beta$  tipo 1 (T $\beta$ R1) tuvo como consecuencia la supresión solamente en el miocito, disminuyendo ligeramente la fibrosis y manteniendo la hipertrofia y la disfunción. Este estudio muestra los potenciales beneficios de inhibir las vías no canónicas de la señalización TGF- $\beta$ , en particular TAK1. También muestra la complejidad de la señalización TGF- $\beta$  y sugiere la necesidad de desarrollar diferentes estrategias contra TGF- $\beta$  dirigidas a células miocárdicas específicas.

En otro estudio en el que también se plantearon la modulación sobre la actividad de los receptores de TGF- $\beta$  (**Lucas et al.**, 2010), utilizaron un modelo de ratón transgénico que expresaba una mutación dominante negativa inducible del **receptor de TGF- $\beta$  tipo II** (DnTGF $\beta$ RII). Con este modelo, estudiaron las respuestas estructurales y funcionales del ventrículo izquierdo a la sobrecarga de presión en ausencia de una cascada de señalización TGF- $\beta$ . Los ratones DnTGF $\beta$ RII expresan un receptor TGF $\beta$ RII truncado, que carece de dominio quinasa y no tiene actividad intrínseca y que compite con los receptores endógenos para la formación de complejos heterodiméricos. Los ratones DnTGF $\beta$ RII y los ratones control recibieron aleatoriamente Zn<sup>2+</sup> para inducir la sobreexpresión de DnTGF $\beta$ RII y luego fueron sometidos a TAC. Una semana más tarde de la constricción la proliferación intersticial había disminuido considerablemente en el ventrículo izquierdo de los ratones DnTGF $\beta$ RII+ Zn<sup>2+</sup>. Al mes y a los 3 meses el depósito de colágeno en el VI estaba disminuido en los ratones DnTGF $\beta$ RII+ Zn<sup>2+</sup> en comparación con los controles. El diámetro sistólico final y los volúmenes finales sistólicos y diastólicos estaban significativamente aumentados, mientras que la fracción de eyección y la fracción de acortamiento estaban disminuidos en los ratones DnTGF $\beta$ RII+ Zn<sup>2+</sup> sometidos a TAC. En conclusión, estos resultados indican que la interrupción de la señalización TGF- $\beta$  atenúa la proliferación intersticial no miocitaria y disminuye el depósito de colágeno inducido por sobrecarga de presión. Sin embargo, este modelo promueve la dilatación y disfunción cardíaca.

En referente al estudio de receptores de TGF- $\beta$  en el remodelado miocárdico bajo sobrecarga de presión, **Villar et al.** (2013) establecieron la hipótesis de que **BAMBI** (pseudorreceptor de TGF- $\beta$ ) tiene un papel protector en el remodelado ventricular izquierdo secundario a sobrecarga de presión. El modelo animal estudiado fue ratones BAMBI *knock-out* sometidos a TAC. Observaron que la expresión de BAMBI estaba aumentada en pacientes con EA y ratones con TAC y que se correlacionaba directamente con TGF- $\beta$ . La delección de BAMBI en ratones provocó un aumento en el miocardio de la señalización TGF- $\beta$  a través de la vía canónica (SMADs) y no canónica (TAK1-p38 y TAK1-JNK). Como consecuencia, el remodelado miocárdico en respuesta a la sobrecarga de presión en ratones BAMBI<sup>-/-</sup> presentó una mayor hipertrofia, dilatación y deterioro de la función sistólica y diastólica. Los ratones BAMBI<sup>-/-</sup>, en comparación con los controles, mostraron una expresión nuclear mayor de SMAD-4 y MAPKs a causa de TAK1, así como p38-MAPK y JNK-MAPK, bajo sobrecarga de presión. De manera consecuente, la progresión de la fibrosis e hipertrofia miocárdica del VI fueron exacerbadas y aceleradas tras la TAC en ratones BAMBI<sup>-/-</sup> en comparación con los controles. En conjunto, estos hallazgos identifican a BAMBI como un modulador negativo del remodelado miocárdico secundario a sobrecarga de presión y, por tanto, una potencial diana terapéutica para patologías cardíacas con sobrecarga de presión.

En la bibliografía aparecen numerosas referencias sobre el estudio de sustancias y/o biomoléculas que puedan tener un papel desconocido en el remodelado cardíaco. Concretamente la **proteína antígeno humano R (HuR)** es una proteína que se une a múltiples ARNs mensajeros involucrados en inflamación, hipertrofia y fibrosis, y regula directamente la expresión de ARNm diana mediante la modulación de su estabilidad y/o traducción (Srikantan & Gorospe, 2012). **Green et al.** (2019) crearon un modelo en ratones con una delección específica de la HuR en cardiomiocitos para demostrar la hipótesis de que la delección de HuR protege contra el remodelado cardíaco y el

deterioro funcional en la sobrecarga de presión. Mostraron que la delección de HuR reduce la hipertrofia, dilatación y fibrosis del VI y preserva la función cardiaca en un modelo de hipertrofia inducida por sobrecarga de presión secundaria a TAC en ratones. La evaluación de los cambios globales en la expresión de genes dependientes de HuR sugiere que los mecanismos básicos de esta protección ocurren a través de una disminución de la señalización de la fibrosis, específicamente a través de la disminución de la expresión de TGF- $\beta$ . Finalmente, la inhibición farmacológica de HuR tras el desarrollo inicial de la hipertrofia patológica secundaria a la TAC también produjo una reducción significativa en la progresión patológica, caracterizada por una reducción en la hipertrofia, dilatación y fibrosis y una función preservada. Estos resultados establecen la inhibición de HuR como un enfoque terapéutico viable para la hipertrofia cardiaca patológica y la insuficiencia cardíaca secundarias a sobrecarga de presión.

