



## FORMACIÓN CONTINUADA

# *El TGF- $\beta$ : síntesis y mecanismo de acción*

**M. Prieto, J. V. Rivas, J. M. López Novoa y F. Pérez-Barriocanal**

Instituto Reina Sofía de Investigación Nefrológica. Departamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca.

En los últimos años, se han incrementado los estudios orientados al análisis de los mecanismos implicados en el desarrollo de la enfermedad renal progresiva. La mayoría de los estudios, en este campo, han profundizado en la patogénesis de la glomeruloesclerosis, una de las lesiones más características<sup>1-3</sup>, aunque también ha aumentado el interés por la fibrosis intersticial<sup>4</sup>. Independientemente de la naturaleza de la enfermedad renal, tanto la glomeruloesclerosis como la fibrosis intersticial se consideran la vía final común en el desarrollo de la lesión renal progresiva<sup>1-4</sup>.

Entre los mecanismos implicados en la lesión renal, se sabe que el factor de crecimiento transformante  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) tiene una gran importancia en la regulación de este proceso<sup>2,5,6</sup>. A nivel glomerular, la importancia del TGF- $\beta$ 1 en la génesis de la glomeruloesclerosis se ha puesto de manifiesto en los últimos años<sup>2</sup>. Desde la descripción inicial por Border y cols. (1990)<sup>7</sup> de la importancia de este factor de crecimiento en el desarrollo de la glomeruloesclerosis en un modelo experimental de lesión glomerular inmune, otros trabajos han documentado la relevancia del TGF- $\beta$ 1 en otros modelos de esclerosis glomerular progresiva<sup>8-11</sup>. Además, esta citoquina también parece tener un papel importante en la inducción y mantenimiento de la fibrosis intersticial<sup>8,12</sup>. La importancia del TGF- $\beta$ 1 en la nefroesclerosis es fácilmente entendible a la vista del papel bien definido de este péptido en la regulación de la proliferación celular<sup>6,13</sup>, así como en la síntesis y degradación de la matriz<sup>2,6,14-17</sup>. Los efectos biológicos del TGF- $\beta$ 1 han sido objeto de numerosas revisiones<sup>18-20</sup>. Por ello, en la presente nos vamos a centrar en su síntesis y en el mecanismo de acción celular.

La superfamilia del TGF- $\beta$  está formada por un gran grupo de polipéptidos extracelulares con ciertas características estructurales comunes, que participan en procesos de crecimiento, desarrollo, diferenciación y homeostasis a través de su interacción con receptores de la membrana celular<sup>21,22</sup>.

El TGF- $\beta$ 1, prototipo de la superfamilia, fue inicialmente identificado en el medio de cultivo de varias líneas celulares, tanto transformadas como no transformadas<sup>23,24</sup>. Más tarde se logró la purificación del TGF- $\beta$ 1 en plaquetas, donde se encuentra en grandes niveles<sup>25,26</sup>, y la subsiguiente clonación de su DNAC<sup>27</sup>. A partir de ese momento se fueron descubriendo los casi 40 miembros de la superfamilia que hasta el momento se conocen, los cuales se clasificaron en diferentes subfamilias por similitud entre ellos. Los diferentes miembros se han aislado en una gran diversidad de organismos, desde mamíferos hasta insectos, lo cual nos da una idea de la importancia que tienen en los procesos que están bajo su control, y de ahí que su señalización no se haya perdido a lo largo de la evolución.

Las moléculas que se engloban dentro de la superfamilia del TGF- $\beta$  son muy diferentes entre sí, y tienen un rango de actividades muy diversas, pero todas ellas tienen un punto en común: el mecanismo de señalización a través de receptores transmembrana serina-treonina kinasas<sup>28</sup>. La unión del ligando a estos receptores desencadena la cascada de información hacia el núcleo celular a través de unos sustratos de los receptores conocidos como proteínas Smad. Cuando esa información llega al núcleo se forman complejos que interaccionan con genes diana y producen cambios en la transcripción, lo cual desencadena proliferación, diferenciación, o cualquier otra de las actividades desempeñadas por los miembros de la superfamilia<sup>29,30</sup>.

La subfamilia del TGF- $\beta$  engloba las cinco isoformas conocidas. Las tres primeras, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, y TGF- $\beta$ 3, son altamente homólogas entre sí y se han encontrado en todos los mamíferos, mientras que el TGF- $\beta$ 4 se ha aislado en pollo<sup>31</sup> y el TGF- $\beta$ 5 en *Xenopus*.

**Correspondencia:** Dr. Fernando Pérez-Barriocanal  
Departamento de Fisiología y Farmacología  
Edificio Departamental  
Campus Miguel de Unamuno  
37007 Salamanca  
E-mail: fpbarrio@usal.es

Los TGF- $\beta$ s están implicados en procesos de desarrollo y diferenciación, inhiben el crecimiento de células epiteliales y endoteliales así como las funciones inmune y hematopoyética, promueven el crecimiento del tejido conectivo, favorecen la quimiotaxis de fibroblastos, macrófagos, linfocitos y estimulan la reparación de tejidos. También se los ha relacionado con procesos patológicos, como son la producción excesiva de matriz extracelular, que desencadena fibrosis tisular, y la síntesis de otros factores de crecimiento<sup>32</sup>.

Además de la del TGF- $\beta$ , se han descrito varias subfamilias dentro de la superfamilia, por similitud estructural y funcional entre los miembros de cada una.

La que más miembros agrupa es la familia de las proteínas morfogénicas del hueso (BMPs), en la que se incluyen las diferentes isoformas de BMP (BMP2, BMP5, BMP7) así como algunos factores de crecimiento y diferenciación como el factor de crecimiento y desarrollo 3 (GDF3)<sup>33</sup>. También pertenecen a este grupo algunos miembros solamente aislados en *Drosophila*, como son el *Drosophila* decapentaplegic (dpp), el cual es un homólogo de BMP2 y BMP4<sup>34</sup>, o el 60A, homólogo de BMP5<sup>35</sup>. Todos ellos tienen funciones específicas en la embriogénesis, estimulando el desarrollo de algunos órganos y huesos. Además, juegan un papel importante en el individuo adulto, ya que participan en el mantenimiento y reparación de huesos y tejidos.

Otra subfamilia la componen la proteína Nodal<sup>36</sup> y sus derivados, entre los que se encuentran la Dorsalina<sup>37</sup>, y algunos factores de crecimiento y diferenciación, como son GDF8 y GDF9. Estas moléculas complementan la función de las BMPs en la embriogénesis.

Las activinas (Activina- $\beta$ A y Activina- $\beta$ B) forman otra subfamilia de moléculas cuya función se centra en el desarrollo sexual, ya que activan la producción de la hormona folículo estimulante. Las activinas tienen efectos biológicos opuestos a las inhibinas en muchos sistemas<sup>38</sup>.

