

## **Informe Final Ayuda de Biomedicina 2018**

### **Fundación Domingo Martínez**

**Título del Proyecto:** Uso de hiperoxia combinada con agentes normalizadores de la vasculatura para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, una prueba de concepto.

**Acrónimo del proyecto:** RESPIRALZ

**Investigador Principal/Instituto:** Dr. Alberto Pascual Bravo/Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS)

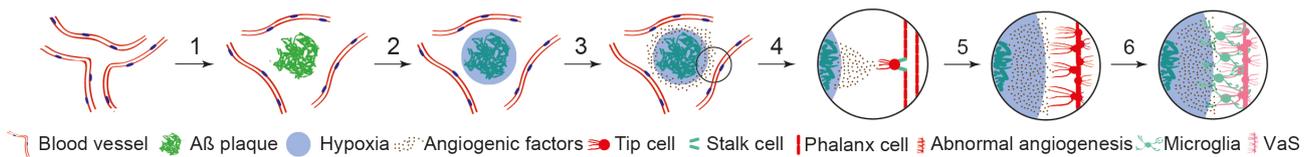
#### **Organización del Informe**

1. Preámbulo.
2. Resumen del proyecto y principales hitos conseguidos.
3. Trabajo realizado y cumplimiento de Objetivos.
4. Actividades de Difusión del Proyecto.

#### **1. Preámbulo**

El grupo receptor de la ayuda desea comenzar el informe final agradeciendo la ayuda y el esfuerzo que realiza la FDM, que ha sido instrumental para completar el proyecto de investigación. En tiempos de limitada financiación nacional a la ciencia, iniciativas como la de la FDM son un soplo de aire fresco para la investigación española. El proyecto que ha sido financiado en la convocatoria 2018 y renovado en 2019 y 2020 propone un nuevo mecanismo operante en la enfermedad de Alzheimer (EA) y ha producido resultados muy relevantes uniendo la acumulación del péptido amiloide con la destrucción de los vasos sanguíneos en un proceso denominado angiogénesis no productiva. Este proyecto abre la posibilidad de utilizar fármacos normalizadores de la vasculatura desarrollados para tumores en contexto de la EA, combinados con tratamientos de oxígeno inspirado intermitentes, que no mantenidos, como se verá en los resultados. Finalmente, la financiación en conjunto con el Plan Nacional Retos nos ha llevado a proponer el siguiente esquema en la EA (**Fig. 1**): la aparición de un acúmulo proteico extracelular (placas de A $\beta$ ) separa los vasos (1) e induce la generación de zonas hipóxicas (2), que estimulan la producción de factores angiogénicos (3) para el crecimiento de nuevas ramas vasculares (4). El proceso de comunicación célula-célula necesario para esta angiogénesis está debilitada (5) y provoca un edema que lleva a la atracción de la microglía e induce la fagocitosis de los vasos (6).

**Figura 1. Esquema de la pérdida de vasos por angiogénesis no productiva en EA.**



## 2. Resumen del proyecto y principales hitos conseguidos

La EA constituye la primera causa de demencia en la población y no posee ningún tratamiento curativo o paliativo en la actualidad. Las terapias desarrolladas hasta el momento no han resultado efectivas y son necesarias nuevas ideas para desarrollar nuevos tratamientos. Nuestro grupo ha identificado cuerpos vasculares anormales (cicatrices vasculares, **VaS**) asociados a los acúmulos del péptido amiloide  $\beta$  (placas de  $A\beta$ ) en ratones modelos genéticamente modificados de EA (ratones de EA). En este año final de la ayuda hemos demostrado la mejora conductual y vascular asociada al tratamiento de un modelo de EA con Sorafenib y la mejoría adicional observada mediante tratamiento combinado con Sorafenib y exposición a hiperoxia intermitente.

**3. Trabajo realizado y cumplimiento de Objetivos** (En **azul**, texto de la memoria original para la renovación de la ayuda, en **negro** trabajo desarrollado)

**Obj. 1.** Restaurar la perfusión de las placas de  $A\beta$  en modelos de la Enfermedad de Alzheimer (EA) mediante hiperoxia intermitente.

**Obj. 2.** Restaurar la perfusión de las placas de  $A\beta$  en modelos de EA mediante el tratamiento combinado de hiperoxia intermitente e inhibición de la angiogénesis.