También se han encontrado referencias sobre las sirtuinas y el remodelado cardiaco y la implicación de TGF- $\beta$ . Las sirtuinas son una familia de enzimas desacetilasas de histona NAD-dependientes. Existen siete tipos en mamíferos, pero la mayoría de la investigación se ha centrado en la **sirtuina 1 (SIRT-1)**, la cual se ha relacionado con enfermedades cardiovasculares, trastornos neurodegenerativos y cáncer (Hall *et al.*, 2013). **Bugyei-Twum *et al.*** (2018) establecieron la hipótesis de que la pérdida de la expresión y actividad de la SIRT-1 tiene como consecuencia una activación crónica de la vía de señalización TGF- $\beta$ , promoviendo la acetilación de SMAD-2/3 y aumentando la actividad de TGF- $\beta$ 1. Por tanto, reestablecer la actividad de SIRT-1 mediante el compuesto activador de SIRT-1, SRT1720, reducirá la activación de la señalización TGF- $\beta$ , previniendo el remodelado ventricular y mejorando la función cardiaca en un modelo animal. Para corroborarlo, utilizaron un modelo murino de sobrecarga de presión en ratones sometidos a TAC y tratados con SRT1720, un compuesto que aumenta la actividad deacetilasa de SIRT-1. El resultado fue la prevención del remodelado ventricular y la disminución de la señalización de TGF- $\beta$ , con una reducción observada de la fosforilación de SMAD-2/3, en los ratones sometidos a TAC. Por tanto, mediante el aumento de la actividad deacetilasa de SIRT1 usando el compuesto SRT1720, pudieron prevenir el remodelado ventricular y reducir la activación de TGF- $\beta$  en un modelo murino de sobrecarga de presión. Estos hallazgos sugieren que la pérdida de la actividad de SIRT-1 contribuye al remodelado ventricular y que, por tanto, su potenciación podría ser una nueva estrategia terapéutica contra el remodelado miocárdico patológico secundario a sobrecarga de presión.

Otra de las sustancias estudiadas recientemente que pueda actuar sobre el remodelado cardiaco bajo sobre carga de presión, es el **ácido gálico**. Es un ácido trihidroxibenzoico que se encuentra en las hojas de té y en algunas plantas. **Jin *et al.*** (2018) estudiaron el efecto de esta sustancia sobre la disfunción y la fibrosis cardiaca en un modelo de insuficiencia cardiaca secundaria a sobrecarga de presión en ratones TAC y en cultivos primarios de fibroblastos cardiacos de rata. Los resultados que obtuvieron determinaron que el ácido gálico disminuye la hipertrofia y la disfunción cardiaca y la fibrosis inducidas por TAC *in vivo* y por TGF- $\beta$ 1 *in vitro*. Además, observaron que el tratamiento con ácido gálico inhibe la expresión de genes relacionados con la fibrosis (colágeno tipo I, fibronectina, CTGF, actina del músculo liso) y el depósito de colágeno tipo I en fibroblastos cardiacos tratados con TGF- $\beta$ 1. Todos estos resultados sugieren que el ácido

gálico es un potencial agente terapéutico para la disfunción cardíaca y la fibrosis en la insuficiencia cardíaca por sobrecarga de presión.

Dentro de las moléculas que se estudian como potenciales dianas terapéuticas en las enfermedades cardiovasculares están los microRNAs. Los microRNAs son cadenas cortas de ARN no codificante que actúan regulando post-transcripcionalmente el ARN mensajero de proteínas dianas. Entre otros, **Zhou et al.** (2018) demostraron un mecanismo inhibitorio en “loop” entre el microRNA miR-101a y TGF- $\beta$  e investigaron el potencial terapéutico de **miR-101a** en la fibrosis cardíaca inducida por sobrecarga de presión. Se evaluaron los efectos de miR-101a sobre la proliferación de fibroblastos, la transdiferenciación de miofibroblastos, la síntesis de colágeno, la apoptosis y la autofagia en fibroblastos cardíacos de rata. Las ratas sometidas a TAC se trataron con un *mimic* de miR-101a 1, 3 y 7 días después de la cirugía. La función ventricular izquierda, así como la fibrosis del VI se evaluaron a los 2 días, 2 y 10 semanas después de la cirugía. En este estudio concluyeron que MiR-101a inhibe la proliferación de fibroblastos mediante la inducción de apoptosis celular y reduce la síntesis de colágeno. A su vez, MiR-101a también inhibe la vía de señalización de TGF- $\beta$ , al ser TGF $\beta$ RI diana directa, produciendo una reducción de la fosforilación de SMAD-3. Por otro lado, TGF- $\beta$  inhibe la actividad del promotor de miR-101a. El tratamiento con el *mimic*-101a atenuó el remodelado patológico del ventrículo izquierdo y preservó la fracción de eyección cardíaca a las 10 semanas post-TAC. El tratamiento con miR-101a, administrado de forma precoz después de la sobrecarga de presión, inhibe la señalización de TGF- $\beta$ , reduce la fibrosis cardíaca y preserva la función del VI.

**Karakikes et al.** (2013) demostraron que la restauración crónica de la expresión génica de **miR-1**, un regulador clave de la hipertrofia cardíaca, *in vivo* revierte la hipertrofia y protege del remodelado miocárdico adverso inducido por sobrecarga de presión. El modelo utilizado fueron ratas sometidas a una coartación quirúrgica de la aorta ascendente y, tras dos semanas de evolución, se administró de forma aleatoria un virus adeno-asociado que expresa miR-1 (AAV9.miR-1). El resultado de la administración de miR-1 fue la reversión de la hipertrofia cardíaca y la detención de la progresión de la enfermedad en comparación con los controles. Además, la terapia de remplazo de miR-1 conllevó una disminución marcada de la fibrosis miocárdica (con una disminución significativa de la expresión de mRNA de TGF- $\beta$ 1 y del CTGF), una mejora del manejo del calcio, inhibición de la apoptosis e inactivación de las vías de señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno (ERK 1/2, JNK y p38), lo que sugiere un efecto beneficioso en la prevención del remodelado ventricular maladaptativo. En conjunto, estos hallazgos sugieren que la restauración de la expresión del gen miR-1 es una nueva estrategia terapéutica potencial para revertir la hipertrofia cardíaca inducida por sobrecarga de presión y prevenir el remodelado cardíaco maladaptativo.

Las BMPs también acaparan atención como posibles dianas terapéuticas en la disminución de la fibrosis e hipertrofia miocárdica. **Merino et al.** (2016) investigaron la relevancia fisiopatológica del desequilibrio entre la señalización TGF- $\beta$  y **BMP-7** en el remodelado VI en pacientes con EA grave y en modelos de ratón sometidos a TAC. En ambos modelos de sobrecarga de presión la señalización de TGF- $\beta$  estaba favorecida, mientras que la expresión y señalización de BMP-7 estaba disminuida y, como consecuencia, la ratio de niveles de expresión TGF- $\beta$ 1/BMP-7 era elevada. En este