También se han aislado otros factores, que ni por estructura ni función se asemejan a ningún otro miembro conocido de la superfamilia, por lo que no se las incluye en ninguna subfamilia. Entre estas moléculas se encuentra la sustancia inhibidora muleriana (MIS)<sup>21</sup>, el factor neurotrópico derivado de las células gliales (GDNF)<sup>39</sup> y la inhibina  $\alpha$ <sup>21</sup>.

## SÍNTESIS DEL TGF- $\beta$ 1

La gran variedad de respuestas específicas a TGF- $\beta$  (crecimiento celular, desarrollo, diferenciación, fun-

ción, enfermedades patogénicas) son reguladas a numerosos niveles. En primer lugar se controla la producción de TGF- $\beta$  a nivel transcripcional, donde hay diversos mecanismos reguladores que gobiernan la expresión tanto de las diferentes isoformas del TGF- $\beta$  como de sus receptores. Por otra parte, existen mecanismos a nivel postranscripcional que controlan la disponibilidad del TGF- $\beta$  activo, el acceso a los receptores, la actividad de esos receptores, así como la función nuclear de los complejos transcripcionales que se generan por esta vía<sup>40,41</sup>.

Aunque hay una gran similitud estructural entre las diferentes isoformas de TGF- $\beta$  en mamíferos (isoformas 1, 2, 3) los genes que las codifican están localizados en tres cromosomas diferentes (cromosomas humanos 19q13, 14q1 y 14q24 respectivamente).

La regulación transcripcional es la responsable de que sea la isoforma 1 del TGF- $\beta$  la que se expresa en respuesta a daño y enfermedad, y las isoformas 2 y 3 en procesos fisiológicos regulados por TGF- $\beta$ , como pueden ser el control hormonal y el desarrollo<sup>22,42</sup>.

Los promotores de TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3 tienen una secuencia de bases típica conocida como caja TATAA, que parece ser un punto de regulación importante para la transcripción de estas isoformas. Sin embargo, el promotor del TGF- $\beta$ 1 carece de la caja TATAA. A su vez, el promotor de TGF- $\beta$ 1 tiene numerosos puntos de regulación, como AP-1, Egr-1, RCE y Sp-1 que no tienen los promotores de TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3 y que pueden ser activados por genes (c-jun, c-box, egr-1), oncogenes, (abl, fos, jun, ras, scr)<sup>43,44</sup> y proteínas transactivadoras de virus (HTLV1 tax, proteína HBV-x, proteína CMV IE2)<sup>45,46</sup>. También es posible la autorregulación, gracias a la habilidad del TGF- $\beta$ 1 de estimular su propio promotor a través de AP-1<sup>43</sup>.

Estas diferencias en el promotor de TGF- $\beta$ 1 respecto a TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3 parecen ser las responsables de la expresión selectiva de TGF- $\beta$ 1 en procesos patológicos, como la reparación de tejidos, stress, carcinogénesis. La caja TATAA y otros puntos de regulación comunes en los promotores de TGF- $\beta$ 2 y TGF- $\beta$ 3 desencadenan la expresión de estas isoformas en procesos fisiológicos, como el control hormonal y del desarrollo<sup>40</sup>.

Los TGF- $\beta$ s 1, 2 y 3, se sintetizan como una molécula precursora inactiva de 390-412 aminoácidos. La porción del extremo carboxi-terminal, de 112 aminoácidos, constituye el péptido maduro, y el resto, el extremo amino-terminal, un pro-dominio de longitud variable. Dentro de la célula, esta molécula precursora se rompe, generalmente por proteólisis, dando lugar al pro-dominio y al péptido maduro<sup>21</sup>. La proteólisis de la molécula precursora inactiva es un punto de regulación fisiológica impor-

tante de la actividad del TGF- $\beta$ . En mamíferos, por ejemplo, la ruptura se lleva a cabo por una endoproteasa conocida como furina, la cual incrementa su expresión a causa del stress y en presencia de TGF- $\beta$ . Este proceso representa un mecanismo importante de disregulación de la bioactividad del TGF- $\beta$  en algunas patologías<sup>47,48</sup>.

A diferencia del péptido maduro, el pro-dominio está poco conservando en las diferentes isoformas, aunque sí se conserva en la misma isoforma aislada en diferentes organismos. Además, es necesario para la síntesis y secreción normal de la molécula activa<sup>49</sup>. El pro-dominio puede permanecer unido al péptido maduro formándose así un complejo inactivo que controla la actividad del TGF- $\beta$ <sup>50</sup>.

La molécula activa, a diferencia de la mayoría de hormonas e incluso de otros miembros de la superfamilia del TGF- $\beta$ , forma dentro de la célula un complejo latente por unión no covalente entre el dímero y el péptido asociado de latencia (LAP), que no es más que el pro-dominio de la molécula precursora de TGF- $\beta$ . A la molécula resultante se la conoce como complejo latente pequeño<sup>51</sup>. Aunque los LAP de TGF- $\beta$ 1, 2 y 3 difieren significativamente entre sí, el LAP de TGF- $\beta$ 1 puede formar complejos con la molécula activa de TGF- $\beta$ 2 y 3, con igual e incluso más potencia que con la de TGF- $\beta$ 1, contribuyendo a la regulación cruzada de la actividad de las diferentes isoformas<sup>52</sup>.

En algunas ocasiones, al complejo latente pequeño, se une otra molécula conocida como proteína de unión al TGF- $\beta$  latente (LTBP). Al complejo resultante se le conoce como complejo latente largo. LTBP-1 se une mediante un puente disulfuro al LAP<sup>53,54</sup>.

El LTBP no es estrictamente necesario para la latencia del TGF- $\beta$ , pero se le ha implicado en otras funciones importantes como la secreción al exterior de la célula<sup>55</sup>, el almacenamiento en la matriz extracelular<sup>56</sup> y la activación del complejo latente<sup>57</sup>. No obstante, la mayoría de LTBP no está unido a TGF- $\beta$  y probablemente desempeñe un papel estructural en la matriz extracelular.

Sólo es posible la secreción del TGF- $\beta$  por parte de la célula productora cuando está formando un complejo latente. Mutaciones en el LAP producen retención intracelular de TGF- $\beta$ , lo cual demuestra que es necesaria la asociación del TGF- $\beta$  con su LAP para la secreción celular de la molécula<sup>58</sup>.

El complejo latente no tiene acceso a los receptores señalizantes porque el LAP encubre la unión de la molécula activa de TGF- $\beta$  con sus receptores.

