

INTRODUCCIÓN

La **unidad neurovascular**, considerada como la **unidad anatómica funcional** de la barrera hematoencefálica (BBB), es una agrupación de células cuya **comunicación íntima, continua y recíproca** confiere propiedades especiales a las células endoteliales cerebrales [1]. Esto permite regular finamente el intercambio de sustancias entre la sangre y el parénquima cerebral. Como consecuencia, cualquier **alteración en los componentes de la NVU puede contribuir al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas** [2].

La enfermedad de Alzheimer (AD) es la enfermedad neurodegenerativa más prevalente a nivel mundial, responsable de más del 60% de los casos de demencia [3]. Además de las características neuropatológicas clásicas, en los últimos años se ha evidenciado que **la disfunción vascular aumenta el riesgo de padecer AD y contribuye a su progresión** y los déficits cognitivos asociados [2, 4]. Incluso se ha planteado como un **evento temprano que podría ser utilizado como biomarcador** durante la fase preclínica de la enfermedad.

Uno de los mecanismos vasculares descritos que contribuyen a la AD es la **angiogénesis no productiva**, fenómeno por el cual la **reducción parcial o total en la señalización DLL4-NOTCH** provoca el desarme de los vasos sanguíneos cercanos a la placa en estructuras de baja perfusión denominadas **cicatrices vasculares** [5].

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron cuatro líneas de ratones:

NICD/+. Sobreexpresa el factor de transcripción NICD (*Notch intracellular domain*, resultado del corte de la enzima γ -secretasa sobre el receptor NOTCH) en las células endoteliales cuando se expone a tamoxifeno.

APP-PSEN1. Expresa una forma quimérica de la proteína precursora del amiloide y una forma humana con la mutación sueca de la presenilina 1 (subunidad catalítica de la γ -secretasa). Desarrolla placas de A β a los 6 meses.

APP-PSEN1;NICD/+. Cruce de los anteriores que desarrolla placas de A β y sobreexpresa NICD en las células endoteliales.

Control. Se trata de la línea C57BL/6.

Todas las líneas fueron expuestas a una dieta con tamoxifeno durante 30 días a los 2 meses.

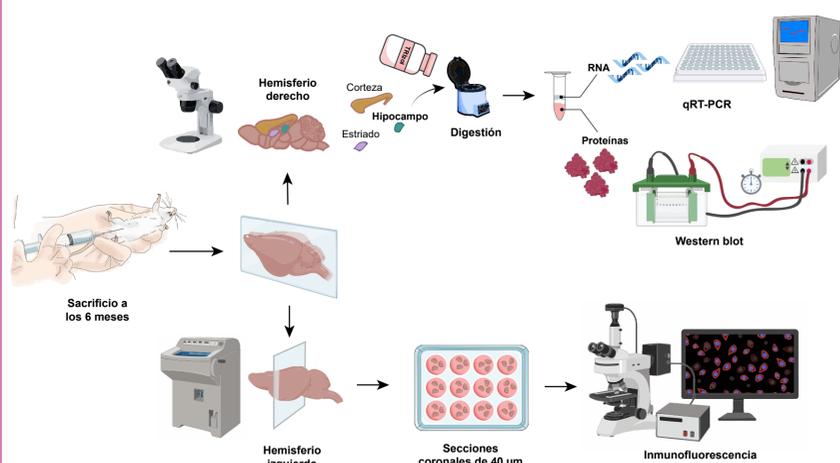


Figura 1. Esquema de la metodología utilizada.