estudio, observaron una correlación inversa entre BMP-7 y los niveles de colágeno, fibronectina y expresión de  $\beta$ -MHC, así como la hipertrofia y la disfunción diastólica, y una correlación directa con la función sistólica en modelos de ratones sometidos a TAC. Además, el tratamiento con BMP-7 recombinante en los ratones sometidos a TAC tuvo como resultado la prevención de la sobreexpresión miocárdica de genes relacionados con el remodelado (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, Col I, Col III, FN1, y  $\beta$ -MHC). A las 3-4 semanas tras la administración de BMP-7 recombinante, se produjo la detención del remodelado en curso, la hipertrofia VI, la dilatación cavitaria y la disfunción sistólica y diastólica. El tratamiento con BMP-7 recombinante tras el de-TAC a las 4 semanas supuso una mejora de la regresión de la hipertrofia VI y de la recuperación de las funciones sistólica y diastólica, por lo que BMP-7 muestra un papel positivo en el remodelado inverso tras la eliminación de la sobrecarga de presión. En biopsias miocárdicas de pacientes con EA severa se observaron niveles de expresión preoperatorios significativamente más bajos de BMP-7 y más altos de TGF- $\beta$ 1 comparados con muestras control. Los niveles de mRNA de BMP-7 se correlacionaron inversamente con la expresión génica de TGF- $\beta$ 1. Los niveles de BMP-7 preoperatorios fueron determinados como un predictor negativo significativo de la masa del ventrículo izquierdo, mientras que TGF- $\beta$ 1 se mostró como un predictor positivo. En conjunto, estos datos sugieren a BMP-7 como diana terapéutica para el tratamiento de la hipertrofia VI y la mejora del remodelado inverso tras el reemplazo valvular en pacientes con EA.

**Sun et al.** (2012) investigaron el papel del **BMP-4** en la hipertrofia cardiaca, la apoptosis y la fibrosis en varios modelos experimentales de hipertrofia cardiaca patológica. Los modelos *in vivo* fueron ratones con sobrecarga de presión secundaria a TAC y ratones con infusión continua de angiotensina II, y el modelo *in vitro* fueron cardiomiocitos en cultivo expuestos a angiotensina II. La expresión de BMP-4 aumentó en los ratones con sobrecarga de presión y en los cardiomiocitos en cultivo; en cambio, no lo hizo en los ratones control con hipertrofia fisiológica (ejercicio). El aumento de BMP-4 indujo hipertrofia y apoptosis en los cardiomiocitos y fibrosis cardiaca, y estas consecuencias patológicas fueron inhibidas por el tratamiento con los inhibidores de BMP-4 nogina y DMH1. La hipertrofia inducida por angiotensina II en cardiomiocitos también fue reprimida por los inhibidores de BMP-4. El mecanismo subyacente de la hipertrofia y apoptosis de cardiomiocitos por BMP-4 fue a través del aumento de expresión de la NADPH oxidasa 4 y de las vías de dependientes de las especies reactivas de oxígeno. DMH1 inhibió la hipertrofia secundaria a sobrecarga de presión en ratones *in vivo*. Los niveles plasmáticos de BMP-4 en pacientes con insuficiencia cardiaca estaban aumentados en comparación con aquellos sin insuficiencia cardiaca. En resumen, estos autores presentan BMP-4 como un mediador pro-hipertrofico y una posible diana terapéutica para la hipertrofia cardiaca patológica.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La estenosis aórtica es una patología frecuente cuya prevalencia está en aumento en la población occidental, cada vez más envejecida, debido al aumento de la esperanza de vida. Los cambios en la poscarga se traducen en un remodelado miocárdico, al principio adaptativo, que se caracteriza principalmente por una hipertrofia de los cardiomiocitos

y un mayor depósito de componentes de la matriz extracelular en forma de fibrosis intersticial y perivascular. Si el estrés biomecánico se mantiene en el tiempo, se produce un remodelado patológico que compromete las funciones diastólica y sistólica llegando en último término al desarrollo de insuficiencia cardíaca y la muerte.

De una manera simplificada se podría definir a la EA como un problema mecánico (obstrucción valvular) que requiere una solución mecánica (reemplazo valvular), por lo que el problema desaparecería tras el reemplazo de la válvula aórtica. Sin embargo, la constatación de que algunas de las consecuencias son irreversibles a pesar del tratamiento quirúrgico y que existe un pronóstico desfavorable a largo plazo en los casos más graves de estenosis aórtica, ha puesto sobre la mesa la necesidad de investigar nuevas estrategias que modifiquen los mecanismos moleculares relacionados con el remodelado miocárdico patológico con la intención de prevenirlo o ralentizarlo hasta el momento del reemplazo valvular y, de esa forma, ayudar a la regresión del remodelado del VI tras la cirugía.

Las alteraciones en la expresión de las citoquinas pertenecientes a la superfamilia TGF- $\beta$  y/o de los efectores de sus vías de señalización, se han relacionado con los cambios moleculares, celulares y fenotípicos característicos del remodelado miocárdico patológico secundario a la sobrecarga de presión. Por tanto, existen numerosas áreas de investigación dirigida a desarrollar nuevas estrategias moleculares que modulen las vías de señalización de TGF- $\beta$ /BMP para modificar el curso natural de las enfermedades cardiovasculares con sobrecarga de presión. Es importante resaltar que los TGF- $\beta$ s son conocidos por mediar la hipertrofia de cardiomiocitos y la fibrosis cardíaca, en cambio los BMPs tienen efectos predominantemente anti-fibróticos.

Por otro lado, el estudio experimental de la sobrecarga de presión se ha podido llevar a cabo gracias al desarrollo de modelos animales de sobrecarga de presión, como por ejemplo los ratones sometidos a TAC. Recientemente se ha introducido una nueva variación en la técnica TAC que genera un grado de estenosis totalmente controlado y predefinido adecuado al diámetro del arco aórtico individual de cada ratón. Además, el modelo de reversión (de-TAC) permite el estudio de las características del remodelado inverso y de las estrategias terapéuticas que podrían optimizarlo. No obstante, existen limitaciones en este tipo de modelos, ya que no deja de ser un modelo simplificado de la enfermedad en humanos, obviando la presencia de comorbilidades que pueden modificar la fisiopatología y la evolución clínica.

