



Fundació
La Marató de TV3

20^è SIMPOSIUM
Enfermedades neurodegenerativas



CARACTERIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE UN NUEVO OLIGÓMERO DE LA PROTEÍNA β -AMILOIDE COMO DIANA FARMACOLÓGICA PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Natàlia Carulla Casanovas

Institut Recerca Biomèdica de Barcelona

Serge Muyldermans

Structural Biology Research Center - VIB. Brussel·les (Bèlgica)

Giovanni Maglia

University of Leuven (Bèlgica)

1. Resumen

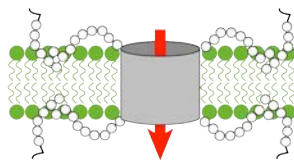
Los cerebros de millones de personas que sufren la enfermedad de Alzheimer (EA) pierden sus neuronas lenta e inevitablemente. Sin embargo, la causa de la muerte neuronal sigue siendo un misterio. Esta es la causa principal por la que la EA no tiene cura. En efecto, los actuales tratamientos solo permiten retrasar los síntomas de la demencia y ayudan a mejorar la calidad de vida durante un corto periodo de tiempo. Por este motivo, **tratamientos dirigidos a la causa de la EA son de una imperiosa necesidad médica.**

Diferentes estudios han propuesto que la interacción de una proteína llamada beta-amiloide ($A\beta$) con la membrana de las neuronas es la responsable de la muerte neuronal observada en la EA.¹ Sin embargo, la proteína $A\beta$ es una diana terapéutica muy complicada debido a ser muy pegajosa y, en consecuencia, propensa a autoensamblarse, dando lugar a formas de mayor tamaño conteniendo distintos números de moléculas de $A\beta$ y adoptando diferentes geometrías. De ahí que una de las principales dificultades en el desarrollo de terapias efectivas contra la EA sea que la forma tóxica de $A\beta$ sigue siendo desconocida.² Sin conocer rasgos diferenciadores de esta forma de $A\beta$, como serían el número de unidades que la integran y su geometría, es enormemente difícil diseñar estrategias terapéuticas dirigidas a la causa de la EA. En 2016, el grupo de la Dra. Natàlia Carulla publicó condiciones *in vitro* para preparar una forma de $A\beta$ asociada a la membrana que consistía en un ensamblaje de diversas moléculas de $A\beta$ dispuestas en forma de cilindro o barril beta.³ Lo más notable de este hallazgo es que esta nueva forma de $A\beta$ tiene la capacidad de formar poros en paredes celulares. Debido a estas propiedades la llamamos *barril beta formador de poros* (β PFO). En el contexto de la EA, este descubrimiento sugiere que β PFO puede perforar la membrana de las neuronas, alterando el equilibrio de iones entre el interior y exterior de las neuronas y, en consecuencia, provocar su muerte. Por este motivo planteamos la hipótesis de que β PFO es la forma responsable de la neurotoxicidad en la EA y por ello la consideramos una potencial nueva diana para tratar la EA. El procedimiento para la preparación de β PFO disfruta de una aplicación de patente europea.

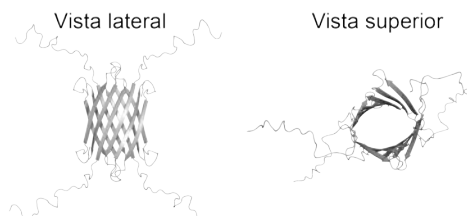
La investigación llevada a cabo durante el proyecto financiado por La Marató unió los esfuerzos de los grupos de investigación de la Dra. Natàlia Carulla en el IRB Barcelona

y el IECB de Burdeos, del Dr. Giovanni Maglia en la Univeristy of Groningen y del Dr. Serge Muyldermans en la Vrije Universiteit Brussel con el fin de **caracteritzar y validar β PFO como la forma de $A\beta$ responsable de la neurotoxicidad en la EA.** La estrategia seguida durante el proyecto queda resumida en la figura 1. En primer lugar, consiste en caracterizar su mecanismo de neurotoxicidad y su estructura, referida esta a la disposición tridimensional de todos los átomos que componen esta forma. En segundo lugar, determinar la presencia de esta nueva forma de $A\beta$ *in vivo* en modelos relevantes de la enfermedad para validarla como nueva diana de la EA. En tercer lugar, desarrollar estrategias terapéuticas y de diagnosis contra la nueva diana de $A\beta$ para contribuir al desarrollo de terapias contra la causa de la EA.

1. Caracterización de la diana

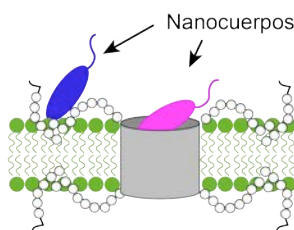


1.1. Determinar el mecanismo de neurotoxicidad:
Formación de poros en membranas

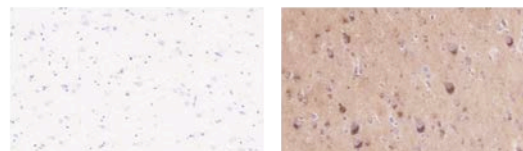


1.2. Determinar la estructura 3D de β PFO

2. Validación de la diana

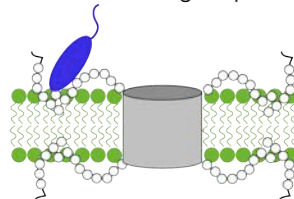


2.1. Desarrollar nanocuerpos específicos para β PFO

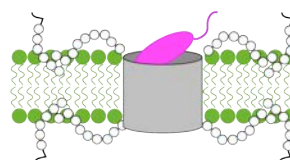


Control Paciente de EA
2.2. Detección de β PFO en tejido cerebral de pacientes

3. Desarrollo de estrategias para terapia y diagnóstico



3.1. Diagnóstico
Nanocuerpos que reconocen regiones expuestas de β PFO



3.2. Terapia
Nanocuerpos que bloquean poros de β PFO

Figura 1. Estrategia seguida durante el proyecto de La Marató para caracterizar, validar y explotar β PFO como nueva diana de la proteína beta amiloide para tratar la EA.