**Obj. 3.** Probar que la restauración de la vasculatura recupera los fenotipos patológicos (histológicos, comportamentales y bioquímicos) observados en modelos de EA.

(1) Se han tratado ratones de EA con Sorafenib por un mes y se ha estimado la cantidad de VaS, carga de placas  $A\beta$ , perfusión y las células de pericitos alrededor de la placa de  $A\beta$  (**Figura 2**).

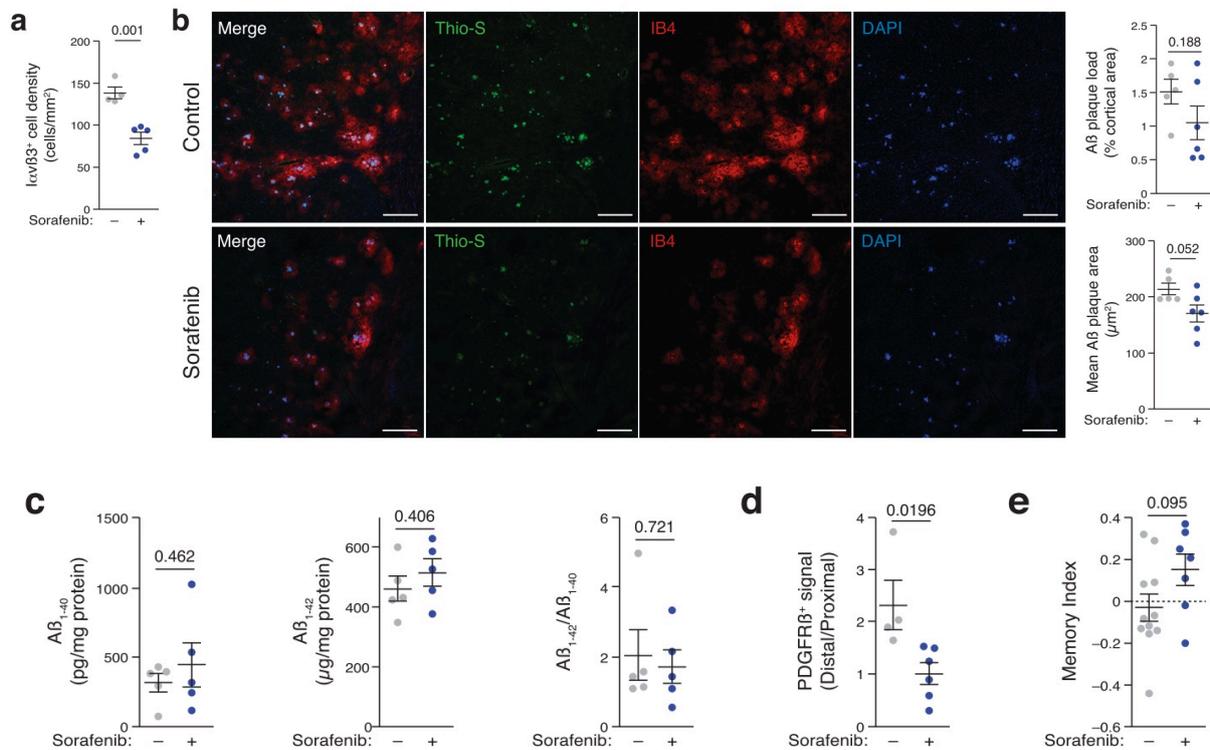
(2) Se ha estimado el grado de mejora comportamental utilizando prueba de memoria del reconocimiento de objetos nuevos en ratones modelos de EA tratados con Sorafenib (**Figura 2**).

(3) Se ha estimado el nivel de  $A\beta_{1-40}$  y  $A\beta_{1-42}$  utilizando ELISA en muestras control y tratadas con Sorafenib (**Figura 2**).

