



# VNiVERSiDAD D SALAMANCA

---

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA Y  
FARMACOLOGÍA**

**TESIS DOCTORAL**

---

## **PAPEL DEL RECEPTOR ALK-1 EN LA HOMEOSTASIS CARDIOVASCULAR**

**MARÍA GONZÁLEZ NÚÑEZ**

Salamanca, 14 de Septiembre de 2013



**UNIVERSIDAD DE SALAMANCA**

---

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y  
FARMACOLOGÍA**

**PAPEL DEL RECEPTOR ALK-1  
EN LA HOMEOSTASIS  
CARDIOVASCULAR**

Memoria presentada por **María González Núñez**

para optar al Grado de Doctor de la

Universidad de Salamanca

Salamanca, a 12 de Julio de 2013

Fdo. María González Núñez



LA DOCTORA DÑA. MARÍA JESÚS MONTE RÍO, DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

**CERTIFICA:**

Que el presente trabajo, elaborado por la Lda. en Biología y Bioquímica Dña. **María González Núñez** para optar al Grado de Doctor, con el título **“PAPEL DEL RECEPTOR ALK-1 EN LA HOMEOSTASIS CARDIOVASCULAR”**, ha sido realizado bajo la dirección de los Doctores D. José Miguel López Novoa y D. Fernando Pérez Barriocanal , en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, expide y firma el presente certificado en Salamanca, a 12 de Julio de 2013.

Fdo.: Dra. Dña. María Jesús Monte RÍo



LOS DOCTORES **D. JOSÉ MIGUEL LÓPEZ NOVOA** Y **D. FERNANDO PÉREZ BARRIOCANAL**, CATEDRÁTICOS DE FISIOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA,  
**CERTIFICAN:**

Que el presente trabajo, titulado **“PAPEL DEL RECEPTOR ALK-1 EN LA HOMEOSTASIS CARDIOVASCULAR”**, presentado por la Licenciada en Biología y Bioquímica Dña. María González Núñez para optar al Grado de Doctor, ha sido realizado bajo su dirección en el Área de Fisiología del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Salamanca, consideran que cumple las condiciones necesarias y autorizan su presentación con el fin de que pueda ser defendido ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, expiden y firman el presente certificado en Salamanca, a 12 de Julio de 2013.

Fdo:Dr. D. José M. López Novoa

Fdo: Dr. D. Fernando Pérez Barriocanal





Esta Tesis Doctoral ha sido financiada con las siguientes ayudas:

- **Contrato de personal investigador** en la Universidad de Salamanca a cargo de la RED-IN-REN, dentro de las redes de excelencia del Instituto de Salud Carlos III.
- **Beca predoctoral de Formación en Investigación en Salud (PFIS)** del Instituto de Salud Carlos III.



# *Índices*

---

---



Índice	I
Índice de figuras	VII
Índice de tablas	XIII
Abreviaturas	XVII
<b>Introducción</b>	<b>1</b>
<b>1. Sistema circulatorio</b>	<b>3</b>
1.1. Corazón	3
1.2. Fisiología de los vasos	4
<b>2. Componentes de los vasos sanguíneos: endotelio y músculo liso vascular</b>	<b>5</b>
2.1. Endotelio	5
2.2. Músculo liso vascular	8
<b>3. Presión arterial</b>	<b>9</b>
3.1. Regulación de la presión arterial	11
3.1.1. Control neurogénico	11
3.1.2. Control hormonal	12
<b>4. Regulación del tono vascular</b>	<b>12</b>
4.1. Factores intrínsecos de los vasos	15
4.1.1. Óxido nítrico	15
4.1.2. Prostanoides	15
4.1.3. Factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF)	21
4.1.4. Endotelina (ET-1)	21
4.1.5. Radicales libres de oxígeno (ROS)	23
4.2. Factores extrínsecos de los vasos	23
4.2.1. Sistema renina-angiotensina-aldosterona	23
4.2.2. Catecolaminas	25
4.2.3. Vasopresina u hormona antidiurética (ADH)	26
4.2.4. Péptido natriurético auricular (PNA)	26
<b>5. El factor de crecimiento transformante <math>\beta</math>1</b>	<b>27</b>
5.1. La superfamilia de TGF- $\beta$	27
5.2. Receptores de TGF- $\beta$	28

5.3. Las proteínas Smads	29
5.4. Vía de señalización de TGF- $\beta$ 1	30
5.5. Proteínas morfogénicas del hueso (BMPs)	32
<b>6. Activin receptor-like kinase 1 (ALK-1)</b>	<b>33</b>
6.1. Estructura de ALK-1	34
6.2. Características génicas	35
6.3. Distribución tisular de ALK-1	36
6.4. Interacciones con ligandos y otras proteínas	37
6.5. Regulación de la actividad de ALK-1	38
<b>7. ALK-1 y homeostasis cardiovascular</b>	<b>40</b>
7.1. ALK-1 en células de músculo liso vascular	40
7.2. ALK-1 en células endoteliales: angiogénesis y reparación vascular	41
7.2.1. ALK-1 y BMP-9/BMP-10 en células endoteliales	42
7.3. ALK-1 y remodelado cardiovascular	44
7.4. ALK-1 y fibrosis vascular	46
<b>8. ALK-1 en enfermedades cardiovasculares</b>	<b>47</b>
8.1. Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (HHT)	47
8.2. Hipertensión arterial pulmonar primaria	50
8.3. Arterioesclerosis	52
8.4. Malformaciones arteriovenosas (AVMs)	54
<b>9. ALK-1 en el sistema nervioso central</b>	<b>57</b>
9.1. Diferenciación y el mantenimiento del fenotipo colinérgico	57
<b>Objetivos</b>	<b>61</b>
<b>Material y Métodos</b>	<b>65</b>
<b>1. Ratones heterocigotos de ALK-1 (<i>ALK-1</i><sup>+/-</sup>)</b>	<b>67</b>
1.1. Mantenimiento y manipulación de los animales	67
1.2. Genotipado de los ratones	68
<b>2. Técnicas experimentales con animales</b>	<b>68</b>
2.1. Telemetría	68

2.1.1. Sistema de adquisición de datos	70
2.1.2. El transmisor TA11PA-C10	71
2.1.3. Procedimiento quirúrgico	72
2.1.4. El transmisor de electrocardiograma (TA10ETA-F20)	76
2.1.5. Implantación del transmisor de ECG	77
2.2. Método de medida de presión en la cola	79
2.3. Ecocardiografías	81
2.4. Estudios agudos por canulación directa	83
2.5. Estudios agudos <i>ex vivo</i> (perfusión de las patas traseras)	85
2.6. Estudios <i>ex vivo</i> con anillos aórticos	86
2.7. Inyecciones intracerebroventriculares. Técnica estereotáctica	88
2.8. Demostración inmunohistoquímica de la enzima Colina Acetiltransferasa (ChAT)	92
2.9. Estudios de isquemia-reperfusión	95
<b>3. Determinaciones Bioquímicas</b>	<b>98</b>
3.1. Determinación de nitritos	98
3.2. Determinación de la Creatinina y Aclaramiento de Creatinina	98
3.3. Determinación de proteínas en orina	99
3.4. Determinación de actividades enzimáticas	99
3.4.1. Determinación de la actividad enzimática de la ECA	99
3.4.2. Determinación de la actividad enzimática de la ECE-1	100
3.4.3. Determinación de la actividad de la enzima Catalasa	100
<b>4. Técnica de ELISA</b>	<b>101</b>
<b>5. Medida de estrés oxidativo</b>	<b>102</b>
5.1. Medida de la peroxidación lipídica	102
5.2. Medida de la nitrosilación proteica	103
5.3. Medida del daño oxidativo del ADN	104
5.4. Determinación del Peróxido de Hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	104
<b>6. Análisis de la expresión de proteínas</b>	<b>105</b>
6.1. Obtención de extractos de proteínas a partir de tejido	105
6.2. Obtención de extractos de proteínas celulares	105
6.3. Cuantificación de proteínas	105

6.4. Determinación de la expresión de proteínas: Western Blot	106
<b>7. Análisis del nivel de expresión génica</b>	<b>108</b>
7.1. A partir de cultivos celulares	108
7.2. A partir de tejido	108
7.3. Obtención de cDNA	108
7.4. PCR semicuantitativa	108
7.5. PCR cuantitativa	109
<b>8. Histología</b>	<b>110</b>
8.1. Tinción con Hematoxilina-Eosina	111
8.2. Tinción con Tricrómico de Masson	111
<b>9. Cultivos celulares</b>	<b>111</b>
9.1. Cultivo primario de células endoteliales de pulmón	111
9.1.1. Extracción y digestión de los pulmones	112
9.1.2. Retirada de eritrocitos y de macrófagos del cultivo	112
9.1.3. Selección de células endoteliales	114
9.1.4. Seguimiento y condiciones del cultivo	116
<b>10. Análisis estadístico</b>	<b>116</b>
<b>Resultados y Discusión</b>	<b>119</b>
<b>1. Estudio de la expresión de ALK-1</b>	<b>121</b>
<b>2. Estudio de la presión arterial y la función cardiaca</b>	<b>124</b>
2.1. Presión arterial y frecuencia cardiaca basal	124
2.2. Estudio de la actividad motora	125
2.3. Estudio del Ritmo Circadiano de la Presión arterial	127
2.4. Electrocardiograma y ecocardiografía basal	130
<b>3. Estudio de la función renal</b>	<b>134</b>
<b>4. Estudio de mecanismos vasodilatadores y vasoconstrictores</b>	<b>135</b>
4.1. Mecanismo de regulación mediado por óxido nítrico (NO)	135
4.1.1. Tratamiento crónico con L-NAME	139
4.1.2. Análisis del contenido de eNOS y COX-2 por Western Blot	143



4.1.3. Evaluación de la excreción renal de nitritos	145
4.1.4. Estudios ex vivo con anillos aórticos: ruta del NO	145
4.2. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona periférico	148
4.2.1. Tratamiento con el agonista: Angiotensina II	149
4.2.2. Inhibición de la ECA	153
4.2.3. Inhibición de los receptores AT-1	154
4.2.4. Análisis de los niveles plasmáticos basales de Ang II y de Renina	155
4.2.5. Análisis del contenido de receptores AT-1	156
4.2.6. Análisis de la actividad de la ECA en tejido pulmonar y renal	158
4.3. Estudio del sistema renina-angiotensina cerebral	161
4.4. Control de la PA por el sistema nervioso simpático autónomo	164
4.5. Papel del estrés oxidativo	170
4.5.1. Estrés oxidativo periférico	171
4.5.1.1. Marcadores de estrés oxidativo	172
4.5.2. Estrés oxidativo central	176
4.6. Sistema Endotelina 1 (ET-1)	179
4.6.1. Administración del agonista: ET-1	180
4.6.2. Inhibición de los receptores de endotelina: tratamiento con Bosentán	185
4.6.3. Análisis de los niveles plasmáticos basales de ET-1	186
4.6.4. Análisis de la expresión de Prepro-endotelina 1	187
4.6.5 Análisis de la expresión de la Enzima Conversora de Endotelina 1 (ECE-1)	188
4.6.6 Análisis de la actividad de la ECE-1 en tejido pulmonar	189
4.6.7 Análisis del contenido en receptores ET-A y ET-B	190
4.7. Relación de TGF- $\beta$ y BMP-9 con Endotelina 1	192
4.7.1. Estudios in vitro en células MLEC	193
4.7.1.1. Efecto de TGF- $\beta$ 1	196
4.7.1.2. Efecto de BMP-9	199
4.7.1.3. Activación de las R-Smads	202
<b>5. TGF-<math>\beta</math> y BMP-9 en la señalización neuronal: Papel de ALK-1</b>	<b>205</b>
<b>6. Estudio de la angiogénesis <i>in vivo</i>.</b>	<b>211</b>

<b>Discusión final</b>	<b>217</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>223</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>227</b>
<b>Anexos</b>	<b>263</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema del sistema circulatorio	4
<b>Figura 2.</b> Composición de la pared de los vasos sanguíneos	5
<b>Figura 3.</b> Esquema de los mecanismos reguladores de la presión arterial	14
<b>Figura 4.</b> Síntesis de las distintas sustancias vasoactivas derivadas del ácido araquidónico	18
<b>Figura 5.</b> Mediadores moleculares de la vía de señalización de algunos miembros de la superfamilia del TGF- $\beta$	28
<b>Figura 6.</b> Esquema de la señalización de TGF	□ a tra 31
<b>Figura 7.</b> Representación esquemática de la estructura de ALK-1	34
<b>Figura 8.</b> Representación esquemática del gen <i>ACVRL1</i> y su composición en exones	36
<b>Figura 9.</b> Representación esquemática de la vía de señalización a través de ALK-1	44
<b>Figura 10.</b> Telangiectasias en pacientes con HHT	49
<b>Figura 11.</b> La Hipertensión arterial pulmonar	50
<b>Figura 12.</b> Formación de la placa de ateroma	53
<b>Figura 13.</b> Malformaciones arteriovenosas	56
<b>Figura 14.</b> Genotipado de los ratones heterocigotos	68
<b>Figura 15.</b> Fotografía del equipo de telemetría	69
<b>Figura 16.</b> Esquema representativo del sistema de telemetría	70
<b>Figura 17.</b> Procedimiento quirúrgico para la implantación del transmisor TA11PA-C10 en la carótida izquierda	74
<b>Figura 18.</b> Vista ventral de un ratón anestesiado después de la implantación quirúrgica del transmisor de telemetría TA11PAC10	75
<b>Figura 19.</b> Esquema del proceso de implantación del transmisor de ECG (TA10ETA-F20)	78
<b>Figura 20.</b> Fotografía del equipo NIPREM 1.5	79
<b>Figura 21.</b> Imagen de la pantalla de registro de presión medida en cola	80
<b>Figura 22.</b> Equipo de ultrasonido cardiaco Vivid 7 (GE Medical Systems)	82

<b>Figura 23.</b> Imagen del Biopac Systems Inc. MP150	83
<b>Figura 24.</b> Registro PA y FC obtenido con el programa Acqknowledge 4.1, a través del sistema Biopac Systems Inc. MP150	84
<b>Figura 25.</b> Esquema del mecanismo de perfusión de las patas traseras en los estudios agudos <i>ex vivo</i>	85
<b>Figura 26.</b> Estudios con anillos aórticos	87
<b>Figura 27.</b> Imagen del miógrafo de alambre Sistema de Multi Miografía 620 M	88
<b>Figura 28.</b> Estudios estereotáticos	89
<b>Figura 29.</b> Aparato estereotático	92
<b>Figura 30.</b> Esquema de método inmunohistoquímico indirecto que emplea el sistema ABC, usado para demostrar la presencia de la enzima ChAT	94
<b>Figura 31.</b> Imágenes representativas de neuronas ChAT-ir positivas	95
<b>Figura 32.</b> Ligadura de la arteria femoral derecha	96
<b>Figura 33.</b> Imagen del sistema de medida de flujo sanguíneo por Láser Doppler (Laser Doppler Moor LDLS)	97
<b>Figura 34.</b> Retirada de macrófagos: cultivo de células endoteliales	114
<b>Figura 35.</b> Selección positiva de células endoteliales	115
<b>Figura 36.</b> Determinación de ALK-1 por Western blot en tejido pulmonar	121
<b>Figura 37.</b> Determinación de la expresión de ALK-1 por PCR en tejido pulmonar	122
<b>Figura 38.</b> Determinación de ALK-5 y Endogлина por western blot en tejido pulmonar	122
<b>Figura 39.</b> Determinación de la expresión de ALK-5 y Endogлина por PCR en tejido pulmonar.	123
<b>Figura 40.</b> Valores basales de presión arterial y frecuencia cardiaca	124
<b>Figura 41.</b> Registro de 24 horas de la actividad motora	126
<b>Figura 42.</b> Ritmo circadiano de la presión arterial	128
<b>Figura 43.</b> Ritmo circadiano de la frecuencia cardiaca	129
<b>Figura 44.</b> Electrocardiograma	131
<b>Figura 45.</b> Ecocardiografía basal realizada en modo M en ratones	131
<b>Figura 46.</b> Histología del corazón	133

<b>Figura 47.</b> Estudio de la función renal	134
<b>Figura 48.</b> Proteinuria en condiciones basales	135
<b>Figura 49.</b> Mecanismo de regulación mediado por NO	136
<b>Figura 50.</b> Administración intraperitoneal de Ach	137
<b>Figura 51.</b> Administración intraperitoneal de nitroprusiato	137
<b>Figura 52.</b> Imagen representativa del efecto de la administración intraperitoneal de nitroprusiato sobre la PA y la FC medido por telemetría	138
<b>Figura 53.</b> Administración intraperitoneal de L-NAME	139
<b>Figura 54.</b> Tratamiento crónico con L-NAME	140
<b>Figura 55.</b> Efecto del tratamiento crónico con L-NAME sobre el peso del corazón	141
<b>Figura 56.</b> Histología del corazón tras un tratamiento crónico con L-NAME	142
<b>Figura 57.</b> Determinación de eNOS y COX-2 mediante Western blot en tejido pulmonar	144
<b>Figura 58.</b> Excreción renal de nitritos	145
<b>Figura 59.</b> Estudio <i>ex vivo</i> con anillos aórticos: respuesta a KCL	146
<b>Figura 60.</b> Estudio <i>ex vivo</i> con anillos aórticos: respuesta a Ach	146
<b>Figura 61.</b> Estudio <i>ex vivo</i> con anillos aórticos: respuesta a nitroprusiato	147
<b>Figura 62.</b> Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona	149
<b>Figura 63.</b> Administración intraperitoneal de AngII	150
<b>Figura 64.</b> Administración intraperitoneal de AngII a la mayor dosis empleada	151
<b>Figura 65.</b> Administración intravenosa de AngII	151
<b>Figura 66.</b> Estudio <i>ex vivo</i> de perfusión de las extremidades posteriores: AngII	152
<b>Figura 67.</b> Estudio <i>ex vivo</i> con anillos aórticos: respuesta a AngII	153
<b>Figura 68.</b> Administración de Captopril en agua de bebida	153
<b>Figura 69.</b> Administración de Losartán en agua de bebida	154
<b>Figura 70.</b> Administración intraperitoneal de Losartán	155
<b>Figura 71.</b> Niveles plasmáticos basales de Angiotensina II y de Renina	156

