

Archivos de Cardiología de México

Volumen **72**
Volume

Suplemento **1**
Supplement

Enero-Marzo **2002**
January-March

Artículo:

El hipotiroidismo protege al miocardio del daño por isquemia-reperfusión

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

**Otras secciones de
este sitio:**

-  **Índice de este número**
-  **Más revistas**
-  **Búsqueda**

***Others sections in
this web site:***

-  ***Contents of this number***
-  ***More journals***
-  ***Search***



medigraphic.com

El hipotiroidismo protege al miocardio del daño por isquemia-reperfusión

Israel Bobadilla,* Martha Franco,** David Cruz,*** José Zamora,**** Sandra G. Robles,* Edmundo Chávez*

Resumen

En este trabajo se describen resultados experimentales que demuestran que en mitocondrias de ratas hipotiroideas el calcio no induce la permeabilidad inespecífica de la membrana interna mitocondrial. También se presentan resultados de experimentos que indican que el miocardio de las ratas hipotiroideas es resistente a sufrir el daño por la reperfusión, seguida de un periodo de 5 min de isquemia. Considerando que la hormona tiroidea induce la expresión de proteínas mitocondriales y la síntesis de cardiolipina, se concluye que la protección se debe a una disminución de la síntesis del poro inespecífico y al cambio en la composición lipídica de la bicapa interna mitocondrial.

Palabras clave: Hipotiroidismo. Reperfusión. Mitocondrias.

Key words: Hypothyroidism. Myocardium reperfusion. Mitochondria.

Summary

HYPOTHYROIDISM PROTECTS THE MYOCARDIUM AGAINST REPERFUSION INJURY

This work describes experimental results indicating that mitochondria from hypothyroid rats are resistant to suffer membrane permeability transition as induced by matrix calcium accumulation. It is also shown that hypothyroidism provides resistance to myocardial reperfusion injury, after a period of 5 min ischemia. It is concluded that the protection is due to a low expression of mitochondrial proteins, as well as to a lack in cardiolipin as constituent of the lipid bilayer of the inner mitochondrial membrane.

Introducción

Un cúmulo de evidencias ha demostrado que el daño por reperfusión puede ser mediado, en parte, por la acumulación masiva de Ca^{2+} en mitocondrias.¹ La acumulación intramitocondrial de este catión induce la apertura de un poro inespecífico transmembranal que lleva al desacoplamiento de la fosforilación oxidativa. El daño membranal depende de la concentración del transportador de ADP/ATP y de la concentración del fosfolípido cardiolipina en la membrana interna.² Se conoce que la hormona tiroidea aumenta la expresión de la adenín nucleótido translocasa (ANT) y estimula la actividad de la cardiolipina sintetasa mitocondrial.³ Debido a lo anterior, nos propusimos dos metas: 1) explorar la posibilidad de que las mitocondrias aisladas de ratas hipotiroideas fue-

ran resistentes al daño por calcio, y 2) conocer si las ratas hipotiroideas son resistentes al daño miocárdico por isquemia/reperfusión. Con respecto al primer objetivo encontramos que en mitocondrias de ratas eutiroideas, la adición de 50 μM de calcio a mitocondrias incubadas con succinato como sustrato produce la apertura del poro inespecífico y la salida del calcio acumulado en la matriz. Sin embargo, el calcio no promueve la apertura del poro en mitocondrias hipotiroideas. Con relación al segundo objetivo encontramos que en ratas hipotiroideas el miocardio se vuelve resistente al daño por reperfusión.

