

Perspectivas en Ciencia Traslacional y Descubrimiento: El Papel de Cullin 3 en la Hipertensión

Daria Golosova, MD PhD

Becaria Postdoctoral del Laboratorio del Dr. Curt D. Sigmund

Departamento de Fisiología

Facultad de Medicina de Wisconsin, Milwaukee, WI, EE. UU.



Introducción: Hipertensión como Problema Principal

La hipertensión es uno de los principales problemas a nivel mundial. Siguiendo las nuevas pautas de la Asociación Americana del Corazón, una presión arterial sistólica superior a 130 mmHg ahora se considera la primera etapa de la hipertensión. Anteriormente, esto se conocía como prehipertensión. La nueva definición resultó en que casi la mitad de la población adulta de EE. UU. tiene presión arterial alta, con el mayor impacto esperado entre las personas más jóvenes. A pesar de una amplia variedad de opciones terapéuticas, muchos pacientes siguen sin responder a sus regímenes terapéuticos. Existe una necesidad aún mayor de descubrir nuevas vías implicadas en la regulación de la presión arterial para aprovechar posibles opciones de tratamiento novedosas. Un papel importante para Cullin 3 (CUL3) en la fisiología y enfermedad cardiovascular surgió en 2012 cuando se descubrió que las mutaciones en CUL3 llevaban a la hipertensión en humanos. Este editorial destaca los mecanismos por los cuales CUL3 afecta la presión arterial, ya sea a través de su papel en el riñón o en la vasculatura.

¿Qué es Cullin-3?

La ubiquitinación es un proceso enzimático que implica la unión de una proteína de ubiquitina a un sustrato facilitando su degradación. La ubiquitinación regula una gran parte de los procesos celulares, como la respuesta inmune, la angiogénesis, la proliferación celular, la apoptosis y la reparación del ADN. Las ligas Cullin-RING (CRLs) comprenden una super familia de ligas ubiquitin RING E3 que consta de 8 miembros en humanos (Cullins 1, 2, 3, 4A, 4B, 5, 7 y 9). Las ligas ubiquitin Cullin-RING son ligas ubiquitin E3 multi-subunidad que utilizan un Cullin específico como andamio para acercar una enzima E2 cargada con ubiquitina a una proteína objetivo permitiendo que ocurra la poliubiquitinación. Todos los Cullins se asocian con una proteína RING a través de su dominio C-terminal y la región N-terminal recluta una amplia variedad de proteínas receptoras que confieren especificidad de sustrato. CUL3 es única en su forma, ya que interactúa con proteínas BTB (broad-complex, Tramtrack, Bric-a-brac) que sirven como adaptadores y receptores de sustratos. Se ha demostrado que CUL3 juega un papel importante en el sistema cardiovascular, específicamente en la regulación de la presión arterial.

Mecanismos Renales de Control de la Presión Arterial de Cullin 3

El papel renal de CUL3 se derivó de un estudio de secuenciación completa del exoma de pacientes con hipertensión familiar hiperkalemica (FHHT; también conocido como síndrome de Gordon o pseudohipoaldosteronismo tipo II). Las principales características de FHHT incluyen hiperpotasemia, hipercloremia, acidosis metabólica e hipertensión, con un mecanismo principal de aumento de la activación del cotransportador de NaCl (NCC) en el nefrón distal. Ahora sabemos que FHHT resulta de mutaciones en los genes de las quinasas WNK (with-no-lysine [K]), WNK1 y WNK4, junto con CUL3 y el adaptador de sustrato KLHL3 (Kelch-like 3). Las mutaciones en WNK4 causan FHHT al comprometer la formación de complejos CUL3, ya sea a través de interacciones WNK4-KLHL3 o KLHL3-CUL3. Se cree que las mutaciones en WNK1 que llevan a la expresión ectópica de WNK1 a lo largo del túbulo contorneado distal aumentan la abundancia de la forma activa de la quinasa de longitud completa de WNK1, dejándola relativamente insensible a la vía CUL3. Separadamente, las mutaciones en CUL3 que causan FHHT resultan en la pérdida del exón 9 durante el empalme y esto lleva a la formación de proteínas CUL3 con una delección de 57 aminoácidos ($\Delta 403-459$, CUL3 $\Delta 9$). El CUL3 $\Delta 9$ interfiere con CUL3 de tipo salvaje y agota el adaptador de sustrato KLHL3, lo que lleva a la acumulación de proteínas objetivo. Esto resulta en un aumento de las quinasas WNK en el túbulo contorneado distal que promueven la activación de NCC y la reabsorción de sodio. La función adecuada de la vía CUL3 es contrarrestar esto al dirigir las quinasas WNK para la degradación proteasómica. Juntas, estas complejas son una parte integral de la vía de señalización del nefrón renal que mantiene la reabsorción de sodio renal bajo control, regulando así la presión arterial.

Papel Extrarrenal de Cullin 3 en la Hipertensión

Los ratones portadores de mutaciones de CUL3 que causan hipertensión en humanos revelaron que CUL3 renal y vascular pueden regular de manera independiente la presión arterial, pero la forma más grave de FHHT fue causada por mutaciones en CUL3 que afectan el mecanismo de la función adecuada del músculo liso vascular y la función endotelial.