RESULTADOS

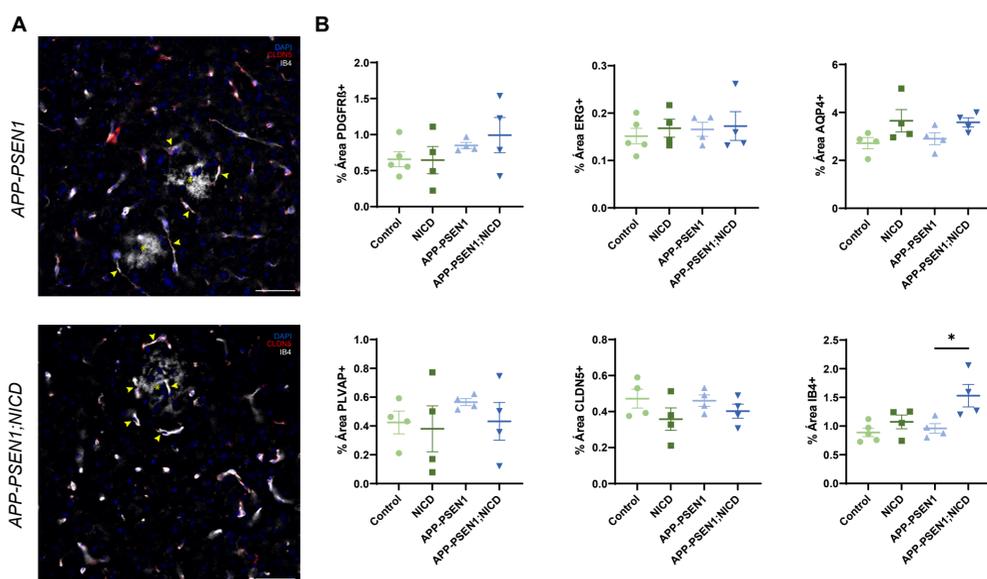


Figura 2. A pesar de la existencia de cicatrices vasculares (VaS, asteriscos amarillos), la patología A β y la sobreexpresión de NICD no tienen efectos significativos en la vasculatura cortical a los 6 meses. A. Imágenes XY, procesadas con el sistema de algoritmos THUNDER y tomadas a 40x, de secciones coronales corticales de modelos *APP-PSEN1* y *APP-PSEN1;NICD* de 6 meses teñidas con marcadores de núcleo (DAPI, azul), uniones estrechas (CLDN5, rojo) y vasos (IB4, blanco). Las cabezas de flecha amarillas señalan vasos sanguíneos desplazados y/o desarmados por la formación de la VaS. Barra de escala: 50 μ m. B. Cuantificación del área PDGFR β + (marcador de pericitos), ERG+ (marcador de núcleos de células endoteliales cerebrales), AQP4+ (marcador del pie astrocitario), PLVAP+ (marcador de fenestras y disfunción vascular), CLDN5+ (marcador de rigidez y buen funcionamiento vascular) e IB4+ (marcador de matriz extracelular) en imágenes XY de corteza. Test de ANOVA de una vía con el factor de corrección de Brown-Forsythe (p-valor < 0,05, *). Se representa la Media \pm SEM, junto con los valores individuales (N=4).