Material y métodos

Las mitocondrias fueron preparadas a partir de ratas eu-hiper- hipotiroideas por homogeneización

* Departamento de Bioquímica,

** Departamento de Nefrología,

*** Departamento de Patología,

**** Departamento de Endocrinología.

Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" (INCICH, Juan Badiano No. 1, Col. Sección XVI, Tlalpan, 14080 México, D. F.).

del tejido en sacarosa 0.25 M, siguiendo los procedimientos estándares de centrifugación diferencial. El hipotiroidismo fue inducido en ratas que

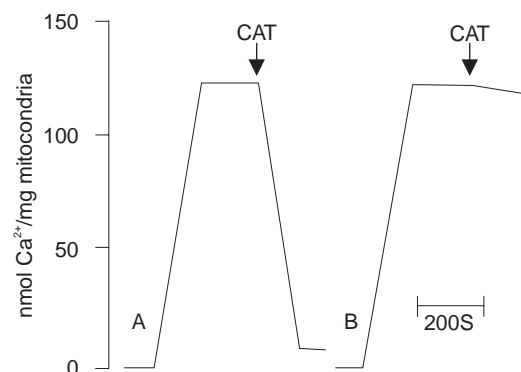


Fig. 1. Protección por hipotiroidismo del daño sobre la membrana interna mitocondrial inducido por el carboxiatractilósido (CAT), inhibidor del transporte de ADP/ATP. Las condiciones experimentales se describen en Material y métodos. En la Fig. 1A se muestran las mitocondrias controles (Mit Control) y en la Fig. 1B las mitocondrias obtenidas de ratas hipotiroides (Mit Hipo).

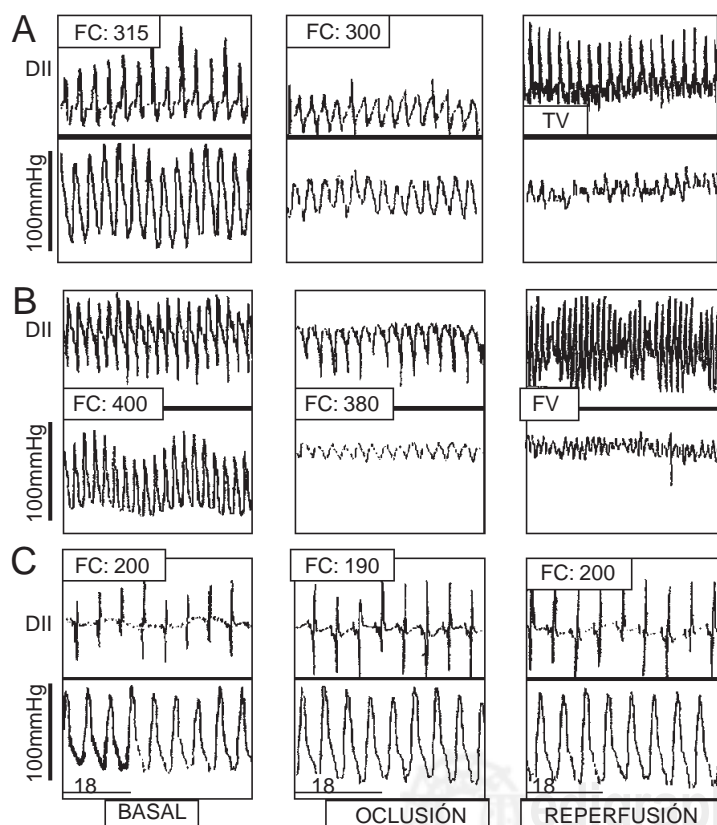


Fig. 2. Trazos electrocardiográficos y de presión sanguínea obtenidos de ratas eutiroides (A), hipertiroideas (B) e hipotiroideas (C). Los trazos representan resultados de uno de 20 experimentos distintos.