La revisión de estudios experimentales que modulan las vías de señalización TGF- $\beta$ /BMP muestra un aumento considerable de nuevas estrategias terapéuticas que potencialmente podrían ser trasladadas a la práctica clínica mediante el desarrollo de terapias farmacológicas. Algunas se muestran especialmente prometedoras, como es el caso de BMP-7, citoquina que está sólidamente establecida como responsable de un mecanismo antifibrótico opuesto a la señalización mediada por TGF- $\beta$ . Sin embargo, existen limitaciones en el desarrollo de estas terapias; la expresión y señalización de TGF- $\beta$  y BMP ocurre en diferentes órganos y depende mucho del contexto, por lo que la modulación de estas vías puede ir acompañada de efectos secundarios fuera de la diana terapéutica. Además, el remodelado miocárdico es un proceso complejo y multifactorial, por lo que las terapias dirigidas a un solo gen o proteína podrían ser

insuficientes a nivel de eficacia en la práctica clínica, pudiendo necesitarse el desarrollo de terapias combinadas. Como conclusión, un mayor estudio e investigación de estas potenciales dianas terapéuticas son necesarios para su traslado a la práctica clínica y para encontrar la estrategia más efectiva y segura para alcanzar el éxito del tratamiento contra el remodelado miocárdico en la estenosis aórtica.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Llano M.F. (2011). *Implicaciones del factor de crecimiento transformante beta en la hipertrofia y remodelado del ventrículo izquierdo. Hallazgos en pacientes con estenosis aórtica esclerodegenerativa y en un modelo murino de sobrecarga de presión* (Tesis doctoral). Universidad de Cantabria, España.
2. Yarbrough, W. M., Mukherjee, R., Ikonomidis, J. S., Zile, M. R., & Spinale, F. G. (2012). Myocardial remodeling with aortic stenosis and after aortic valve replacement: mechanisms and future prognostic implications. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 143(3), 656–664. <https://doi.org/10.1016/j.itcvs.2011.04.044>
3. Goździk, A. T., Jasiński, M., & Goździk, W. (2019). Echocardiographic evaluation of left ventricular strain in severe aortic stenosis with therapeutic implications and risk stratification. *Advances in clinical and experimental medicine: official organ Wrocław Medical University*, 28(9), 1271–1279. <https://doi.org/10.17219/acem/104553>
4. Lindman, B. R., Clavel, M. A., Mathieu, P., Lung, B., Lancellotti, P., Otto, C. M., & Pibarot, P. (2016). Calcific aortic stenosis. *Nature reviews. Disease primers*, 2, 16006. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.6>
5. Morís, C., Pascual, I., & Avanzas, P. (2016). Will TAVI Be the Standard of Care in the Treatment of Aortic Stenosis?. *Revista española de cardiología (English ed.)*, 69(12), 1131–1134. <https://doi.org/10.1016/j.rec.2016.09.012>
6. Zhang, B., Miller, V. M., & Miller, J. D. (2019). Influences of Sex and Estrogen in Arterial and Valvular Calcification. *Frontiers in endocrinology*, 10, 622. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00622>
7. Lewin, M. B., & Otto, C. M. (2005). The bicuspid aortic valve: adverse outcomes from infancy to old age. *Circulation*, 111(7), 832–834. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000157137.59691.0B>
8. Grimard, B. H., Safford, R. E., & Burns, E. L. (2016). Aortic Stenosis: Diagnosis and Treatment. *American family physician*, 93(5), 371–378.
9. Dweck, M. R., Khaw, H. J., Sng, G. K., Luo, E. L., Baird, A., Williams, M. C., Makiello, P., Mirsadraee, S., Joshi, N. V., van Beek, E. J., Boon, N. A., Rudd, J. H., & Newby, D. E. (2013). Aortic stenosis, atherosclerosis, and skeletal bone: is there a common link with calcification and inflammation?. *European heart journal*, 34(21), 1567–1574. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs034>
10. Dobson, L. E., Musa, T. A., Uddin, A., Fairbairn, T. A., Swoboda, P. P., Erhayiem, B., Foley, J., Garg, P., Haaf, P., Fent, G. J., Malkin, C. J., Blackman, D. J., Plein, S., & Greenwood, J. P. (2016). Acute Reverse Remodelling After Transcatheter Aortic Valve Implantation: A Link Between Myocardial Fibrosis and Left Ventricular Mass Regression. *The Canadian journal of cardiology*, 32(12), 1411–1418. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2016.04.009>
11. Treibel, T. A., Kozor, R., Schofield, R., Benedetti, G., Fontana, M., Bhuva, A. N., Sheikh, A., López, B., González, A., Manisty, C., Lloyd, G., Kellman, P., Díez, J., & Moon, J. C. (2018). Reverse Myocardial Remodeling Following Valve Replacement in Patients With Aortic Stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(8), 860–871. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.12.035>

12. Ali, A., Patel, A., Ali, Z., Abu-Omar, Y., Saeed, A., Athanasiou, T., & Pepper, J. (2011). Enhanced left ventricular mass regression after aortic valve replacement in patients with aortic stenosis is associated with improved long-term survival. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 142(2), 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.itcvs.2010.08.084>
13. Hellawell, J. L., & Margulies, K. B. (2012). Myocardial reverse remodeling. *Cardiovascular therapeutics*, 30(3), 172–181. <https://doi.org/10.1111/j.1755-5922.2010.00247.x>
14. Tirziu, D., Giordano, F. J., & Simons, M. (2010). Cell communications in the heart. *Circulation*, 122(9), 928–937. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.847731>
15. Pitoulis, F. G., & Terracciano, C. M. (2020). Heart Plasticity in Response to Pressure- and Volume-Overload: A Review of Findings in Compensated and Decompensated Phenotypes. *Frontiers in physiology*, 11, 92. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00092>
16. Bing, R., Cavalcante, J. L., Everett, R. J., Clavel, M. A., Newby, D. E., & Dweck, M. R. (2019). Imaging and Impact of Myocardial Fibrosis in Aortic Stenosis. *JACC. Cardiovascular imaging*, 12(2), 283–296. <https://doi.org/10.1016/j.icmg.2018.11.026>
17. Samak, M., Fatullayev, J., Sabashnikov, A., Zerriouh, M., Schmack, B., Farag, M., Popov, A. F., Dohmen, P. M., Choi, Y. H., Wahlers, T., & Weymann, A. (2016). Cardiac Hypertrophy: An Introduction to Molecular and Cellular Basis. *Medical science monitor basic research*, 22, 75–79. <https://doi.org/10.12659/MSMBR.900437>
18. Dobaczewski, M., Chen, W., & Frangogiannis, N. G. (2011). Transforming growth factor (TGF)- $\beta$  signaling in cardiac remodeling. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 51(4), 600–606. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2010.10.033>
19. Schirone, L., Forte, M., Palmerio, S., Yee, D., Nocella, C., Angelini, F., Pagano, F., Schiavon, S., Bordin, A., Carrizzo, A., Vecchione, C., Valenti, V., Chimenti, I., De Falco, E., Sciarretta, S., & Frati, G. (2017). A Review of the Molecular Mechanisms Underlying the Development and Progression of Cardiac Remodeling. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 3920195. <https://doi.org/10.1155/2017/3920195>
20. Sciarretta, S., Paneni, F., Palano, F., Chin, D., Tocci, G., Rubattu, S., & Volpe, M. (2009). Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and inflammatory processes in the development and progression of diastolic dysfunction. *Clinical science (London, England: 1979)*, 116(6), 467–477. <https://doi.org/10.1042/CS20080390>
21. Gibb, A. A., & Hill, B. G. (2018). Metabolic Coordination of Physiological and Pathological Cardiac Remodeling. *Circulation research*, 123(1), 107–128. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.312017>
22. LeGrice, I. J., Pope, A. J., Sands, G. B., Whalley, G., Doughty, R. N., & Smaill, B. H. (2012). Progression of myocardial remodeling and mechanical dysfunction in the spontaneously hypertensive rat. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 303(11), H1353–H1365. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00748.2011>

