

Entender las anomalías en la especificación y el remodelado vascular

La clasificación, el diagnóstico y el tratamiento correctos de las lesiones vasculares en los niños pueden verse dificultados por una amplia gama de presentaciones clínicas y la evolución clínica diversa de estas lesiones. En este número de *PEDIATRICS*, Marler et al¹ describen nuevos hallazgos referidos a que se puede detectar el aumento de las cifras de proteínas relacionadas con la angiogénesis, concretamente, el aumento de metaloproteinasas de la matriz (MMP) de elevado peso molecular y de factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), en la orina de niños con anomalías vasculares y puede indicar la progresión clínica de estas lesiones. Estos hallazgos sugieren que se puede desarrollar una prueba no invasiva para caracterizar malformaciones y tumores vasculares agresivos, y además proporcionan más evidencia de que los agentes antiangiogénicos pueden ser útiles para el tratamiento de estas lesiones.

Para plantear racionalmente el diagnóstico y el tratamiento de las lesiones vasculares congénitas, se precisa entender los mecanismos básicos celulares, moleculares y genéticos de la formación de vasos sanguíneos. Avances recientes en el campo de la biología vascular han contribuido a nuestro conocimiento acerca de cómo se ensamblan los vasos sanguíneos durante el desarrollo embrionario temprano. La morfogénesis de los vasos sanguíneos supone etapas separadas en una continuidad que están reguladas por vías de señalización específicas que incluyen efectores solubles, citocinas y sus receptores, proteasas y componentes de la matriz extracelular (ECM). Estas vías diversas controlan sucesos integrales que contribuyen a la formación de una vasculatura funcional que incluye la diferenciación de las células endoteliales y murales (pericit/célula muscular lisa), la proliferación y la migración celular, y la especificidad del destino arterial, venoso y linfático. La disregulación de estos procesos puede dar lugar a malformaciones vasculares que afectan a uno o varios tipos vasculares, incluyendo canales capilares, arteriales, venosos, linfáticos o arteriovenosos.

FORMACIÓN DE LOS VASOS SANGUÍNEOS

Durante el desarrollo embrionario, los vasos sanguíneos se forman *de novo* a partir de progenitores endoteliales por el proceso de vasculogénesis². Este proceso se ha estudiado muy ampliamente en saco vitelino de ratón, en el que los progenitores endoteliales se especifican en el mesodermo y son inducidos a formar un plexo capilar inicial por efectores derivados del endodermo visceral adyacente, incluyendo el factor de crecimiento

endotelial vascular (VEGF), erizo indio (Ihh) y bFGF. La especificidad del plexo capilar temprano en su destino arterial o venoso tiene lugar mientras el plexo se remodela para formar una red circulatoria de vasos ramificados. Estudios recientes revisados por Torres-Vázquez et al³ aportan pruebas de que existen diferencias moleculares entre las células endoteliales arteriales y venosas antes del ensamblaje de los vasos sanguíneos y del inicio del flujo sanguíneo. La especificidad arterial precoz está regulada por vías moleculares complejas que incluyen VEGF, miembros de la vía de señalización Notch y neuropilina-1 (receptor específico VEGF₁₆₄). La especificidad del destino venoso supone otras vías de señalización distintas que incluyen neuropilina-2 y Tie2. Más adelante, la demarcación de los límites arteriovenosos se establece a través de la vía de señalización EphrinB/EphB, en la que EphrinB2 se expresa de forma diferente por las células endoteliales arteriales y su receptor EphB4 se expresa en el endotelio venoso. Aunque la célula endotelial muestra una especificidad temprana a un destino arterial o venoso, puede mostrar plasticidad y el modelado posterior de arterias y venas está controlado por otros factores como el flujo sanguíneo. En un estudio reciente empleando saco vitelino de pollo como modelo experimental para valorar la diferenciación arteriovenosa, la disruptión intencionada del flujo sanguíneo en un lado del saco vitelino dio lugar a la venularización de los vasos de este lado, lo que sugiere que el flujo es un factor de control principal del modelado arterial⁴. Además, este estudio demostró que la aplicación exógena de EphrinB2 y EphB4 *in vivo* a la alantoides, en una etapa posterior más madura del desarrollo vascular del saco vitelino, indujo la formación de conexiones arteriales-venosas. Estos resultados sugieren que estas proteínas pueden desempeñar un papel en el estrés de corte, dando lugar a la inducción de conexiones vasculares que se forman como una adaptación a las aberraciones en el estrés de corte⁵.