<b>Figura 72.</b> Análisis del contenido de receptores AT-1 por western blot en tejido pulmonar	157
<b>Figura 73.</b> Determinación de la expresión de receptores AT-1 en tejido pulmonar	158
<b>Figura 74.</b> Actividad enzimática de la ECA en pulmón y riñón	159
<b>Figura 75.</b> Inyección intracerebroventricular de Losartán	161
<b>Figura 76.</b> Inyección intracerebroventricular de AngII (0,06 µl/min)	161
<b>Figura 77.</b> Inyección intracerebroventricular de AngII (0,20 µl/min)	163
<b>Figura 78.</b> Niveles plasmáticos basales de Adrenalina y Noradrenalina	165
<b>Figura 79.</b> Administración de Atenolol y Prazosina en agua de bebida	166
<b>Figura 80.</b> Administración intraperitoneal de Atenolol	167
<b>Figura 81.</b> Administración intraperitoneal de Prazosina	167
<b>Figura 82.</b> Administración intraperitoneal de Hexametonio	168
<b>Figura 83.</b> Estudio <i>ex vivo</i> con anillos aórticos: Respuesta a fenilefrina	169
<b>Figura 84.</b> Estudio <i>ex vivo</i> con anillos aórticos a dosis crecientes de fenilefrina	169
<b>Figura 85.</b> Tratamiento con Tempol en agua de bebida	171
<b>Figura 86.</b> Tratamiento con Mito-Tempo mediante bombas de infusión	171
<b>Figura 87.</b> Excreción urinaria de TBARS y de 8-iso-PGF2α	172
<b>Figura 88.</b> Niveles de TBARS en tejido renal	173
<b>Figura 89.</b> Niveles plasmáticos de Nitrotirosina	173
<b>Figura 90.</b> Niveles urinarios de 8-OH-Guanosina	174
<b>Figura 91.</b> Niveles de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> en tejido pulmonar, renal y vasculatura esplácnica	174
<b>Figura 92.</b> Actividad de la enzima Catalasa en tejido pulmonar y renal	175
<b>Figura 93.</b> Inyección intracerebroventricular de Tempol	177
<b>Figura 94.</b> Inyección intracerebroventricular de Apocinina	178
<b>Figura 95.</b> Inyección intracerebroventricular de AngII y Apocinina	178
<b>Figura 96.</b> Vía de señalización de la Endotelina 1	180
<b>Figura 97.</b> Administración intraperitoneal de Endotelina 1	181

<b>Figura 98.</b> Cambio máximo en PAS tras la administración de Endotelina 1	182
<b>Figura 99.</b> Administración intravenosa de Endotelina 1	183
<b>Figura 100.</b> Cambio en la RV en respuesta a la administración intravenosa de Endotelina 1	184
<b>Figura 101.</b> Estudio <i>ex vivo</i> con anillos aórticos: Respuesta a Endotelina 1	185
<b>Figura 102.</b> Tratamiento con Bosentán en agua de bebida	186
<b>Figura 103.</b> Niveles plasmáticos basales de Endotelina 1	186
<b>Figura 104.</b> Determinación de la expresión de prepro-Endotelina 1 en tejido pulmonar por PCR	187
<b>Figura 105.</b> Determinación de la expresión de ECE-1 en tejido pulmonar por PCR	188
<b>Figura 106.</b> Actividad de ECE-1	189
<b>Figura 107.</b> Determinación de los receptores ET-A y ET-B mediante Western blot	190
<b>Figura 108.</b> Determinación de la expresión de ETA por PCR	191
<b>Figura 109.</b> Niveles plasmáticos basales de TGF- $\beta$ 1	192
<b>Figura 110.</b> Niveles plasmáticos basales de BMP-9	193
<b>Figura 111.</b> Células endoteliales microvasculares de pulmón (MLEC)	194
<b>Figura 112.</b> Expresión de PECAM-1 y VCAM-1 en células MLEC	194
<b>Figura 113.</b> Inmunocitoquímica de ICAM-2 en células MLEC	195
<b>Figura 114.</b> Células MLEC formando estructuras similares a capilares en Matrigel®	195
<b>Figura 115.</b> Expresión de ALK-1 en células MLEC	196
<b>Figura 116.</b> Efecto de TGF- $\beta$ 1 sobre la expresión de ALK-1 en células MLEC	196
<b>Figura 117.</b> Efecto de TGF- $\beta$ 1 sobre la expresión de prepro-Endotelina 1 en células MLEC	197
<b>Figura 118.</b> Efecto de TGF- $\beta$ 1 sobre la expresión de ECE-1 en células MLEC	198
<b>Figura 119.</b> Efecto de TGF- $\beta$ 1 sobre la expresión de ALK-5 en células MLEC	198
<b>Figura 120.</b> Efecto de BMP-9 sobre la expresión de prepro-Endotelina 1 en células MLEC	201
<b>Figura 121.</b> Efecto de BMP-9 sobre la expresión de ECE-1 en células MLEC	200
<b>Figura 122.</b> Efecto de BMP-9 sobre la expresión de ALK-1 en células MLEC	200

<b>Figura 123.</b> Efecto de TGF- $\beta$ 1 y BMP-9 sobre la expresión de prepro-Endotelina 1 en células MLEC	201
<b>Figura 124.</b> Efecto del tratamiento con TGF- $\beta$ 1 y BMP-9 sobre la síntesis de Endotelina 1	202
<b>Figura 125.</b> Efecto del tratamiento con TGF- $\beta$ 1 y BMP-9 sobre la activación de las R-Smads 1 y 2	203
<b>Figura 126.</b> Recuento de neuronas ChAT-ir	206
<b>Figura 127.</b> Microfotografías de cerebro basal anterior inmunoteñido contra la enzima ChAT	207
<b>Figura 128.</b> Microfotografías de cerebro basal anterior de un animal <i>ALK-1<sup>+/-</sup></i>	208
<b>Figura 129.</b> Evolución de la perfusión tisular tras isquemia femoral	212
<b>Figura 130.</b> Evolución de la perfusión tisular tras isquemia femoral previo tratamiento con L-NAME	213
<b>Figura 131.</b> Comparativa del efecto del tratamiento con L-NAME sobre la evolución de la perfusión tisular tras isquemia femoral	214



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Transmisor de presión arterial TA11PA-C10 y sus características	71
<b>Tabla 2.</b> Material quirúrgico empleado para el proceso de implantación del transmisor de telemetría	73
<b>Tabla 3.</b> Características del transmisor de ECG TA10ETA-F20 e imagen del transmisor empleado en nuestros estudios	77
<b>Tabla 4.</b> Fármacos, dosis y condiciones de las inyecciones intracerebroventriculares	91
<b>Tabla 5.</b> ELISAs empleados para determinaciones en plasma u orina	102
<b>Tabla 6.</b> Anticuerpos primarios utilizados en Western Blot	106
<b>Tabla 7.</b> Anticuerpos secundarios utilizados en Western Blot	107
<b>Tabla 8.</b> Cebadores y condiciones de PCR	109
<b>Tabla 9.</b> Composición detallada de las soluciones necesarias en la selección negativa	113
<b>Tabla 10.</b> Composición detallada de las soluciones necesarias en la selección positiva	115
<b>Tabla 11.</b> Datos de las ecocardiografías basales de los ratones <i>ALK-1<sup>+/+</sup></i> y <i>ALK-1<sup>+/-</sup></i>	132
<b>Tabla 12.</b> Ecocardiografía tras tratamiento con L-NAME	141



# *Abreviaturas*

---

---



- Ach:** Acetilcolina
- ADH:** Hormona antidiurética (*Antidiuretic Hormone*)
- ADNc:** ADN complementario.
- ALK:** Quinasa similar al receptor de activina (*Activin receptor-Like Kinase*)
- AMH:** Hormona antimulleriana (*Anti-Mullerian hormone*)
- AMPc:** Adenosín 3', 5' monofosfato cíclico
- Ang II:** Angiotensina II
- ARNm:** Ácido ribonucleico mensajero
- AVM:** Malformaciones arteriovenosas (*Arterio-Venous Malformations*)
- BAEC:** Células endoteliales aórticas bovinas (*Bovine Aortic Endothelial Cells*)
- BAVM:** Malformaciones arteriovenosas cerebrales (*Brain Arterio-Venous Malformations*)
- BMP:** Proteínas morfogénicas del hueso (*Bone Morphogenetic Proteins*)
- CaM:** Calmodulina
- CBA:** Prosencéfalo basal anterior
- CDK:** Kinasa dependiente de la ciclina (*Cyclin-dependent kinase*)
- CK2β:** Proteína caseína kinasa 2 beta
- CMLV:** Células de músculo liso vascular
- COX:** Ciclooxygenasa
- CTGF:** Factor de crecimiento de tejido conectivo (de *Connective Tissue Growth Factor*)
- ECA:** Enzima conversora de angiotensina
- ECE:** Enzima conversora de endotelina
- EDHF:** Factor hiperpolarizante derivado del endotelio (*Endothelium-derived Hyperpolarizing Factor*).
- EDRF:** Factor relajante derivado del endotelio (*Endothelium-derived Relaxing Factor*)
- eNOS/NOS3:** Óxido nítrico sintasa endotelial
- ET-1:** Endotelina 1
- FGF:** Factor de crecimiento de fibroblastos (*Fibroblast Growth Factor*)

**GAPDH:** Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (*Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*)

**GC:** Gasto cardiaco

**GDF:** Factor de crecimiento y diferenciación (*Growth and differentiation Factor*)

**GMPc:** Guanosín 3',5' monofosfato cíclico

**HAP:** Hipertensión arterial pulmonar primaria

**HASMC:** Células humanas de músculo liso de aorta (*Human Aortic Smooth Muscle Cells*)

**HDL:** Lipoproteínas de alta densidad (*High Density Lipoproteins*)

**HHT:** Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (*Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia*)

**HIF:** Factor inducible por hipoxia (*Hypoxia Inducible Factor*).

**HMEC:** Células epiteliales mamarias humanas (*Human Mammary Epithelial Cells*)

**HMVEC:** Células endoteliales microvasculares humanas (*Human Microvascular Endothelial Cells*)

**HPAEC:** Células endoteliales de arteria pulmonar humana (*Human Pulmonary Artery Endothelial Cells*)

**HTA:** Hipertensión arterial

**HUVEC:** Cultivo primario de células endoteliales humanas derivadas de la vena umbilical humana (*Human Umbilical Vein Endothelial Cells*).

**ICAM:** Molécula de adhesión intercelular (*Intercellular Adhesion Molecule*)

**IL:** Interleucina

**IP<sub>3</sub>:** Inositol 3 fosfato

**KDa:** Kilo daltons

**KLF:** Factor similar a Krüppel (*Krüppel Like Factor*)

**LDL:** Lipoproteínas de baja densidad (*Low Density Lipoproteins*).

**L-NAME:** N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginina-metil-ester

**LPS:** Lipopolisacárido

**MAEC:** Células endoteliales aórticas murinas (*Mouse Aortic Endothelial Cells*)

**MAPK:** Proteínas quinasas activadas por mitógenos (*Mitogen-activated protein kinase*)

**MEC:** Matriz extracelular

**MGP:** Proteínas Gla de la matriz (*Matrix Gla Protein*)

- ML:** Músculo liso
- MLEC:** Células endoteliales de pulmón de ratón (*Mouse Lung Endothelial Cells*)
- MLV:** Músculo liso vascular
- NA:** Noradrenalina
- NES:** Señal de exportación nuclear (*Nuclear Export Signal*)
- NF-κB:** Factor nuclear κB
- NGF:** Factor de crecimiento nervioso (*Nerve growth factor*)
- NLS:** Secuencia de localización nuclear (*Nuclear Localization Sequence*)
- NO:** Óxido nítrico (*Nitric Oxide*)
- PA:** Presión arterial
- PAD:** Presión arterial diastólica
- PAF:** Factor activador de las plaquetas
- PAI:** Inhibidor del activador del plasminógeno (*Plasminogen activator inhibitor-1*)
- PAM:** Presión arterial media
- PAS:** Presión arterial sistólica
- PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa
- PDGF:** Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (*Platelet derived growth factor*)
- PG:** Prostaglandina
- PGI<sub>2</sub>:** Prostaciclina
- PKA:** Proteína quinasa dependiente de AMPc
- PKG:** Proteína quinasa dependiente de GMPc
- PL:** Fosfolipasa
- PNA:** Péptido natriurético atrial
- RGM:** Moléculas de orientación repulsiva (*Repulsive Guidance Molecules*)
- RLO:** Radicales libres de oxígeno
- RS:** Retículo sarcoplásmico
- RV:** Resistencia vascular

**RVPu:** Resistencia vascular pulmonar

**SMADS:** *small mothers against decapentaplegic*

**SNV:** Sistema nervioso vegetativo

**SNVPS:** Sistema nervioso vegetativo parasimpático

**SNVS:** Sistema nervioso vegetativo simpático

**SRA:** Sistema renina-angiotensina

**siRNA:** pequeño ARN de interferencia (*small interference RNA*)

**RPS13:** Proteína Ribosomal S13 (*Ribosomal protein S13*)

**TAC:** Constricción aórtica torácica

**TGF- $\beta$ :** Factor de crecimiento transformante- $\beta$  (*Transformant Growth Factor- $\beta$* )

**TIMP:** Inhibidores tisulares de Metaloproteinasas (*Tissue Inhibitors of Metalloproteinases*)

**TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral (*Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* )

**t-PA:** Activador del plasminógeno tisular

**T $\beta$ RI:** Receptor tipo I de TGF- $\beta$

**T $\beta$ RII:** Receptor tipo II de TGF- $\beta$

**TXA:** Tromboxano

**VCAM:** Molécula de adhesión de células vasculares (*Vascular Cell Adhesion Molecule*)

**VEGF:** Factor de crecimiento del endotelio vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor*)

**VEGFR:** Receptor del Factor de crecimiento del endotelio vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*)

**VMC:** Células vasculares mesenquimales (*Vascular Mesenchymal Cells*)



# *Objetivos*

---

---



Como ya se mencionó en el apartado de Introducción, alteraciones en ALK-1 no sólo podrían afectar a la estructura de los vasos sino que también podrían alterar su fisiología. Sin embargo, hasta ahora no se ha descrito como la deficiencia en ALK-1 afecta a la regulación del tono vascular, a la actividad cardiovascular y a la angiogénesis en un modelo *in vivo*.

Por lo tanto, los objetivos que nos marcamos en nuestro estudio fueron los siguientes:

- 1. Analizar la implicación de la deficiencia de ALK-1 en rutas vasodilatadoras y vasoconstrictoras.**
  - 1.1. Estudiar la respuesta *in vivo* a distintos agentes vasoactivos en los ratones deficientes en ALK-1.
  - 1.2. Verificar si se obtiene esa misma respuesta cuando se realizan los experimentos *ex vivo* e *in vitro*.
  - 1.3. Establecer un modelo celular *in vitro* que nos permita profundizar en las diferencias observadas en esos ratones y estudiar la respuesta a los ligandos TGF- $\beta$  y BMP-9.
  - 1.4. Confrontar la respuesta cardiovascular de los ratones *ALK-1<sup>+/+</sup>* y *ALK-1<sup>-/-</sup>*.
  
- 2. Analizar el papel de ALK-1 en la angiogénesis estimulada en el adulto en un modelo *in vivo*.**
  - 2.1 En un modelo de *isquemia-reperfusión*



# *Discusión final*

---

---



En este trabajo hemos demostrado que los ratones heterocigotos de ALK-1 presentan niveles del receptor ALK-5 y el co-receptor Endoglin similares a los del grupo control. Estos animales muestran valores de PA más elevados, mientras que prácticamente no hay diferencias en la frecuencia cardiaca. El patrón circadiano de la PA de estos animales muestra un mantenimiento de la PA en valores altos en las horas del día de baja actividad, especialmente durante las primeras horas de la mañana, que recuerda a la situación que se observa en algunos humanos con hipertensión, los llamados “non-dippers”, en los que no se produce la caída fisiológica de la PA durante la noche, hecho que se correlaciona con un incremento en el daño en tejidos como el cerebral, el cardiaco, el vascular o el renal. Sin embargo, a las horas intermedias del día alcanzan valores similares a los ratones control. Hay que hacer notar que el perfil de actividad motora de estos animales es similar al del grupo control.

Los ECGs y ecocardiografías realizados a estos ratones revelaron que la haploinsuficiencia de ALK-1 no se asocia ni con alteraciones eléctricas en el corazón, ni con alteraciones en su función o arquitectura macroscópica, al menos en las edades en las que se han estudiado. No se encontraron diferencias entre los dos grupos en el contenido de creatinina en plasma, así como en el aclaramiento de creatinina y la excreción de proteínas en orina, por lo que tampoco la función renal parece estar comprometida en los ratones *ALK-1<sup>+/-</sup>*. Por todo ello, deducimos que estas diferencias de PA se explican por un aumento del tono vascular periférico.

La relajación mediada por NO no se encuentra alterada en los ratones heterocigotos de ALK-1, ya que ni su activación ni su inhibición produce en ellos efectos diferentes a los que se observan en los animales control, no siendo por lo tanto la deficiencia de NO o la resistencia de las células de músculo liso vascular a su acción los causantes de la elevada presión arterial de los ratones *ALK-1<sup>+/-</sup>*.