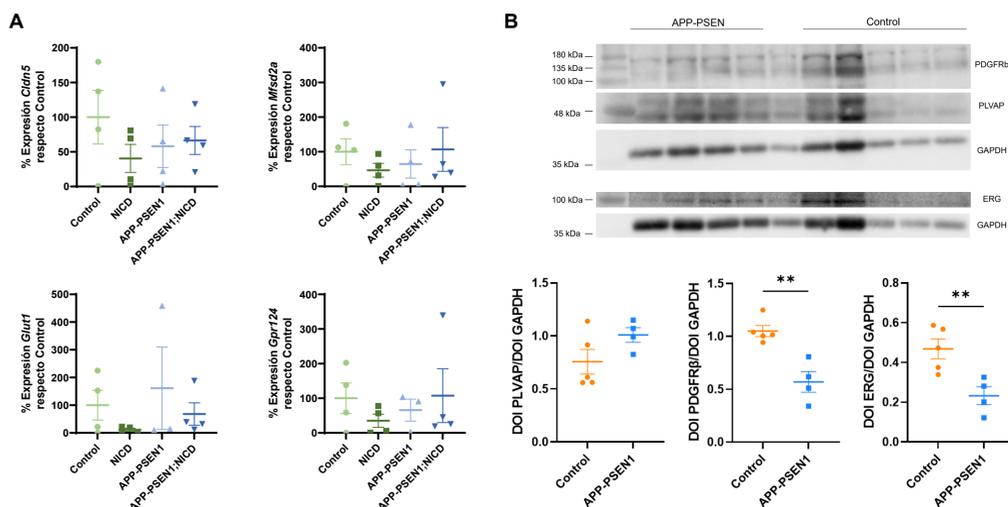


Figura 3. La patología A β disminuye los niveles de las proteínas PDGFR β y ERG en el hipocampo a los 6 meses. A. Cuantificación de los niveles de expresión de mRNA de *Cldn5*, *Mfsd2a*, *Glut1* y *Gpr124* mediante el método Δ CT. Para cada transcrito, se relativizaron los valores de expresión de todos los grupos experimentales a la media de los valores de expresión del grupo control. Los datos fueron analizados utilizando el test de ANOVA de una vía, y aplicando un factor de corrección de Brown-Forsythe ante la disimilitud de las desviaciones estándar. No se observaron diferencias estadísticas (p-valor > 0,05). Se representa la Media \pm SEM, junto con los valores individuales (N=4). B. Western blot de las proteínas PDGFR β (123 kDa), PLVAP (50 kDa), ERG (55 kDa) y GAPDH (36 kDa, control de carga proteica) y su cuantificación. Los datos fueron analizados utilizando la prueba t de Student de dos colas, y aplicando el factor de corrección de Welch (p-valor < 0,01, **). Se representa la Media \pm SEM, junto con los valores individuales (N=5 para control y 4 para *APP-PSEN1*).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este trabajo se pretendía ① caracterizar el estado de la barrera hematoencefálica en un modelo murino de Alzheimer y ② estudiar el efecto de la sobreexpresión de NICD en dicho modelo. Con este fin, se utilizaron aproximaciones bioquímicas e histológicas para evaluar la vasculatura cerebral en general, independientemente de su distancia a la placa. Los resultados obtenidos indican que la vasculatura cortical no se ve afectada por la patología A β , pero esto **no implica que no existan alteraciones vasculares locales**. De hecho, en trabajos anteriores se ha observado **degeneración de astrocitos y pericitos alrededor de las VaS** [5]. En este sentido, se ha descrito que la BBB es una estructura con una **alta heterogeneidad en sus componentes y propiedades dependiendo de la región cerebral**, lo cual denota la necesidad de utilizar aproximaciones más finas en lugar de evaluar grandes regiones de modo general [1]. Por otro lado, los resultados apuntan a que la vía NOTCH no juega un papel crucial en el mantenimiento de la BBB en el adulto en condiciones fisiológicas. En su lugar, podría ser más relevante en la **formación y el desmantelamiento de la BBB en respuesta al estímulo angiogénico**.

- 1 Los ratones con patología A β presentan cicatrices vasculares en la corteza a los 6 meses.
- 2 La patología A β no tienen efectos significativos en la vasculatura cortical pero sí en la hipocampal a nivel proteico.
- 3 La sobreexpresión de NICD aumenta la matriz extracelular en la vasculatura cortical pero no modifica el resto de marcadores en corteza ni en hipocampo.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Villabona-Rueda A, Erice C, Pardo CA, Stins MF. The Evolving Concept of the Blood Brain Barrier (BBB): From a Single Static Barrier to a Heterogeneous and Dynamic Relay Center. *Front Cell Neurosci.* 2019;13(Sepember).
- [2] Sweeney MD, Zhao Z, Montagne A, Nelson AR, Zlokovic B V. Blood-brain barrier: From physiology to disease and back. *Physiol Rev.* 2019;99(1):21-78.
- [3] Knopman DS, Amieva H, Petersen RC, Chételat G, Holtzman DM, Hyman BT, et al. Alzheimer disease. *Nat Rev Dis Prim.* 2021;7(33).
- [4] Zenaro E, Piacentino G, Constantin G. The blood-brain barrier in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis.* 2017;107:41-56.
- [5] Alvarez-Vergara MI, Rosales-Nieves AE, March-Diaz R, Rodriguez-Perinan G, Lara-Ureña N, Ortega-de San Luis C, et al. Non-productive angiogenesis disassembles A β plaque-associated blood vessels. *Nat Commun.* 2021;12(1):1-16.