RECLUTAMIENTO DE LA PARED VASCULAR

La estabilización y la supervivencia de los tubos endoteliales tienen lugar con el reclutamiento de células murales. Esta etapa también incluye múltiples vías de señalización como el factor de crecimiento B derivado de las plaquetas (PDGF-B) y su receptor PDGFR-beta, angiopoietina 1 (Ang 1) y su receptor Tie2, y el factor de crecimiento de transformación beta-1 (TGF- β -1). Las células endoteliales en proliferación secretan PDGF-B que después interactúan con su receptor PDGFR-beta en

la superficie de los precursores de las células murales y actúan como quimiotáctico y mitógeno de estas células⁶. Ang 1 es secretada por las células murales y a través de sus interacciones con su receptor Tie2 en las células endoteliales, estabiliza los vasos al reclutar células murales a la pared vascular y al mediar en las interacciones entre células murales y células endoteliales⁷. La importancia de la activación controlada de Tie2 se demuestra por una mutación que da lugar a aumento de la activación del receptor, lo que ocasiona una malformación venosa caracterizada por canales venosos dilatados y reclutamiento variable de células musculares lisas⁸. Con el contacto con las células endoteliales, los progenitores de células mesenquimatosas recientemente reclutados son inducidos a un destino mural en un proceso mediado por la activación de TGF- β ^{16,9}. La diferenciación celular mural mediada por TGF-beta también requiere una comunicación heterocelular entre células endoteliales y células murales a través de los canales de unión del espacio vacío¹⁰.

En los seres humanos, la señalización TGF-beta parece desempeñar un papel importante en el desarrollo arteriovenoso. Se ha encontrado que las mutaciones en uno o 2 genes diferentes en la familia del receptor TGF- β de proteínas, endoglinina o receptor similar a la activina cinasa-1 (ALK1), causan la enfermedad autosómica dominante llamada telangiectasia hemorrágica hereditaria (HHT)¹¹. Esta enfermedad se caracteriza por malformaciones arteriovenosas, telangiectasias, y hemorragia mucosa y gastrointestinal. Aunque no se conocen completamente los mecanismos de las anomalías vasculares presentes en la HHT, se conocen los papeles de TGF- β ¹², endoglinina y ALK1 en el control de la proliferación y la migración celular, además de en la promoción de la diferenciación celular mural para formar una pared vascular intacta.

REMODELADO VASCULAR

El remodelado del plexo capilar primario en una red circulatoria extensa de vasos ramificados supone una regulación estricta de la degradación de la ECM por las proteasas, además de la proliferación y la migración celular endotelial y mural. La degradación de la membrana basal de los vasos sanguíneos y de la ECM por las proteasas (activador del plasminógeno urocinasa y metaloproteinasas de la matriz como MMP2, MMP3, MMP9), compensada por inhibidores de las proteasas como el inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) e inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMP), favorece una migración celular endotelial y mural dirigida. La ECM también almacena factores de crecimiento proangiogénicos, como VEGF y bFGF, liberados por las proteasas de sus lugares en la ECM y favorecen la proliferación celular endotelial.