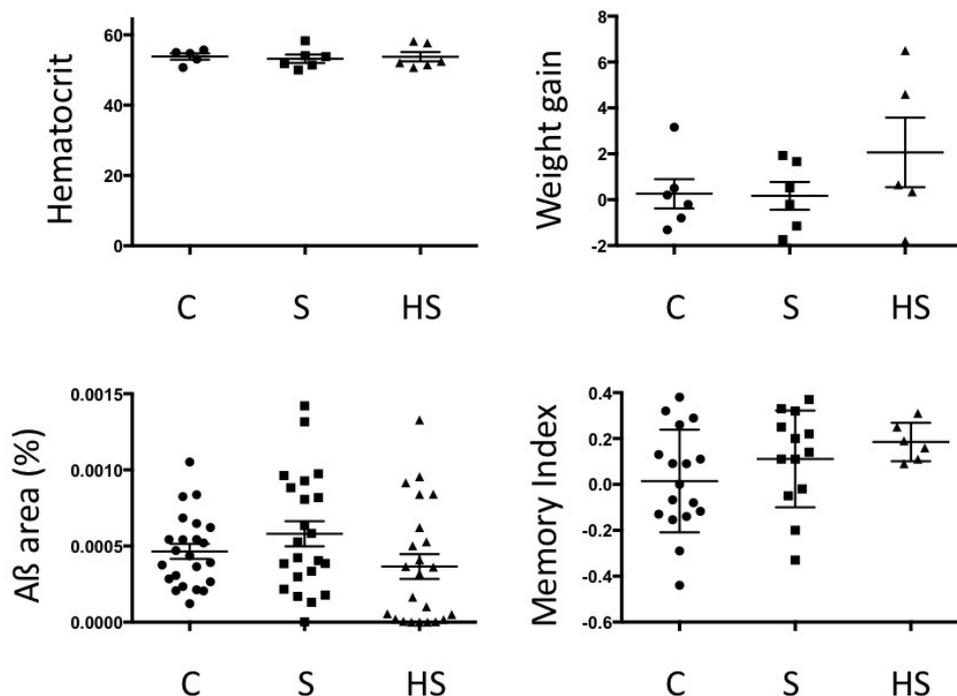
(4) Se ha tratado modelos de la EA con Sorafenib e hiperoxia intermitente durante 21 días y se ha determinado la carga de placas de  $A\beta$  y la mejora comportamental utilizando la prueba de memoria del reconocimiento de objetos nuevos (**Figura 3**).

(5) Se ha explorado la posibilidad de usar la hipoxia/agentes estabilizadores de HIF como tratamiento a enfermedades neurodegenerativas que cursan con activación global de la microglía (Figura 4 y 5).