Una vez secretado, el complejo latente puede seguir varios caminos: En primer lugar se puede activar, lo que implica la separación de la molécula ac-

tiva y, siguiendo un mecanismo de acción autocrino o paracrino, desencadenar una respuesta por unión a receptores señalizantes. En otras ocasiones, el complejo latente puede pasar a la circulación para desempeñar su papel en otro tejido diferente al de sus células productoras. Como la vida media del TGF- $\beta$  activo es solamente de 2-3 minutos, generalmente el TGF- $\beta$ 1 se encuentra en el plasma en su forma latente pequeña o larga, y en algunas ocasiones unido a otras proteínas, como trombospondina, inmunoglobulinas (IgG) o macroglobulinas<sup>59</sup>. Por último, el complejo latente se puede depositar en la matriz extracelular donde se genera un reservorio de TGF- $\beta$ . En la unión a la matriz extracelular están implicados los LTBP, por su capacidad de unión a proteínas<sup>56</sup>. Según las necesidades fisiológicas o fisiopatológicas, el TGF- $\beta$  se va liberando de la matriz y, o bien se activa y genera una respuesta, o bien pasa a la circulación sistémica. La movilización de los reservorios de TGF- $\beta$  de la matriz extracelular representa otro punto importante de regulación de su actividad, ya que es aquí donde se controlan las concentraciones locales de TGF- $\beta$  activo, es decir, con acceso a los receptores señalizantes<sup>60,61</sup>.

Los mecanismos de acción autocrino y paracrino se han relacionado con actividades del TGF- $\beta$  como la organogénesis, morfogénesis y la reparación de tejidos. En cambio, la acción endocrina contribuye mayoritariamente a la producción de fibrosis y a las enfermedades autoinmunes<sup>40</sup>. Sin embargo, la presencia de niveles significativos de TGF- $\beta$ 1 en plasma de sujetos normales sugiere que la función endocrina puede tener también un papel fisiológico importante<sup>62</sup>. La disregulación de los niveles basales de TGF- $\beta$ 1 en plasma es un indicativo de patologías<sup>63-65</sup>. Los niveles plasmáticos de TGF- $\beta$ 2 y 3 son indetectables, por lo que probablemente estas isoformas tengan únicamente un mecanismo de acción en el entorno donde son sintetizadas.

La variedad de mecanismos disponibles para enmascarar la actividad del TGF- $\beta$ , formando reservorios en la matriz extracelular, y desencadenando posteriormente la activación de las formas latentes en respuesta a estímulos fisiológicos y fisiopatológicos, nos dan idea de la importancia en este punto de la regulación de la actividad de TGF- $\beta$ .

## RECEPTORES SEÑALIZANTES DE TGF- $\beta$ (TIPOS I Y II)

Los receptores de TGF- $\beta$ , así como los de los demás miembros de la superfamilia, forman una familia de receptores a través de los cuales se produce la señalización. Se trata de glicoproteínas trans-

membrana con un dominio serina-treonina kinasa en la parte intracelular, un dominio transmembrana y un dominio extracelular más corto, rico en cisteína y N-glicósido<sup>28</sup>.

En base a las propiedades estructurales y funcionales se distinguen dos subfamilias: receptores de tipo I y tipo II, siendo ambos necesarios para la señalización, previa formación de un complejo heteromérico<sup>66</sup>.

La subfamilia de receptores tipo II incluye el receptor tipo II de TGF- $\beta$  (TGF- $\beta$ R-II), el receptor tipo II de BMP (BMPR-II), el receptor de la hormona antimuleriana (AMHR), los receptores tipo II y tipo IIB de activina (ActR-II y IIB)<sup>30</sup>.

Los receptores tipo I se distinguen por una secuencia altamente conservada conocida como «dominio GS», el cual se encuentra entre el dominio transmembrana y el dominio kinasa y se caracteriza por tener residuos de glicina y serina repetidos. En este dominio se produce la fosforilación ligando-dependiente del receptor tipo I en residuos de serina y treonina, la cual es necesaria para la activación de la señalización<sup>67</sup>. Esta fosforilación es llevada a cabo por el receptor quinasa tipo II. El receptor tipo I de TGF- $\beta$  (TGF- $\beta$ -I) puede catalizar su propia fosforilación *in vitro*, pero no hay evidencia clara de que esto ocurra *in vivo*<sup>68</sup>. El dominio GS también tiene una secuencia de dos residuos de leucina y prolina que sirven como sitio de unión para el factor FKappaBP12<sup>69</sup>. FKappaBP12 es una proteína citosólica que puede actuar como regulador negativo de la señalización a través de estos receptores por su capacidad de unión al dominio GS del receptor tipo I, bloqueando así la fosforilación de dicho receptor. En definitiva, el dominio GS es una llave de regulación que controla tanto la actividad catalítica del receptor quinasa tipo I como su interacción con sustratos.

Los dominios quinasas de los diferentes receptores tipo I están más conservados que los de los receptores tipo II. Por lo general los receptores tipo I no pueden unir eficientemente el ligando si no está presente el receptor tipo II, el cual se une formando un complejo heteromérico con el receptor tipo I a través de los dominios extracelulares.

En los vertebrados se han descrito tres grupos de receptores tipo I, de tal manera que los miembros de cada grupo tienen dominios quinasa similares y además la señalización a través de ellos produce la misma actividad. El primer grupo incluye el receptor tipo I de TGF- $\beta$  (TGF $\beta$ R-I), receptor tipo IB de activina (ActR-IB) y ALK (activin receptor like kinasa) 7, el segundo grupo incluye los receptores tipo IA y IB de BMP (BMPR-IA y IB), y el tercero incluye ALK 1 y ALK 2<sup>30</sup>.

La habilidad de los receptores tipo I de interactuar con los receptores tipo II y el papel de los receptores tipo II de determinar la especificidad de unión con el ligando permite modular en este punto la respuesta a TGF- $\beta$ <sup>70</sup>.

Aunque cada miembro de la superfamilia tiene sus propios receptores señalizantes de tipo I y II es posible la unión cruzada. De esta manera el TGF- $\beta$  puede interactuar con ciertos receptores de la actina, BMPs, etc.<sup>71</sup>.

En la ausencia de ligando los receptores se encuentran en la membrana como homómeros independientes<sup>72</sup>. Cuando el TGF- $\beta$  se une al receptor tipo II, que está fosforilado en su estado basal, se produce el reclutamiento del receptor tipo I formándose así un complejo entre el ligando y los receptores tipo I y tipo II. En este complejo, el receptor tipo II, que es una quinasa constitutivamente activa, fosforila al receptor I en residuos de serina y treonina del dominio GS<sup>67</sup>. Una vez fosforilado, el receptor tipo I desencadena la cascada de fosforilaciones sucesivas de proteínas Smad intracelulares, que al final producen la respuesta al TGF- $\beta$ .

### RECEPTORES NO SEÑALIZANTES DE TGF- $\beta$ (TIPO III)

El betaglicano y la endogлина, conocidos como receptores de tipo III, son también proteínas transmembrana que unen TGF- $\beta$ , pero que no tienen una secuencia señalizante en su corto dominio intracelular<sup>73</sup>.