pesaron entre 250 y 300 g, por remoción bajo anestesia de la glándula tiroides como se describió anteriormente.⁴ La efectividad del procedimiento fue demostrada determinando los niveles de T_3 , por radioinmunoensayo, los valores séricos de triiodotironina disminuyeron de 0.94 ± 0.12 a 0.061 ± 0.010 $\mu\text{g/dL}$. El hipertiroidismo se estableció inyectando T_3 a las ratas i.p. 2 mg/kg diariamente por 4 días. Los valores séricos de T_3 alcanzados fueron de 5.24 ± 2.4 $\mu\text{g/dL}$. La captación y liberación del calcio mitocondrial se siguió en un espectrofotómetro de doble haz a 675-685 nm, utilizando el indicador Arsenazo III. 2 mg de proteína mitocondrial se incubaron en un medio que contenía 125 mM de KCl, 10 mM succinato, 10 mM HEPES, 2 mM fosfato, 50 μM CaCl_2 , 200 μM de ADP, y 5 μg rotenona. La apertura del poro inespecífico se efectuó añadiendo carboxiatractilósido. El daño cardíaco fue inducido como sigue: las ratas fueron anestesiadas con pentotal sódico (55 mg/kg, i.p.) y la respiración fue asistida mediante traqueotomía. Un electrodo de superficie fue utilizado para monitorear la actividad eléctrica del miocardio; las variaciones en la tensión arterial fueron seguidas con un transductor de presión colocado en la femoral. Después de abrir el tórax se pasa un hilo de 6-0 por debajo de la arteria coronaria izquierda, esta se ocluye pasando un tubo de plástico sobre la arteria y anudando firmemente el hilo. Después de un periodo de isquemia de 5 min, se corta el hilo para dejar fluir la sangre provocando la reperfusión. Al final del experimento se tomaron muestras de sangre para la determinación de las enzimas creatina cinasa (CK) y aspartato amino transferasa (ASAT). La prueba *t* de Student para muestras apareadas fue usada para comparar los niveles de enzimas séricas. Los valores se expresan como promedios \pm la media del error estándar.

Resultados

La transición de un estado de permeabilidad específica a otro de permeabilidad inespecífica requiere de la transformación de la adenín nucleótido translocasa en un poro inespecífico. Los factores necesarios son la acumulación de Ca^{2+} y el inhibidor específico de esta proteína, el carboxiatractilósido. La Figura 1A muestra que las mitocondrias de ratas eutiroides captan el calcio de manera rápida y que la adición de 0.016 μM de carboxiatractilósido, induce la apertura del poro y la salida inmediata del catión divalente. De manera interesante, la Figura 1B muestra

que la adición del carboxiatractilósido a mitocondrias aisladas de ratas hipotiroideas no induce la salida de Ca^{2+} .

En estudios previos demostramos que cuando las mitocondrias son insensibles al daño por la acumulación de Ca^{2+} , invariablemente hay resistencia al daño por perfusión.⁵ Tomando en cuenta lo anterior, decidimos estudiar si el hipotiroidismo inducía protección al daño por perfusión miocárdica. La *Figura 2* muestra los trazos electrocardiográficos de ratas eutiroides, hipertiroideas e hipotiroideas. En el panel A se muestra el perfil eléctrico de corazones de ratas control. Como se observa durante el periodo de oclusión de la arteria coronaria, el corazón mostró un ritmo sinusal. Sin embargo, inmediatamente después de la remoción de la oclusión, las arritmias por perfusión se hicieron evidentes. Estas continuaron hasta el final del experimento. El panel B muestra el electrocardiograma de ratas hipertiroideas. Se observa claramente que durante el periodo de isquemia hubo un aumento en la frecuencia cardíaca, comparada con los corazones controles. Cuando el flujo sanguíneo fue restablecido, la incidencia de taquicardias ventriculares fue mayor, también comparada con las encontradas en ratas eutiroides. En el panel C se muestra que el hipotiroidismo protege del daño inducido por perfusión. Como se observa, los latidos anormales estuvieron ausentes y el corazón permaneció en ritmo sinusal durante todo el experimento. Debe hacerse notar que la presión sanguínea en las ratas eutiroides e hipertiroideas fue muy disminuida por la perfusión; sin embargo, de manera notable, este parámetro permaneció casi inalterable en las ratas hipotiroideas.

