



**Fundació**  
La Marató de TV3

20è SIMPOSIUM  
Malalties neurodegeneratives



# CARACTERITZACIÓ I VALIDACIÓ D'UN NOU OLIGÒMER DE LA PROTEÏNA $\beta$ -AMILOIDE COM A DIANA FARMACOLÒGICA PER AL TRACTAMENT DE LA MALALTIA D'ALZHEIMER

**Natàlia Carulla Casanova**

IRB - Institut Recerca Biomèdica de Barcelona

**Serge Muyldermans**

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

**Giovanni Maglia**

University of Leuven (Bèlgica)

## 1. Resum

Els cervells de milions de persones que pateixen la malaltia d'Alzheimer (MA) perden les seves neurones lentament i inevitablement. No obstant això, la causa de la mort neuronal continua sent un misteri. Aquest fet és la causa principal per la qual la MA no té cura. En efecte, els tractaments actuals només permeten retardar els símptomes de la demència i ajuden a millorar la qualitat de vida durant un curt període de temps. Per aquest motiu, **tractaments dirigits a la causa de la MA són una necessitat mèdica imperiosa.**

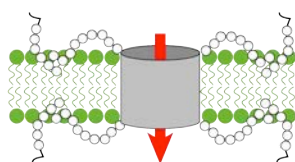
Diversos estudis han proposat que la interacció d'una proteïna anomenada beta-amiloide ( $A\beta$ ) amb la membrana de les neurones és la responsable de la mort neuronal observada en la MA.<sup>1</sup> Malgrat aquesta informació, la proteïna  $A\beta$  és una diana terapèutica molt complicada, ja que és molt enganxosa i en conseqüència és propensa a autoassemblar-se, tot donant lloc a formes més grans contenint diferents números de molècules d' $A\beta$  i adoptant diferents geometries. És per això que una de les principals dificultats en el desenvolupament de teràpies efectives contra la MA és que la forma tòxica d' $A\beta$  continua sent desconeguda.<sup>2</sup> Sense conèixer trets diferenciadors d'aquesta forma d' $A\beta$ , com serien el nombre d'unitats que la formen i la seva geometria, és enormement difícil dissenyar estratègies terapèutiques dirigides a la causa de la MA.

El 2016 el grup de la Dra. Natàlia Carulla va publicar condicions *in vitro* per preparar una forma d' $A\beta$  associada a la membrana que consistia en un acoblament de diverses molècules d' $A\beta$  disposades en forma de cilindre o barril beta.<sup>3</sup> El més notable d'aquesta troballa és que aquesta nova forma d' $A\beta$  té la capacitat de formar porus en parets cel·lulars. A causa d'aquestes propietats l'anomenaren *barril beta formador de porus* ( $\beta$ PFO). En el context de la MA, aquest descobriment suggereix que  $\beta$ PFO pot perforar la membrana de les neurones i alterar l'equilibri d'ions entre l'interior i exterior de les neurones, i en conseqüència provocar-ne la mort. Per aquest motiu es plantejà la hipòtesi que  $\beta$ PFO és la forma responsable de la neurotoxicitat en la MA i en conseqüència es considerà una potencial nova diana per tractar la MA. El procediment per a la preparació de  $\beta$ PFO està cobert per una aplicació de patent europea.

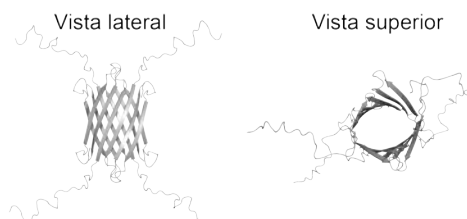
La investigació duta a terme durant el projecte finançat per La Marató va unir els

esforços dels grups de recerca de la Dr. Natàlia Carulla a l'IRB Barcelona i l'IECB de Bordeus, del Dr. Giovanni Maglia a la University of Groningen i del Dr. Serge Muyldermans a la Vrije Universiteit Brussel amb la finalitat de **caracteritzar i validar  $\beta$ PFO com la forma d'A $\beta$  responsable de la neurotoxicitat en la MA**. L'estratègia seguida durant el projecte està resumida a la figura 1. En primer lloc consisteix a caracteritzar-ne el mecanisme de neurotoxicitat i l'estructura, això últim referint-se a la disposició tridimensional de tots els àtoms que componen aquesta forma. En segon lloc, determinar la presència d'aquesta nova forma d'A $\beta$  *in vivo* en models rellevants de la malaltia per tal de validar-la com a nova diana de la MA. En tercer lloc, desenvolupar estratègies terapèutiques i diagnòstiques contra la nova diana d'A $\beta$  per contribuir al desenvolupament de teràpies contra la causa de la MA.