El betaglicano es un proteoglicano que se encuentra en la membrana de muchos tipos celulares y que tiene la capacidad de unir las diferentes isoformas de TGF- $\beta$ , pero sin desencadenar una respuesta. Por eso se le conoce como receptor no señalizante de TGF- $\beta$ . Es el más abundante de los receptores de TGF- $\beta$  y tiene la capacidad de presentar la molécula de TGF- $\beta$  a los receptores señalizantes<sup>74</sup>. De esta manera, en ausencia de betaglicano los receptores tipo II tienen alta afinidad por TGF- $\beta$ 1 y TGF- $\beta$ 3, muy baja para TGF- $\beta$ 2. Sin embargo, en presencia de betaglicano los receptores tipo II tienen gran afinidad por TGF- $\beta$ 2 y se unen por igual a las 3 isoformas.

El dominio citoplasmático de betaglicano es rico en residuos de serina y treonina que pueden ser fosforilados por la proteína quinasa C<sup>75</sup>.

En algunas ocasiones una proteasa rompe la parte extracelular del betaglicano con lo que se libera al espacio extracelular lo que conocemos como betaglicano soluble. Gracias a su habilidad de unirse a TGF- $\beta$ , el betaglicano soluble puede inhibir la unión del TGF- $\beta$  con los receptores señalizantes<sup>76</sup>.

La endogлина es una glicoproteína de membrana que se expresa en el endotelio vascular y en algu-

nas células hematopoyéticas<sup>77</sup>. Se ha demostrado que actúa como un receptor tipo III de TGF- $\beta$ , al igual que el betaglicano. Sin embargo, su papel en la señalización del TGF- $\beta$  es menos claro. La endogлина es el gen diana en la telangiectasia hemorrágica hereditaria (HTT)<sup>78</sup>, pero la reducción de los niveles de endogлина en la superficie celular de pacientes con HHT no parece afectar a la respuesta a TGF- $\beta$  de esas células<sup>79</sup>. La endogлина une con alta afinidad TGF- $\beta$ 1 y TGF- $\beta$ 3, y sin embargo el betaglicano sólo tiene alta afinidad por TGF- $\beta$ 2<sup>80</sup>.

Existen dos variantes de endogлина: L-endogлина, la cual tiene un dominio citoplasmático más largo, y S-endogлина que tiene este dominio mucho más corto<sup>81</sup>. El dominio citoplasmático de endogлина se fosforila constitutivamente en residuos de serina. Esta fosforilación no depende de la unión del ligando, y es probable que se lleve a cabo por la proteína quinasa C<sup>82</sup>.

Algunos autores han demostrado que la endogлина está sobreexpresada en biopsias de pacientes con enfermedad renal progresiva crónica<sup>83</sup> y que se encuentra en las células mesangiales humanas y de rata pudiendo tener un papel modulador de los efectos del TGF- $\beta$  sobre el mesangio glomerular<sup>84</sup>. Nosotros hemos demostrado que la endogлина está sobreexpresada en dos modelos de fibrosis, el modelo de reducción de masa renal y el modelo de obstrucción ureteral. El aumento en la expresión de endogлина coincide con el período de mayor lesión y disfunción renal. Estos resultados nos sugieren que el aumento de endogлина puede estar relacionado con un potencial efecto protector del riñón frente a los efectos fibrogénicos del TGF- $\beta$ 1<sup>85</sup>.

## MECANISMO DE ACCIÓN

La señal se inicia con la unión del ligando al receptor tipo II, entonces el receptor II recluta al receptor I y lo fosforila (en residuos serina y treonina) en «el dominio GS» activándolo, y pudiendo así propagar la señal. Los sustratos de estos receptores son las Smads (familia de moléculas señalizantes intracelulares que actúan a continuación de los receptores para los miembros de la familia del TGF- $\beta$ )<sup>86</sup>. Al activarse se trasladan desde el citoplasma hasta el núcleo donde actúan como factores transcripcionales controlando la expresión génica. Para funcionar como mediadores intracelulares del TGF- $\beta$ , las Smads deben tener acceso a los receptores, deben de activarse (por fosforilación) y acumularse en el núcleo. Una vez en el núcleo las Smads regulan la transcripción de los genes diana por<sup>87</sup>:

— unión directa a secuencias de DNA (se requiere para algunos, pero no para todos los genes que responden a TGF- $\beta$ )<sup>88</sup>.

— interacción con otras proteínas unidas al DNA (factores transcripcionales, aumentan la afinidad de unión al DNA) y que aumentan la especificidad: FAST1, FAST2, AP-1(c-Jun/c-Fos), TFE-3, ATF-2, AML, receptor de la vitamina D, receptor de glucocorticoides, PEBP2/CBF, Evi-1, SIP1, Hoxc-8<sup>89</sup>. Según el factor de unión la respuesta es distinta. FAST es incapaz de activar la transcripción por sí sólo (las Smads actúan como reguladores primarios de la señal), en cambio la mayoría de los restantes factores pueden funcionar independientemente de las Smads y a menudo reciben la entrada de otras rutas señalizantes (aquí las Smads dan una señal secundaria que modifica una señal primaria de otras rutas)<sup>86</sup>.

— reclutamiento de co-activadores: p300/CBF, se une directamente a varios factores transcripcionales, con lo cual dos estímulos extracelulares diferentes convergen en el núcleo a través de su interacción con p300, o co-represores transcripcionales: TGIF, c-Ski, SnoN. En el primero la interacción con las Smad 2 y 3 es inducida por la estimulación de TGF- $\beta$ , y en los otros la interacción aparece en condiciones basales y desaparece en las primeras horas tras la estimulación con TGF- $\beta$ . La respuesta transcripcional puede estar determinada por los niveles relativos de co-activadores y co-represores, pero esos co-activadores y co-represores tienen también papeles en otras rutas y la actividad de esas rutas puede influenciar el resultado de la respuesta del TGF- $\beta$  en una célula determinada en un momento determinado<sup>90</sup>.

Se pueden esperar variaciones en el esquema actual de las Smads como reguladores transcripcionales, por ejemplo es posible que las R-Smads medien respuestas génicas en unión con Co-Smads distintas a Smad 4 o sin la intervención de Co-Smad<sup>91</sup>. Más aún, aunque la función de las Smads se ha visto que es esencial para muchas de las acciones fisiológicas del TGF- $\beta$  y otros factores relacionados, es posible que algunas respuestas transcripcionales no impliquen la actuación de las Smads. Aparte debemos considerar que sería muy peculiar que una única clase de sustratos mediera todo el conjunto de efectos producidos por los receptores del TGF- $\beta$ , por lo que parece obvio que el control transcripcional debe ser mucho más complejo<sup>90</sup>.

Las Smads tienen un completo conjunto de interacciones moleculares y funcionales con otros sistemas de señalización, con lo cual pueden modular positiva o negativamente la señalización del TGF- $\beta$ , dependiendo del contexto celular. Al carecer de actividad enzimática, su señalización no puede ampliarse. Las respuestas celulares inducidas en los genes diana deben ser, por lo tanto, sensibles a pequeños cambios en su concentración, así como a su comparti-



mentalización subcelular y espacial y a su interacción con otras rutas<sup>92</sup>.