23. Niestrawska, J. A., Augustin, C. M., & Plank, G. (2020). Computational modeling of cardiac growth and remodeling in pressure overloaded hearts-Linking microstructure to organ phenotype. *Acta biomaterialia*, *106*, 34–53. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.02.010>
24. Narula, J., Kolodgie, F. D., & Virmani, R. (2000). Apoptosis and cardiomyopathy. *Current opinion in cardiology*, *15*(3), 183–188. <https://doi.org/10.1097/00001573-200005000-00011>
25. Díez, J., Fortuño, M. A., & Ravassa, S. (1998). Apoptosis in hypertensive heart disease. *Current opinion in cardiology*, *13*(5), 317–325. <https://doi.org/10.1097/00001573-199809000-00005>
26. Anversa, P., Olivetti, G., Leri, A., Liu, Y., & Kajstura, J. (1997). Myocyte cell death and ventricular remodeling. *Current opinion in nephrology and hypertension*, *6*(2), 169–176. <https://doi.org/10.1097/00041552-199703000-00011>
27. Scheuer, J., & Buttrick, P. (1987). The cardiac hypertrophic responses to pathologic and physiologic loads. *Circulation*, *75*(1 Pt 2), I63–I68.
28. Gupta M. P. (2007). Factors controlling cardiac myosin-isoform shift during hypertrophy and heart failure. *Journal of molecular and cellular cardiology*, *43*(4), 388–403. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2007.07.045>
29. Driesen, R. B., Verheyen, F. K., Debie, W., Blaauw, E., Babiker, F. A., Cornelussen, R. N., Ausma, J., Lenders, M. H., Borgers, M., Chaponnier, C., & Ramaekers, F. C. (2009). Re-expression of alpha skeletal actin as a marker for dedifferentiation in cardiac pathologies. *Journal of cellular and molecular medicine*, *13*(5), 896–908. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00523.x>
30. Izumo, S., Nadal-Ginard, B., & Mahdavi, V. (1988). Protooncogene induction and reprogramming of cardiac gene expression produced by pressure overload. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *85*(2), 339–343. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.2.339>
31. Bloomekatz, J., Galvez-Santisteban, M., & Chi, N. C. (2016). Myocardial plasticity: cardiac development, regeneration and disease. *Current opinion in genetics & development*, *40*, 120–130. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.05.029>
32. Spinale F. G. (2007). Myocardial matrix remodeling and the matrix metalloproteinases: influence on cardiac form and function. *Physiological reviews*, *87*(4), 1285–1342. <https://doi.org/10.1152/physrev.00012.2007>
33. Fan, D., Takawale, A., Lee, J., & Kassiri, Z. (2012). Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Fibrogenesis & tissue repair*, *5*(1), 15. <https://doi.org/10.1186/1755-1536-5-15>
34. Eghbali, M., & Weber, K. T. (1990). Collagen and the myocardium: fibrillar structure, biosynthesis and degradation in relation to hypertrophy and its regression. *Molecular and cellular biochemistry*, *96*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/BF00228448>
35. Souders, C. A., Bowers, S. L., & Baudino, T. A. (2009). Cardiac fibroblast: the renaissance cell. *Circulation research*, *105*(12), 1164–1176. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.209809>
36. Goldsmith, E. C., Bradshaw, A. D., Zile, M. R., & Spinale, F. G. (2014). Myocardial fibroblast-matrix interactions and potential therapeutic targets. *Journal of*

- molecular and cellular cardiology*, 70, 92–99.  
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2014.01.008>
37. Díez, J., López, B., González, A., Ardanaz, N., & Fortuño, M. A. (2001). Genética y biología molecular en cardiología (IV). Respuestas del miocardio al estrés biomecánico [Genetics and molecular biology in cardiology (IV). Myocardial response to biomechanical stress]. *Revista española de cardiología*, 54(4), 507–515. [https://doi.org/10.1016/s0300-8932\(01\)76339-7](https://doi.org/10.1016/s0300-8932(01)76339-7)
  38. Stewart, J. A., Jr, Massey, E. P., Fix, C., Zhu, J., Goldsmith, E. C., & Carver, W. (2010). Temporal alterations in cardiac fibroblast function following induction of pressure overload. *Cell and tissue research*, 340(1), 117–126. <https://doi.org/10.1007/s00441-010-0943-2>
  39. Porter, K. E., & Turner, N. A. (2009). Cardiac fibroblasts: at the heart of myocardial remodeling. *Pharmacology & therapeutics*, 123(2), 255–278. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2009.05.002>
  40. Zeisberg, E. M., & Kalluri, R. (2010). Origins of cardiac fibroblasts. *Circulation research*, 107(11), 1304–1312. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.231910>
  41. Givvimani, S., Tyagi, N., Sen, U., Mishra, P. K., Qipshidze, N., Munjal, C., Vacek, J. C., Abe, O. A., & Tyagi, S. C. (2010). MMP-2/TIMP-2/TIMP-4 versus MMP-9/TIMP-3 in transition from compensatory hypertrophy and angiogenesis to decompensatory heart failure. *Archives of physiology and biochemistry*, 116(2), 63–72. <https://doi.org/10.3109/13813451003652997>
  42. Weber, K. T., Sun, Y., Bhattacharya, S. K., Ahokas, R. A., & Gerling, I. C. (2013). Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodelling of the heart. *Nature reviews. Cardiology*, 10(1), 15–26. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2012.158>
  43. Bomb, R., Heckle, M. R., Sun, Y., Mancarella, S., Guntaka, R. V., Gerling, I. C., & Weber, K. T. (2016). Myofibroblast secretome and its auto-/paracrine signaling. *Expert review of cardiovascular therapy*, 14(5), 591–598. <https://doi.org/10.1586/14779072.2016.1147348>
  44. Creemers, E. E., & Pinto, Y. M. (2011). Molecular mechanisms that control interstitial fibrosis in the pressure-overloaded heart. *Cardiovascular research*, 89(2), 265–272. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq308>
  45. Fairbairn, T. A., Steadman, C. D., Mather, A. N., Motwani, M., Blackman, D. J., Plein, S., McCann, G. P., & Greenwood, J. P. (2013). Assessment of valve haemodynamics, reverse ventricular remodelling and myocardial fibrosis following transcatheter aortic valve implantation compared to surgical aortic valve replacement: a cardiovascular magnetic resonance study. *Heart (British Cardiac Society)*, 99(16), 1185–1191. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2013-303927>
  46. Villari, B., Vassalli, G., Monrad, E. S., Chiariello, M., Turina, M., & Hess, O. M. (1995). Normalization of diastolic dysfunction in aortic stenosis late after valve replacement. *Circulation*, 91(9), 2353–2358. <https://doi.org/10.1161/01.cir.91.9.2353>
  47. Weidemann, F., Herrmann, S., Störk, S., Niemann, M., Frantz, S., Lange, V., Beer, M., Gattenlöhner, S., Voelker, W., Ertl, G., & Strotmann, J. M. (2009). Impact of