Las mutaciones CUL3 $\Delta 9$ en células de músculo liso (S-CUL3 $\Delta 9$) demostraron aumentar la hipertensión, pareciéndose al fenotipo de FHHT sin anomalías electrolíticas. Los ratones S-CUL3 $\Delta 9$ demostraron una prevalencia y función disminuidas de CUL3 de tipo salvaje endógeno. Esto redujo la ubiquitinación y degradación de RhoA, aumentando así la actividad de RhoA y la regulación positiva de la vía de señalización RhoA/Rho cinasa. Dado que la vía de RhoA es necesaria para la contracción del músculo liso vascular, esto lleva a un aumento en el tono vascular basal en este modelo. Otro estudio mostró que los ratones transgénicos que llevan una mutación humana que causa hipertensión en PPAR γ (P467L) selectivamente en células de músculo liso vascular exhibieron hipertensión, parcialmente debido a una disminución en la expresión de CUL3 y un aumento en la actividad de RhoA/Rho cinasa.

La vía de señalización RhoA/Rho cinasa también estaba elevada en la aorta de ratones que llevan una delección condicional de CUL3 en células de músculo liso (S-CUL3KO). La vasorrelajación dependiente de cGMP estaba afectada en estos ratones S-CUL3KO debido a la disminución de la producción de cGMP.

Además, se demostró que CUL3 promueve la degradación de PDE5; por lo tanto, su acumulación llevó a una vasodilatación deficiente. Las señales de PDE5 mediadas por CUL3 interrumpieron el delicado equilibrio entre vasoconstricción y vasodilatación, promoviendo la hipertensión. Un estudio separado reveló que las mutaciones CUL3 Δ 9 en células endoteliales (E-CUL3 Δ 9) llevaron a una disminución en la producción de óxido nítrico y disfunción endotelial, ambas a través de mecanismos dependientes de PP2A. Juntas, estas alteraciones resultaron en una vasodilatación dependiente del endotelio disminuida. Este estudio amplió nuestra comprensión de CUL3 en la vasculatura. La interferencia genética específica de CUL3 en células endoteliales vasculares fue suficiente para aumentar la sensibilidad a la sal de manera dependiente del sexo. Las hembras, pero no los machos, ratones E-CUL3 Δ 9 mostraron un aumento en la sensibilidad a la sal de la presión arterial. El hecho de que los ratones mutantes de CUL3 exhiban disfunción vascular y endotelial y hipertensión inducida por sal de manera específica al sexo es intrigante y clínicamente relevante.

Conclusión

Los mecanismos basados en ubiquitina son importantes en la regulación de la función vascular y el control de la presión arterial. Hay evidencia convincente de que CUL3 renal y del músculo liso vascular son reguladores separados de la presión arterial. CUL3 promueve la excreción adecuada de sodio distal, así como el tono vascular. Los datos sugieren que estas vías están perfectamente situadas para ayudar a aliviar tanto los mecanismos centrados en la vascular como en el renal de la hipertensión. Comprender mejor la espacialidad y la especificidad de cómo funciona CUL3, sus proteínas objetivo y los adaptadores de sustrato es necesario para identificar mejores opciones terapéuticas novedosas para la hipertensión.

Referencias:

Boyden LM, Choi M, Choate KA, Nelson-Williams CJ, Farhi A, Toka HR, Tikhonova IR, Bjornson R, Mane SM, Colussi G, Lebel M, Gordon RD, Semmekrot BA, Poujol A, Valimaki MJ, De Ferrari ME, Sanjad SA, Gutkin M, Karet FE, Tucci JR, Stockigt JR, Keppler-Noreuil KM, Porter CC, Anand SK, Whiteford ML, Davis ID, Dewar SB, Bettinelli A, Fadrowski JJ, Belsha CW, Hunley TE, Nelson RD, Trachtman H, Cole TR, Pinski M, Bockenhauer D, Shenoy M, Vaidyanathan P, Foreman JW, Rasoulpour M, Thameem F, Al-Shahrouri HZ, Radhakrishnan J, Gharavi AG, Goilav B, Lifton RP. Mutations in kelch-like 3 and cullin 3 cause hypertension and electrolyte abnormalities. *Nature* 482, 98-102 (2012).

Pelham CJ, Ketsawatsomkron P, Groh S, Grobe JL, de Lange WJ, Ibeawuchi SR, Keen HL, Weatherford ET, Faraci FM, Sigmund CD. Cullin-3 regulates vascular smooth muscle function and arterial blood pressure via PPAR γ and RhoA/Rho-kinase. *Cell Metab* 16, 462-472 (2012).

McCormick JA, Yang CL, Zhang C, Davidge B, Blankenstein KI, Terker AS, Yarbrough B, Meermeier NP, Park HJ, McCully B, West M, Borschewski A, Himmerkus N, Bleich M, Bachmann S, Mutig K, Argaiz ER, Gamba G, Singer JD, Ellison DH. Hyperkalemic hypertension-associated cullin 3 promotes WNK signaling by degrading KLHL3. *J Clin Invest* 124, 4723-4736 (2014).

Wu J, Fang S, Lu KT, Kumar G, Reho JJ, Brozoski DT, Otanwa AJ, Hu C, Nair AR, Wackman KK, Agbor LN, Grobe JL, Sigmund CD. Endothelial Cullin3 Mutation Impairs Nitric Oxide-Mediated Vasodilation and Promotes Salt-Induced Hypertension. *Function (Oxf)* 3, zqac017 (2022).