### Estructura de las Smads

Existen dos zonas altamente conservadas, que son los dominios amino (MH1) y carboxi (MH2) terminales y una zona central pobremente conservada (región de unión). Estos dominios carecen de actividad enzimática intrínseca, pero controlan las interacciones proteína-proteína y proteína-DNA<sup>86</sup>.

#### **Dominio MH1**

Controla la actividad de unión al DNA así como las interacciones proteína-proteína con proteínas unidas al DNA y las interacciones con los factores de transcripción como ATF2, jun y TFE3<sup>86</sup>. Consta de aproximadamente 130 aminoácidos y está altamente conservado en R-Smads y en Co-Smads, pero no en I-Smads. En estado basal inhibe la transcripción y las actividades biológicas del dominio MH2 (esta inhibición se debe probablemente a la interacción entre los dos dominios), pero no tiene una función puramente inhibitoria ya que en el estado activado tiene actividad de unión al DNA, cuya afinidad y especificidad depende del gen blanco<sup>30</sup>.

#### **Dominio MH2**

Tiene actividad transcripcional pero no se une al DNA. Parece que media la unión con ciertas proteínas entre las que se incluyen: receptores tipo I, SARA, y varias proteínas nucleares (FAST, CBP, TGIF y Ski)<sup>86</sup>. Contiene el sitio de fosforilación (en las R-Smads), tiene función efectora y está implicado en varias interacciones proteína-proteína importantes. Contiene unos 200 aminoácidos. Las interacciones entre los dominios MH2 mantienen la estructura del complejo homo-oligomérico en el estado basal, también media la asociación de las R-Smads con los receptores tipo I, con Smad4 y con los factores de unión al DNA. En el caso de la Smad4 se precisa la presencia de este dominio para que las Smads1 y 2 activen la transcripción; en el caso de las I-Smads, este dominio es suficiente para su efecto inhibitorio<sup>30</sup>.

#### **Región de unión**

Está mal conservada. Es muy variable tanto en las secuencias como en el tamaño (rico en serinas y

prolinas), contribuye a la formación del complejo homo-oligomérico<sup>30</sup>. En las R-Smads contiene sitios de fosforilación de MAP-quinasas, su fosforilación en respuesta a la activación de MAP-quinasas inhibe la translocación al núcleo de las Smads<sup>93</sup>.

### Clases de Smads

*Smads reguladas por el receptor (R-Smads)*, son blanco directo de los receptores I y se fosforilan en la secuencia SSXS carboxi terminal. Son fundamentales en la especificidad de la respuesta biológica. Las Smads 2 y 3 son activadas por los receptores de TGF- $\beta$  y de activinas y las Smads 1, 5 y 8 por los receptores de BMP y OP. Esta especificidad viene dada por loop-L3 del dominio MH2<sup>94</sup>. Para que estas sean reclutadas hacia la membrana, para su posterior fosforilación, se precisa la actuación de otra proteína que modula la actividad de las Smads: SARA o moléculas similares en el caso de BMP<sup>86</sup>.

*Smads mediadoras comunes (Co-Smads)*, forman complejos hetero-oligoméricos con las R-Smads activadas que luego se translocan al núcleo y parece que son fundamentales para la actividad de las anteriores. Incluye la Smad 4<sup>92</sup>. Su principal función es regular la transcripción más que transmitir la señal<sup>95</sup>. Al igual que Smad 2 y 3 tiene su función transcripcional localizada en MH2 y como la última tiene en MH1 una orquilla- $\beta$  con la que se une directamente al DNA. Para las interacciones Smad-Smad se requiere que ambas posean los dominios MH2<sup>92</sup>.

*Smads inhibitorias (I-Smads)*, incluyen la Smad 6 que inhibe principalmente la señalización por BMP y parcialmente la del TGF- $\beta$  cuando está sobreexpresada ya que puede mimetizar la acción de Smad 7. Compite con Smad 4 en la unión con Smad 1, originando un complejo Smad 1-6 inactivo. La Smad 7 inhibe la señalización por TGF- $\beta$ /activinas y cuando está sobreexpresada también la de BMP. Antagonizan la señalización por interacción con el complejo de receptores ocupando los receptores tipo I, evitando así la fosforilación de las R-Smad<sup>41</sup>. Parece que en su estado basal se encuentra en el núcleo y se transloca al citoplasma por la estimulación con TGF- $\beta$ <sup>96</sup>.

### Interacción con otras rutas

Uno de los muchos ejemplos de la integración de señales, es la regulación negativa que ejerce la fosforilación de la región de unión de las R-Smad tras

la activación de la ruta de Erk (MAPK)<sup>93</sup> por el factor de crecimiento hepático (HGF), por el factor de crecimiento epidérmico (EGF), o por Ras (proteína G que activa Erk1 y 2, y que tiene un efecto dual ya que puede ser antagonista o cooperativa), lo que origina la inhibición de la translocación al núcleo del complejo de Smads<sup>92</sup>, aunque la fosforilación dependiente de Erk, de ciertas R-Smad (1, 2 y 3) en motivos diferentes provoca un incremento de la translocación nuclear y la señalización<sup>97</sup>.