- myocardial fibrosis in patients with symptomatic severe aortic stenosis. *Circulation*, 120(7), 577–584. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.847772>
48. Azevedo, C. F., Nigri, M., Higuchi, M. L., Pomerantzeff, P. M., Spina, G. S., Sampaio, R. O., Tarasoutchi, F., Grinberg, M., & Rochitte, C. E. (2010). Prognostic significance of myocardial fibrosis quantification by histopathology and magnetic resonance imaging in patients with severe aortic valve disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(4), 278–287. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.12.074>
  49. Goumans, M. J., & Ten Dijke, P. (2018). TGF- $\beta$  Signaling in Control of Cardiovascular Function. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(2), a022210. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022210>
  50. Annes, J. P., Munger, J. S., & Rifkin, D. B. (2003). Making sense of latent TGFbeta activation. *Journal of cell science*, 116(Pt 2), 217–224. <https://doi.org/10.1242/jcs.00229>
  51. Weiskirchen, R., & Meurer, S. K. (2013). BMP-7 counteracting TGF-beta1 activities in organ fibrosis. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 18, 1407–1434. <https://doi.org/10.2741/4189>
  52. McVicker, B. L., & Bennett, R. G. (2017). Novel Anti-fibrotic Therapies. *Frontiers in pharmacology*, 8, 318. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00318>
  53. Orriols, M., Gomez-Puerto, M. C., & Ten Dijke, P. (2017). BMP type II receptor as a therapeutic target in pulmonary arterial hypertension. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 74(16), 2979–2995. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2510-4>
  54. Morikawa, M., Koinuma, D., Tsutsumi, S., Vasilaki, E., Kanki, Y., Heldin, C. H., Aburatani, H., & Miyazono, K. (2011). ChIP-seq reveals cell type-specific binding patterns of BMP-specific Smads and a novel binding motif. *Nucleic acids research*, 39(20), 8712–8727. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr572>
  55. Guo WT, Dong DL. Bone morphogenetic protein-4: a novel therapeutic target for pathological cardiac hypertrophy/heart failure. *Heart Fail Rev*. 2014;19(6):781-788. doi:10.1007/s10741-014-9429-8
  56. Sun L, *et al*. Bone morphogenetic protein-10 induces cardiomyocyte proliferation and improves cardiac function after myocardial infarction. *J Cell Biochem*. 2014; 115:1868–1876. [PubMed: 24906204]
  57. Morrell, N. W., Bloch, D. B., ten Dijke, P., Goumans, M. J., Hata, A., Smith, J., Yu, P. B., & Bloch, K. D. (2016). Targeting BMP signalling in cardiovascular disease and anaemia. *Nature reviews. Cardiology*, 13(2), 106–120. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2015.156>
  58. Massagué J. (2012). TGF $\beta$  signalling in context. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 13(10), 616–630. <https://doi.org/10.1038/nrm3434>
  59. Dituri, F., Cossu, C., Mancarella, S., & Giannelli, G. (2019). The Interactivity between TGF $\beta$  and BMP Signaling in Organogenesis, Fibrosis, and Cancer. *Cells*, 8(10), 1130. <https://doi.org/10.3390/cells8101130>
  60. Goraksha-Hicks, P., & Rathmell, J. C. (2009). TGF-beta: a new role for an old AktTOR. *Developmental cell*, 17(1), 6–8. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.07.004>

61. Valdimarsdottir, G., Goumans, M. J., Itoh, F., Itoh, S., Heldin, C. H., & ten Dijke, P. (2006). Smad7 and protein phosphatase 1alpha are critical determinants in the duration of TGF-beta/ALK1 signaling in endothelial cells. *BMC cell biology*, 7, 16. <https://doi.org/10.1186/1471-2121-7-16>
62. Massagué J. (1998). TGF-beta signal transduction. *Annual review of biochemistry*, 67, 753–791. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.753>
63. Nickel, J., & Mueller, T. D. (2019). Specification of BMP Signaling. *Cells*, 8(12), 1579. <https://doi.org/10.3390/cells8121579>
64. Hata, A., & Chen, Y. G. (2016). TGF-β Signaling from Receptors to Smads. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 8(9), a022061. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022061>
65. Macias, M. J., Martin-Malpartida, P., & Massagué, J. (2015). Structural determinants of Smad function in TGF-β signaling. *Trends in biochemical sciences*, 40(6), 296–308. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2015.03.012>
66. Merino D. (2014). *Plasticidad patológica del miocardio y su recuperación. Papel de BMP-7* (Tesis doctoral). Universidad de Cantabria, España.
67. Kawabata, M., & Miyazono, K. (1999). Signal transduction of the TGF-beta superfamily by Smad proteins. *Journal of biochemistry*, 125(1), 9–16. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a022273>
68. Chaikuad, A., & Bullock, A. N. (2016). Structural Basis of Intracellular TGF-β Signaling: Receptors and Smads. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 8(11), a022111. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022111>
69. Onichtchouk, D., Chen, Y. G., Dosch, R., Gawantka, V., Delius, H., Massagué, J., & Niehrs, C. (1999). Silencing of TGF-beta signalling by the pseudoreceptor BAMBI. *Nature*, 401(6752), 480–485. <https://doi.org/10.1038/46794>
70. Massagué, J., & Chen, Y. G. (2000). Controlling TGF-beta signaling. *Genes & development*, 14(6), 627–644.
71. Moustakas, A., & Heldin, C. H. (2005). Non-Smad TGF-beta signals. *Journal of cell science*, 118(Pt 16), 3573–3584. <https://doi.org/10.1242/jcs.02554>
72. Zhang Y. E. (2017). Non-Smad Signaling Pathways of the TGF-β Family. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 9(2), a022129. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022129>
73. Zhang Y. E. (2009). Non-Smad pathways in TGF-beta signaling. *Cell research*, 19(1), 128–139. <https://doi.org/10.1038/cr.2008.328>
74. Yoshimatsu, Y., & Watabe, T. (2011). Roles of TGF-β signals in endothelial-mesenchymal transition during cardiac fibrosis. *International journal of inflammation*, 2011, 724080. <https://doi.org/10.4061/2011/724080>
75. Villar, A. V., Cobo, M., Llano, M., Montalvo, C., González-Vílchez, F., Martín-Durán, R., Hurlé, M. A., & Nistal, J. F. (2009). Plasma levels of transforming growth factor-beta1 reflect left ventricular remodeling in aortic stenosis. *PloS one*, 4(12), e8476. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008476>
76. Ruiz-Ortega, M., Rodríguez-Vita, J., Sanchez-Lopez, E., Carvajal, G., & Egido, J. (2007). TGF-beta signaling in vascular fibrosis. *Cardiovascular research*, 74(2), 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2007.02.008>
77. Fabregat, I., Moreno-Càceres, J., Sánchez, A., Dooley, S., Dewidar, B., Giannelli, G., Ten Dijke, P., & IT-LIVER Consortium (2016). TGF-β signalling and liver

