



**Fundació**  
La Marató de TV3  
21º SIMPOSIUM  
Enfermedades del corazón



# **ESTUDIO Y MANIPULACIÓN DEL PROGRAMA EMBRIONARIO DEL EPICARDIO, UN NUEVO ENFOQUE PARA LA REPARACIÓN DEL CORAZÓN**

**Ofèlia Maria Martínez Estrada**

Facultat de Biologia – Universitat de Barcelona

## 1. Resumen

La insuficiencia cardíaca constituye una de las principales causas de muerte en el mundo, con insuficientes opciones terapéuticas y una pobre prognosis. Los mecanismos moleculares que tienen lugar durante la formación del corazón embrionario son usualmente compatibles con los que participan durante su regeneración. Uno de los grandes retos de la medicina regenerativa consiste en la identificación de factores presentes durante el desarrollo del corazón embrionario, los cuales podrían ejercer efectos beneficiosos durante su reparación en el adulto. El epicardio desempeña un papel fundamental en el desarrollo del corazón y durante su reparación tras infarto de miocardio. Dado el enorme interés que existe en este tema, en nuestro grupo realizamos un estudio transcriptómico en el que comparamos el perfil de expresión génica de células del epicardio aisladas en diferentes estadios del desarrollo embrionario. Este análisis incluyó la caracterización del epicardio embrionario precoz, la transición epitelio-mesénquima (EMT) y la maduración del epicardio. Con el fin de identificar el papel de Wt1 en esta firma también comparamos el perfil transcriptómico de células del epicardio aisladas a partir de ratones Wt1KO específicos de epicardio. Esta estrategia nos permitió identificar el patrón génico del epicardio embrionario, así como la función de Wt1 en el mismo. El análisis de este perfil nos permitió identificar nuevas vías de señalización involucradas en el desarrollo del epicardio, encontrándose algunas de ellas reguladas por Wt1. Durante la realización del presente proyecto estudiamos la importancia de dos de ellas: una involucrada en la maduración del epicardio y otra en la formación y expansión de las células derivadas del epicardio. Hipotetizamos que la modulación de estas vías podría utilizarse para identificar nuevos objetivos terapéuticos para la reparación del corazón tras infarto de miocardio.

## 2. Resultados

El epicardio desempeña un papel fundamental durante el desarrollo del corazón embrionario y en la reparación del mismo tras daño cardíaco. A pesar de ello, no existía una caracterización detallada del perfil transcriptómico de las células del epicardio durante las diferentes etapas de desarrollo del corazón. El estudio de dos nuevas vías de señalización, identificadas mediante el análisis del perfil transcriptómico

de células de epicardio aisladas en diferentes estadios del desarrollo y la comparación del análisis transcriptómico de células de epicardio de ratones controles y Wt1KO específicos de epicardio (epiWt1KO) constituyó uno de los principales objetivos de nuestro proyecto. Los datos obtenidos demuestran que la vía del Bmp4 está involucrada en el proceso de maduración del epicardio, caracterizado por un cambio en la morfología de dichas células de un fenotipo cuboidal a uno escamoso. El análisis transcriptómico y morfológico de células del epicardio de los ratones epiWt1KO demostró un defecto en el proceso de maduración del epicardio mutante, caracterizado por un aumento en la activación de la vía del Bmp4 y la incapacidad de las células Wt1KO para producir una transición hacia un fenotipo escamoso maduro. Identificamos Wt1 como un represor de Bmp4, proporcionando el mecanismo molecular que explicaría la retención de la forma cuboidal observada en el epicardio Wt1KO. En consecuencia, la inhibición de la vía del Bmp4, tanto *ex vivo* como *in vivo*, rescató el fenotipo cuboidal presente en los ratones epiWt1KO. Nuestros resultados demuestran la importancia de la transición cuboidal a escamosa que tiene lugar durante la maduración del epicardio, un proceso regulado por Wt1 y que constituye un aspecto de la biología del epicardio no identificado hasta la fecha. También hemos demostrado que la modulación de la vía de Bmp4 es capaz de regular la expresión de genes que se expresan dinámicamente durante el desarrollo del epicardio, en especial los genes que se expresan abundantemente durante la etapa inicial. Nuestra hipótesis es que algunos de estos genes podrían estar involucrados en la modulación del fenotipo de epicardio inmaduro.

La otra vía en la que hemos estado trabajando es la vía Slit2/Robo y su papel en la formación de las células derivadas del epicardio. Hemos demostrado que los niveles de expresión de Slit2 aumentan durante la expansión de las células derivadas del epicardio embrionario. Además, también hemos demostrado que Slit2 es una diana transcripcional de Wt1. El aumento de la expresión de Slit2 durante la expansión de las células derivadas del epicardio y que su expresión se encuentre disminuida en el epicardio de los ratones epiWt1KO, en el que se manifiesta una disminución de las células derivadas del epicardio, nos hacían pensar en una posible función como inductor de la EMT del epicardio. Para nuestra sorpresa, el análisis del epicardio de ratones Robo1,2KO reveló una expansión de las células derivadas del epicardio, lo cual sugiere un efecto opuesto. Además de los resultados obtenidos *in vivo*, los experimentos realizados *in vitro* y *ex vivo* demostraron que Slit2 es capaz de inhibir la

proliferación y migración de las células del epicardio. Estos datos sugieren que esta disminución de la migración y la proliferación podría ser la causa de la expansión de las células derivadas del epicardio observada en los ratones *Robo1,2KO*. También hemos demostrado la presencia de un *loop* regulador negativo, en el que Slit2 inhibe la expresión de Wt1, pudiendo ser este el mecanismo molecular involucrado en la expansión. Como parte de este proyecto, también hemos demostrado una correlación de Wt1 con la proliferación del epicardio, tanto *in vitro* como *in vivo*. Todos estos hallazgos ofrecen, por tanto, un mecanismo molecular que explicaría la expansión de las células derivadas del epicardio observado en los ratones *Robo1,2KO*.

### **3. Relevancia y posibles implicaciones futuras**

Este ha sido un proyecto de investigación básica con posibles implicaciones clínicas. Un reto importante en la biología del epicardio consiste en la identificación de factores que se encuentren en el entorno local durante el desarrollo cardíaco embrionario que pueden ejercer sus efectos beneficiosos durante la reparación del corazón adulto. Durante el presente proyecto hemos estudiado el efecto de dos nuevas vías implicadas en la biología del epicardio: una en la maduración y otra en la formación y expansión de las células derivadas del epicardio. Curiosamente, ambas son vías de señalización moduladas por proteínas secretadas por las células del epicardio, convirtiéndose así en candidatas muy interesantes para ser manipuladas. Estudios realizados en organismos con capacidad de regenerarse han demostrado que dicha regeneración no se produce debido a la proliferación de un solo tipo celular, sino a la cooperación de diferentes tipos de células, junto con un aumento de la neovascularización y la regulación de la respuesta inflamatoria local. Hipotetizamos que las dos vías estudiadas en el presente proyecto podrían constituir candidatos interesantes a ser modulados, mejorando así la poca capacidad de regeneración del corazón humano.

#### **4. Bibliografía científica generada**

Veleceta, V., Torres-Cano, A., Garcia-Melero, A., Ramiro-Pareta, M., Muller-Sanchez, C., Segarra-Mondejar, M., Chau, Y.Y., Campos-Bonilla, B., Reina, M., Soriano, F.X., Hastie, N.D., Martinez, F.O., Martinez-Estrada, O.M.

*Epicardial cell shape and maturation are regulated by Wt1 via transcriptional control of Bmp4.*

Development. 2019. dev178723