El sistema Renina-angiotensina periférico no parece tener un papel en la generación de la presión arterial más elevada en los ratones *ALK-1<sup>+/-</sup>*, pero sí podría tener un papel en su mantenimiento, ya que no se encuentra lo disminuido que correspondería a ese aumento de la PA. Por otro lado, el SRA también podría jugar un papel a nivel del sistema nervioso central, que podría contribuir al aumento de la presión arterial a través de la activación del SN Simpático, ya que estos animales presentan mayores niveles circulantes de catecolaminas y la presión arterial disminuye tras el bloqueo  $\beta$ -adrenérgico más de lo que lo hace en los animales control. La falta de diferencias en frecuencia cardiaca entre los animales controles y haploinsuficientes podría explicarse por el efecto reflejo que sobre la frecuencia cardiaca

hace la presión arterial (*Ferrari y cols., 1987*). Esta hiperactivación del SN Simpático podría estar estimulada por el sistema RAS cerebral a través de una mayor actuación sobre sus receptores AT-1 centrales, dado que el tratamiento con losartán intracerebroventricular produce una disminución en la PAS en los ratones *ALK-1<sup>+/-</sup>* que no se observa en los ratones control.

Los ratones *ALK-1<sup>+/-</sup>* de nuestro estudio presentan también mayores niveles de radicales libres en ciertos tejidos, como la acumulación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en el tejido pulmonar; sin embargo, a nivel hemodinámico global una mayor producción de ROS no es la responsable de la mayor presión arterial, ya que el tratamiento con tempol o apocinina no genera ningún efecto sobre la PA en ninguno de los grupos.

La deficiencia en ALK-1 provoca además una elevación en los niveles circulantes de TGF- $\beta$ 1 y un aumento de la síntesis de ET-1. Los niveles aumentados de ET-1 parecen jugar en papel en el aumento de presión arterial observada en los animales con deficiencia de ALK-1, ya que se observa por un lado, una menor respuesta de los ratones *ALK-1<sup>+/-</sup>* a la administración de ET-1 y, por otro, una mayor respuesta al bloqueo de sus receptores con bosentán. Los ratones *ALK-1<sup>+/-</sup>* muestran además una mayor actividad ECE-1, y un mayor número de receptores ET-A.

Nuestros resultados también demuestran en células endoteliales en cultivo procedentes de animales haploinsuficientes de ALK-1 un aumento de la producción de ET-1 en respuesta a TGF- $\beta$ 1 y BMP-9, y este efecto parece estar mediado por la vía Smad2/3. El nivel de expresión de ALK-1, ALK-5 o ECE-1 no se ve alterado tras el tratamiento con TGF- $\beta$ 1 en ningún caso, mientras que el tratamiento con BMP-9 ocasiona un incremento en la expresión de ALK-1. Los niveles basales de fosfo-Smad1 son inferiores en las células *ALK-1<sup>+/-</sup>* con respecto a las control, mientras que la exposición a TGF- $\beta$ 1 activa la vía de fosfo-Smad1 en ambos tipos celulares por igual. El tratamiento con BMP-9 induce también una ligera activación de la vía de forma similar. Los niveles basales de fosfo-Smad2 son similares entre los dos grupos y TGF- $\beta$ 1 induce claramente la activación de esta vía en ambos tipos celulares; sin embargo, la exposición a BMP-9 estimula la fosforilación de Smad2 de forma más clara en células *ALK-1<sup>+/-</sup>* que en las control. Por tanto, parece que la vía Smad2/3 se encuentra más activada en las células endoteliales deficientes en ALK-1, en detrimento de la vía de Smad1/5.

TGF- $\beta$ 1 induce la expresión de ET-1 fundamentalmente a través de la vía de ALK-5/Smad2/3 y esta vía se encuentra más activada en las células *ALK-1<sup>+/-</sup>*. Como se han observado niveles plasmáticos elevados de TGF- $\beta$ 1 en estos animales, ésta podría ser la



causa del incremento en los niveles de ET-1. Además, algunos estudios demuestran un papel de la noradrenalina como factor estimulador de la liberación de ET-1 en ciertos vasos (*Pagan y cols., 2012; Reid y cols., 1991*), por lo que podría estar contribuyendo también, junto con la acción de TGF- $\beta$ 1 sobre las células endoteliales, a su mayor producción, ya que también se han observado mayores niveles circulantes de NA en los ratones deficientes en ALK-1.

A nivel central, también se ha detectado en los animales haploinsuficientes de ALK-1 un menor número de neuronas colinérgicas en el prosencéfalo basal anterior, lo que podría estar relacionado con la hiperactivación simpática que muestran estos animales. Estudios más profundos en áreas de control cardiovascular de las poblaciones de neuronas colinérgicas nos podría revelar la posibilidad de que este fenómeno pudiese tener alguna relación con la alteración en la regulación de la PA de estos animales.

Para completar el estudio del fenotipo de nuestro modelo animal se llevó a cabo un estudio de neoangiogénesis *in vivo*, que confirmó la importancia de este receptor en el proceso de angiogénesis, ya que se observó un retraso en la recuperación de la perfusión en la pata tras isquemia femoral. Se descartó de nuevo la existencia de una producción deficiente de NO en los ratones *ALK-1<sup>+/-</sup>*, ya que la inhibición de su síntesis no produjo una respuesta diferente en los dos tipos de animales.

Con respecto a la aplicación práctica de estos estudios, y como se ha comentado ampliamente en la parte de Introducción, la deficiencia de ALK-1 está relacionada con el desarrollo de HHT-2 e Hipertensión arterial pulmonar. Un estudio con pacientes de HHT en el que se evaluaron las comorbilidades que sufrían estos pacientes mostró que la mayoría de ellas estaban relacionadas con enfermedades cardiovasculares, que desarrollaban de forma secundaria en un 78% de los casos. Entre ellas, la primera era la hipertensión arterial, que se diagnosticó en un 34,7% de los pacientes del estudio, seguida de la anemia consecuencia de las hemorragias (19,5%) y la arritmia cardíaca (17,3%) (*Folz B.J., Comunicación personal*). Aunque hasta este momento no se haya relacionado directamente la deficiencia de ALK-1 con la hipertensión arterial sistémica, las alteraciones en la homeostasis cardiovascular observadas en los ratones deficientes en esta proteína nos hacen plantearnos la posibilidad de que contribuya a su desarrollo.

Por tanto, el conocimiento de los mecanismos por los que la vía de ALK-1 contribuye a la regulación de la homeostasis cardiovascular es de gran importancia para el desarrollo de terapias que nos permitan al menos mejorar las condiciones de vida de pacientes con HHT-2, que además puedan evitar la aparición de comorbilidades, como la hipertensión arterial sistémica.



# *Conclusiones*

---



A partir de los resultados expuestos en este trabajo, extraemos las siguientes conclusiones:

1. La haploinsuficiencia de ALK-1 produce una elevación en la presión arterial sin cambios en la frecuencia cardiaca.
2. Este aumento de la presión arterial no puede explicarse por alteraciones en la vasodilatación dependiente de óxido nítrico.
3. En estos animales existe una hiperactivación del sistema nervioso simpático, con aumento de catecolaminas circulantes, estimulado presumiblemente por una activación del sistema renina-angiotensina central, mientras que el sistema RAS periférico está ligeramente disminuido, en respuesta al aumento de la presión arterial.
4. La hiperactivación simpática también podría explicarse por una disminución en la población de neuronas colinérgicas del sistema nervioso central.
5. Se observa en estos animales un aumento del estrés oxidativo pero restringido a algunos tejidos.
6. El aumento de los niveles circulantes de Endotelina 1 parece jugar un papel clave en el aumento de presión arterial en los animales haploinsuficientes de ALK-1.
7. El incremento de Endotelina 1 se basa en un aumento de los niveles circulantes de TGF- $\beta$ 1 mediado por activación de la vía de Smad2/3 en las células endoteliales.
8. La deficiencia de ALK-1 causa un retraso en la neoangiogénesis post-isquémica.



# *Bibliografía*

---

---





- Abdalla S.A. y Letarte M.** (2006). Hereditary haemorrhagic telangiectasia: current views on genetics and mechanisms of disease. *J Med Genet* **43**: 97-110.
- Adam P.J., Clesham G.J. y Weissberg P.L.** (1998). Expression of endoglin mRNA and protein in human vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* **247**: 33-37.
- Ais G., Novo C., Lopez-Farre A., Romeo J.M. y Lopez-Novoa J.M.** (1989). Effect of endothelin on systemic and regional hemodynamics in rats. *Eur J Pharmacol* **170**: 113-116.
- Akinaga J., Lima V., Kiguti L.R., Hebler-Barbosa F., Alcantara-Hernandez R., Garcia-Sainz J.A. y Pupo A.S.** (2013). Differential phosphorylation, desensitization, and internalization of alpha1A-adrenoceptors activated by norepinephrine and oxymetazoline. *Mol Pharmacol* **83**: 870-881.
- Aleixandre de Artinano M.A., Lopez-Miranda Gonzalez V. y Ortega Mateo A.** (1999). [Nitric oxide donor molecules]. *Med Clin (Barc)* **113**: 263-272.
- Ando J., Tsuboi H., Korenaga R., Takada Y., Toyama-Sorimachi N., Miyasaka M. y Kamiya A.** (1994). Shear stress inhibits adhesion of cultured mouse endothelial cells to lymphocytes by downregulating VCAM-1 expression. *Am J Physiol* **267**: C679-687.
- Andrea J.E. y Walsh M.P.** (1992). Protein kinase C of smooth muscle. *Hypertension* **20**: 585-595.
- Anggard E.** (1994). Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* **343**: 1199-1206.
- Ardailou R.** (1999). Angiotensin II receptors. *J Am Soc Nephrol* **10 Suppl 11**: S30-39.
- Arroyo A.G., Genis L., Gonzalo P., Matias-Roman S., Pollan A. y Galvez B.G.** (2007). Matrix metalloproteinases: new routes to the use of MT1-MMP as a therapeutic target in angiogenesis-related disease. *Curr Pharm Des* **13**: 1787-1802.
- Arsura M., Wu M. y Sonenshein G.E.** (1996). TGF beta 1 inhibits NF-kappa B/Rel activity inducing apoptosis of B cells: transcriptional activation of I kappa B alpha. *Immunity* **5**: 31-40.
- Arthur H.M., Ure J., Smith A.J., Renforth G., Wilson D.I., Torsney E., Charlton R., Parums D.V., Jowett T. y cols.** (2000). Endoglin, an ancillary TGFbeta receptor, is required for extraembryonic angiogenesis and plays a key role in heart development. *Dev Biol* **217**: 42-53.
- Attisano L., Carcamo J., Ventura F., Weis F.M., Massague J. y Wrana J.L.** (1993). Identification of human activin and TGF beta type I receptors that form heteromeric kinase complexes with type II receptors. *Cell* **75**: 671-680.
- Averill D.B. y Diz D.I.** (2000). Angiotensin peptides and baroreflex control of sympathetic outflow: pathways and mechanisms of the medulla oblongata. *Brain Res Bull* **51**: 119-128.
- Badimon J.J., Lettino M., Toschi V., Fuster V., Berrozpe M., Chesebro J.H. y Badimon L.** (1999). Local inhibition of tissue factor reduces the thrombogenicity of disrupted human atherosclerotic plaques: effects of tissue factor pathway inhibitor on plaque thrombogenicity under flow conditions. *Circulation* **99**: 1780-1787.

**Barker J.E., Bakhle Y.S., Anderson J., Treasure T. y Piper P.J.** (1996). Reciprocal inhibition of nitric oxide and prostacyclin synthesis in human saphenous vein. *Br J Pharmacol* **118**: 643-648.

**Bates J.N., Baker M.T., Guerra R., Jr. y Harrison D.G.** (1991). Nitric oxide generation from nitroprusside by vascular tissue. Evidence that reduction of the nitroprusside anion and cyanide loss are required. *Biochem Pharmacol* **42 Suppl**: S157-165.

**Bayrak-Toydemir P., McDonald J., Akarsu N., Toydemir R.M., Calderon F., Tuncali T., Tang W., Miller F. y Mao R.** (2006). A fourth locus for hereditary hemorrhagic telangiectasia maps to chromosome 7. *Am J Med Genet A* **140**: 2155-2162.

**Beger B., Robertson K., Evans A., Grant A. y Berg J.** (2006). Expression of endoglin and the activin receptor-like kinase 1 in skin suggests a role for these receptors in normal skin function and skin tumorigenesis. *Br J Dermatol* **154**: 379-382.

**Berg J.N., Gallione C.J., Stenzel T.T., Johnson D.W., Allen W.P., Schwartz C.E., Jackson C.E., Porteous M.E. y Marchuk D.A.** (1997). The activin receptor-like kinase 1 gene: genomic structure and mutations in hereditary hemorrhagic telangiectasia type 2. *Am J Hum Genet* **61**: 60-67.

**Bertolino P., Deckers M., Lebrin F. y ten Dijke P.** (2005). Transforming growth factor-beta signal transduction in angiogenesis and vascular disorders. *Chest* **128**: 585S-590S.

**Bevan J.A., Bevan R.D., Hwa J.J., Owen M.P. y Tayo F.M.** (1986). Calcium regulation in vascular smooth muscle: is there a pattern to its variability within the arterial tree? *J Cardiovasc Pharmacol* **8 Suppl 8**: S71-75.

**Bevan J.A. y Henrion D.** (1994). Pharmacological implications of the flow-dependence of vascular smooth muscle tone. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **34**: 173-190.

**Blanco F.J., Santibanez J.F., Guerrero-Esteo M., Langa C., Vary C.P. y Bernabeu C.** (2005). Interaction and functional interplay between endoglin and ALK-1, two components of the endothelial transforming growth factor-beta receptor complex. *J Cell Physiol* **204**: 574-584.

**Blau H.M., Pavlath G.K., Hardeman E.C., Chiu C.P., Silberstein L., Webster S.G., Miller S.C. y Webster C.** (1985). Plasticity of the differentiated state. *Science* **230**: 758-766.

**Bourdeau A., Dumont D.J. y Letarte M.** (1999). A murine model of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Clin Invest* **104**: 1343-1351.

**Bredt D.S., Hwang P.M., Glatt C.E., Lowenstein C., Reed R.R. y Snyder S.H.** (1991). Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature* **351**: 714-718.

**Brenner B.M., Troy J.L. y Ballermann B.J.** (1989). Endothelium-dependent vascular responses. Mediators and mechanisms. *J Clin Invest* **84**: 1373-1378.

**Brockway J. y Hay W.W., Jr.** (1998). Prediction of arterial partial pressure of oxygen with pulse oxygen saturation measurements. *J Pediatr* **133**: 63-66.

- Brown M.A., Zhao Q., Baker K.A., Naik C., Chen C., Pukac L., Singh M., Tsareva T., Parice Y. y cols.** (2005). Crystal structure of BMP-9 and functional interactions with pro-region and receptors. *J Biol Chem* **280**: 25111-25118.
- Bryant C.E., Appleton I. y Mitchell J.A.** (1998). Vascular endothelial growth factor upregulates constitutive cyclooxygenase 1 in primary bovine and human endothelial cells. *Life Sci* **62**: 2195-2201.
- Bui N.T., Livolsi A., Peyron J.F. y Prehn J.H.** (2001). Activation of nuclear factor kappaB and Bcl-x survival gene expression by nerve growth factor requires tyrosine phosphorylation of IkappaBalpha. *J Cell Biol* **152**: 753-764.
- Bujak M. y Frangogiannis N.G.** (2007). The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling. *Cardiovasc Res* **74**: 184-195.
- Bujak M., Ren G., Kweon H.J., Dobaczewski M., Reddy A., Taffet G., Wang X.F. y Frangogiannis N.G.** (2007). Essential role of Smad3 in infarct healing and in the pathogenesis of cardiac remodeling. *Circulation* **116**: 2127-2138.
- Bunting S., Gryglewski R., Moncada S. y Vane J.R.** (1976). Arterial walls generate from prostaglandin endoperoxides a substance (prostaglandin X) which relaxes strips of mesenteric and coeliac arteries and inhibits platelet aggregation. *Prostaglandins* **12**: 897-913.
- Burt D.W. y Paton I.R.** (1992). Evolutionary origins of the transforming growth factor-beta gene family. *DNA Cell Biol* **11**: 497-510.
- Butz G.M. y Davisson R.L.** (2001). Long-term telemetric measurement of cardiovascular parameters in awake mice: a physiological genomics tool. *Physiol Genomics* **5**: 89-97.
- Calver A., Collier J. y Vallance P.** (1993). Nitric oxide and cardiovascular control. *Exp Physiol* **78**: 303-326.
- Campese V.M., Shaohua Y. y Huiquin Z.** (2005). Oxidative stress mediates angiotensin II-dependent stimulation of sympathetic nerve activity. *Hypertension* **46**: 533-539.
- Canalis E., Economides A.N. y Gazzero E.** (2003). Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocr Rev* **24**: 218-235.
- Castanares C., Redondo-Horcajo M., Magan-Marchal N., ten Dijke P., Lamas S. y Rodriguez-Pascual F.** (2007). Signaling by ALK5 mediates TGF-beta-induced ET-1 expression in endothelial cells: a role for migration and proliferation. *J Cell Sci* **120**: 1256-1266.
- Cesarovic N., Jirkof P., Rettich A. y Arras M.** (2011). Implantation of radiotelemetry transmitters yielding data on ECG, heart rate, core body temperature and activity in free-moving laboratory mice. *J Vis Exp*.
- Clark K.L., Robertson M.J. y Drew G.M.** (1993). Role of angiotensin AT1 and AT2 receptors in mediating the renal effects of angiotensin II in the anaesthetized dog. *Br J Pharmacol* **109**: 148-156.

**Cohen R.A. y Vanhoutte P.M.** (1995). Endothelium-dependent hyperpolarization. Beyond nitric oxide and cyclic GMP. *Circulation* **92**: 3337-3349.