- disease. *The FEBS journal*, 283(12), 2219–2232. <https://doi.org/10.1111/febs.13665>
78. Samarakoon, R., Dobberfuhl, A. D., Cooley, C., Overstreet, J. M., Patel, S., Goldschmeding, R., Meldrum, K. K., & Higgins, P. J. (2013). Induction of renal fibrotic genes by TGF- $\beta$ 1 requires EGFR activation, p53 and reactive oxygen species. *Cellular signalling*, 25(11), 2198–2209. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.07.007>
  79. Aschner, Y., & Downey, G. P. (2016). Transforming Growth Factor- $\beta$ : Master Regulator of the Respiratory System in Health and Disease. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 54(5), 647–655. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2015-0391TR>
  80. Katsuno, Y., Qin, J., Osés-Prieto, J., Wang, H., Jackson-Weaver, O., Zhang, T., Lamouille, S., Wu, J., Burlingame, A., Xu, J., & Derynck, R. (2018). Arginine methylation of SMAD7 by PRMT1 in TGF- $\beta$ -induced epithelial-mesenchymal transition and epithelial stem-cell generation. *The Journal of biological chemistry*, 293(34), 13059–13072. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002027>
  81. Ozkaynak, E., Rueger, D. C., Drier, E. A., Corbett, C., Ridge, R. J., Sampath, T. K., & Oppermann, H. (1990). OP-1 cDNA encodes an osteogenic protein in the TGF-beta family. *The EMBO journal*, 9(7), 2085–2093.
  82. Chen, X., Xu, J., Jiang, B., & Liu, D. (2016). Bone Morphogenetic Protein-7 Antagonizes Myocardial Fibrosis Induced by Atrial Fibrillation by Restraining Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )/Smads Signaling. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, 22, 3457–3468. <https://doi.org/10.12659/msm.897560>
  83. Davies, M. R., Lund, R. J., & Hruska, K. A. (2003). BMP-7 is an efficacious treatment of vascular calcification in a murine model of atherosclerosis and chronic renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, 14(6), 1559–1567. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000068404.57780.dd>
  84. Freedman, B. I., Bowden, D. W., Ziegler, J. T., Langefeld, C. D., Lehtinen, A. B., Rudock, M. E., Lenchik, L., Hruska, K. A., Register, T. C., & Carr, J. J. (2009). Bone morphogenetic protein 7 (BMP7) gene polymorphisms are associated with inverse relationships between vascular calcification and BMD: the Diabetes Heart Study. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 24(10), 1719–1727. <https://doi.org/10.1359/jbmr.090501>
  85. Wang, S., Sun, A., Li, L., Zhao, G., Jia, J., Wang, K., Ge, J., & Zou, Y. (2012). Up-regulation of BMP-2 antagonizes TGF- $\beta$ 1/ROCK-enhanced cardiac fibrotic signalling through activation of Smurf1/Smad6 complex. *Journal of cellular and molecular medicine*, 16(10), 2301–2310. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01538.x>
  86. Sorescu, G. P., Song, H., Tressel, S. L., Hwang, J., Dikalov, S., Smith, D. A., Boyd, N. L., Platt, M. O., Lassègue, B., Griendling, K. K., & Jo, H. (2004). Bone morphogenetic protein 4 produced in endothelial cells by oscillatory shear stress induces monocyte adhesion by stimulating reactive oxygen species production from a nox1-based NADPH oxidase. *Circulation research*, 95(8), 773–779. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000145728.22878.45>