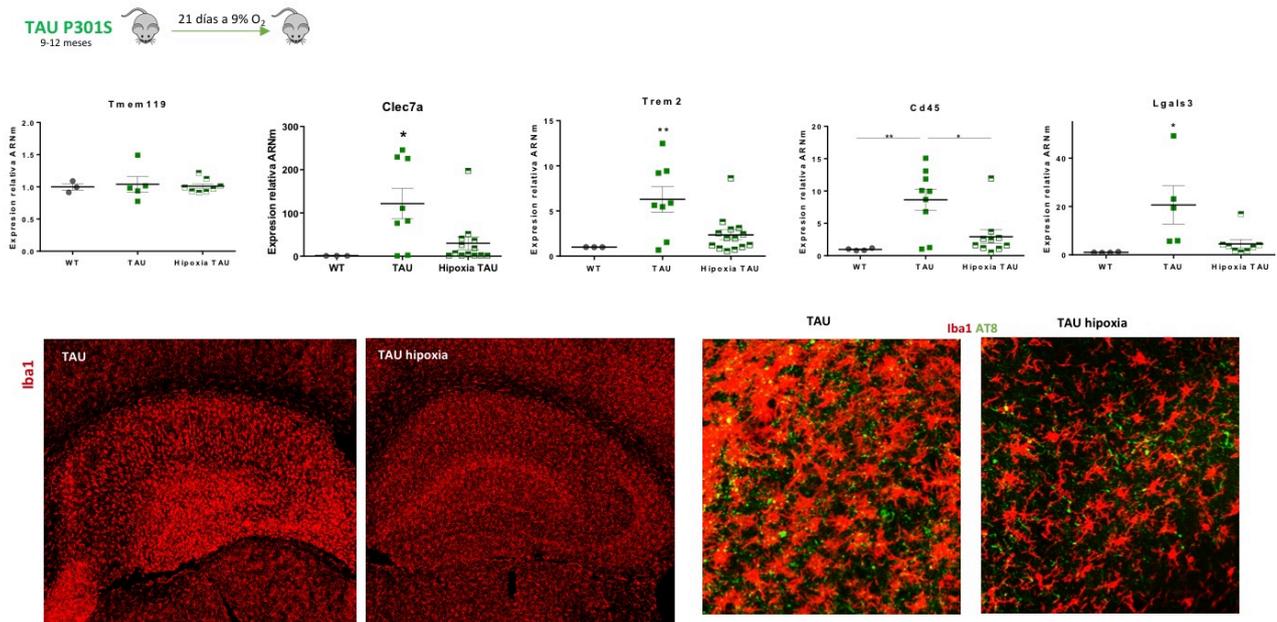
**Figura 2.**



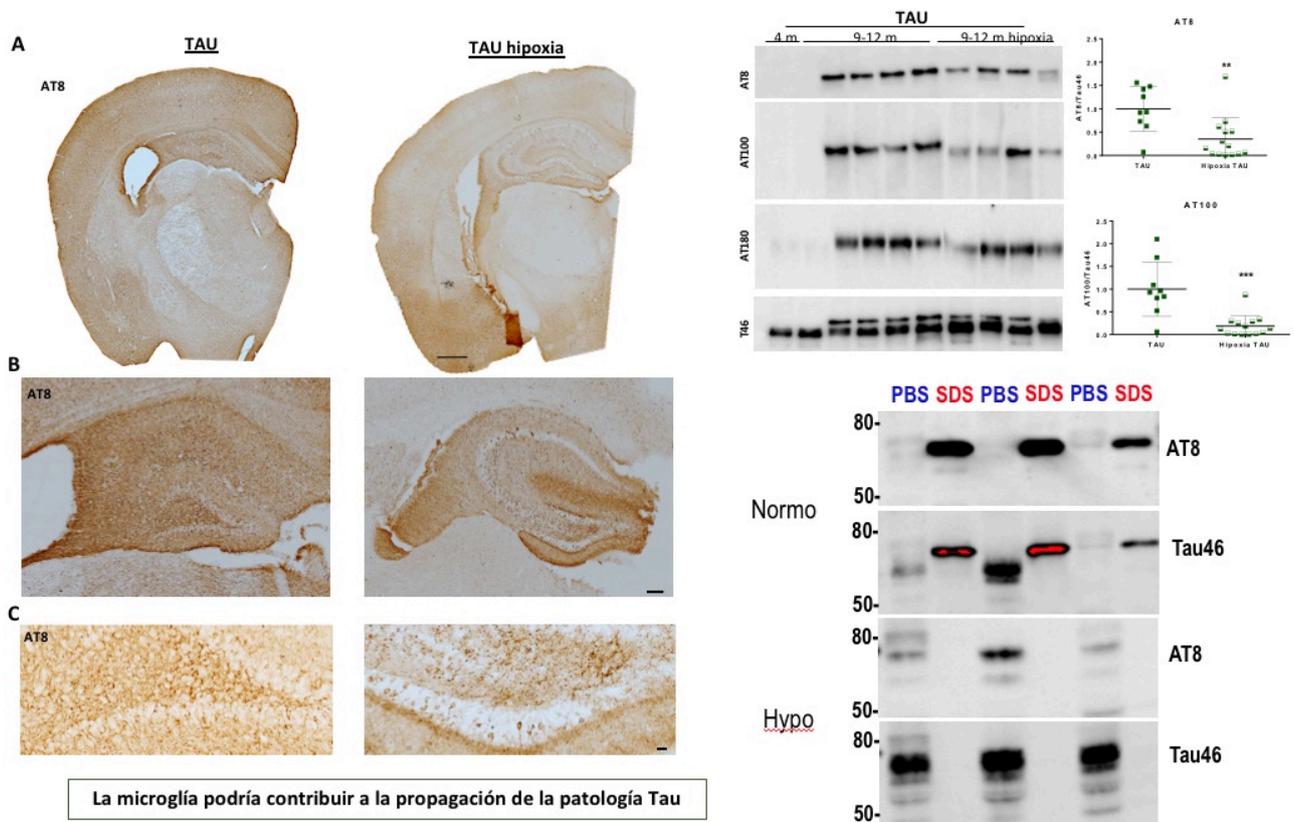
**Figura 3.**



**Figura 4.**



**Figura 5.**



#### 4. Actividades de Difusión del Proyecto

##### - Publicaciones agradecidas a FDM:

1. Ortega-de San Luis, C., Sanchez-Garcia, M., Nieto-Gonzalez., J.L., Garcia-Junco-Clemente, P., Montero-Sanchez, A., Fernandez-Chacon, R., **Pascual, A.** Substantia nigra

dopaminergic neurons and striatal interneurons are engaged in three parallel but interdependent postnatal neurotrophic circuits. **Aging Cell** (2018) 17(5)e12821. IF: 7,627

