



Fundació
La Marató de TV3

21è SIMPOSIUM
Malalties del cor



ESTUDI I MANIPULACIÓ DEL PROGRAMA EMBRIONARI DE L'EPICARDI, UN NOU ENFOC PER A LA REPARACIÓ DEL COR

Ofèlia Maria Martínez Estrada

Facultat de Biologia – Universitat de Barcelona

1. Resum

La insuficiència cardíaca és actualment una de les principals causes de mort al món, amb opcions terapèutiques insuficients i una pobra prognosi. Els mecanismes moleculars que tenen lloc durant la morfogènesi del cor són usualment similars a aquells que s'esdevenen durant la seva regeneració. Un dels grans reptes del sector consisteix en la identificació de factors que mimetitzin l'ambient local present durant el desenvolupament del cor amb la capacitat d'exercir els efectes beneficiosos durant la seva reparació. L'epicardi juga un paper fonamental durant el desenvolupament del cor i durant la seva reparació després d'un infart de miocardi. Tenint en compte l'enorme interès en aquest tema, es va fer un estudi transcriptòmic en el qual es van comparar els patrons d'expressió gènica de cèl·lules de l'epicardi aïllades en diversos estadis del desenvolupament embrionari. Aquesta anàlisi va incloure la caracterització de l'epicardi embrionari primerenc, la transició epiteli-mesènquima (EMT) que s'hi produeix i la maduració de l'epicardi. Per escatir el paper de Wt1 en aquesta signatura també es va estudiar el perfil transcriptòmic de cèl·lules de l'epicardi a partir de ratolins Wt1KO específics de l'epicardi. Aquesta estratègia ens va permetre identificar el patró d'expressió gènica de l'epicardi embrionari i la funció de Wt1 en aquest. Aquests patrons transcripcionals també proporcionen una descripció de noves vies implicades en el desenvolupament de l'epicardi i identifiquen la funció de Wt1 en aquests processos. Aquest projecte es va centrar a estudiar la importància de dues vies potencialment implicades en el desenvolupament de l'epicardi i que es troben regulades per Wt1, de les quals una està implicada en la maduració de l'epicardi i l'altra en la formació i expansió de les cèl·lules derivades de l'epicardi. Vam hipotetitzar que la modulació d'aquestes dues vies es podria utilitzar per identificar nous objectius terapèutics per a la reparació del cor després d'un infart de miocardi.

2. Resultats obtinguts

Malgrat la importància de l'epicardi en el desenvolupament del cor embrionari i també durant la seva reparació, fins ara no existia una caracterització detallada de l'epicardi durant les diferents etapes del desenvolupament cardíac. L'estudi de dues noves vies identificades per mitjà de l'anàlisi d'un perfil transcriptòmic de cèl·lules de l'epicardi en diferents etapes del desenvolupament, i de la comparació de cèl·lules de ratolins

Wt1KO específics de l'epicardi (epiWt1KO) va ser un dels objectius principals del nostre projecte. Els resultats obtinguts evidencien que la via de senyalització de Bmp4 està implicada en el procés de maduració de l'epicardi, que es caracteritza per un canvi morfològic d'aquestes cèl·lules epicardíiques d'un fenotip cuboidal a un d'esquamós. L'anàlisi del transcriptoma i la morfologia cel·lular de cèl·lules epicardíiques dels ratolins epiWt1KO va revelar un defecte en el procés de maduració de l'epicardi mutant, que inclou una regulació sostinguda de l'expressió de Bmp4 i la incapacitat de les cèl·lules epicardíiques mutants per fer la transició cap a un fenotip esquamós madur. Es va identificar Bmp4 com una diana transcripcional de Wt1, tot proporcionant una base molecular per al manteniment de la morfologia cuboidal en les cèl·lules de l'epicardi dels cors epiWt1KO. A més, per mitjà de la inhibició de la via de Bmp4 es va aconseguir rescatar el fenotip cuboidal dels cors epiWt1KO. Els nostres resultats indiquen la importància de la transició cuboidal a esquamosa en la maduració epicardíica, un procés regulat per Wt1 i un aspecte de la biologia epicardíica no identificat fins ara. També hem demostrat que la via de senyalització de Bmp4 és capaç de modular l'expressió dels gens expressats de manera diferencial durant el desenvolupament de l'epicardi, especialment els gens expressats en abundància durant l'etapa inicial del seu desenvolupament. Hipotetitzem que alguns d'aquests gens podrien estar implicats en la modulació del fenotip d'epicardi immadur.

També vam participar en la identificació del paper de la via de Slit2/Robo en el desenvolupament de l'epicardi. S'ha observat un augment de l'expressió d'Slit2 durant l'expansió de les cèl·lules derivades de l'epicardi. A més, també vam demostrar que Slit2 és una diana transcripcional de Wt1. L'augment de l'expressió d'Slit2 durant l'expansió de les cèl·lules derivades de l'epicardi, i el fet que la seva expressió estava regulada a l'epicardi de Wt1KO en què hi ha una EMT epicardíica defectuosa suggeria un paper potencial d'aquesta via en l'EMT epicardíica. Per a sorpresa nostra, l'anàlisi de l'epicardi de ratolins Robo1,2KO va revelar una expansió de les cèl·lules derivades de l'epicardi. Els nostres experiments *in vitro* i *ex vivo* van demostrar que Slit2 és capaç d'inhibir la proliferació i migració de les cèl·lules epicardíiques, fets que podrien explicar l'expansió de les cèl·lules derivades de l'epicardi observada als ratolins Robo1,2KO. Curiosament, també vam demostrar la presència d'un *loop* regulador negatiu en el qual Slit2 inhibeix l'expressió de Wt1. Com a part d'aquest projecte, també hem demostrat una correlació de Wt1 amb la proliferació de l'epicardi, tant *in vitro* com *in vivo*. Totes aquestes troballes ofereixen, per tant, un mecanisme

molecular que explicaria l'expansió de les cèl·lules derivades de l'epicardi observada a l'epicardi de Robo1,2KO.

3. Rellevància i possibles implicacions futures

Aquest ha estat un projecte de recerca bàsica amb possibles implicacions clíniques. Un repte important en la biologia de l'epicardi consisteix en la identificació de factors que imiten l'entorn local present durant el desenvolupament cardíac embrionari que poden exercir els seus efectes beneficiosos durant la reparació del cor. En aquest projecte hem estudiat l'efecte de dues noves vies implicades en la biologia de l'epicardi: una en la maduració i una altra en la formació i expansió de les cèl·lules derivades de l'epicardi. Curiosament, les dues són vies de senyalització modulades per proteïnes secretades per les cèl·lules de l'epicardi, cosa que les converteix en candidates molt interessants a ser manipulades. Estudis realitzats en organismes amb capacitat de regenerar-se han demostrat que aquesta regeneració no es produeix a causa de la proliferació d'un sol tipus cel·lular, sinó per la cooperació de diferents tipus de cèl·lules, com també per un augment de la neovascularització i la regulació de la resposta inflamatòria local. Hipotetitzem que la modulació d'aquestes dues vies estudiades en aquest projecte podrien esdevenir candidates interessants per millorar la poca capacitat de regeneració del cor humà.

4. Bibliografia científica generada

Velecela, 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