El análisis de los niveles séricos de CK y ASAT son usados frecuentemente para evaluar el daño miocárdico tisular. Los resultados encontrados mostraron que la CK aumentó en el suero de las ratas eutiroides e hipertiroideas de 54.75 ± 29.85 UI/L a 338.98 ± 122.75 UI/L. En contraste los valores de CK en las ratas hipotiroideas permanecieron casi sin cambio, i.e., de 54.75 ± 29.85 a 68.2 ± 49.22 UI/L. Con respecto a los niveles séricos de ASAT se encontró que los valores aumentaron de 9.94 ± 1.78 UI/L a

15.30 ± 8.40 y 29.2 ± 11.03 UI/L en las ratas eutiroides e hipertiroideas respectivamente.

Discusión

El exceso de hormona tiroidea causa una cardiopatía que se manifiesta frecuentemente como extrasístoles auriculares y ventriculares, fibrilación auricular y anormalidades ventriculares en la repolarización. A su vez el hipotiroidismo promueve la prolongación del tiempo de relajación isovolumétrica y aumento de la onda A.⁶ En este trabajo demostramos que el hipertiroidismo sensibiliza al corazón de ratas al daño por perfusión, caracterizado por severas arritmias y lesión tisular. De manera importante es demostrado que el hipotiroidismo protege del daño por perfusión.

Se reconoce que la transición de la permeabilidad mitocondrial subyace en la patogénesis del daño miocárdico por perfusión. La permeabilidad inespecífica es inducida por el carboxiatractilósido. El mecanismo por el cual este reactivo induce el daño membranar es a través de su unión a la proteína adenín nucleótido translocasa. La función de esta proteína es la de transportar ADP hacia la matriz mitocondrial, en recambio por el ATP sintetizado por la enzima F_1 . La unión del carboxiatractilósido sitúa a la translocasa del lado citosólico, esta conformación transforma a la proteína en un poro inespecífico. En trabajos anteriores demostramos que al evitar la transición de la permeabilidad mitocondrial se protege al miocardio del daño por perfusión.⁷ En el hipotiroidismo la membrana interna mitocondrial contiene una baja concentración de cardiolipina, este fosfolípido se requiere para la actividad normal de la translocasa de ADP/ATP. Por lo tanto una disminución en la cantidad de este fosfolípido, puede restringir la formación del poro inespecífico preservando la integridad de la mitocondria.

Conclusiones

Consideramos que los datos obtenidos por este estudio podrían ser de utilidad para evaluar a aquellos pacientes candidatos a ser sujetos a perfusión, tomando en cuenta que el hipotiroidismo podría conferirles menos riesgo que el hipertiroidismo.

Referencias

1. CROMPTON M: *The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death*. Biochem J 1999; 34: 233-249.
2. PARADIES G, RUGGIERO FM, PETROSILLO G, QUAGLIARIELLO E: *Stimulation of carnitine acylcarnitine translocase activity in heart mitochondria*

- from hyperthyroid rats. FEBS Lett* 1996; 237: 260-262.
3. CHÁVEZ E, FRANCO M, REYES-VIVAS H, ZAZUETA C, RAMÍREZ J, CARRILLO R: *Hypothyroidism renders liver mitochondria resistant to the opening of membrane permeability transition pore. Biochim Biophys Acta* 1998; 1407: 243-248.
 4. BOBADILLA I, FRANCO M, CRUZ D, ZAMORA J, ROBLES SG, CHÁVEZ E: *Hypothyroidism provides resistance to reperfusion injury following myocardium ischemia. Int J Biochem Cell Biol* 2001; 33: 499-506.
 5. CHÁVEZ E, TÉLLEZ F, PICHARDO J, MILAN R, CUELLAR A, CARBAJAL K, CRUZ D: *On the protection by ketorolac of reperfusion-induced heart damage. Comp Biochem Physiol* 1996; 115: 95-100.
 6. GONBERG M, FRISHMAN WH: *Thyroid hormone and cardiovascular disease. Am Heart J* 1998; 135: 187-196.
 7. TÉLLEZ F, CARBAJAL K, CARABEZ A, CHÁVEZ E: *Effect of perezone on arrhythmias and markers of cell injury during reperfusion in the anesthetized rat. Life Sci* 1999; 65: 1615-1623.