Otro ejemplo de integración es el sinergismo con las rutas JNK y p 38 quinasa. TGF- $\beta$  y BMP pueden activar varias rutas señalizantes MAPK, principalmente las rutas MKK4-JNK y MMK3-p38. En la conexión entre estas rutas parece que está implicada la proteína quinasa TAK1 (quinasa 1 activada por TGF- $\beta$ ), la cual actúa directamente sobre las enzimas MKK que activan tanto JNK como p38<sup>98</sup>, lo que puede ocasionar la generación de señales separadas que convergen con las Smads en la activación de promotores diana comunes. Además se ha visto que las Smads pueden sufrir fosforilaciones activadoras por JNK en un lugar desconocido de la región de unión<sup>99</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Renke H, Anderson S, Brenner B: The progression of renal disease: structural and functional correlations. En: *Renal Pathology with Clinical and Functional Correlations*, editado por Tisher CC, Brenner B. Philadelphia, Lippincott, pp. 116-39, 1994.
2. Ketteler M, Noble NA, Border WA: Transforming growth factor beta and angiotensin II: the missing link from glomerular hyperfiltration to glomerulosclerosis? *Annu Rev Physiol* 57: 279-95, 1995.
3. El Nahas AM: Glomerulosclerosis: intrinsic and extrinsic pathways. *Nephrol Dial Transplant* 11: 773-7, 1996.
4. Fine LG, Ong CM, Norman JT: Mechanisms of tubulointerstitial injury in progressive renal diseases. *Eur J Clin Invest* 23: 259-65, 1993.
5. Segal R, Fine LG: Polypeptide growth factors and the kidney. *Kidney Int* 36(27): S2-S10, 1989.
6. Sharma K, Ziyadeh FN: The transforming growth factor- $\beta$  and the kidney. *Semin Nephrol* 13: 116-28, 1993.
7. Border WA, Okuda S, Languino LR, Sporn MB, Ruoslahti E: Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor  $\beta$ 1. *Nature* 346: 371-4, 1990.
8. Kiyoshi T, Okuda S, Ando T, Iwamoto T, Nakayama M, Fujishima M: TGF- $\beta$  in glomerulosclerosis and interstitial fibrosis of Adriamycin nephropathy. *Kidney Int* 45: 525-36, 1994.
9. Yamamoto T, Nakamura T, Noble N, Ruoslahti E, Border WA: Expression of transforming growth factor- $\beta$  is elevated in human and experimental diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 1814-8, 1993.
10. Yamamoto T, Noble NA, Miller DE, Border WA: Sustained expression of TGF- $\beta$  underlies development of progressive kidney fibrosis. *Kidney Int* 45: 916-27, 1994.
11. Ruiz-Ortega M, González S, Serín D, Condom E, Bustos C, Largo R, González E, Ortiz A, Egido J: ACE inhibition reduces proteinuria, glomerular lesions and extracellular matrix production in a normotensive model of immunocomplex nephritis. *Kidney Int* 48: 1778-91, 1995.
12. Eddy AA: Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 7: 2495-508, 1996.
13. Haberstroh U, Zahner G, Disser M, Thaiss F, Wolf G, Stahl RAK: TGF- $\beta$  stimulates rat mesangial cell proliferation in culture: Role of PDGF  $\beta$ -receptor expression. *Am J Physiol* 264: F199-F205, 1993.
14. Riser BL, Cortés P, Zhao X, Bernstein J, Dumler F, Narins RG: Intraglomerular pressure and mesangial stretching stimulate extracellular matrix formation in the rat. *J Clin Invest* 90: 1932-3, 1992.
15. Border WA, Noble NA: Transforming growth factor  $\beta$  in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 331:1286-92, 1994.
16. Friskh SM, Clark EJ, Werb Z: Coordinate regulation of stromelysin and collagenase genes determined with cDNA probes. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 2600-4, 1987.
17. Edward DR, Leco KJ, Beaudry PP, Atadja PW, Veillette C, Riabowol KT: Differential effects of transforming growth factor beta 1 on the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in young and old human fibroblasts. *Exp Gerontol* 31: 207-23, 1996.
18. Gallego B, López Novoa JM, Pérez Barriocanal F: Factores de crecimiento en la nefropatía diabética. *Nefrología* XVIII(6): 449-58, 1998.
19. Ortiz A, Egido J: Bases moleculares del tratamiento de las nefropatías glomerulares. *Nefrología* XVIII(2): 125-5, 1998.
20. Rojo P, Bouer J, Moreno V, Ruiz-Ginés JA, Rodríguez-Puyol M, Rodríguez-Puyol D, Bosch RJ: Citoquinas y patología renal. *Nefrología* XVIII(1): 32-41, 1998.
21. Massagué J: The transforming growth factor-beta family *Annu Rev Cell Biol* 6: 597-641, 1990.
22. Roberts AB, Sporn MB: The transforming growth factors- $\beta$ . Peptide Growth Factors and their receptors, *MB Sporn and AB Roberts*, eds. (Heidelberg, Germany: Springer-Verlag), pp. 419-72, 1990.
23. Moses HK, Branum EL, Proper JA, Robinson RA: Transforming growth factor production by chemically transformed cells. *Cancer Res* 41: 2842-8, 1981.
24. Roberts AB, Anzano MA, Lamb LC, Smith JM, Sporn MB: New class of transforming growth factors potentiated by epidermal growth factor: isolation from non-neoplastic tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 5339-43, 1981.
25. Chilods CB, Proper JA, Tucker RF, Moses HL: Serum contains a platelet-derived transforming growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 5312-6, 1982.
26. Assoian RK, Komoriya A, Meyers CA, Miller DM, Sporn MB: Transforming growth factor- $\beta$  in human platelets. Identification of a major storage site, purification, and characterization. *J Biol Chem* 258: 7155-60, 1983.
27. Derynck R, Jarrett JA, Chen EY, Eaton DH, Bell JR, Assoian RK, Roberts AB, Sporn MB, Goeddel DV: Human transforming growth factor- $\beta$  complementary DNA sequence and expression in normal and transformed cells. *Nature* 316: 701-5, 1985.
28. Attisano L, Wrana JL: Signal transduction by members of the transforming growth factor beta superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev* 7: 327-39, 1996.
29. Heldin CH, Miyazono K, Dijke T: TGF- $\beta$  signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 390: 465-71, 1997.
30. Massagué J: TGF- $\beta$  signal transduction. *Annu Rev Biochem* 67: 753-91, 1998.