87. Rai, V., Sharma, P., Agrawal, S., & Agrawal, D. K. (2017). Relevance of mouse models of cardiac fibrosis and hypertrophy in cardiac research. *Molecular and cellular biochemistry*, 424(1-2), 123–145. <https://doi.org/10.1007/s11010-016-2849-0>
88. Dixon, J. A., & Spinale, F. G. (2009). Large animal models of heart failure: a critical link in the translation of basic science to clinical practice. *Circulation. Heart failure*, 2(3), 262–271. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.108.814459>
89. Chorro, F. J., Such-Belenguer, L., & López-Merino, V. (2009). Modelos animales de enfermedad cardiovascular [Animal models of cardiovascular disease]. *Revista española de cardiología*, 62(1), 69–84.
90. Ding, Y., Wang, Y., Jia, Q., Wang, X., Lu, Y., Zhang, A., Lv, S., & Zhang, J. (2020). Morphological and Functional Characteristics of Animal Models of Myocardial Fibrosis Induced by Pressure Overload. *International journal of hypertension*, 2020, 3014693. <https://doi.org/10.1155/2020/3014693>
91. Rockman, H. A., Ross, R. S., Harris, A. N., Knowlton, K. U., Steinhilber, M. E., Field, L. J., Ross, J., Jr, & Chien, K. R. (1991). Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an *in vivo* murine model of cardiac hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(18), 8277–8281. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.18.8277>
92. deAlmeida, A. C., van Oort, R. J., & Wehrens, X. H. (2010). Transverse aortic constriction in mice. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (38), 1729. <https://doi.org/10.3791/1729>
93. Merino, D., Gil, A., Gómez, J., Ruiz, L., Llano, M., García, R., Hurlé, M. A., & Nistal, J. F. (2018). Experimental modelling of cardiac pressure overload hypertrophy: Modified technique for precise, reproducible, safe and easy aortic arch banding-debanding in mice. *Scientific reports*, 8(1), 3167. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21548-x>
94. Gao, X. M., Kiriazis, H., Moore, X. L., Feng, X. H., Sheppard, K., Dart, A., & Du, X. J. (2005). Regression of pressure overload-induced left ventricular hypertrophy in mice. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 288(6), H2702–H2707. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00836.2004>
95. Kandalam, V., Basu, R., Moore, L., Fan, D., Wang, X., Jaworski, D. M., Oudit, G. Y., & Kassiri, Z. (2011). Lack of tissue inhibitor of metalloproteinases 2 leads to exacerbated left ventricular dysfunction and adverse extracellular matrix remodeling in response to biomechanical stress. *Circulation*, 124(19), 2094–2105. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.030338>
96. Varshney, R., Murphy, B., Woolington, S., Ghafoory, S., Chen, S., Robison, T., & Ahamed, J. (2019). Inactivation of platelet-derived TGF- $\beta$ 1 attenuates aortic stenosis progression in a robust murine model. *Blood advances*, 3(5), 777–788. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018025817>
97. Green, L. C., Anthony, S. R., Slone, S., Lanzillotta, L., Nieman, M. L., Wu, X., Robbins, N., Jones, S. M., Roy, S., Owens, A. P., 3rd, Aube, J., Xu, L., Lorenz, J. N., Blaxall, B. C., Rubinstein, J., Benoit, J. B., & Tranter, M. (2019). Human antigen R as a therapeutic target in pathological cardiac hypertrophy. *JCI insight*, 4(4), e121541. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.121541>

98. Zhou, Y., Shiok, T. C., Richards, A. M., & Wang, P. (2018). MicroRNA-101a suppresses fibrotic programming in isolated cardiac fibroblasts and in vivo fibrosis following trans-aortic constriction. *Journal of molecular and cellular cardiology*, *121*, 266–276. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.07.251>
99. Jin, L., Sun, S., Ryu, Y., Piao, Z. H., Liu, B., Choi, S. Y., Kim, G. R., Kim, H. S., Kee, H. J., & Jeong, M. H. (2018). Gallic acid improves cardiac dysfunction and fibrosis in pressure overload-induced heart failure. *Scientific reports*, *8*(1), 9302. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27599-4>
100. Bugyei-Twum, A., Ford, C., Civitarese, R., Seegobin, J., Advani, S. L., Desjardins, J. F., Kabir, G., Zhang, Y., Mitchell, M., Switzer, J., Thai, K., Shen, V., Abadeh, A., Singh, K. K., Billia, F., Advani, A., Gilbert, R. E., & Connelly, K. A. (2018). Sirtuin 1 activation attenuates cardiac fibrosis in a rodent pressure overload model by modifying Smad2/3 transactivation. *Cardiovascular research*, *114*(12), 1629–1641. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy131>
101. Merino, D., Villar, A. V., García, R., Tramullas, M., Ruiz, L., Ribas, C., Cabezudo, S., Nistal, J. F., & Hurlé, M. A. (2016). BMP-7 attenuates left ventricular remodelling under pressure overload and facilitates reverse remodelling and functional recovery. *Cardiovascular research*, *110*(3), 331–345. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvw076>
102. Villar, A. V., García, R., Llano, M., Cobo, M., Merino, D., Lantero, A., Tramullas, M., Hurlé, J. M., Hurlé, M. A., & Nistal, J. F. (2013). BAMBI (BMP and activin membrane-bound inhibitor) protects the murine heart from pressure-overload biomechanical stress by restraining TGF- $\beta$  signaling. *Biochimica et biophysica acta*, *1832*(2), 323–335. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.11.007>
103. Karakikes, I., Chaanine, A. H., Kang, S., Mukete, B. N., Jeong, D., Zhang, S., Hajjar, R. J., & Lebeche, D. (2013). Therapeutic cardiac-targeted delivery of miR-1 reverses pressure overload-induced cardiac hypertrophy and attenuates pathological remodeling. *Journal of the American Heart Association*, *2*(2), e000078. <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000078>
104. Sun, B., Huo, R., Sheng, Y., Li, Y., Xie, X., Chen, C., Liu, H. B., Li, N., Li, C. B., Guo, W. T., Zhu, J. X., Yang, B. F., & Dong, D. L. (2013). Bone morphogenetic protein-4 mediates cardiac hypertrophy, apoptosis, and fibrosis in experimentally pathological cardiac hypertrophy. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, *61*(2), 352–360. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00562>
105. Koitabashi, N., Danner, T., Zaiman, A. L., Pinto, Y. M., Rowell, J., Mankowski, J., Zhang, D., Nakamura, T., Takimoto, E., & Kass, D. A. (2011). Pivotal role of cardiomyocyte TGF- $\beta$  signaling in the murine pathological response to sustained pressure overload. *The Journal of clinical investigation*, *121*(6), 2301–2312. <https://doi.org/10.1172/JCI44824>
106. Lucas, J. A., Zhang, Y., Li, P., Gong, K., Miller, A. P., Hassan, E., Hage, F., Xing, D., Wells, B., Oparil, S., & Chen, Y. F. (2010). Inhibition of transforming growth factor-beta signaling induces left ventricular dilation and dysfunction in the pressure-overloaded heart. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, *298*(2), H424–H432. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00529.2009>

107. Srikantan, S., & Gorospe, M. (2012). HuR function in disease. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 17, 189–205. <https://doi.org/10.2741/3921>
108. Hall, J. A., Dominy, J. E., Lee, Y., & Puigserver, P. (2013). The sirtuin family's role in aging and age-associated pathologies. *The Journal of clinical investigation*, 123(3), 973–979. <https://doi.org/10.1172/JCI64094>

## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a mis abuelos, a mis padres, a Christian y al resto de mi familia todo el apoyo incondicional que me han dado.

También quisiera expresar mi agradecimiento a todas las personas que me han inspirado durante las prácticas este curso.

Por último, agradecer a Raquel su paciencia y dedicación durante la realización de este trabajo.