**Cole S.G., Begbie M.E., Wallace G.M. y Shovlin C.L.** (2005). A new locus for hereditary haemorrhagic telangiectasia (HHT3) maps to chromosome 5. *J Med Genet* **42**: 577-582.

**Corti P., Young S., Chen C.Y., Patrick M.J., Rochon E.R., Pekkan K. y Roman B.L.** (2011). Interaction between alk1 and blood flow in the development of arteriovenous malformations. *Development* **138**: 1573-1582.

**Cross M.J. y Claesson-Welsh L.** (2001). FGF and VEGF function in angiogenesis: signalling pathways, biological responses and therapeutic inhibition. *Trends Pharmacol Sci* **22**: 201-207.

**Cruz-Orive L.M. y Weibel E.R.** (1981). Sampling designs for stereology. *J Microsc* **122**: 235-257.

**Cunha S.I., Pardali E., Thorikay M., Anderberg C., Hawinkels L., Goumans M.J., Sehra J., Heldin C.H., ten Dijke P. y cols.** (2010). Genetic and pharmacological targeting of activin receptor-like kinase 1 impairs tumor growth and angiogenesis. *J Exp Med* **207**: 85-100.

**Cunha S.I. y Pietras K.** (2011). ALK1 as an emerging target for antiangiogenic therapy of cancer. *Blood* **117**: 6999-7006.

**Cybulsky M.I. y Gimbrone M.A., Jr.** (1991). Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* **251**: 788-791.

**Chamorro V., Wangenstein R., Sainz J., Duarte J., O'Valle F., Osuna A. y Vargas F.** (2004). Protective effects of the angiotensin II type 1 (AT1) receptor blockade in low-renin deoxycorticosterone acetate (DOCA)-treated spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci (Lond)* **106**: 251-259.

**Chen C., Grzegorzewski K.J., Barash S., Zhao Q., Schneider H., Wang Q., Singh M., Pukac L., Bell A.C. y cols.** (2003). An integrated functional genomics screening program reveals a role for BMP-9 in glucose homeostasis. *Nat Biotechnol* **21**: 294-301.

**Chen D., Zhao M. y Mundy G.R.** (2004a). Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors* **22**: 233-241.

**Chen G., Deng C. y Li Y.P.** (2012). TGF-beta and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *Int J Biol Sci* **8**: 272-288.

**Chen H., Shi S., Acosta L., Li W., Lu J., Bao S., Chen Z., Yang Z., Schneider M.D. y cols.** (2004b). BMP10 is essential for maintaining cardiac growth during murine cardiogenesis. *Development* **131**: 2219-2231.

**Chen Y.G., Liu F. y Massague J.** (1997). Mechanism of TGFbeta receptor inhibition by FKBP12. *EMBO J* **16**: 3866-3876.

**d'Uscio L.V., Baker T.A., Mantilla C.B., Smith L., Weiler D., Sieck G.C. y Katusic Z.S.** (2001). Mechanism of endothelial dysfunction in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **21**: 1017-1022.

- Daly A.C., Randall R.A. y Hill C.S.** (2008). Transforming growth factor beta-induced Smad1/5 phosphorylation in epithelial cells is mediated by novel receptor complexes and is essential for anchorage-independent growth. *Mol Cell Biol* **28**: 6889-6902.
- Dampney R.A., Fontes M., Hirooka Y., Horiuchi J., Potts P.D. y Tagawa T.** (2002). Role of angiotensin II receptors in the regulation of vasomotor neurons in the ventrolateral medulla. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **29**: 467-472.
- David L., Mallet C., Mazerbourg S., Feige J.J. y Bailly S.** (2007a). Identification of BMP9 and BMP10 as functional activators of the orphan activin receptor-like kinase 1 (ALK1) in endothelial cells. *Blood* **109**: 1953-1961.
- David L., Mallet C., Vailhe B., Lamouille S., Feige J.J. y Bailly S.** (2007b). Activin receptor-like kinase 1 inhibits human microvascular endothelial cell migration: potential roles for JNK and ERK. *J Cell Physiol* **213**: 484-489.
- David L., Mallet C., Keramidas M., Lamande N., Gasc J.M., Dupuis-Girod S., Plauchu H., Feige J.J. y Bailly S.** (2008). Bone morphogenetic protein-9 is a circulating vascular quiescence factor. *Circ Res* **102**: 914-922.
- David L., Feige J.J. y Bailly S.** (2009). Emerging role of bone morphogenetic proteins in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* **20**: 203-212.
- Davidge S.T., Pitt B.R., McLaughlin M.K., Roberts J.M. y Johnson B.A.** (1999). Biphasic stimulation of prostacyclin by endogenous nitric oxide (NO) in endothelial cells transfected with inducible NO synthase. *Gen Pharmacol* **33**: 383-387.
- Davidge S.T.** (2001). Prostaglandin H synthase and vascular function. *Circ Res* **89**: 650-660.
- Davies M.G. y Hagen P.O.** (1993). The vascular endothelium. A new horizon. *Ann Surg* **218**: 593-609.
- Davies P.F. y Tripathi S.C.** (1993). Mechanical stress mechanisms and the cell. An endothelial paradigm. *Circ Res* **72**: 239-245.
- Davies P.F.** (1995). Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* **75**: 519-560.
- de Nucci G., Gryglewski R.J., Warner T.D. y Vane J.R.** (1988). Receptor-mediated release of endothelium-derived relaxing factor and prostacyclin from bovine aortic endothelial cells is coupled. *Proc Natl Acad Sci U S A* **85**: 2334-2338.
- de Wardener H.E.** (2001). The hypothalamus and hypertension. *Physiol Rev* **81**: 1599-1658.
- Del Bo A.** (2003). Vasopresin and human hypertension. *Cell Mol Neurobiol* **23**: 617-624.
- Derynck R. y Zhang Y.E.** (2003). Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature* **425**: 577-584.
- Desai U.R., Alhalel A.A., Schiffman R.M., Campen T.J., Sundar G. y Muhich A.** (1997). Intraocular pressure elevation after simple pars plana vitrectomy. *Ophthalmology* **104**: 781-786.

**Dikalov S., Griendling K.K. y Harrison D.G.** (2007). Measurement of reactive oxygen species in cardiovascular studies. *Hypertension* **49**: 717-727.

**Diz D.I., Jessup J.A., Westwood B.M., Bosch S.M., Vinsant S., Gallagher P.E. y Averill D.B.** (2002). Angiotensin peptides as neurotransmitters/neuromodulators in the dorsomedial medulla. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **29**: 473-482.

**Dobaczewski M., Chen W. y Frangogiannis N.G.** (2011). Transforming growth factor (TGF)-beta signaling in cardiac remodeling. *J Mol Cell Cardiol* **51**: 600-606.

**Docherty N.G., Lopez-Novoa J.M., Arevalo M., Duwel A., Rodriguez-Pena A., Perez-Barriocanal F., Bernabeu C. y Eleno N.** (2006). Endoglin regulates renal ischaemia-reperfusion injury. *Nephrol Dial Transplant* **21**: 2106-2119.

**Drab M., Verkade P., Elger M., Kasper M., Lohn M., Lauterbach B., Menne J., Lindschau C., Mende F. y cols.** (2001). Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice. *Science* **293**: 2449-2452.

**Dupuis J., Stewart D.J., Cernacek P. y Gosselin G.** (1996). Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1. *Circulation* **94**: 1578-1584.

**Dzau V.J. y Gibbons G.H.** (1991). Endothelium and growth factors in vascular remodeling of hypertension. *Hypertension* **18**: III115-121.

**Eddy A.A. y Giachelli C.M.** (1995). Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria. *Kidney Int* **47**: 1546-1557.

**Emori T., Hirata Y., Ohta K., Shichiri M. y Marumo F.** (1989). Secretory mechanism of immunoreactive endothelin in cultured bovine endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* **160**: 93-100.

**Endoh M., Fujita S., Yang H.T., Talukder M.A., Maruya J. y Norota I.** (1998). Endothelin: receptor subtypes, signal transduction, regulation of Ca<sup>2+</sup> transients and contractility in rabbit ventricular myocardium. *Life Sci* **62**: 1485-1489.

**Engvall E. y Perlmann P.** (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* **8**: 871-874.

**Esmon C.T.** (1987). The regulation of natural anticoagulant pathways. *Science* **235**: 1348-1352.

**Esther C.R., Jr., Howard T.E., Zhou Y., Capecchi M.R., Marrero M.B. y Bernstein K.E.** (1996). Lessons from angiotensin-converting enzyme-deficient mice. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **5**: 463-467.

**Eyries M., Coulet F., Girerd B., Montani D., Humbert M., Lacombe P., Chinet T., Gouya L., Roume J. y cols.** (2012). ACVRL1 germinal mosaic with two mutant alleles in hereditary hemorrhagic telangiectasia associated with pulmonary arterial hypertension. *Clin Genet* **82**: 173-179.



- Faraci F.M., Sigmund C.D., Shesely E.G., Maeda N. y Heistad D.D.** (1998). Responses of carotid artery in mice deficient in expression of the gene for endothelial NO synthase. *Am J Physiol* **274**: H564-570.
- Ferguson A.V., Washburn D.L. y Latchford K.J.** (2001). Hormonal and neurotransmitter roles for angiotensin in the regulation of central autonomic function. *Exp Biol Med (Maywood)* **226**: 85-96.
- Fernandez-Ruiz E., St-Jacques S., Bellon T., Letarte M. y Bernabeu C.** (1993). Assignment of the human endoglin gene (END) to 9q34-->qter. *Cytogenet Cell Genet* **64**: 204-207.
- Fernandez L.A., Sanz-Rodriguez F., Blanco F.J., Bernabeu C. y Botella L.M.** (2006). Hereditary hemorrhagic telangiectasia, a vascular dysplasia affecting the TGF-beta signaling pathway. *Clin Med Res* **4**: 66-78.
- Fernandez L.A., Garrido-Martin E.M., Sanz-Rodriguez F., Ramirez J.R., Morales-Angulo C., Zarrabeitia R., Perez-Molino A., Bernabeu C. y Botella L.M.** (2007). Therapeutic action of tranexamic acid in hereditary haemorrhagic telangiectasia (HHT): regulation of ALK-1/endoglin pathway in endothelial cells. *Thromb Haemost* **97**: 254-262.
- Ferrari A.U., Daffonchio A., Albergati F. y Mancina G.** (1987). Inverse relationship between heart rate and blood pressure variabilities in rats. *Hypertension* **10**: 533-537.
- Ferrario C.M.** (1990). The renin-angiotensin system: importance in physiology and pathology. *J Cardiovasc Pharmacol* **15 Suppl 3**: S1-5.
- Fewell J.G., Osinska H., Klevitsky R., Ng W., Sfyris G., Bahrehmand F. y Robbins J.** (1997). A treadmill exercise regimen for identifying cardiovascular phenotypes in transgenic mice. *Am J Physiol* **273**: H1595-1605.
- Finnson K.W., Parker W.L., ten Dijke P., Thorikay M. y Philip A.** (2008). ALK1 opposes ALK5/Smad3 signaling and expression of extracellular matrix components in human chondrocytes. *J Bone Miner Res* **23**: 896-906.
- Flammer A.J., Anderson T., Celermajer D.S., Creager M.A., Deanfield J., Ganz P., Hamburg N.M., Luscher T.F., Shechter M. y cols.** (2012). The assessment of endothelial function: from research into clinical practice. *Circulation* **126**: 753-767.
- Flanders K.C., Ludecke G., Engels S., Cissel D.S., Roberts A.B., Kondaiah P., Lafyatis R., Sporn M.B. y Unsicker K.** (1991). Localization and actions of transforming growth factor-beta s in the embryonic nervous system. *Development* **113**: 183-191.
- Fleming I. y Busse R.** (1999). Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovasc Res* **43**: 532-541.
- Fontalba A., Fernandez L.A., Garcia-Alegria E., Albinana V., Garrido-Martin E.M., Blanco F.J., Zarrabeitia R., Perez-Molino A., Bernabeu-Herrero M.E. y cols.** (2008). Mutation study of Spanish patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *BMC Med Genet* **9**: 75.

Fontes M.A., Baltatu O., Caligiorne S.M., Campagnole-Santos M.J., Ganten D., Bader M. y Santos R.A. (2000). Angiotensin peptides acting at rostral ventrolateral medulla contribute to hypertension of TGR(mREN2)27 rats. *Physiol Genomics* **2**: 137-142.

Forstermann U., Closs E.I., Pollock J.S., Nakane M., Schwarz P., Gath I. y Kleinert H. (1994). Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* **23**: 1121-1131.

Fuchizaki U., Miyamori H., Kitagawa S., Kaneko S. y Kobayashi K. (2003). Hereditary haemorrhagic telangiectasia (Rendu-Osler-Weber disease). *Lancet* **362**: 1490-1494.

Fujiwara T. y Chiba S. (1993). Alterations of vascular alpha 1-adrenergic contractile responses in hypercholesterolemic rabbit common carotid arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* **22**: 58-64.

Fukuto J.M. y Chaudhuri G. (1995). Inhibition of constitutive and inducible nitric oxide synthase: potential selective inhibition. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **35**: 165-194.

Furchgott R.F. y Zawadzki J.V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288**: 373-376.

Furchgott R.F. (1983). Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* **53**: 557-573.

Furchgott R.F., Carvalho M.H., Khan M.T. y Matsunaga K. (1987). Evidence for endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels by acetylcholine. *Blood Vessels* **24**: 145-149.

Galley H.F. y Webster N.R. (2004). Physiology of the endothelium. *Br J Anaesth* **93**: 105-113.

Gallione C., Aylsworth A.S., Beis J., Berk T., Bernhardt B., Clark R.D., Clericuzio C., Danesino C., Drautz J. y cols. (2010). Overlapping spectra of SMAD4 mutations in juvenile polyposis (JP) and JP-HHT syndrome. *Am J Med Genet A* **152A**: 333-339.

Gallione C.J., Richards J.A., Letteboer T.G., Rushlow D., Prigoda N.L., Leedom T.P., Ganguly A., Castells A., Ploos van Amstel J.K. y cols. (2006). SMAD4 mutations found in unselected HHT patients. *J Med Genet* **43**: 793-797.

Gao L., Wang W., Li Y.L., Schultz H.D., Liu D., Cornish K.G. y Zucker I.H. (2004). Superoxide mediates sympathoexcitation in heart failure: roles of angiotensin II and NAD(P)H oxidase. *Circ Res* **95**: 937-944.

Gao L., Wang W., Li Y.L., Schultz H.D., Liu D., Cornish K.G. y Zucker I.H. (2005). Sympathoexcitation by central ANG II: roles for AT1 receptor upregulation and NAD(P)H oxidase in RVLM. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **288**: H2271-2279.

Garg U.C. y Hassid A. (1989). Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* **83**: 1774-1777.



- Garrido-Martin E.M., Blanco F.J., Fernandez L.A., Langa C., Vary C.P., Lee U.E., Friedman S.L., Botella L.M. y Bernabeu C. (2010). Characterization of the human Activin-A receptor type II-like kinase 1 (ACVRL1) promoter and its regulation by Sp1. *BMC Mol Biol* **11**: 51.
- Garrido-Martin E.M., Blanco F.J., Roque M., Novensa L., Tarocchi M., Lang U.E., Suzuki T., Friedman S.L., Botella L.M. y cols. (2013). Vascular injury triggers Kruppel-like factor 6 mobilization and cooperation with specificity protein 1 to promote endothelial activation through upregulation of the activin receptor-like kinase 1 gene. *Circ Res* **112**: 113-127.
- Genis B.B., Granada M.L., Alonso N., Lauzurica R., Jimenez J.A., Barluenga E., Homs M., Pastor M.C., Salinas I. y cols. (2007). Ghrelin, glucose homeostasis, and carotid intima media thickness in kidney transplantation. *Transplantation* **84**: 1248-1254.
- Gimbrone M.A., Jr. (1989). Endothelial dysfunction and atherosclerosis. *J Card Surg* **4**: 180-183.
- Girerd B., Montani D., Coulet F., Sztrymf B., Yaici A., Jais X., Tregouet D., Reis A., Drouin-Garraud V. y cols. (2010). Clinical outcomes of pulmonary arterial hypertension in patients carrying an ACVRL1 (ALK1) mutation. *Am J Respir Crit Care Med* **181**: 851-861.
- Gonzalez-Villalobos R.A., Janjoulia T., Fletcher N.K., Giani J.F., Nguyen M.T., Riquier-Brison A.D., Seth D.M., Fuchs S., Eladari D. y cols. (2013). The absence of intrarenal ACE protects against hypertension. *J Clin Invest* **123**: 2011-2023.
- Gordon K.J. y Blobel G.C. (2008). Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease. *Biochim Biophys Acta* **1782**: 197-228.
- Gougos A. y Letarte M. (1988). Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line. *J Immunol* **141**: 1925-1933.
- Goumans M.J., Valdimarsdottir G., Itoh S., Rosendahl A., Sideras P. y ten Dijke P. (2002). Balancing the activation state of the endothelium via two distinct TGF-beta type I receptors. *EMBO J* **21**: 1743-1753.
- Goumans M.J., Lebrin F. y Valdimarsdottir G. (2003a). Controlling the angiogenic switch: a balance between two distinct TGF-beta receptor signaling pathways. *Trends Cardiovasc Med* **13**: 301-307.
- Goumans M.J., Valdimarsdottir G., Itoh S., Lebrin F., Larsson J., Mummery C., Karlsson S. y ten Dijke P. (2003b). Activin receptor-like kinase (ALK)1 is an antagonistic mediator of lateral TGFbeta/ALK5 signaling. *Mol Cell* **12**: 817-828.
- Goumans M.J., Liu Z. y ten Dijke P. (2009). TGF-beta signaling in vascular biology and dysfunction. *Cell Res* **19**: 116-127.
- Govani F.S. y Shovlin C.L. (2009). Hereditary haemorrhagic telangiectasia: a clinical and scientific review. *Eur J Hum Genet* **17**: 860-871.
- Grabowski E.F. y Lam F.P. (1995). Endothelial cell function, including tissue factor expression, under flow conditions. *Thromb Haemost* **74**: 123-128.