2. Alvarez-Vergara, M.I., Rosales-Nieves, A.E., March-Diaz, R., Rodriguez-Perinan, G., Lara-Urena, N., Ortega-de San Luis, C., Sanchez-Garcia, M.A., Trillo-Contreras, J.L., Martin-Bornez, M., Gómez-Gálvez, P., Vicente-Munuera, P., Fernandez-Gomez, B., Marchena, M.A., Bullones-Bolanos, A.S., Davila, J.C., Gonzalez-Martinez, R., Sanchez-Hidalgo, A.C., del Toro, R., Scholl, F.G., Herrera, E., Trepel, M., Körbelin, J., Escudero, L.M., Villadiego, J., Echevarria, M., de Castro, F., Gutierrez, A., Rabano, A., Vitorica, J., and **Pascual, A.** Non-productive angiogenesis disassembles A $\beta$  plaque-associated blood vessels. *Nat. Commun.* (2021) 12, 3098. IF: 12,121

3. March-Diaz, R., Lara-Urena, N., Romero-Molina, C., Heras-Garvin, A., Ortega-de San Luis, C., Alvarez-Vergara, M.I., Sanchez-Garcia, M.A., Sanchez-Mejias, E., Davila, J.C., Rosales-Nieves, A.E., Forja, C., Navarro, V., Gomez-Arboledas, A., Sanchez-Mico, M.V., Viehweger, A., Gerpe, A., Hodson, E.J., Vizuete, M., Bishop, T., Serrano-Pozo, A., Lopez-Barneo, J., Berra, E., Gutierrez, A., Vitorica, J.\*, and **Pascual, A.\*.** 2021. Hypoxia compromises the mitochondrial metabolism of Alzheimer's disease microglia via HIF1. *Nat. Aging.* (2021) 1(4) 385-399. (\*) Corresponding authors.

#### **Financiación adicional conseguida:**

- Título del proyecto "CARACTERIZACION DE LA PERDIDA PROGRESIVA DE VASOS POR ANGIOGENESIS NO PRODUCTIVA, UN NUEVO MECANISMO PATOLOGICO EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER". Plan Nacional Retos (2019-2021). Investigador principal Dr. Alberto Pascual. Costes totales: 193,600 €

#### **- Patentes**

Uso de fármacos normalizadores de la vasculatura para el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer. **Pascual, A.**, Rosales-Nieves, A.E., Alvarez-Vergara, M.I. Oficina europea de patentes.

#### **- Presentaciones invitadas en congresos/cursos con mención de la FDM:**

1. Ciclo de seminarios en Biomedicina. IIBM, UAM. "Microglial and endothelial cells in Alzheimer's disease: a hypoxic perspective". **Alberto Pascual.** 24 de marzo de 2021.

2. Hypoxia, Endothelium, and Microglia in Alzheimer Disease's Pathogenesis. **Alberto Pascual.** Plenary speaker in "Hypoxia: Molecules, Mechanisms and Disease", 19-23 enero 2020. USA ([LINK](#)).