Se requiere un equilibrio estricto entre la degradación y el depósito de la ECM para la homeostasis celular endotelial. Múltiples estudios, *in vivo* e *in vitro*, han demostrado que una actividad de las MMP elevada favorece la invasión tumoral, las metástasis y la formación de nuevos vasos. Por el contrario, se ha demostrado que la inhibición de la actividad de las MMP tiene efectos antiangiogénicos a través de la inhibición de la degradación proteolítica de la ECM y procesos celulares especí-

icos como la proliferación y la migración celular endotelial^{13,14}. Por lo tanto, la modulación de la actividad de las MMP es crítica para el remodelado y la maduración vascular normal.

Datos recientes de estudios en ratones han aclarado posteriormente el papel de las MMP y sus inhibidores en la formación de los vasos sanguíneos durante el desarrollo. Ratones mutantes con mutaciones inactivadoras de cada MMP como MMP2, MMP9 y MT1-MMP muestran un desarrollo embrionario normal y no tienen defectos vasculares evidentes, lo que sugiere que las MMP pueden tener papeles redundantes durante el desarrollo embrionario precoz. Sin embargo, los ratones a los que les falta tanto MMP2 como MT1-MMP mueren inmediatamente después de nacer debido a fallo respiratorio y anomalías de los vasos sanguíneos¹⁵. Los capilares de la corteza cerebral, el diafragma y el músculo esquelético de los ratones deficitarios en MMP2/MT1-MMP muestran luces estrechas en comparación con los capilares normales y están recubiertos por células endoteliales redondeadas anormalmente grandes que son morfológicamente diferentes del epitelio aplanado de los capilares normales. Estos hallazgos demuestran que MMP2 y MT1-MMP tienen un papel en la formación posnatal de los vasos sanguíneos y sugieren que la falta de estas proteasas concretas puede causar un estrechamiento de la luz secundario a la acumulación de ECM disgregada.

La importancia de la inhibición de las MMP y la regulación pericelular de la actividad de las MMP durante el desarrollo vascular se demuestra por los defectos del desarrollo que se observan en ratones mutantes a los que les falta el inhibidor de las MMP llamado RECK¹⁶. Al contrario que otros inhibidores de las MMP, como TIMP-1 y TIMP-2, RECK contiene un dominio transmembrana de anclaje de glucofosfatidil inositol (GPI) que se fija a la membrana celular. La localización de la membrana concentra RECK en la membrana plasmática, lo que permite la regulación pericelular local de la proteolisis de la ECM. RECK inhibe 3 miembros de la familia de las MMP: MMP2, MMP9 y MT1-MMP. Al contrario que los embriones con deficiencia en TIMP-1 y TIMP-2, que se desarrollan normalmente, los embriones que carecen de RECK mueren a los 10,5 días de vida embrionaria, una etapa en la que normalmente se produce el remodelado y la maduración de los vasos. La vasculatura que se observa en el embrión y en el saco vitelino se parecen a un plexo capilar primario al que le falta una red circulatoria jerárquica de vasos ramificados. Estos hallazgos sugieren que la vasculogénesis se puede producir en ausencia de RECK; sin embargo, el remodelado y la estabilización posteriores de los vasos sanguíneos requieren la inhibición de la actividad proteolítica de las MMP. En estos embriones mutantes, se reclutaron células musculares lisas diferenciadas, que expresan RECK, para las estructuras vasculares, lo que sugiere que la deficiencia de RECK no tiene ningún efecto sobre la migración y la diferenciación de las células murales. Se sospechó que la desestabilización de los vasos sanguíneos era debida a una degradación excesiva de los componentes de la ECM, como el colágeno I. Globalmente, estos estudios demuestran que la regulación de la actividad proteolítica de las MMP es crítica para la maduración y el modelado vasculares.