**Grainger D.J.** (2004). Transforming growth factor beta and atherosclerosis: so far, so good for the protective cytokine hypothesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **24**: 399-404.

**Grainger D.J.** (2007). TGF-beta and atherosclerosis in man. *Cardiovasc Res* **74**: 213-222.

**Grande M.T., Pascual G., Riobos A.S., Clemente-Lorenzo M., Bardaji B., Barreiro L., Tornavaca O., Meseguer A. y Lopez-Novoa J.M.** (2011). Increased oxidative stress, the renin-angiotensin system, and sympathetic overactivation induce hypertension in kidney androgen-regulated protein transgenic mice. *Free Radic Biol Med* **51**: 1831-1841.

**Groppe J., Hinck C.S., Samavarchi-Tehrani P., Zubieta C., Schuermann J.P., Taylor A.B., Schwarz P.M., Wrana J.L. y Hinck A.P.** (2008). Cooperative assembly of TGF-beta superfamily signaling complexes is mediated by two disparate mechanisms and distinct modes of receptor binding. *Mol Cell* **29**: 157-168.

**Guttmacher A.E., Marchuk D.A. y White R.I., Jr.** (1995). Hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N Engl J Med* **333**: 918-924.

**Hao Q., Su H., Marchuk D.A., Rola R., Wang Y., Liu W., Young W.L. y Yang G.Y.** (2008). Increased tissue perfusion promotes capillary dysplasia in the ALK1-deficient mouse brain following VEGF stimulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **295**: H2250-2256.

**Harrison R.E., Berger R., Haworth S.G., Tulloh R., Mache C.J., Morrell N.W., Aldred M.A. y Trembath R.C.** (2005). Transforming growth factor-beta receptor mutations and pulmonary arterial hypertension in childhood. *Circulation* **111**: 435-441.

**Hathaway D.R., March K.L., Lash J.A., Adam L.P. y Wilensky R.L.** (1991). Vascular smooth muscle. A review of the molecular basis of contractility. *Circulation* **83**: 382-390.

**He C. y Chen X.** (2005). Transcription regulation of the vegf gene by the BMP/Smad pathway in the angioblast of zebrafish embryos. *Biochem Biophys Res Commun* **329**: 324-330.

**He W.W., Gustafson M.L., Hirobe S. y Donahoe P.K.** (1993). Developmental expression of four novel serine/threonine kinase receptors homologous to the activin/transforming growth factor-beta type II receptor family. *Dev Dyn* **196**: 133-142.

**Higuchi S., Ohtsu H., Suzuki H., Shirai H., Frank G.D. y Eguchi S.** (2007). Angiotensin II signal transduction through the AT1 receptor: novel insights into mechanisms and pathophysiology. *Clin Sci (Lond)* **112**: 417-428.

**Hong K.H., Seki T. y Oh S.P.** (2007). Activin receptor-like kinase 1 is essential for placental vascular development in mice. *Lab Invest* **87**: 670-679.

**Hu N. y Clark E.B.** (1989). Hemodynamics of the stage 12 to stage 29 chick embryo. *Circ Res* **65**: 1665-1670.

**Hu Z., Azhar S. y Hoffman B.B.** (1992). Prolonged activation of alpha 1 adrenoceptors induces down-regulation of protein kinase C in vascular smooth muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* **20**: 982-989.

- Huang P.L., Huang Z., Mashimo H., Bloch K.D., Moskowitz M.A., Bevan J.A. y Fishman M.C. (1995). Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Nature* **377**: 239-242.
- Huang Z.F., Massey J.B. y Via D.P. (2000). Differential regulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) mRNA stability by interleukin-1 beta (IL-1 beta) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in human in vitro differentiated macrophages. *Biochem Pharmacol* **59**: 187-194.
- Huh C.Y., Danik M., Manseau F., Trudeau L.E. y Williams S. (2008). Chronic exposure to nerve growth factor increases acetylcholine and glutamate release from cholinergic neurons of the rat medial septum and diagonal band of Broca via mechanisms mediated by p75NTR. *J Neurosci* **28**: 1404-1409.
- Humbert M., Deng Z., Simonneau G., Barst R.J., Sitbon O., Wolf M., Cuervo N., Moore K.J., Hodge S.E. y cols. (2002). BMPR2 germline mutations in pulmonary hypertension associated with fenfluramine derivatives. *Eur Respir J* **20**: 518-523.
- Ignarro L.J., Cirino G., Casini A. y Napoli C. (1999). Nitric oxide as a signaling molecule in the vascular system: an overview. *J Cardiovasc Pharmacol* **34**: 879-886.
- Ikeuchi M., Tsutsui H., Shiomi T., Matsusaka H., Matsushima S., Wen J., Kubota T. y Takeshita A. (2004). Inhibition of TGF-beta signaling exacerbates early cardiac dysfunction but prevents late remodeling after infarction. *Cardiovasc Res* **64**: 526-535.
- Inoue A., Yanagisawa M., Kimura S., Kasuya Y., Miyauchi T., Goto K. y Masaki T. (1989). The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**: 2863-2867.
- Ito M., Oliverio M.I., Mannon P.J., Best C.F., Maeda N., Smithies O. y Coffman T.M. (1995). Regulation of blood pressure by the type 1A angiotensin II receptor gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* **92**: 3521-3525.
- Jahr J.S., Kang B., Paxtor C.G. y Feng C.J. (1995a). Hemodynamic Responses to Papaverine: Do Nitric Oxide, Cyclic GMP, or Calcium Mediate the Vasodilation? *Am J Ther* **2**: 258-264.
- Jahr J.S., Kaye A.D., Kang B., Feng C.J. y Nossaman B.D. (1995b). Analysis of aprotinin on the mean arterial pressure, carotid artery blood flow, and hindlimb vascular resistance in the live rat, and pulmonary vascular resistance in the isolated perfused rat lung. *J Med* **26**: 31-42.
- Jain D., Joska T.M. y Edrington Y. (2003). Usefulness of peripheral artery tonometry for determining peripheral vascular responses during exercise. *Am J Cardiol* **91**: 506-510.
- Jerkic M., Rivas-Elena J.V., Prieto M., Carron R., Sanz-Rodriguez F., Perez-Barriocanal F., Rodriguez-Barbero A., Bernabeu C. y Lopez-Novoa J.M. (2004). Endoglin regulates nitric oxide-dependent vasodilatation. *FASEB J* **18**: 609-611.
- Jerkic M., Rodriguez-Barbero A., Prieto M., Toporsian M., Pericacho M., Rivas-Elena J.V., Obreo J., Wang A., Perez-Barriocanal F. y cols. (2006). Reduced angiogenic responses in adult Endoglin heterozygous mice. *Cardiovasc Res* **69**: 845-854.

**Jerkić M., Kabir M.G., Davies A., Yu L.X., McIntyre B.A., Husain N.W., Enomoto M., Sotov V., Husain M. y cols.** (2011). Pulmonary hypertension in adult Alk1 heterozygous mice due to oxidative stress. *Cardiovasc Res* **92**: 375-384.

**Jerkić M., Sotov V. y Letarte M.** (2012). Oxidative stress contributes to endothelial dysfunction in mouse models of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Oxid Med Cell Longev* **2012**: 686972.

**Johnson-Tidey R.R., McGregor J.L., Taylor P.R. y Poston R.N.** (1994). Increase in the adhesion molecule P-selectin in endothelium overlying atherosclerotic plaques. Coexpression with intercellular adhesion molecule-1. *Am J Pathol* **144**: 952-961.

**Johnson D.W., Berg J.N., Baldwin M.A., Gallione C.J., Marondel I., Yoon S.J., Stenzel T.T., Speer M., Pericak-Vance M.A. y cols.** (1996). Mutations in the activin receptor-like kinase 1 gene in hereditary haemorrhagic telangiectasia type 2. *Nat Genet* **13**: 189-195.

**Jonakait G.M., Luskin M.B. y Ni L.** (1998). Transforming growth factor- $\alpha$  expands progenitor cells of the basal forebrain, but does not promote cholinergic differentiation. *J Neurobiol* **37**: 405-412.

**Kagiyama S., Varela A., Phillips M.I. y Galli S.M.** (2001). Antisense inhibition of brain renin-angiotensin system decreased blood pressure in chronic 2-kidney, 1 clip hypertensive rats. *Hypertension* **37**: 371-375.

**Kamanna V.S., Ganji S.H. y Kashyap M.L.** (2009). The mechanism and mitigation of niacin-induced flushing. *Int J Clin Pract* **63**: 1369-1377.

**Kamata K., Hayashi T. y Umeda F.** (1997). Persistence of cyclopiazonic acid-induced endothelium-dependent vasodilatation in spontaneously hypertensive and streptozotocin-induced diabetic rats. *Jpn J Pharmacol* **73**: 247-250.

**Kanai A.J., Strauss H.C., Truskey G.A., Crews A.L., Grunfeld S. y Malinski T.** (1995). Shear stress induces ATP-independent transient nitric oxide release from vascular endothelial cells, measured directly with a porphyrinic microsensor. *Circ Res* **77**: 284-293.

**Kang Q., Sun M.H., Cheng H., Peng Y., Montag A.G., Deyrup A.T., Jiang W., Luu H.H., Luo J. y cols.** (2004). Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Ther* **11**: 1312-1320.

**Kapur N.K., Wilson S., Yunis A.A., Qiao X., Mackey E., Paruchuri V., Baker C., Aronovitz M.J., Karumanchi S.A. y cols.** (2012). Reduced endoglin activity limits cardiac fibrosis and improves survival in heart failure. *Circulation* **125**: 2728-2738.

**Kario K., Morinari M., Murata M., Katsuki T. y Shimada K.** (2004). Nocturnal onset ischemic stroke provoked by sleep-disordered breathing advanced with congestive heart failure. *Am J Hypertens* **17**: 636-637.

**Kario K. y Shimada K.** (2004). Risers and extreme-dippers of nocturnal blood pressure in hypertension: antihypertensive strategy for nocturnal blood pressure. *Clin Exp Hypertens* **26**: 177-189.

**Katusic Z.S. y Vanhoutte P.M.** (1989). Superoxide anion is an endothelium-derived contracting factor. *Am J Physiol* **257**: H33-37.

**Katusic Z.S.** (1992). Role of nitric oxide signal transduction pathway in regulation of vascular tone. *Int Angiol* **11**: 14-19.

**Kerins D.M., Murray R. y FitzGerald G.A.** (1991). Prostacyclin and prostaglandin E1: molecular mechanisms and therapeutic utility. *Prog Hemost Thromb* **10**: 307-337.

**Keynan S., Khamaisi M., Dahan R., Barnes K., Jackson C.D., Turner A.J. y Raz I.** (2004). Increased expression of endothelin-converting enzyme-1c isoform in response to high glucose levels in endothelial cells. *J Vasc Res* **41**: 131-140.

**Kim H., Marchuk D.A., Pawlikowska L., Chen Y., Su H., Yang G.Y. y Young W.L.** (2008). Genetic considerations relevant to intracranial hemorrhage and brain arteriovenous malformations. *Acta Neurochir Suppl* **105**: 199-206.

**Kim Y.M., Kim T.H., Seol D.W., Talanian R.V. y Billiar T.R.** (1998). Nitric oxide suppression of apoptosis occurs in association with an inhibition of Bcl-2 cleavage and cytochrome c release. *J Biol Chem* **273**: 31437-31441.

**King A.J., Brenner B.M. y Anderson S.** (1989). Endothelin: a potent renal and systemic vasoconstrictor peptide. *Am J Physiol* **256**: F1051-1058.

**Knowles R.G. y Moncada S.** (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* **298 ( Pt 2)**: 249-258.

**Kojda G., Laursen J.B., Ramasamy S., Kent J.D., Kurz S., Burchfield J., Shesely E.G. y Harrison D.G.** (1999). Protein expression, vascular reactivity and soluble guanylate cyclase activity in mice lacking the endothelial cell nitric oxide synthase: contributions of NOS isoforms to blood pressure and heart rate control. *Cardiovasc Res* **42**: 206-213.

**Konig H.G., Kogel D., Rami A. y Prehn J.H.** (2005). TGF- $\beta$ 1 activates two distinct type I receptors in neurons: implications for neuronal NF- $\kappa$ B signaling. *J Cell Biol* **168**: 1077-1086.

**Kramer K., van Acker S.A., Voss H.P., Grimbergen J.A., van der Vijgh W.J. y Bast A.** (1993). Use of telemetry to record electrocardiogram and heart rate in freely moving mice. *J Pharmacol Toxicol Methods* **30**: 209-215.

**Krege J.H., Hodgin J.B., Hagaman J.R. y Smithies O.** (1995). A noninvasive computerized tail-cuff system for measuring blood pressure in mice. *Hypertension* **25**: 1111-1115.

**Kriegstein K., Suter-Crazzolara C., Fischer W.H. y Unsicker K.** (1995). TGF- $\beta$  superfamily members promote survival of midbrain dopaminergic neurons and protect them against MPP<sup>+</sup> toxicity. *EMBO J* **14**: 736-742.

**Kubo T.** (1998). Cholinergic mechanism and blood pressure regulation in the central nervous system. *Brain Res Bull* **46**: 475-481.

**Kubo T., Hagiwara Y., Endo S. y Fukumori R.** (2002). Activation of hypothalamic angiotensin receptors produces pressor responses via cholinergic inputs to the rostral ventrolateral medulla in normotensive and hypertensive rats. *Brain Res* **953**: 232-245.

**Kulmacz R.J. y Wang L.H.** (1995). Comparison of hydroperoxide initiator requirements for the cyclooxygenase activities of prostaglandin H synthase-1 and -2. *J Biol Chem* **270**: 24019-24023.

**Kulmacz R.J.** (1998). Cellular regulation of prostaglandin H synthase catalysis. *FEBS Lett* **430**: 154-157.

**Laemmli U.K.** (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685.

**Lagna G., Hata A., Hemmati-Brivanlou A. y Massague J.** (1996). Partnership between DPC4 and SMAD proteins in TGF-beta signalling pathways. *Nature* **383**: 832-836.

**Lamouille S., Mallet C., Feige J.J. y Bailly S.** (2002). Activin receptor-like kinase 1 is implicated in the maturation phase of angiogenesis. *Blood* **100**: 4495-4501.

**Lane K.B., Machado R.D., Pauciulo M.W., Thomson J.R., Phillips J.A., 3rd, Loyd J.E., Nichols W.C. y Trembath R.C.** (2000). Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF-beta receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. *Nat Genet* **26**: 81-84.

**Lansman J.B., Hallam T.J. y Rink T.J.** (1987). Single stretch-activated ion channels in vascular endothelial cells as mechanotransducers? *Nature* **325**: 811-813.

**Lavoie P., Robitaille G., Agharazii M., Ledbetter S., Lebel M. y Lariviere R.** (2005). Neutralization of transforming growth factor-beta attenuates hypertension and prevents renal injury in uremic rats. *J Hypertens* **23**: 1895-1903.

**Lazo O.M., Mauna J.C., Pissani C.A., Inestrosa N.C. y Bronfman F.C.** (2010). Axotomy-induced neurotrophic withdrawal causes the loss of phenotypic differentiation and downregulation of NGF signalling, but not death of septal cholinergic neurons. *Mol Neurodegener* **5**: 5.

**Leask A., Abraham D.J., Finlay D.R., Holmes A., Pennington D., Shi-Wen X., Chen Y., Venstrom K., Dou X. y cols.** (2002). Dysregulation of transforming growth factor beta signaling in scleroderma: overexpression of endoglin in cutaneous scleroderma fibroblasts. *Arthritis Rheum* **46**: 1857-1865.

**Lebrin F., Goumans M.J., Jonker L., Carvalho R.L., Valdimarsdottir G., Thorikay M., Mummery C., Arthur H.M. y ten Dijke P.** (2004). Endoglin promotes endothelial cell proliferation and TGF-beta/ALK1 signal transduction. *EMBO J* **23**: 4018-4028.

**Lee N.Y., Haney J.C., Sogani J. y Blobel G.C.** (2009). Casein kinase 2beta as a novel enhancer of activin-like receptor-1 signaling. *FASEB J* **23**: 3712-3721.