## M. PRIETO y cols.

31. Burt DW, Paton IR: Evolutionary origins of the transforming growth factor-beta gene family. *DNA Cell Biol* 11: 497-510, 1992.
32. Sporn MB, Roberts AB: Transforming growth factor-beta: Recent progress and new challenges. *J Cell Biol* 119: 1017-21, 1992.
33. McPherron AC, Lee SJ: GDF-3 and GDF-9: Two new members of the transforming growth factor-beta superfamily containing a novel pattern of cysteines. *J Biol Chem* 268: 3444-9, 1993.
34. Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, Mitscock LM, Whitters MJ, Kriz RW, Hewick RM, Wang EA: Novel regulators of bone formation: Molecular clones and activities. *Science* 242: 1528-34, 1988.
35. Celeste AJ, Iannazzi JA, Taylor RC, Hewick RM, Rosen V, Wang EA, Wozney JM: Identification of transforming growth factor beta family members present in bone inductive protein purified from bovine bone. *Proc Natl Acad Sci* 87: 9843-7, 1990.
36. Zhou X, Sasaki H, Lowe L, Hogan BL, Kuehn MR: Nodal is a novel TGF-beta-like gene expressed in the mouse node during gastrulation. *Nature* 361: 543-7, 1993.
37. Basler K, Edlund T, Jessell TM, Yamada T: Control of the cell pattern in the neural tube: regulation of cell differentiation by dorsalin-1, a novel TGF beta family member. *Cell* 73: 687-702, 1993.
38. Ying SY: Inhibins, activins and follistatins. *J Steroid Biochem* 33: 705-13, 1989.
39. Lin LF, Doherty DH, Lile JD, Bektesh S, Collins F: GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons. *Science* 260: 1130-2, 1992.
40. Roberts AB: Molecular and Cell Biology of TGF- $\beta$ . *Miner Electrolyte Metab* 24: 111-9, 1998.
41. Massagué J, Chen YG: Controlling TGF- $\beta$  signalling. *Genes Dev* 14: 627-44, 2000.
42. Roberts AB, Sporn MB: Differential expression of the TGF-beta isoforms in embryogenesis suggests specific roles in developing and adult tissues. *Mol Reprod Dev* 32: 91-8, 1992.
43. Kim SJ, Ángel P, Lafayatis R, Hattori K, Kim KY, Sporn MB, Karin M, Roberts AB: Autoinduction of transforming growth factor beta 1 is mediated by the AP-1 complex. *Mol Cell Biol* 10: 1492-7, 1990.
44. Birchenall-Roberts MC, Ruscetti FW, Kasper J, Lee HD, Friedman R, Geiser A, Sporn MB, Roberts AB, Kim SJ: Transcriptional regulation of the transforming growth factor beta 1 promoter by v-src gene products in mediated through the AP-1 complex. *Mol Cell Biol* 10: 4978-83, 1990.
45. Yoo YD, Ueda H, Park K, Flanders KC, Lee YI, Jay G, Kim SJ: Regulation of transforming growth factor-beta 1 expression by the hepatitis B virus (HBV) X transactivator. Role in HBV pathogenesis. *J Clin Invest* 97: 388-95, 1996.
46. Michelson S, Alcami J, Kim SJ, Danielpour D, Bachelier F, Picard L, Bessia C, Paya C, Virelizier JL: Human cytomegalovirus infection induces transcription and secretion of transforming growth factor beta 1. *J Virol* 68: 5730-7, 1994.
47. Blanchette F, Day R, Dong W, Laprise MH, Dubois CM: TGF beta 1 regulates gene expression of its own converting enzyme furin. *J Clin Invest* 99: 1974-83, 1997.
48. Negishi M, Lu D, Zhang YQ, Sawada Y, Sasaki T, Kayo T, Ando J, Izumi T, Kurabayashi M, Kojima I, Masuda H, Takeuchi T: Upregulatory expression of furin and transforming growth factor-beta by fluid shear stress in vascular endothelial cells. *Arterioscle Thromb Vasc Biol* 21: 785-90, 2001.
49. Gray AM, Mason AJ: Requirement for activin A and transforming growth factor-beta 1 pro-regions in homodimer assembly. *Science* 247: 1328-30, 1990.
50. Gentry LE, Nash BW: The pro domain of pre-protransforming growth factor beta 1 when independently expressed is a functional binding protein for the mature growth factor. *Biochemistry* 29: 6851-7, 1990.
51. Gentry LE, Webb NR, Lim GJ, Brunner AM, Ranchalis JE, Twardzik DR, Lioubin MN, Marquardt H, Purchio AF: Type 1 transforming growth factor beta: amplified expression and secretion of mature and precursor polypeptides in Chinese hamster ovary cells. *Mol Cell Biol* 7: 3418-27, 1987.
52. Böttinger EP, Factor VM, Tsang ML, Weatherbee JA, Kopp JB, Qian SW, Wakefield LM, Roberts AB, Thorgeirsson SS, Sporn MB: The recombinant progression of transforming growth factor beta 1 (latency associated peptide) inhibits active transforming growth factor beta 1 in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 5877-82, 1996.
53. Kanzaki T, Olofsson A, Morén A, Wernstedt C, Hellman U, Miyazono K, Claesson-Welsh L, Ten Dijke P, Miyazono K, Claesson-Welsh L, Heldin CH: TGF-beta 1 binding protein: a component of the large latent complex of TGF-beta 1 with multiple repeat sequences. *Cell* 61: 1051-61, 1990.
54. Tsuji T, Okada F, Yamaguchi K, Nakamura T: Molecular cloning of the large subunit of transforming growth factor type beta masking protein and expression of the mRNA in various rat tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 8835-9, 1990.
55. Miyazono K, Olofsson A, Colosetti P, Heldin CH: A role of the latent TGF-beta 1-binding protein in the assembly and secretion of TGF-beta 1. *Embo J* 10: 1091-101, 1991.
56. Taipale J, Miyazono K, Heldin CH, Keski-Oja J: Latent transforming growth factor beta 1 associates to fibroblast extracellular matrix via latent TGF-beta binding protein. *J Cell Biol* 124: 171-81, 1994.
57. Flaumenhaft R, Kojima S, Abe M, Rifkin DB: Activation of latent transforming growth factor beta. *Adv Pharmacol* 24: 51-76, 1993.
58. López AR, Cook J, Deininger PL, Derynck R: Dominant negative mutants of transforming growth factor-beta 1 inhibit the secretion of different transforming growth factor-beta isoforms. *Mol Cell Biol* 12: 1674-9, 1992.
59. Wakefield LM, Winokur TS, Hollands RS, Christopherson K, Levinson AD, Sporn MB: Recombinant latent transforming growth factor beta 1 has a longer plasma half-life in rats than active transforming growth factor beta 1, and a different tissue distribution. *J Clin Invest* 86: 1976-84, 1990.
60. Flaumenhaft R, Abe M, Sato Y, Miyazono K, Harpel J, Heldin CH, Rifkin DB: Role of the latent TGF-beta binding protein in the activation of latent TGF-beta by cocultures of endothelial and smooth muscle cells. *J Cell Biol* 120: 995-1002, 1993.
61. Barcellos-Hoff MH: Latency and activation in the control of TGF- $\beta$ . *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1: 351-61, 1996.
62. Wakefield LM, Letterio JJ, Chen T, Danielpour D, Allison RS, Pai LH, Denicoff AM, Noone MH, Cowan KH O'Shaughnessy JA, Sporn MB: Transforming growth factor- $\beta$ 1 circulates in normal human plasma and is unchanged in advanced metastatic breast cancer. *Clin Can Res* 1: 129-36, 1995.
63. Ancher MS, Peters WP, Reisenbichler H, Petros WP, Jirtle RL: Transforming growth factor beta as a predictor of liver and lung fibrosis after autologous bone marrow transplantation for advanced breast cancer. *N Engl J Med* 328: 1592-8, 1993.
64. Kopp JB, Factor VM, Mozes M, Nagy P, Sanderson N, Böttinger EP, Klotman PE, Thorgeirsson SS: Transgenic mice with increased plasma levels of TGF beta 1 develop progressive renal disease. *Lab Invest* 74: 991-1003, 1996.
65. Grainger DJ, Kemp PR, Metcalfe JC, Liu AC, Lawn RM, Williams NR, Grace AA, Schofield PM, Chauhan A: The serum concentration of active transforming growth factor-beta is severely depressed in advanced atherosclerosis. *Nat Med* 1: 74-9, 1995.
66. Laiho M, Weis MB, Massagué J: Concomitant loss of transforming growth factor (TGF)-beta receptor types I and II in TGF-beta-resistant cell mutants implicates both receptor types in signal transduction. *J Biol Chem* 265: 18518-24, 1990.