### 1. Caracterització de la diana

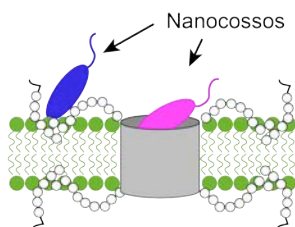


1.1. Determinar el mecanisme de neurotoxicitat:  
Formació de porus en membranes

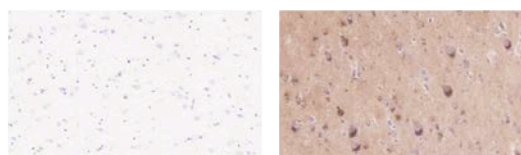


1.2. Determinar l'estructura 3D de  $\beta$ PFO

### 2. Validació de la diana



2.1. Desenvolupar nanocossos específics  
per a  $\beta$ PFO

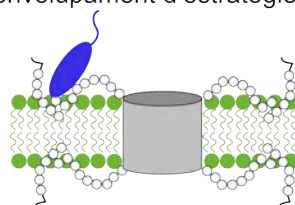


Control

Pacient de MA

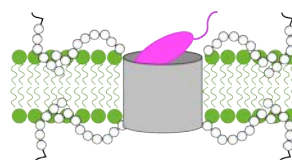
2.2. Detecció de  $\beta$ PFO en teixit cerebral  
de pacients

### 3. Desenvolupament d'estratègies de teràpia i diagnòstic



3.1. Diagnòstic

Nanocossos que reconeixen regions exposades  
de  $\beta$ PFO



3.2. Teràpia

Nanocossos que bloquegen porus de  $\beta$ PFO

**Figura 1.** Estratègia seguida durant el projecte de La Marató per caracteritzar, validar i explotar  $\beta$ PFO com a nova diana de la proteïna beta amiloide per tractar la MA.

## 2. Resultats

A continuació, resumim les fites assolides en el projecte:

- *Caracterització de  $\beta$ PFO*: hem obtingut la disposició tridimensional de tots els àtoms que formen  $\beta$ PFO. Obtenir aquesta informació serà crucial per dissenyar molècules que tinguin com a objectiu el bloqueig dels porus que forma o per evitar-ne la formació.
- *Validació de  $\beta$ PFO en models rellevants de la MA*: per detectar  $\beta$ PFO en models rellevants hem desenvolupat nanocossos conformacionals específics. Es tracta de petits anticossos que reconeixen específicament  $\beta$ PFO. Després de la caracterització *in vitro* de la interacció  $\beta$ PFO-nanocòs, ara mateix ens trobem utilitzant aquests nanocossos per establir la presència de  $\beta$ PFO *in vivo* en models rellevants de la MA. La detecció específica de  $\beta$ PFO en teixit cerebral d'Alzheimer ens permetrà validar  $\beta$ PFO com a nova diana de la MA.
- *Desenvolupament d'estratègies terapèutiques i diagnòstiques contra  $\beta$ PFO*: els nanocossos desenvolupats reconeixen diferents parts de  $\beta$ PFO, com són les regions exteriors més exposades i la cavitat interior. Hem pogut determinar que alguns d'aquests nanocossos bloquegen els porus formats. Actualment els nanocossos, com a molècules en general, estan sent assajats en diversos camps de la medicina, com l'oncologia, les inflamacions, infeccions i les malalties neurològiques.<sup>4</sup> Un cop validat  $\beta$ PFO pretenem usar els nanocossos específics que hem generat contra ell per al desenvolupament d'estratègies diagnòstiques (amb els que reconeixen regions externes de  $\beta$ PFO) i terapèutiques (amb els que reconeixen la cavitat interna i bloquegen els porus que forma  $\beta$ PFO) contra la MA.

## 3. Rellevància i possibles implicacions futures

En resum, la nostra investigació té el potencial d'identificar, caracteritzar i validar noves dianes de la MA, així com també desenvolupar nous fàrmacs amb nous mecanismes d'acció dirigits a causes de la MA. La línia terapèutica actual contra la MA no inclou ni un sol fàrmac que tingui com a objectiu els porus formats per  $A\beta$ <sup>5</sup>, per la

qual cosa **molècules que tinguin com a diana la formació o bloqueig de  $\beta$ PFO podrien aspirar a ser el primer fàrmac d'una classe (de l'anglès *first in class*)** o cap de sèrie farmacològica. A causa del seu potencial, creiem fermament que l'interès científic i social d'aquest projecte és enorme.

#### 4. Bibliografia científica generada

1. Serra-Batiste, M.; Bayoumi, M.; Gairí, M.; Ninot-Pedrosa, M.; Maglia, G., Carulla, N. *A $\beta$ 42 assembles into specific  $\beta$ -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- $\beta$  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  $\beta$ -barrel pore-forming A $\beta$ 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.*

Manuscrit en preparació.

## Patent:

Títol: *Amyloid beta peptide oligomers and uses thereof*

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

Patent número: EP16382123.4

## **Referències**

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

*A $\beta$  ion channels. Prospects for treating Alzheimer's disease with A $\beta$  channel blockers.*

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

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

*The toxic A $\beta$  oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes.*

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

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

*A $\beta$ 42 assembles into specific  $\beta$ -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).