- Lee S.D., Lee D.S., Chun Y.G., Paik S.H., Kim W.S., Kim D.S., Kim W.D., Tuder R.M. y Voelkel N.F. (2000). Transforming growth factor-beta1 induces endothelin-1 in a bovine pulmonary artery endothelial cell line and rat lungs via cAMP. *Pulm Pharmacol Ther* **13**: 257-265.
- Lees K.R., MacFadyen R.J., Doig J.K. y Reid J.L. (1993). Role of angiotensin in the extravascular system. *J Hum Hypertens* **7 Suppl 2**: S7-12.
- Lemmer B., Mattes A., Bohm M. y Ganten D. (1993). Circadian blood pressure variation in transgenic hypertensive rats. *Hypertension* **22**: 97-101.
- Lenkei Z., Corvol P. y Llorens-Cortes C. (1995). The angiotensin receptor subtype AT1A predominates in rat forebrain areas involved in blood pressure, body fluid homeostasis and neuroendocrine control. *Brain Res Mol Brain Res* **30**: 53-60.
- Li D.P., Chen S.R. y Pan H.L. (2003). Angiotensin II stimulates spinally projecting paraventricular neurons through presynaptic disinhibition. *J Neurosci* **23**: 5041-5049.
- Li D.Y., Sorensen L.K., Brooke B.S., Urness L.D., Davis E.C., Taylor D.G., Boak B.B. y Wendel D.P. (1999). Defective angiogenesis in mice lacking endoglin. *Science* **284**: 1534-1537.
- Li J.H., Huang X.R., Zhu H.J., Oldfield M., Cooper M., Truong L.D., Johnson R.J. y Lan H.Y. (2004a). Advanced glycation end products activate Smad signaling via TGF-beta-dependent and independent mechanisms: implications for diabetic renal and vascular disease. *FASEB J* **18**: 176-178.
- Li L., He S., Sun J.M. y Davie J.R. (2004b). Gene regulation by Sp1 and Sp3. *Biochem Cell Biol* **82**: 460-471.
- Li Y.F., LaCroix C. y Freeling J. (2009). Specific subtypes of nicotinic cholinergic receptors involved in sympathetic and parasympathetic cardiovascular responses. *Neurosci Lett* **462**: 20-23.
- Limbourg A., Korff T., Napp L.C., Schaper W., Drexler H. y Limbourg F.P. (2009). Evaluation of postnatal arteriogenesis and angiogenesis in a mouse model of hind-limb ischemia. *Nat Protoc* **4**: 1737-1746.
- Linder L., Kiowski W., Buhler F.R. y Luscher T.F. (1990). Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo. Blunted response in essential hypertension. *Circulation* **81**: 1762-1767.
- Lindholm D., Castren E., Kiefer R., Zafra F. y Thoenen H. (1992). Transforming growth factor-beta 1 in the rat brain: increase after injury and inhibition of astrocyte proliferation. *J Cell Biol* **117**: 395-400.
- Lindner V. y Reidy M.A. (1993). Expression of basic fibroblast growth factor and its receptor by smooth muscle cells and endothelium in injured rat arteries. An en face study. *Circ Res* **73**: 589-595.

**Liu G., Iden J.B., Kovithavongs K., Gulamhusein R., Duff H.J. y Kavanagh K.M.** (2004). In vivo temporal and spatial distribution of depolarization and repolarization and the illusive murine T wave. *J Physiol* **555**: 267-279.

**Loftin C.D., Tiano H.F. y Langenbach R.** (2002). Phenotypes of the COX-deficient mice indicate physiological and pathophysiological roles for COX-1 and COX-2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* **68-69**: 177-185.

**Lopez-Coviella I., Berse B., Krauss R., Thies R.S. y Blusztajn J.K.** (2000). Induction and maintenance of the neuronal cholinergic phenotype in the central nervous system by BMP-9. *Science* **289**: 313-316.

**Lopez-Coviella I., Follettie M.T., Mellott T.J., Kovacheva V.P., Slack B.E., Diesl V., Berse B., Thies R.S. y Blusztajn J.K.** (2005). Bone morphogenetic protein 9 induces the transcriptome of basal forebrain cholinergic neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**: 6984-6989.

**Lopez-Coviella I., Mellott T.M., Kovacheva V.P., Berse B., Slack B.E., Zemelko V., Schnitzler A. y Blusztajn J.K.** (2006). Developmental pattern of expression of BMP receptors and Smads and activation of Smad1 and Smad5 by BMP9 in mouse basal forebrain. *Brain Res* **1088**: 49-56.

**Lopez-Novoa J.M. y Bernabeu C.** (2010). The physiological role of endoglin in the cardiovascular system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **299**: H959-974.

**Lopez-Ongil S., Saura M., Zaragoza C., Gonzalez-Santiago L., Rodriguez-Puyol M., Lowenstein C.J. y Rodriguez-Puyol D.** (2002). Hydrogen peroxide regulation of bovine endothelin-converting enzyme-1. *Free Radic Biol Med* **32**: 406-413.

**Lopez-Ongil S., Diez-Marques M.L., Grieria M., Rodriguez-Puyol M. y Rodriguez-Puyol D.** (2005). Crosstalk between mesangial and endothelial cells: angiotensin II down-regulates endothelin-converting enzyme 1. *Cell Physiol Biochem* **15**: 135-144.

**Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. y Randall R.J.** (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**: 265-275.

**Luscher T.F. y Barton M.** (2000). Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation* **102**: 2434-2440.

**Lux A., Salway F., Dressman H.K., Kroner-Lux G., Hafner M., Day P.J., Marchuk D.A. y Garland J.** (2006). ALK1 signalling analysis identifies angiogenesis related genes and reveals disparity between TGF-beta and constitutively active receptor induced gene expression. *BMC Cardiovasc Disord* **6**: 13.

**Lloyd-Jones D.M. y Bloch K.D.** (1996). The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annu Rev Med* **47**: 365-375.

**Macours N., Poels J., Hens K., Francis C. y Huybrechts R.** (2004). Structure, evolutionary conservation, and functions of angiotensin- and endothelin-converting enzymes. *Int Rev Cytol* **239**: 47-97.



**Machado R.D., Pauciulo M.W., Thomson J.R., Lane K.B., Morgan N.V., Wheeler L., Phillips J.A., 3rd, Newman J., Williams D. y cols.** (2001). BMPR2 haploinsufficiency as the inherited molecular mechanism for primary pulmonary hypertension. *Am J Hum Genet* **68**: 92-102.

**Mahmoud M., Borthwick G.M., Hislop A.A. y Arthur H.M.** (2009). Endoglin and activin receptor-like-kinase 1 are co-expressed in the distal vessels of the lung: implications for two familial vascular dysplasias, HHT and PAH. *Lab Invest* **89**: 15-25.

**Majumdar M.K., Wang E. y Morris E.A.** (2001). BMP-2 and BMP-9 promotes chondrogenic differentiation of human multipotential mesenchymal cells and overcomes the inhibitory effect of IL-1. *J Cell Physiol* **189**: 275-284.

**Makwana R., Gozzard N., Spina D. y Page C.** (2012). TNF-alpha-induces airway hyperresponsiveness to cholinergic stimulation in guinea pig airways. *Br J Pharmacol* **165**: 1978-1991.

**Mallet C., Vittet D., Feige J.J. y Bailly S.** (2006). TGFbeta1 induces vasculogenesis and inhibits angiogenic sprouting in an embryonic stem cell differentiation model: respective contribution of ALK1 and ALK5. *Stem Cells* **24**: 2420-2427.

**Mancia G.** (1983). Blood pressure variability at normal and high blood pressure. *Chest* **83**: 317-320.

**Mancini M.L., Verdi J.M., Conley B.A., Nicola T., Spicer D.B., Oxburgh L.H. y Vary C.P.** (2007). Endoglin is required for myogenic differentiation potential of neural crest stem cells. *Dev Biol* **308**: 520-533.

**Marletta M.A.** (1988). Mammalian synthesis of nitrite, nitrate, nitric oxide, and N-nitrosating agents. *Chem Res Toxicol* **1**: 249-257.

**Marletta M.A.** (1989). Nitric oxide: biosynthesis and biological significance. *Trends Biochem Sci* **14**: 488-492.

**Marletta M.A.** (1994). Approaches toward selective inhibition of nitric oxide synthase. *J Med Chem* **37**: 1899-1907.

**Martinez-Gonzalez J. y Badimon L.** (2000). [Reendotelization, intimal thickening and vascular remodeling. A common denominator?]. *Rev Esp Cardiol* **53**: 1425-1427.

**Martinez-Gonzalez J., Llorente-Cortes V. y Badimon L.** (2001). [Cellular and molecular biology of atherosclerotic lesions]. *Rev Esp Cardiol* **54**: 218-231.

**Masaki T.** (1995). Possible role of endothelin in endothelial regulation of vascular tone. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **35**: 235-255.

**Masatsugu K., Itoh H., Chun T.H., Ogawa Y., Tamura N., Yamashita J., Doi K., Inoue M., Fukunaga Y. y cols.** (1998). Physiologic shear stress suppresses endothelin-converting enzyme-1 expression in vascular endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* **31 Suppl 1**: S42-45.

**Massague J.** (1990). The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol* **6**: 597-641.

**Massague J.** (1998). TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem* **67**: 753-791.

**Massague J., Seoane J. y Wotton D.** (2005). Smad transcription factors. *Genes Dev* **19**: 2783-2810.

**Massague J. y Gomis R.R.** (2006). The logic of TGFbeta signaling. *FEBS Lett* **580**: 2811-2820.

**Mathias R.S., Mikoshiba K., Michikawa T., Miyawaki A. y Ives H.E.** (1998). IP3 receptor blockade fails to prevent intracellular Ca<sup>2+</sup> release by ET-1 and alpha-thrombin. *Am J Physiol* **274**: C1456-1465.

**Matsumura Y., Murata S., Takada K., Takaoka M. y Morimoto S.** (1994). Involvement of transforming growth factor-beta 1 for platelets-induced stimulation of endothelin-1 production. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **21**: 991-996.

**Matsuura A., Kawashima S., Yamochi W., Hirata K., Yamaguchi T., Emoto N. y Yokoyama M.** (1997). Vascular endothelial growth factor increases endothelin-converting enzyme expression in vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* **235**: 713-716.

**Mattfeldt T.** (1987). Volume estimation of biological objects by systematic sections. *J Math Biol* **25**: 685-695.

**Mattson D.L.** (1998). Long-term measurement of arterial blood pressure in conscious mice. *Am J Physiol* **274**: R564-570.

**Mazzoni I.E. y Kenigsberg R.L.** (1996). Transforming growth factor alpha differentially affects GABAergic and cholinergic neurons in rat medial septal cell cultures. *Brain Res* **707**: 88-99.

**McAdam B.F., Catella-Lawson F., Mardini I.A., Kapoor S., Lawson J.A. y FitzGerald G.A.** (1999). Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**: 272-277.

**McAllister K.A., Grogg K.M., Johnson D.W., Gallione C.J., Baldwin M.A., Jackson C.E., Helmbold E.A., Markel D.S., McKinnon W.C. y cols.** (1994). Endoglin, a TGF-beta binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1. *Nat Genet* **8**: 345-351.

**McDonald M.T., Papenberg K.A., Ghosh S., Glatfelter A.A., Biesecker B.B., Helmbold E.A., Markel D.S., Zolotor A., McKinnon W.C. y cols.** (1994). A disease locus for hereditary haemorrhagic telangiectasia maps to chromosome 9q33-34. *Nat Genet* **6**: 197-204.

**McKinley M.J., Allen A.M., May C.N., McAllen R.M., Oldfield B.J., Sly D. y Mendelsohn F.A.** (2001). Neural pathways from the lamina terminalis influencing cardiovascular and body fluid homeostasis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **28**: 990-992.

**Michel T. y Feron O.** (1997). Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J Clin Invest* **100**: 2146-2152.

- Miller A.F., Harvey S.A., Thies R.S. y Olson M.S.** (2000). Bone morphogenetic protein-9. An autocrine/paracrine cytokine in the liver. *J Biol Chem* **275**: 17937-17945.
- Miyazawa K., Shinozaki M., Hara T., Furuya T. y Miyazono K.** (2002). Two major Smad pathways in TGF-beta superfamily signalling. *Genes Cells* **7**: 1191-1204.
- Mo J., Fang S.J., Chen W. y Blobe G.C.** (2002). Regulation of ALK-1 signaling by the nuclear receptor LXRbeta. *J Biol Chem* **277**: 50788-50794.
- Mombouli J.V. y Vanhoutte P.M.** (1991). Kinins and endothelium-dependent relaxations to converting enzyme inhibitors in perfused canine arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* **18**: 926-927.
- Mombouli J.V., Bissiriou I., Agboton V. y Vanhoutte P.M.** (1996). Endothelium-derived hyperpolarizing factor: a key mediator of the vasodilator action of bradykinin. *Immunopharmacology* **33**: 46-50.
- Moncada S. y Vane J.R.** (1978). Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A<sub>2</sub>, and prostacyclin. *Pharmacol Rev* **30**: 293-331.
- Moncada S., Palmer R.M. y Higgs E.A.** (1988). The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* **12**: 365-372.
- Moncada S. y Palmer R.M.** (1991a). Biosynthesis and actions of nitric oxide. *Semin Perinatol* **15**: 16-19.
- Moncada S. y Palmer R.M.** (1991b). Inhibition of the induction of nitric oxide synthase by glucocorticoids: yet another explanation for their anti-inflammatory effects? *Trends Pharmacol Sci* **12**: 130-131.
- Moncada S., Palmer R.M. y Higgs E.A.** (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* **43**: 109-142.
- Moncada S.** (1994). Nitric oxide. *J Hypertens Suppl* **12**: S35-39.
- Monge L., Garcia-Villalon A.L., Montoya J.J., Garcia J.L., Fernandez N., Gomez B. y Dieguez G.** (1993). Role of the endothelium in the response to cholinceptor stimulation of rabbit ear and femoral arteries during cooling. *Br J Pharmacol* **109**: 61-67.
- Moore-Ede M.C.** (1983). The circadian timing system in mammals: two pacemakers preside over many secondary oscillators. *Fed Proc* **42**: 2802-2808.
- Morita I., Schindler M., Regier M.K., Otto J.C., Hori T., DeWitt D.L. y Smith W.L.** (1995). Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2. *J Biol Chem* **270**: 10902-10908.
- Morita I.** (2002). Distinct functions of COX-1 and COX-2. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* **68-69**: 165-175.
- Morris E., Chrobak I., Bujor A., Hant F., Mummery C., Ten Dijke P. y Trojanowska M.** (2011). Endoglin promotes TGF-beta/Smad1 signaling in scleroderma fibroblasts. *J Cell Physiol* **226**: 3340-3348.

**Murshed M., Schinke T., McKee M.D. y Karsenty G.** (2004). Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol* **165**: 625-630.

**Mustard J.F., Kinlough-Rathbone R.L. y Packham M.A.** (1980). Prostaglandins and platelets. *Annu Rev Med* **31**: 89-96.

**Nachtigal P., Zemankova Vecerova L., Rathouska J. y Strasky Z.** (2012). The role of endoglin in atherosclerosis. *Atherosclerosis* **224**: 4-11.

**Nafrialdi N., Jover B. y Mimran A.** (1994). Endogenous vasoactive systems and the pressor effect of acute N omega-nitro-L-arginine methyl ester administration. *J Cardiovasc Pharmacol* **23**: 765-771.

**Nagao T., Illiano S. y Vanhoutte P.M.** (1992). Heterogeneous distribution of endothelium-dependent relaxations resistant to NG-nitro-L-arginine in rats. *Am J Physiol* **263**: H1090-1094.

**Nagel T., Resnick N., Dewey C.F., Jr. y Gimbrone M.A., Jr.** (1999). Vascular endothelial cells respond to spatial gradients in fluid shear stress by enhanced activation of transcription factors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **19**: 1825-1834.

**Nakane M., Mitchell J., Forstermann U. y Murad F.** (1991). Phosphorylation by calcium calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase C modulates the activity of nitric oxide synthase. *Biochem Biophys Res Commun* **180**: 1396-1402.

**Naomi S., Iwaoka T., Disashi T., Inoue J., Kanesaka Y., Tokunaga H. y Tomita K.** (1998). Endothelin-1 inhibits endothelin-converting enzyme-1 expression in cultured rat pulmonary endothelial cells. *Circulation* **97**: 234-236.

**Narumiya S., Sugimoto Y. y Ushikubi F.** (1999). Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev* **79**: 1193-1226.

**Nasimi A. y Hatam M.** (2011). The role of the cholinergic system of the bed nucleus of the stria terminalis on the cardiovascular responses and the baroreflex modulation in rats. *Brain Res* **1386**: 81-88.

**Nava E. y Luscher T.F.** (1995). Endothelium-derived vasoactive factors in hypertension: nitric oxide and endothelin. *J Hypertens Suppl* **13**: S39-48.

**Nava E., Noll G. y Luscher T.F.** (1995). Increased activity of constitutive nitric oxide synthase in cardiac endothelium in spontaneous hypertension. *Circulation* **91**: 2310-2313.

**Navar L.G.** (1997). The kidney in blood pressure regulation and development of hypertension. *Med Clin North Am* **81**: 1165-1198.

**Nerem R.M., Harrison D.G., Taylor W.R. y Alexander R.W.** (1993). Hemodynamics and vascular endothelial biology. *J Cardiovasc Pharmacol* **21 Suppl 1**: S6-10.

**Newton D.J., Davies J., Belch J.J. y Khan F.** (2013). Role of endothelium-derived hyperpolarising factor in acetylcholine-mediated vasodilatation in skin. *Int Angiol* **32**: 312-318.