67. Souchelnytskyi S, Ten Dijke P, Miyazono K, Heldin CH: Phosphorylation of Ser 165 in TGF- $\beta$  type I receptor modulates TGF- $\beta$ 1-induced cellular responses. *EMBO J* 15: 6231-40, 1990.
68. Wieser R, Wrana JL, Massagué J: GS domain mutations constitutively activate T Beta R-I, the downstream signalling component in the TGF-beta receptor complex. *EMBO J* 14: 2199-208, 1995.
69. Chen YG, Liu F, Massagué J: Mechanism of TGF beta receptor inhibition by FKBP12. *EMBO J* 16: 3866-76, 1997.
70. Derynck R, Feng XH: TGF- $\beta$  receptor signalling. *Biochim Biophys Acta* 1333: F105-F150, 1997.
71. Massagué J: Receptors for the TGF- $\beta$  family. *Cell* 69: 1067-70, 1992.
72. Ten-Dijke P, Miyazono K, Heldin CH: Signalling via heterooligomeric complexes of type I and type II serine/threonine kinase receptors. *Curr Opin Cell Biol* 8: 139-45, 1996.
73. Attisano L, Wrana JL, López-Casillas F, Massagué J: TGF- $\beta$  receptors and actions. *Biochim Biophys Acta* 1222: 71-81, 1994.
74. Wang X, Lin H, Ng-Eaton E, Downward J, Lodish H, Weinberg R: Expression cloning and characterization of the TGF-beta type III receptor. *Cell* 67: 797-805, 1991.
75. López-Casillas F, Cheifetz S, Doody J, Andrés J, Lane WS, Massagué J: Structure and expression of the membrane proteoglycan betaglycan, a component of the TGF-receptor system. *Cell* 67: 785-95, 1991.
76. Casillas F, Payne HM, Andrés JL; Massagué J: Betaglycan can act as a dual modulator of TGF- $\beta$  access to signalling receptors: mapping of ligand binding and GAG attachment sites. *J Cell Biol* 124: 557-68, 1994.
77. Gougos A, Letarte M: Primary structure of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of human endothelial cells. *J Biol Chem* 265: 8361-4, 1990.
78. McAllister KA, Grogg KM, Johnson DW, Gallione CJ, Baldwin MA, Jackson CE, Helmbold EA, Markel DS, McKinnon WC, Murell J, McCormick MD, Pericak-Vance MA, Heutink P, Oostra BA, Haitjema T, Westerman CJ, Porteous ME, Guttmacher AE, Letarte M, Marchuck DA: Endoglin, a TGF- $\beta$  binding protein of endothelial cells is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type I. *Nat Genet* 8: 345-51, 1994.
79. Pece N, Vera S, Cymerman U, White RI Jr, Wrana JL, Letarte M: Mutant endoglin in hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1 is transiently expressed intracellularly and is not a dominant negative. *J Clin Invest* 100: 2568-79, 1997.
80. Cheifetz S, Bellón T, Calés C, Vera S, Bernabéu C, Massagué J, Letarte M: Endoglin is a component of the transforming growth factor- $\beta$  receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem* 267:19027-30, 1992.
81. Bellón T, Corbi A, Lastres P, Calés C, Cebrián M, Vera S, Cheifetz S, Massagué J, Letarte M, Bernabéu C: Identification and expression of two forms of the human transforming growth factor- $\beta$ -binding protein endoglin with distinct cytoplasmic regions. *Eur J Immunol* 23: 2340-5, 1993.
82. Lastres P, Martín-Pérez J, Langa C, Bernabéu C: Phosphorylation of the human transforming growth factor- $\beta$  binding protein endoglin. *Biochem J* 301: 765-8, 1994.
83. Roy-Chaudhury P, Simpson JG, Power DA: Endoglin, a transforming growth factor-beta-binding protein, is upregulated in chronic progressive renal disease. *Exp Nephrol* 5: 55-60, 1997.
84. Rodríguez-Barbero A, Obreo J, Eleno N, Rodríguez-Peña A, Düwel A, Jerkic M, Sánchez-Rodríguez A, Bernabéu C, López-Novoa JM: Endoglin expression in human and rat mesangial cells and its upregulation by TFG- $\beta$ 1. *Biochem Biophys Res Comm* 282: 142-7, 2001.
85. Rodríguez-Peña A, Prieto M, Düwel A, Rivas JV, Eleno N, Pérez-Barriocanal F, Arévalo M, Smith JD, Vary CPH, Bernabéu C, López-Novoa JM: Up-regulation of endoglin, a TGF- $\beta$ -binding protein, in rats with experimental renal fibrosis induced by renal mass reduction. *Nephrol Dial Transplant* 16: 34-9, 2001.
86. Wrana JL, Attisano L: The Smad pathway. *Cytokine Growth Factor Rev* 11: 5-13, 2000.
87. Hill CS: The Smads. *Int J Biochem Cell Biol* 31: 1249-54, 1999.
88. Miyazono K: TGF- $\beta$  signalling by Smad proteins. *Cytokine Growth Factor Rev* 11: 15-22, 2000.
89. Derynck R, Zhang Y, Feng XH: Smads: transcriptional activators of TGF- $\beta$  responses. *Cell* 95: 737-40, 1998.
90. Massagué J, Wotton D: Transcriptional control by the TGF- $\beta$ /Smad signaling system. *EMBO J* 19: 1745-54, 2000.
91. Hoyer BA, Brown TL, Howe PH: TGF- $\beta$  induces fibronectin synthesis through a c-Jun N-terminal kinase-dependent, Smad 4-independent pathway. *EMBO J* 18: 1345-56, 1999.
92. Schiffer M, von Gersdorff G, Bitzer M, Susztad K, Böttinger EP: Smad proteins and transforming growth factor- $\beta$  signalling. *Kidney Int* 77: S45-S52, 2000.
93. Kretzschmar M, Doody J, Massagué J: Opposing BMP and EGF signalling pathways converge on the TGF- $\beta$  family mediator Smad 1. *Nature* 389: 618-22, 1997.
94. Lo RS, Chen YG, Shi Y, Pavletich NP, Massagué J: The L3 loop: a structural motif determining specific interactions between SMAD proteins and TGF- $\beta$  receptors. *EMBO J* 17: 996-1005, 1998.
95. Liu F, Poupponnot C, Massagué J: Dual role of the Smad 4/DPC4 tumor suppressor in TGF-beta inducible transcriptional complexes. *Genes Dev* 11: 3157-67, 1997.
96. Itoh S, Landstrom M, Hermansson A, Itoh F, Heldin CH, Heldin NE, Ten Dijke P: Transforming growth factor beta 1 induces nuclear export of inhibitory Smad 7. *J Biol Chem* 273: 29195-201, 1998.
97. de Caestecker MP, Parks TW, Frank CJT, Castagnino P, Bortaro D, Roberts AB, Lechleider RJ: Smad 2 transduces common signals from receptor serine-threonine and tyrosine kinases. *Genes Dev* 12: 1587-92, 1998.
98. Zhou G, Lee SC, Yao Z, Tan TH: Hematopoietic progenitor kinase 1 is a component of transforming growth factor beta-induced c-Jun N-terminal kinase signalling cascade. *J Biol Chem* 274: 13133-8, 1999.
99. Engel ME, McDonnell MA, Law BK, Moses HL: Interdependent SMAD and JNK signalling in transforming growth factor-beta-mediated transcription. *J Biol Chem* 274: 37413-20, 1999.