RESUMEN

En su estudio, Marler et al¹ proporcionan la primera prueba de que los tumores y las malformaciones vasculares pueden ser dependientes de la angiogénesis. El hallazgo de cifras elevadas de MMP en la orina de pacientes con lesiones vasculares sugiere una dis regulación de la actividad de las MMP que da lugar a una mayor degradación de la ECM, falta de control proliferativo y migración de la célula endotelial, y desestabilización de las estructuras vasculares sanguíneas nacientes. La alteración del flujo en los vasos inestables podría causar la falta de una diferenciación arteriovenosa adecuada. El aumento de la degradación de la ECM también produce una pérdida de la homeostasis de la célula endotelial y puede explicar los defectos observados en los tumores vasculares que muestran una proliferación celular endotelial no controlada. En suma, estos hallazgos proporcionan argumentos para el posible uso de inhibidores de las MMP en el tratamiento de las anomalías vasculares congénitas.

JOSEPHINE M. ENCISO, MD Y KAREN K. HIRSCHI, PhD
Departments of Pediatrics (J.M.E. and K.K.H.) and Molecular and Cellular Biology (K.K.H), Texas Children's Hospital, Baylor College of Medicine, Houston, Texas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marler JJ, Fishman SJ, Kilroy SM, et al. Increased expression of urinary matrix metalloproteinases parallels the extent and activity of vascular anomalies. *Pediatrics*. 2005; 116:38-45.
2. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. 1997;386: 671-4.
3. Torres-Vázquez J, Kamei M, Weinstein BM. Molecular distinction between arteries and veins. *Cell Tissue Res*. 2003;314:43-59.
4. Le Noble F, Moyon D, Pardanaud L, et al. Flow regulates arterial-venous differentiation in the chick embryo yolk sac. *Development*. 2004;131:361-75.
5. Hacking WJ, VanBavel E, Spaan JA. Shear stress is not sufficient to control growth of vascular networks: a model study. *Am J Physiol*. 1996;270:H364-75.
6. Hirschi KK, Rohovsky SA, D'Amore PA. PDGF, TGF- β , and heterotypic cell-cell interactions mediate the recruitment and differentiation of 10T2/3 cells to a smooth muscle cell fate [published correction appears in *J Cell Biol*. 1998;141:1287]. *J Cell Biol*. 1998;141:805-14.
7. Suri C, Jones PF, Patan S, et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the Tie2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell*. 1996;87:1171-80.
8. Viikula M, Boon LM, Caraway KL 3rd, et al. Vascular dysmorphogenesis caused by an activating mutation in the receptor tyrosine kinase TIE2. *Cell*. 1996;87:1181-90.
9. Hungerford JE, Owens GK, Argraves WS, et al. Development of the aortic vessel wall as defined by vascular smooth muscle and extracellular matrix markers. *Dev Biol*. 1996;178:375-92.
10. Hirschi KK, Burt JM, Hirschi KD, et al. Gap junction communication mediates transforming growth factor-beta activation and endothelial-induced mural cell differentiation. *Circ Res*. 2003;93:429-37.
11. van den Driesche S, Mummery CL, Westermann CJ. Hereditary hemorrhagic telangiectasia: an update on transforming growth factor β signaling in vasculogenesis and angiogenesis. *Cardiovasc Res*. 2003;58:20-31.
12. Bohnsack BL, Lai L, Dolle P, et al. Signaling hierarchy downstream of retinoic acid that independently regulates vascular remodeling and endothelial cell proliferation. *Genes Dev*. 2004;18:1345-58.
13. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001;17: 463-516.
14. Moses MA, Sudhalter J, Langer R. Identification of an inhibitor of neovascularization from cartilage. *Science*. 1990; 248:1408-10.
15. Oh J, Takahashi R, Adachi E, et al. Mutations in two matrix metalloproteinase genes, MMP-2 and MT1-MMP, are synthetic lethal in mice. *Oncogene*. 2004;23:5041-8.
16. Oh J, Takahashi R, Kondo S, et al. The membrane-anchored MMP inhibitor RECK is a key regulator of extracellular matrix integrity and angiogenesis. *Cell*. 2001;107:789-800.