- Nicoletta P., Pochiero M., Losi E. y Caputi A.P. (1983). Interaction between renin-angiotensin system and cholinergic system in brain. *Neuropharmacology* **22**: 1269-1275.
- Niiyama H., Huang N.F., Rollins M.D. y Cooke J.P. (2009). Murine model of hindlimb ischemia. *J Vis Exp*.
- Oberhammer F.A., Pavelka M., Sharma S., Tiefenbacher R., Purchio A.F., Bursch W. y Schulte-Hermann R. (1992). Induction of apoptosis in cultured hepatocytes and in regressing liver by transforming growth factor beta 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**: 5408-5412.
- Oblander S.A., Zhou Z., Galvez B.G., Starcher B., Shannon J.M., Durbeej M., Arroyo A.G., Tryggvason K. y Apte S.S. (2005). Distinctive functions of membrane type 1 matrix-metalloprotease (MT1-MMP or MMP-14) in lung and submandibular gland development are independent of its role in pro-MMP-2 activation. *Dev Biol* **277**: 255-269.
- Oh S.P., Seki T., Goss K.A., Imamura T., Yi Y., Donahoe P.K., Li L., Miyazono K., ten Dijke P. y cols. (2000). Activin receptor-like kinase 1 modulates transforming growth factor-beta 1 signaling in the regulation of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **97**: 2626-2631.
- Ohnaka K., Numaguchi K., Yamakawa T. y Inagami T. (2000). Induction of cyclooxygenase-2 by angiotensin II in cultured rat vascular smooth muscle cells. *Hypertension* **35**: 68-75.
- Oliverio M.I., Best C.F., Kim H.S., Arendshorst W.J., Smithies O. y Coffman T.M. (1997). Angiotensin II responses in AT1A receptor-deficient mice: a role for AT1B receptors in blood pressure regulation. *Am J Physiol* **272**: F515-520.
- Olivieri C., Pagella F., Semino L., Lanzarini L., Valacca C., Pilotto A., Corno S., Scappaticci S., Manfredi G. y cols. (2007). Analysis of ENG and ACVRL1 genes in 137 HHT Italian families identifies 76 different mutations (24 novel). Comparison with other European studies. *J Hum Genet* **52**: 820-829.
- Onodera M., Morita, Mano Y. y Murota S. (2000). Differential effects of nitric oxide on the activity of prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2 in vascular endothelial cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **62**: 161-167.
- Opgenorth T.J., Wu-Wong J.R. y Shiosaki K. (1992). Endothelin-converting enzymes. *FASEB J* **6**: 2653-2659.
- Orzechowski H.D., Gunther A., Menzel S., Funke-Kaiser H., Richter M., Bohnemeier H. y Paul M. (1998). Endothelial expression of endothelin-converting enzyme-1 beta mRNA is regulated by the transcription factor Ets-1. *J Cardiovasc Pharmacol* **31 Suppl 1**: S55-57.
- Ottosson-Seeberger A., Ahlborg G., Hensen A., Lundberg J.M. y Alvestrand A. (1999). Hemodynamic effects of endothelin-1 and big endothelin-1 in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* **10**: 1037-1044.

**Pagan R.M., Martinez A.C., Hernandez M., Martinez M.P., Garcia-Sacristan A., Correa C., Novella S., Hermenegildo C., Prieto D. y cols.** (2012). Endothelial and neural factors functionally involved in the modulation of noradrenergic vasoconstriction in healthy pig internal mammary artery. *Biochemical pharmacology* **83**: 882-892.

**Palma-Rigo K., Jackson K.L., Davern P.J., Nguyen-Huu T.P., Elghozi J.L. y Head G.A.** (2011). Renin-angiotensin and sympathetic nervous system contribution to high blood pressure in Schlager mice. *J Hypertens* **29**: 2156-2166.

**Palmer R.F. y Lasseter K.C.** (1975). Drug therapy. Sodium nitroprusside. *N Engl J Med* **292**: 294-297.

**Palmer R.M., Ferrige A.G. y Moncada S.** (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* **327**: 524-526.

**Palmer R.M., Rees D.D., Ashton D.S. y Moncada S.** (1988). L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* **153**: 1251-1256.

**Panchenko M.P., Williams M.C., Brody J.S. y Yu Q.** (1996). Type I receptor serine-threonine kinase preferentially expressed in pulmonary blood vessels. *Am J Physiol* **270**: L547-558.

**Pannu J., Nakerakanti S., Smith E., ten Dijke P. y Trojanowska M.** (2007). Transforming growth factor-beta receptor type I-dependent fibrogenic gene program is mediated via activation of Smad1 and ERK1/2 pathways. *J Biol Chem* **282**: 10405-10413.

**Park C.G. y Leenen F.H.** (2001). Effects of centrally administered losartan on deoxycorticosterone-salt hypertension rats. *J Korean Med Sci* **16**: 553-557.

**Park J.E., Shao D., Upton P.D., Desouza P., Adcock I.M., Davies R.J., Morrell N.W., Griffiths M.J. y Wort S.J.** (2012). BMP-9 induced endothelial cell tubule formation and inhibition of migration involves Smad1 driven endothelin-1 production. *PLoS One* **7**: e30075.

**Park S.O., Lee Y.J., Seki T., Hong K.H., Fliess N., Jiang Z., Park A., Wu X., Kaartinen V. y cols.** (2008). ALK5- and TGFBR2-independent role of ALK1 in the pathogenesis of hereditary hemorrhagic telangiectasia type 2. *Blood* **111**: 633-642.

**Park S.O., Wankhede M., Lee Y.J., Choi E.J., Fliess N., Choe S.W., Oh S.H., Walter G., Raizada M.K. y cols.** (2009). Real-time imaging of de novo arteriovenous malformation in a mouse model of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Clin Invest* **119**: 3487-3496.

**Paton J.F., Boscan P., Murphy D. y Kasparov S.** (2001). Unravelling mechanisms of action of angiotensin II on cardiorespiratory function using in vivo gene transfer. *Acta Physiol Scand* **173**: 127-137.

**Pawlikowska L., Tran M.N., Achrol A.S., Ha C., Burchard E., Choudhry S., Zaroff J., Lawton M.T., Castro R. y cols.** (2005). Polymorphisms in transforming growth factor-beta-related genes ALK1 and ENG are associated with sporadic brain arteriovenous malformations. *Stroke* **36**: 2278-2280.



Pece-Barbara N., Vera S., Kathirkamathamby K., Liebner S., Di Guglielmo G.M., Dejana E., Wrana J.L. y Letarte M. (2005). Endoglin null endothelial cells proliferate faster and are more responsive to transforming growth factor beta1 with higher affinity receptors and an activated Alk1 pathway. *J Biol Chem* **280**: 27800-27808.

Pepper M.S. (1997). Transforming growth factor-beta: vasculogenesis, angiogenesis, and vessel wall integrity. *Cytokine Growth Factor Rev* **8**: 21-43.

Perez-Rivero G., Ruiz-Torres M.P., Rivas-Elena J.V., Jerkic M., Diez-Marques M.L., Lopez-Novoa J.M., Blasco M.A. y Rodriguez-Puyol D. (2006). Mice deficient in telomerase activity develop hypertension because of an excess of endothelin production. *Circulation* **114**: 309-317.

Pfeffer J.M., Pfeffer M.A. y Frohlich E.D. (1971). Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J Lab Clin Med* **78**: 957-962.

Plane F., Wiley K.E., Jeremy J.Y., Cohen R.A. y Garland C.J. (1998). Evidence that different mechanisms underlie smooth muscle relaxation to nitric oxide and nitric oxide donors in the rabbit isolated carotid artery. *Br J Pharmacol* **123**: 1351-1358.

Pollock D.M., Polakowski J.S., Divish B.J. y Opgenorth T.J. (1993). Angiotensin blockade reverses hypertension during long-term nitric oxide synthase inhibition. *Hypertension* **21**: 660-666.

Prehn J.H., Peruche B., Unsicker K. y Krieglstein J. (1993). Isoform-specific effects of transforming growth factors-beta on degeneration of primary neuronal cultures induced by cytotoxic hypoxia or glutamate. *J Neurochem* **60**: 1665-1672.

Prehn J.H., Bindokas V.P., Marcuccilli C.J., Krajewski S., Reed J.C. y Miller R.J. (1994). Regulation of neuronal Bcl2 protein expression and calcium homeostasis by transforming growth factor type beta confers wide-ranging protection on rat hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**: 12599-12603.

Prehn J.H. y Krieglstein J. (1994). Opposing effects of transforming growth factor-beta 1 on glutamate neurotoxicity. *Neuroscience* **60**: 7-10.

Prehn J.H., Bindokas V.P., Jordan J., Galindo M.F., Ghadge G.D., Roos R.P., Boise L.H., Thompson C.B., Krajewski S. y cols. (1996). Protective effect of transforming growth factor-beta 1 on beta-amyloid neurotoxicity in rat hippocampal neurons. *Mol Pharmacol* **49**: 319-328.

Qi Z., Hao C.M., Langenbach R.I., Breyer R.M., Redha R., Morrow J.D. y Breyer M.D. (2002). Opposite effects of cyclooxygenase-1 and -2 activity on the pressor response to angiotensin II. *J Clin Invest* **110**: 61-69.

Radomski M.W., Palmer R.M. y Moncada S. (1990). Characterization of the L-arginine:nitric oxide pathway in human platelets. *Br J Pharmacol* **101**: 325-328.

Raizada V., Pathak D., Skipper B., Nakouzi A. y Malhotra A. (1999). Age-related difference in cardiac adaptation to chronic hypertension in rats, with and without nifedipine treatment. *Mol Cell Biochem* **198**: 109-112.

**Rajagopal K., Whalen E.J., Violin J.D., Stiber J.A., Rosenberg P.B., Premont R.T., Coffman T.M., Rockman H.A. y Lefkowitz R.J.** (2006). Beta-arrestin2-mediated inotropic effects of the angiotensin II type 1A receptor in isolated cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 16284-16289.

**Reid J.J., Vo P.A., Lieu A.T., Wong-Dusting H.K. y Rand M.J.** (1991). Modulation of norepinephrine-induced vasoconstriction by endothelin-1 and nitric oxide in rat tail artery. *J Cardiovasc Pharmacol* **17 Suppl 7**: S272-275.

**Reid J.L. y Rubin P.C.** (1987). Peptides and central neural regulation of the circulation. *Physiol Rev* **67**: 725-749.

**Reis D.J., Granata A.R., Joh T.H., Ross C.A., Ruggiero D.A. y Park D.H.** (1984). Brain stem catecholamine mechanisms in tonic and reflex control of blood pressure. *Hypertension* **6**: II7-15.

**Resnick N., Yahav H., Schubert S., Wolfovitz E. y Shay A.** (2000). Signalling pathways in vascular endothelium activated by shear stress: relevance to atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* **11**: 167-177.

**Ricard N., Ciais D., Levet S., Subileau M., Mallet C., Zimmers T.A., Lee S.J., Bidart M., Feige J.J. y cols.** (2012). BMP9 and BMP10 are critical for postnatal retinal vascular remodeling. *Blood* **119**: 6162-6171.

**Roberts E.C., Shapiro P.S., Nahreini T.S., Pages G., Pouyssegur J. y Ahn N.G.** (2002). Distinct cell cycle timing requirements for extracellular signal-regulated kinase and phosphoinositide 3-kinase signaling pathways in somatic cell mitosis. *Mol Cell Biol* **22**: 7226-7241.

**Robinson S.E.** (1984). Serotonergic-cholinergic interactions in blood pressure control in the rat. *Fed Proc* **43**: 21-24.

**Rodriguez-Pena A., Prieto M., Duwel A., Rivas J.V., Eleno N., Perez-Barriocanal F., Arevalo M., Smith J.D., Vary C.P. y cols.** (2001). Up-regulation of endoglin, a TGF-beta-binding protein, in rats with experimental renal fibrosis induced by renal mass reduction. *Nephrol Dial Transplant* **16 Suppl 1**: 34-39.

**Rodriguez-Vita J., Sanchez-Lopez E., Esteban V., Ruperez M., Egido J. y Ruiz-Ortega M.** (2005). Angiotensin II activates the Smad pathway in vascular smooth muscle cells by a transforming growth factor-beta-independent mechanism. *Circulation* **111**: 2509-2517.

**Roelen B.A., van Rooijen M.A. y Mummery C.L.** (1997). Expression of ALK-1, a type 1 serine/threonine kinase receptor, coincides with sites of vasculogenesis and angiogenesis in early mouse development. *Dev Dyn* **209**: 418-430.

**Roman B.L., Pham V.N., Lawson N.D., Kulik M., Childs S., Lekven A.C., Garrity D.M., Moon R.T., Fishman M.C. y cols.** (2002). Disruption of *acvr11* increases endothelial cell number in zebrafish cranial vessels. *Development* **129**: 3009-3019.

**Rosenkranz S.** (2004). TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodeling. *Cardiovasc Res* **63**: 423-432.



Ross R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* **362**: 801-809.

Rossi E., Sanz-Rodriguez F., Eleno N., Duwell A., Blanco F.J., Langa C., Botella L.M., Cabanas C., Lopez-Novoa J.M. y cols. (2013). Endothelial endoglin is involved in inflammation: role in leukocyte adhesion and transmigration. *Blood* **121**: 403-415.

Ruiz-Ortega M., Ruperez M., Esteban V. y Egido J. (2003). Molecular mechanisms of angiotensin II-induced vascular injury. *Curr Hypertens Rep* **5**: 73-79.

Ruzicka M. y Leenen F.H. (1997). Update on local cardiac renin-angiotensin system. *Curr Opin Cardiol* **12**: 347-353.

Sadick H., Naim R., Gossler U., Hormann K. y Riedel F. (2005a). Angiogenesis in hereditary hemorrhagic telangiectasia: VEGF165 plasma concentration in correlation to the VEGF expression and microvessel density. *Int J Mol Med* **15**: 15-19.

Sadick H., Riedel F., Naim R., Goessler U., Hormann K., Hafner M. y Lux A. (2005b). Patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia have increased plasma levels of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta1 as well as high ALK1 tissue expression. *Haematologica* **90**: 818-828.

Sakurai T., Yanagisawa M. y Masaki T. (1992). Molecular characterization of endothelin receptors. *Trends Pharmacol Sci* **13**: 103-108.

Salani D., Taraboletti G., Rosano L., Di Castro V., Borsotti P., Giavazzi R. y Bagnato A. (2000). Endothelin-1 induces an angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *Am J Pathol* **157**: 1703-1711.

Samad T.A., Rebbapragada A., Bell E., Zhang Y., Sidis Y., Jeong S.J., Campagna J.A., Perusini S., Fabrizio D.A. y cols. (2005). DRAGON, a bone morphogenetic protein co-receptor. *J Biol Chem* **280**: 14122-14129.

Santibanez J.F., Letamendia A., Perez-Barriocanal F., Silvestri C., Saura M., Vary C.P., Lopez-Novoa J.M., Attisano L. y Bernabeu C. (2007). Endoglin increases eNOS expression by modulating Smad2 protein levels and Smad2-dependent TGF-beta signaling. *J Cell Physiol* **210**: 456-468.

Sanz-Rodriguez F., Fernandez L.A., Zarrabeitia R., Perez-Molino A., Ramirez J.R., Coto E., Bernabeu C. y Botella L.M. (2004a). Mutation analysis in Spanish patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia: deficient endoglin up-regulation in activated monocytes. *Clin Chem* **50**: 2003-2011.

Sanz-Rodriguez F., Guerrero-Esteo M., Botella L.M., Banville D., Vary C.P. y Bernabeu C. (2004b). Endoglin regulates cytoskeletal organization through binding to ZRP-1, a member of the Lim family of proteins. *J Biol Chem* **279**: 32858-32868.

Sartori C., Lepori M. y Scherrer U. (2005). Interaction between nitric oxide and the cholinergic and sympathetic nervous system in cardiovascular control in humans. *Pharmacol Ther* **106**: 209-220.

**Sassard J., Lo M. y Liu K.L.** (2003). Lyon genetically hypertensive rats: an animal model of "low renin hypertension". *Acta Pharmacol Sin* **24**: 1-6.

**Scott-Burden T., Resink T.J., Hahn A.W. y Vanhoutte P.M.** (1991). Induction of endothelin secretion by angiotensin II: effects on growth and synthetic activity of vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* **17 Suppl 7**: S96-100.

**Scharpfenecker M., van Dinther M., Liu Z., van Bezooijen R.L., Zhao Q., Pukac L., Lowik C.W. y ten Dijke P.** (2007). BMP-9 signals via ALK1 and inhibits bFGF-induced endothelial cell proliferation and VEGF-stimulated angiogenesis. *J Cell Sci* **120**: 964-972.

**Scharpfenecker M., Floot B., Korlaar R., Russell N.S. y Stewart F.A.** (2011). ALK1 heterozygosity delays development of late normal tissue damage in the irradiated mouse kidney. *Radiother Oncol* **99**: 349-355.

**Scharpfenecker M., Floot B., Russell N.S. y Stewart F.A.** (2012). The TGF-beta co-receptor endoglin regulates macrophage infiltration and cytokine production in the irradiated mouse kidney. *Radiother Oncol* **105**: 313-320.

**Schlager G. y Sides J.** (1997). Characterization of hypertensive and hypotensive inbred strains of mice. *Lab Anim Sci* **47**: 288-292.

**Schnitzler A., Gross J. y Timmermann L.** (2000). Synchronised oscillations of the human sensorimotor cortex. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* **60**: 271-287.

**Schnitzler A.C., Lopez-Coviella I. y Blusztajn J.K.** (2008). Differential modulation of nerve growth factor receptor (p75) and cholinergic gene expression in purified p75-expressing and non-expressing basal forebrain neurons by BMP9. *Brain Res* **1246**: 19-28.

**Schnitzler A.C., Mellott T.J., Lopez-Coviella I., Tallini Y.N., Kotlikoff M.I., Follettie M.T. y Blusztajn J.K.** (2010). BMP9 (bone morphogenetic protein 9) induces NGF as an autocrine/paracrine cholinergic trophic factor in developing basal forebrain neurons. *J Neurosci* **30**: 8221-8228.

**Schwartz S.M. y Liaw L.** (1993). Growth control and morphogenesis in the development and pathology of arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* **21 Suppl 1**: S31-49.

**Schweizer A., Valdenaire O., Nelbock P., Deuschle U., Dumas Milne Edwards J.B., Stumpf J.G. y Loffler B.M.** (1997). Human endothelin-converting enzyme (ECE-1): three isoforms with distinct subcellular localizations. *Biochem J* **328 ( Pt 3)**: 871-877.

**Seki T., Yun J. y Oh S.P.** (2003). Arterial endothelium-specific activin receptor-like kinase 1 expression suggests its role in arterialization and vascular remodeling. *Circ Res* **93**: 682-689.

**Seki T., Hong K.H., Yun J., Kim S.J. y Oh S.P.** (2004). Isolation of a regulatory region of activin receptor-like kinase 1 gene sufficient for arterial endothelium-specific expression. *Circ Res* **94**: e72-77.

**Seki T., Hong K.H. y Oh S.P.** (2006). Nonoverlapping expression patterns of ALK1 and ALK5 reveal distinct roles of each receptor in vascular development. *Lab Invest* **86**: 116-129.

