

## Objetivos



## 2 OBJETIVOS

El PDGF es un factor de crecimiento que activa la proliferación y migración de las células musculares lisas y que por consiguiente, tiene importancia fundamental en el desarrollo de la aterosclerosis. El PDGF presenta distintas isoformas que se diferencian según la presencia o ausencia de la secuencia codificada por el exón 6 en el extremo C-terminal que contiene residuos básicos que se caracterizan por su interacción con la heparina. En concreto, se caracterizaron tres aminoácidos: R<sup>111</sup>, K<sup>116</sup> y T<sup>125</sup> dentro del motivo R(X)<sup>4</sup>K(X)<sup>8</sup>T que son críticos en la unión de alta afinidad a la heparina (Lustig et al. 1999). Experimentos previos de SPR (*Surface Plasmon Resonance*) que analizan la interacción de las isoformas de PDGF con LMWH (*low molecular weight heparin*) indican que la afinidad de unión decrece en el siguiente orden: PDGF-AA<sub>L</sub> > PDGF-BB<sub>L</sub> > PDGF-AA<sub>S</sub>=PDGF-BB<sub>S</sub> (Lustig et al. 1999).

De esta manera, el objetivo central de este trabajo fue el de estudiar la unión de las distintas isoformas de PDGF a los GAGs producidos por las células musculares lisas y determinar la importancia esta interacción en los efectos celulares del PDGF. Nuestro modelo celular utilizado, el de las hASMC (*human arterial smooth muscle cells*), se puede diferenciar en distintos fenotipos según las condiciones de cultivo en presencia o ausencia de suero (Fager et al. 1988). El fenotipo desdiferenciado de las hASMC que prolifera en presencia de suero, es comparable al fenotipo de las células musculares lisas en las lesiones ateroscleróticas. Se han caracterizado las especies de GAGs presentes en la superficie y en los secretados en la matriz extracelular por estas células y se ha descrito una expresión diferencial de GAGs según el estadio fenotípico en el que se encuentran (Fager et al. 1995).

Por otro lado, se había descrito la expresión diferencial dependiente de fenotipo de PDGF-A y PDGF-B en las células que aparecen en las lesiones ateroscleróticas, entre ellas, las hASMC, las células endoteliales y los monocitos/macrófagos (Krettek et al. 1997b). La presencia de suero también modula la expresión de los receptores de PDGF en las hASMC (Krettek et al. 1997a). Los receptores de PDGF, generan unas vías de señalización que conducen a la activación de la proliferación y migración de las células musculares lisas. Estudios anteriores apuntaban a la importancia de la heparina y otros GAGs como los heparán sulfatos y los dermatán sulfatos en la inhibición de la mitogénesis de las hASMC a través de la unión e inactivación del PDGF (Fager et al. 1995).

En base a todos estos antecedentes y para abordar el objetivo principal de esta tesis doctoral, se desarrollaron los siguientes puntos de trabajo:

- Caracterizar la unión de las isoformas de PDGF a las distintas especies de GAGs de la superficie celular. Con este fin, utilizamos los clones de CHO que se diferencian en la expresión de diferentes especies de GAGs y también las hASMC.
- Estudiar el efecto de las distintas isoformas de PDGF en la inducción de la mitogénesis y la migración en las hASMC. Más concretamente, en este último punto evaluamos el efecto de las isoformas de PDGF en cuanto a la inducción de la migración al azar (quimiocinesis) y de la migración dirigida (quimiotaxis).
- Analizar la importancia de la interacción de las isoformas de PDGF con los GAGs en la actividad del PDGF (mitogénesis, migración) sobre las células musculares lisas. Para ello, utilizamos la heparina como competidor soluble de la interacción con los GAGs e inhibidores de la sulfatación y de la síntesis de los GAGs.