2. Resultados

A continuación se resume los logros alcanzados en el proyecto:

- *Caracterización de β PFO*: hemos obtenido la disposición tridimensional de todos los átomos que conforman β PFO. Obtener esta información será crucial en el diseño de moléculas para el bloqueo de los poros que forma o evitar su formación.
- *Validación de β PFO en modelos relevantes de la EA*: para detectar β PFO en modelos relevantes hemos desarrollado nanocuerpos conformacionales específicos. Se trata de pequeños anticuerpos que reconocen específicamente β PFO. Después de la caracterización *in vitro* de la interacción β PFO-nanocuerpo, en estos momentos estamos utilizando los nanocuerpos para determinar la presencia de β PFO *in vivo* en modelos relevantes de la EA. La detección específica de β PFO en tejido cerebral de Alzheimer nos permitirá validar β PFO como nueva diana de la EA.
- *Desarrollo de estrategias terapéuticas y diagnósticas contra β PFO*: los nanocuerpos desarrollados reconocen diferentes partes de β PFO, como las regiones exteriores más expuestas y la cavidad interior. Hemos podido determinar que algunos de estos nanocuerpos bloquean los poros formados. En la actualidad los nanocuerpos, como moléculas en general, están siendo ensayados en diferentes campos de la medicina, como la oncología, las inflamaciones, infecciones y las enfermedades neurológicas.⁴ Una vez validado β PFO pretendemos usar los nanocuerpos específicos que hemos generado contra el mismo para el desarrollo de estrategias diagnósticas (con los que reconocen regiones externas de β PFO) y terapéuticas (con los que reconocen la cavidad interna y bloquean los poros que β PFO forma) contra la EA.

3. Relevancia y posibles implicaciones futuras

En resumen, nuestra investigación tiene el potencial de identificar, caracterizar y validar nuevas dianas de la EA, así como del desarrollo de nuevos fármacos con nuevos mecanismos de acción dirigidos a causas de la EA. La línea terapéutica actual para la EA no incluye ni un solo fármaco cuyo objetivo sea los poros formados por $A\beta$,⁵ por lo que **moléculas que tengan como diana la formación o bloqueo de β PFO podrían aspirar a ser el primer fármaco de una clase** (del inglés *first in class*) o cabeza de

serie farmacológica. Debido a su potencial, creemos firmemente que el interés científico y social de este proyecto es enorme.

4. Bibliografía científica generada

1. Serra-Batiste, M.; Bayoumi, M.; Gairí, M.; Ninot-Pedrosa, M.; Maglia, G., Carulla, N. *A β 42 assembles into specific β -barrel pore-forming oligomers in membrane-mimicking environments.*

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 113, 10866-10871 (2016).

doi: 10.1073/pnas.1605104113. IF 9.7. Citations: 25. Q1.

2. Serra-Batiste, M.; Tolchard, J. Giusti, F.; Zoonens M.; Carulla N.

Stabilization of a membrane-associated amyloid- β oligomer for its validation in Alzheimer's disease.

Invited to contribute to the Research Topic "Structural and Molecular Biology of Alzheimer's Disease", Front. Mol. Biosci. 19, 5-38 (2018). doi:

10.3389/fmolb.2018.00038. IF: not available. Q1

3. Serra-Batiste, M.; Ninot-Pedrosa, M.; Puig, E.; Ciudad, S.; Gairí M.; Carulla, N. *Preparation of well-defined and stable β -barrel pore-forming A β 42 oligomers.*

Invited to contribute to the third edition of the volume on Amyloid Proteins in Method Mol. Biol. 1779, 13-22 (2018). doi: 10.1007/978-1-4939-7816-8_2. IF: not available.

Q3

4. Ciudad, S#; Puig, E.#; Bardiaux, B; Botzanowski, T; Mayzel, M; Bayoumi, M; Chaignepain, S; Maglia, G; Orekhov, V; Cianferani, S; Carulla, N (#both authors have contributed equally to this work).

Structure of pore-forming amyloid-beta tetramers and octamers.

Manuscrito en preparación.

Patente:

Título: *Amyloid beta peptide oligomers and uses thereof*

Inventores: Serra-Batiste, M.; Ninot-Pedrosa, M.; Maglia, G., Carulla, N.

Patente número: EP16382123.4

Referencias

1. Arispe, N., Diaz, J. C. & Simakova, O.

A β ion channels. Prospects for treating Alzheimer's disease with A β channel blockers.

BBA-Biomembranes **1768**, 1952–1965 (2007).

2. Benilova, I., Karran, E. & De Strooper, B.

The toxic A β oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes.

Nat. Neurosci. **15**, 349–357 (2012).

3. Serra-Batiste, M. *et al.*

A β 42 assembles into specific β -barrel pore-forming oligomers in membrane-mimicking environments.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **113**, 10866–10871 (2016).

4. Steeland, S., Vandenbroucke, R. E. & Libert, C.

Nanobodies as therapeutics: big opportunities for small antibodies.

Drug Discov. Today **21**, 1076–1113 (2016).

5. Cummings, J., Lee, G., Mortsdorf, T., Ritter, A. & Zhong, K.

Alzheimer's disease drug development pipeline: 2017.

Alzheimer's & Dement. **3**, 367–384 (2017).