



# Endoglina, un componente del complejo de receptores de TGF- $\beta$ , es un regulador de la estructura y función vascular

M. Jerkic, J. V. Rivas, R. Carrón, M.<sup>a</sup> A. Sevilla, A. Rodríguez-Barbero, C. Bernabéu\*, F. Pérez-Barriocanal y J. M. López Novoa

Instituto Reina Sofía de Investigación Nefrológica. Departamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca. \*Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC. Madrid.

El sistema de receptores del TGF- $\beta$  está compuesto por los receptores para TGF- $\beta$  tipos I y II, receptores del tipo serina/treonina cinasas, involucrados en la transducción de la señal por vía de las smads, y los denominados receptores tipo III, betaglicano y la endoglina, como receptores no señalizantes y cuya función no se conoce bien. La endoglina es una glicoproteína de membrana que se une a las isoformas I y III de TGF- $\beta$  y es capaz de formar complejos con los receptores de tipo I y II. Esto indica que la endoglina puede actuar como un modulador de las interacciones del TGF- $\beta$  con sus receptores señalizantes. La endoglina se expresa constitutivamente en las células endoteliales de capilares, venas y arterias, así como en el músculo liso vascular. La endoglina tiene un papel crítico en la angiogénesis fetal y en la formación del corazón, de forma que los ratones knock-out para endoglina mueren durante la etapa fetal. La insuficiente expresión de endoglina por una mutación de su gen es la responsable de una patología vascular de tipo genético, la telangiectasia hemorrágica hereditaria tipo 1. Además, se ha detectado un aumento de la expresión de endoglina en las lesiones fibróticas y arterioescleróticas. Sin embargo, no se sabe nada sobre el posible papel de la endoglina en el control del tono vascular y la presión arterial. Nuestro objetivo ha sido analizar la repercusión de la haploinsuficiencia de endoglina en la función del sistema cardiovascular y en la angiogénesis. Para ello hemos utilizado un modelo de ratón con una delección en uno de los alelos del gen de la endoglina (*eng*<sup>+/-</sup>), que impide su expresión, por lo que hay una disminución de la cantidad de endoglina presente en las membranas plasmáticas de sus células. En un primer grupo de experimentos medimos la presión arterial en ratones haploinsuficientes para endoglina (*eng*<sup>+/-</sup>) y en sus hermanos de camada normales (*eng*<sup>+/+</sup>) y estudiamos la respuesta vasodilatadora dependiente de óxido nítrico (NO) y el efecto de la inhibición de la síntesis de NO con L-NAME. En-

contramos que no había diferencias significativas en la presión arterial basal entre los animales *eng*<sup>+/+</sup> y *eng*<sup>+/-</sup>. Sin embargo, la respuesta vasodilatadora a acetilcolina estaba marcadamente disminuida en los animales *eng*<sup>+/-</sup> con respecto a los *eng*<sup>+/+</sup>. Esto no se debía a una disminución en la actividad guanilato ciclasa, ya que el efecto hipotensor de la infusión de un donador de NO, nitroprusiato, fue similar en ambos tipos de animales. Cuando el animal se trataba previamente con L-NAME, no había diferencia entre la hipotensión inducida por acetilcolina entre ratones *eng*<sup>+/-</sup> y *eng*<sup>+/+</sup>, lo cual quiere decir que esta relajación depende de NO en los animales normales pero menos en los *eng*<sup>+/-</sup>. Además la infusión de L-NAME indujo un marcado aumento de la presión arterial en los animales *eng*<sup>+/+</sup>, pero prácticamente ningún aumento en los *eng*<sup>+/-</sup>. Sin embargo, la capacidad contractil de las arterias estaba mantenida, ya que la respuesta presora a angiotensina II fue similar en ambos tipos de ratones.

En un segundo grupo de experimentos estudiamos la reactividad vascular en anillos de aorta. Observamos que los anillos de ratones *eng*<sup>+/-</sup> tenían una menor contractilidad que los de ratones *eng*<sup>+/+</sup> tanto con fenilefrina (1  $\mu$ M) como con KCl (40 mM). Cuando se estudió la relajación inducida por acetilcolina en anillos de aortas previamente contraídos con fenilefrina, la relajación de la aorta fue menor en los anillos de ratones *eng*<sup>+/-</sup> que en los *eng*<sup>+/+</sup>, mientras que no hubo diferencias significativas en la relajación inducida por nitroprusiato sódico, un donador de NO.

En otro grupo de experimentos, valoramos la reactividad vascular en las arterias de resistencia mediante la perfusión de las patas del ratón. La perfusión con acetilcolina indujo una disminución en las resistencias vasculares que fue menor en los animales *eng*<sup>+/-</sup> que en los *eng*<sup>+/+</sup>. Cuando el animal se trataba previamente con L-NAME, no había diferencia entre la relajación inducida por acetilcolina entre

ratones *eng+/-* y *eng+/+*, lo cual quiere decir que esta relajación depende de NO en los animales normales pero menos en los *eng+/-*. La perfusión con L-NAME indujo un aumento de las resistencias vasculares mayor en los animales *eng+/+* que en los *eng+/-*.

Asimismo medimos la concentración de nitritos, un metabolito estable del óxido nítrico, en plasma y en orina de ambos grupos de animales, y encontramos que la concentración de nitritos en plasma y en orina era claramente inferior en los ratones *eng+/-* que en sus hermanos *eng+/+*. También estudiamos

la expresión de la sintasa de óxido nítrico de tipo endotelial (eNOS), tanto por Northern blot como por Western blot. Encontramos que la expresión de eNOS era menor en el riñón, los pulmones y las arterias de los animales *eng+/-* que en los *eng+/+*.

Nuestros resultados claramente demuestran una interacción entre el déficit de un solo gen, endoglina y la disminución de la expresión y actividad funcional de la eNOS. Esta interacción puede jugar un papel en la regulación a largo plazo del tono vascular y de la presión arterial o de la perfusión de diversos órganos.