3. Non-productive angiogenesis disassembles A $\beta$  plaque blood vessels limiting local clearance. **María Isabel Álvarez Vergara**. V encuentro de la Red Nacional de Hipoxia. 28 y 29 noviembre, 2019. Bilbao.
4. El sistema cardio-vascular y la enfermedad de Alzheimer **Alberto Pascual Bravo**. IV Jornada Divulgativa sobre la EA. 19 noviembre 2019, Jaen.
5. Niche factors compromise the metabolism of A $\beta$  plaque-associated microglia. **Alberto Pascual Bravo**. Conferencia invitada. Achucarro Basque Center for Neuroscience. 19 julio 2019, Bilbao.
6. Anomalías vasculares en al Enfermedad de Alzheimer, la relación placa-vaso. **Alberto Pascual Bravo**. Conferencia invitada. Universidad de Jaen. 20 mayo 2019, Jaen.
7. Anomalías vasculares en al Enfermedad de Alzheimer, la relación placa-vaso. **Alberto Pascual Bravo**. Conferencia invitada. Unidad de Neurología Hospital Virgen Macarena. 12 febrero 2019, Sevilla.
8. A $\beta$  plaques induce progressive blood vessel loss by non-productive angiogenesis, a new pathologic mechanism in Alzheimer's disease. **Alberto Pascual Bravo**. Conferencia invitada. 8 de febrero 2019. Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB), Madrid.
9. A $\beta$  plaques induce progressive blood vessel loss by non-productive angiogenesis, a new pathologic mechanism in Alzheimer's disease. **Alberto Pascual Bravo**. Conferencia invitada. 25 de enero 2019. Instituto Cajal, Madrid.
10. Progressive vessel loss by non-productive angiogenesis, a new pathologic mechanism in Alzheimer's disease? **Alicia E. Rosales-Nieves**. IV encuentro de la Red Nacional de Hipoxia. 29 y 30 noviembre 2018, Granada.
11. Anomalías vasculares en la Enfermedad de Alzheimer: la relación placa-vaso. **Alberto Pascual Bravo**. Conferencia invitada. LXX reunión anual de la Sociedad Española de Neurología, 20-24 de noviembre 2018.

### **Tesis doctorales**

1. Manuel Alejandro Sánchez García. Hypoxia and Alzheimer's disease: the processing of amyloid precursor protein and the role of prolyl-hydroxylase 3 in microglia. 2018, Sobresaliente Cum Laude.
2. Nieves Lara Ureña, Papel de la vía HIF/PHD en la enfermedad de Alzheimer. Febrero 2020.
3. María Isabel Álvarez Vergara, Las placas de A $\beta$  inducen una pérdida progresiva de vasos mediante angiogénesis no productiva. Defensa 9 de julio de 2021.

## **Trabajos Fin de Máster y de Grado**

1. Nicolás Capelo Carrasco, “CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA Y FUNCIONAL DE LA PÉRDIDA DEL COMPLEJO I MITOCONDRIAL EN MICROGLÍA” 2021.
2. Olmo Ruiz Ormaechea, “Papel de la vía de Notch en la vasculatura cerebral de la enfermedad del Alzheimer” 2021.
3. Juan Luis López Ogáyar, “Estudio histológico de la respuesta glial y vascular de ratones K-18-hACE2 a la infección por SARS-CoV-2” 2021.
4. Bella Moreno Romero, “SEPARACIÓN SIMULTÁNEA POR CITOMETRÍA DE CÉLULAS ENDOTELIALES, MICROGLÍA, ASTROCITOS Y PERICITOS EN CEREBRO ADULTO DE RATÓN”, 2021.
5. Miguel Martín Bornes, “Análisis de la organización celular en el entorno de placas amiloides en modelos de enfermedad de Alzheimer” 2020.
6. Lucía Jiménez Fernández, “Efecto del tratamiento prolongado con Sorafenib sobre un modelo murino de enfermedad de Alzheimer” 2020
7. Elena Sánchez Sánchez, “Interacción de las vías Notch y Wnt en la angiogénesis en general y en la formación de la barrera hematoencefálica” 2020.
8. Almudena Carnero Espejo, “Papel de HIF-1 $\alpha$  en la disfunción vascular en la Enfermedad de Alzheimer” 2020.
9. Guiomar Rodríguez Perrián, “Análisis de anomalías vasculares en modelos de Enfermedad de Alzheimer” 2018.
10. Ana Isabel Sánchez Jiménez, “USO DE FÁRMACOS NORMALIZADORES DE LA VASCULATURA EN MODELO DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”, 2018.
11. Andrea S Bullones Bolaños, “Estudio del efecto del suministro de oxígeno sobre la estabilidad de los vasos sanguíneos en modelos de la enfermedad de Alzheimer”, 2019.
12. Blanca Rodríguez Fernández, “CARACTERIZACIÓN DE ANOMALÍAS VASCULARES EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER”, 2019.
13. Miguel Martín, “Uso de fármacos normalizadores de la vasculatura en modelos de enfermedad de Alzheimer”, 2019.