- Sessa W.C. (1994). The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res* **31**: 131-143.
- Shao D., Park J.E. y Wort S.J. (2011). The role of endothelin-1 in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Pharmacol Res* **63**: 504-511.
- Shao E.S., Lin L., Yao Y. y Bostrom K.I. (2009). Expression of vascular endothelial growth factor is coordinately regulated by the activin-like kinase receptors 1 and 5 in endothelial cells. *Blood* **114**: 2197-2206.
- Sheng H., Shao J., Dixon D.A., Williams C.S., Prescott S.M., DuBois R.N. y Beauchamp R.D. (2000). Transforming growth factor-beta1 enhances Ha-ras-induced expression of cyclooxygenase-2 in intestinal epithelial cells via stabilization of mRNA. *J Biol Chem* **275**: 6628-6635.
- Shesely E.G., Maeda N., Kim H.S., Desai K.M., Krege J.H., Laubach V.E., Sherman P.A., Sessa W.C. y Smithies O. (1996). Elevated blood pressures in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 13176-13181.
- Shibuya M., Ito N. y Claesson-Welsh L. (1999). Structure and function of vascular endothelial growth factor receptor-1 and -2. *Curr Top Microbiol Immunol* **237**: 59-83.
- Shintani M., Yagi H., Nakayama T., Saji T. y Matsuoka R. (2009). A new nonsense mutation of SMAD8 associated with pulmonary arterial hypertension. *J Med Genet* **46**: 331-337.
- Shovlin C.L., Hughes J.M., Tuddenham E.G., Temperley I., Perembelon Y.F., Scott J., Seidman C.E. y Seidman J.G. (1994). A gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia maps to chromosome 9q3. *Nat Genet* **6**: 205-209.
- Simpson P. (1983). Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultured rat myocardial cells is an alpha 1 adrenergic response. *J Clin Invest* **72**: 732-738.
- Smith W.L. y Marnett L.J. (1991). Prostaglandin endoperoxide synthase: structure and catalysis. *Biochim Biophys Acta* **1083**: 1-17.
- Smith W.L., DeWitt D.L. y Garavito R.M. (2000). Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem* **69**: 145-182.
- Spencer A.G., Woods J.W., Arakawa T., Singer, II y Smith W.L. (1998). Subcellular localization of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2 by immunoelectron microscopy. *J Biol Chem* **273**: 9886-9893.
- Stadler T., Veltmar A., Qadri F. y Unger T. (1992). Angiotensin II evokes noradrenaline release from the paraventricular nucleus in conscious rats. *Brain Res* **569**: 117-122.
- Star G.P., Giovinazzo M. y Langleben D. (2010). Bone morphogenic protein-9 stimulates endothelin-1 release from human pulmonary microvascular endothelial cells: a potential mechanism for elevated ET-1 levels in pulmonary arterial hypertension. *Microvasc Res* **80**: 349-354.

**Sterpetti A.V., Cucina A., D'Angelo L.S., Cardillo B. y Cavallaro A.** (1993). Shear stress modulates the proliferation rate, protein synthesis, and mitogenic activity of arterial smooth muscle cells. *Surgery* **113**: 691-699.

**Sterpetti A.V., Cucina A., Fragale A., Lepidi S., Cavallaro A. y Santoro-D'Angelo L.** (1994). Shear stress influences the release of platelet derived growth factor and basic fibroblast growth factor by arterial smooth muscle cells. Winner of the ESVS prize for best experimental paper 1993. *Eur J Vasc Surg* **8**: 138-142.

**Stiedl O. y Spiess J.** (1997). Effect of tone-dependent fear conditioning on heart rate and behavior of C57BL/6N mice. *Behav Neurosci* **111**: 703-711.

**Strange J.W., Wharton J., Phillips P.G. y Wilkins M.R.** (2002). Recent insights into the pathogenesis and therapeutics of pulmonary hypertension. *Clin Sci (Lond)* **102**: 253-268.

**Su A.I., Wiltshire T., Batalov S., Lapp H., Ching K.A., Block D., Zhang J., Soden R., Hayakawa M. y cols.** (2004). A gene atlas of the mouse and human protein-encoding transcriptomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**: 6062-6067.

**Sun C., Sellers K.W., Sumners C. y Raizada M.K.** (2005). NAD(P)H oxidase inhibition attenuates neuronal chronotropic actions of angiotensin II. *Circ Res* **96**: 659-666.

**Suzuki Y., Ohga N., Morishita Y., Hida K., Miyazono K. y Watabe T.** (2010). BMP-9 induces proliferation of multiple types of endothelial cells in vitro and in vivo. *J Cell Sci* **123**: 1684-1692.

**Swoap S.J., Weinshenker D., Palmiter R.D. y Garber G.** (2004). *Dbh(-/-)* mice are hypotensive, have altered circadian rhythms, and have abnormal responses to dieting and stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **286**: R108-113.

**Taddei S., Virdis A., Mattei P., Duranti P., Favilla S. y Salvetti A.** (1994). Vascular renin-angiotensin system and sympathetic nervous system activity in human hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* **23 Suppl 1**: S9-14.

**Takahashi N. y Smithies O.** (1999). Gene targeting approaches to analyzing hypertension. *J Am Soc Nephrol* **10**: 1598-1605.

**Tang Y., Yang X., Friesel R.E., Vary C.P. y Liaw L.** (2011). Mechanisms of TGF-beta-induced differentiation in human vascular smooth muscle cells. *J Vasc Res* **48**: 485-494.

**ten Dijke P., Ichijo H., Franzen P., Schulz P., Saras J., Toyoshima H., Heldin C.H. y Miyazono K.** (1993). Activin receptor-like kinases: a novel subclass of cell-surface receptors with predicted serine/threonine kinase activity. *Oncogene* **8**: 2879-2887.

**ten Dijke P., Yamashita H., Ichijo H., Franzen P., Laiho M., Miyazono K. y Heldin C.H.** (1994). Characterization of type I receptors for transforming growth factor-beta and activin. *Science* **264**: 101-104.

**ten Dijke P. y Hill C.S.** (2004). New insights into TGF-beta-Smad signalling. *Trends Biochem Sci* **29**: 265-273.

- Tesfamariam B., Allen G.T., Normandin D. y Antonaccio M.J.** (1993). Involvement of the "tethered ligand" receptor in thrombin-induced endothelium-mediated relaxations. *Am J Physiol* **265**: H1744-1749.
- Tessner T.G., Muhale F., Schloemann S., Cohn S.M., Morrison A. y Stenson W.F.** (2003). Basic fibroblast growth factor upregulates cyclooxygenase-2 in I407 cells through p38 MAP kinase. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **284**: G269-279.
- Thomas B., Thirion S., Humbert L., Tan L., Goldring M.B., Bereziat G. y Berenbaum F.** (2002). Differentiation regulates interleukin-1beta-induced cyclo-oxygenase-2 in human articular chondrocytes: role of p38 mitogen-activated protein kinase. *Biochem J* **362**: 367-373.
- Thone-Reineke C., Zimmermann M., Neumann C., Krikov M., Li J., Gerova N. y Unger T.** (2004). Are angiotensin receptor blockers neuroprotective? *Curr Hypertens Rep* **6**: 257-266.
- Thyberg J. y Blomgren K.** (1990). Phenotype modulation in primary cultures of rat aortic smooth muscle cells. Effects of drugs that interfere with the functions of the vacuolar system and the cytoskeleton. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* **59**: 1-10.
- Thyberg J., Blomgren K., Hedin U. y Dryjski M.** (1995). Phenotypic modulation of smooth muscle cells during the formation of neointimal thickenings in the rat carotid artery after balloon injury: an electron-microscopic and stereological study. *Cell Tissue Res* **281**: 421-433.
- Timmermans P.B., Wong P.C., Chiu A.T., Herblin W.F., Benfield P., Carini D.J., Lee R.J., Wexler R.R., Saye J.A. y cols.** (1993). Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* **45**: 205-251.
- Topper J.N., Cai J., Falb D. y Gimbrone M.A., Jr.** (1996). Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**: 10417-10422.
- Townson S.A., Martinez-Hackert E., Greppi C., Lowden P., Sako D., Liu J., Ucran J.A., Liharska K., Underwood K.W. y cols.** (2012). Specificity and structure of a high affinity activin receptor-like kinase 1 (ALK1) signaling complex. *J Biol Chem* **287**: 27313-27325.
- Truksa J., Peng H., Lee P. y Beutler E.** (2006). Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of Hfe, transferrin receptor 2 (Tfr2), and IL-6. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**: 10289-10293.
- Tsao P.S., Buitrago R., Chan J.R. y Cooke J.P.** (1996). Fluid flow inhibits endothelial adhesiveness. Nitric oxide and transcriptional regulation of VCAM-1. *Circulation* **94**: 1682-1689.
- Tsurumi Y., Murohara T., Krasinski K., Chen D., Witzenbichler B., Kearney M., Couffinhal T. y Isner J.M.** (1997). Reciprocal relation between VEGF and NO in the regulation of endothelial integrity. *Nat Med* **3**: 879-886.
- Turner A.J. y Murphy L.J.** (1996). Molecular pharmacology of endothelin converting enzymes. *Biochem Pharmacol* **51**: 91-102.

**Uddin M. y Harris-Nelson N.** (2004). Renin activity and angiotensin I concentration in genetically selective inbred line of hypertensive mice. *Biochem Biophys Res Commun* **316**: 842-844.

**Umans J.G. y Levi R.** (1995). Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure. *Annu Rev Physiol* **57**: 771-790.

**Upmacis R.K., Deeb R.S., Resnick M.J., Lindenbaum R., Gamss C., Mittar D. y Hajjar D.P.** (2004). Involvement of the mitogen-activated protein kinase cascade in peroxynitrite-mediated arachidonic acid release in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* **286**: C1271-1280.

**Upton P.D., Davies R.J., Trembath R.C. y Morrell N.W.** (2009). Bone morphogenetic protein (BMP) and activin type II receptors balance BMP9 signals mediated by activin receptor-like kinase-1 in human pulmonary artery endothelial cells. *J Biol Chem* **284**: 15794-15804.

**Upton P.D. y Morrell N.W.** (2009). TGF-beta and BMPR-II pharmacology--implications for pulmonary vascular diseases. *Curr Opin Pharmacol* **9**: 274-280.

**Valdimarsdottir G., Goumans M.J., Itoh F., Itoh S., Heldin C.H. y ten Dijke P.** (2006). Smad7 and protein phosphatase 1alpha are critical determinants in the duration of TGF-beta/ALK1 signaling in endothelial cells. *BMC Cell Biol* **7**: 16.

**Van Belle E., Bauters C., Asahara T. y Isner J.M.** (1998). Endothelial regrowth after arterial injury: from vascular repair to therapeutics. *Cardiovasc Res* **38**: 54-68.

**Van Vliet B.N., McGuire J., Chafe L., Leonard A., Joshi A. y Montani J.P.** (2006). Phenotyping the level of blood pressure by telemetry in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **33**: 1007-1015.

**Vane J.R., Anggard E.E. y Botting R.M.** (1990). Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* **323**: 27-36.

**Vanhoutte P.M., Boulanger C.M., Illiano S.C., Nagao T., Vidal M. y Mombouli J.V.** (1993). Endothelium-dependent effects of converting-enzyme inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* **22 Suppl 5**: S10-16.

**Vanhoutte P.M. y Mombouli J.V.** (1996). Vascular endothelium: vasoactive mediators. *Prog Cardiovasc Dis* **39**: 229-238.

**Varagic V.M., Prostran M.S., Stepanovic S., Savic J. y Vujnov S.** (1991). Transmitter interactions in the central cholinergic control of blood pressure regulation. *Drug Metabol Drug Interact* **9**: 49-76.

**Varenne O., Pislaru S., Gillijns H., Van Pelt N., Gerard R.D., Zoldhelyi P., Van de Werf F., Collen D. y Janssens S.P.** (1998). Local adenovirus-mediated transfer of human endothelial nitric oxide synthase reduces luminal narrowing after coronary angioplasty in pigs. *Circulation* **98**: 919-926.

**Veerasingham S.J. y Raizada M.K.** (2003). Brain renin-angiotensin system dysfunction in hypertension: recent advances and perspectives. *Br J Pharmacol* **139**: 191-202.



- Velasco S., Alvarez-Munoz P., Pericacho M., Dijke P.T., Bernabeu C., Lopez-Novoa J.M. y Rodriguez-Barbero A. (2008). L- and S-endoglin differentially modulate TGFbeta1 signaling mediated by ALK1 and ALK5 in L6E9 myoblasts. *J Cell Sci* **121**: 913-919.
- Vempati U.D. y Kondaiah P. (1998). Characterization of the 5' flanking region of the *Xenopus laevis* transforming growth factor-beta 5 (TGF-beta 5) gene. *Gene* **208**: 323-329.
- Verrecchia F. y Mauviel A. (2002). Transforming growth factor-beta signaling through the Smad pathway: role in extracellular matrix gene expression and regulation. *J Invest Dermatol* **118**: 211-215.
- Voller A. (1978). The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (theory, technique and applications). *Ric Clin Lab* **8**: 289-298.
- Wallace G.M. y Shovlin C.L. (2000). A hereditary haemorrhagic telangiectasia family with pulmonary involvement is unlinked to the known HHT genes, endoglin and ALK-1. *Thorax* **55**: 685-690.
- Wang T., Li B.Y., Danielson P.D., Shah P.C., Rockwell S., Lechleider R.J., Martin J., Manganaro T. y Donahoe P.K. (1996). The immunophilin FKBP12 functions as a common inhibitor of the TGF beta family type I receptors. *Cell* **86**: 435-444.
- Wang W., Huang X.R., Canlas E., Oka K., Truong L.D., Deng C., Bhowmick N.A., Ju W., Bottinger E.P. y cols. (2006). Essential role of Smad3 in angiotensin II-induced vascular fibrosis. *Circ Res* **98**: 1032-1039.
- Widmer C.C., Mundy A.L., Kretz M. y Barton M. (2006). Marked heterogeneity of endothelin-mediated contractility and contraction dynamics in mouse renal and femoral arteries. *Exp Biol Med (Maywood)* **231**: 777-781.
- Wiercinska E., Wickert L., Denecke B., Said H.M., Hamzavi J., Gressner A.M., Thorikay M., ten Dijke P., Mertens P.R. y cols. (2006). Id1 is a critical mediator in TGF-beta-induced transdifferentiation of rat hepatic stellate cells. *Hepatology* **43**: 1032-1041.
- Wrana J.L., Attisano L., Wieser R., Ventura F. y Massague J. (1994). Mechanism of activation of the TGF-beta receptor. *Nature* **370**: 341-347.
- Wu X., Robinson C.E., Fong H.W., Crabtree J.S., Rodriguez B.R., Roe B.A. y Gimble J.M. (1995). Cloning and characterization of the murine activin receptor like kinase-1 (ALK-1) homolog. *Biochem Biophys Res Commun* **216**: 78-83.
- Yamamoto T. y Bing R.J. (2000). Nitric oxide donors. *Proc Soc Exp Biol Med* **225**: 200-206.
- Yamashita H., ten Dijke P., Franzen P., Miyazono K. y Heldin C.H. (1994). Formation of hetero-oligomeric complexes of type I and type II receptors for transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* **269**: 20172-20178.
- Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe Y., Kobayashi M., Mitsui Y., Yazaki Y., Goto K. y Masaki T. (1988). A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **332**: 411-415.

**Yanagisawa M., Inoue A., Takuwa Y., Mitsui Y., Kobayashi M. y Masaki T.** (1989). The human preproendothelin-1 gene: possible regulation by endothelial phosphoinositide turnover signaling. *J Cardiovasc Pharmacol* **13 Suppl 5**: S13-17; discussion S18.

**Yang S.N., Lippoldt A., Jansson A., Phillips M.I., Ganten D. y Fuxe K.** (1997). Localization of angiotensin II AT1 receptor-like immunoreactivity in catecholaminergic neurons of the rat medulla oblongata. *Neuroscience* **81**: 503-515.

**Yao Y., Zebboudj A.F., Torres A., Shao E. y Bostrom K.** (2007). Activin-like kinase receptor 1 (ALK1) in atherosclerotic lesions and vascular mesenchymal cells. *Cardiovasc Res* **74**: 279-289.

**Yao Y., Shao E.S., Jumabay M., Shahbazian A., Ji S. y Bostrom K.I.** (2008). High-density lipoproteins affect endothelial BMP-signaling by modulating expression of the activin-like kinase receptor 1 and 2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **28**: 2266-2274.

**Yao Y., Jumabay M., Wang A. y Bostrom K.I.** (2011). Matrix Gla protein deficiency causes arteriovenous malformations in mice. *J Clin Invest* **121**: 2993-3004.

**Zebboudj A.F., Imura M. y Bostrom K.** (2002). Matrix GLA protein, a regulatory protein for bone morphogenetic protein-2. *J Biol Chem* **277**: 4388-4394.

**Zhou Z., Xie J., Lee D., Liu Y., Jung J., Zhou L., Xiong S., Mei L. y Xiong W.C.** (2010). Neogenin regulation of BMP-induced canonical Smad signaling and endochondral bone formation. *Dev Cell* **19**: 90-102.

**Zhu H., Kavsak P., Abdollah S., Wrana J.L. y Thomsen G.H.** (1999). A SMAD ubiquitin ligase targets the BMP pathway and affects embryonic pattern formation. *Nature* **400**: 687-693.

**Zimmerman M.C., Lazartigues E., Sharma R.V. y Davisson R.L.** (2004). Hypertension caused by angiotensin II infusion involves increased superoxide production in the central nervous system. *Circ Res* **95**: 210-216.

**Zolk O., Kilter H., Flesch M., Mansier P., Swynghedauw B., Schnabel P. y Bohm M.** (1998). Functional coupling of overexpressed beta 1-adrenoceptors in the myocardium of transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun* **248**: 801-805.