



**Fundació**  
La Marató de TV3

20<sup>è</sup> SIMPOSIUM  
Enfermedades neurodegenerativas



# **COLESTEROL Y ESTRÉS OXIDATIVO MITOCONDRIAL INDUCIDO POR A $\beta$ COMO FACTORES CAUSALES Y DIANAS TERAPÉUTICAS EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

**Anna Colell Riera**

Institut Investigacions Biomèdiques de BCN

**Tobias Hartmann**

Deutsches Institut für Demenzprävention (DIDP) / Saarland University

## 1. Resumen

El aumento de colesterol se ha relacionado con la amiloidogénesis. Evidencias recientes sugieren que el colesterol tendría un impacto aún mayor sobre la enfermedad de Alzheimer (EA), regulando también la eliminación de beta amiloide (A $\beta$ ). Nuestros resultados previos demostraban que la acumulación de colesterol en mitocondria, a través de la disminución de los niveles de glutatión (GSH) mitocondrial y la promoción del estrés oxidativo inducido por A $\beta$ , aceleraba la aparición de síntomas característicos de la EA. En la misma línea, se había descrito la inactivación oxidativa de enzimas degradadoras de A $\beta$  y la inhibición de la fagocitosis microglial por un incremento de especies reactivas del oxígeno (ROS). Además, nuestros trabajos preliminares sugerían que los cambios en la actividad transcripcional del dominio intracelular de la proteína precursora de A $\beta$  (AICD) pueden tener un papel en las alteraciones de la homeostasis del colesterol y del metabolismo del A $\beta$ . A partir de estos datos, nuestra hipótesis planteaba que el colesterol contribuía en parte a la acumulación de A $\beta$  al afectar negativamente la función de AICD y otros componentes clave de los sistemas de degradación celular. Para probar esta hipótesis utilizamos homogeneizados de cerebro y neuronas aisladas a partir de ratones APP/PSEN1 de mediana edad que sobreexpresan el factor de transcripción relacionado con la síntesis de colesterol SREBP-2; además empleamos cultivos celulares tratados con agentes que modifican el contenido de colesterol (GSH).

El resultado de estos trabajos proporciona una comprensión más profunda de la interrelación entre el colesterol y la acumulación de A $\beta$ , desenmascarando la capacidad dual del colesterol celular para estimular la síntesis y agregación de A $\beta$ , así como bloquear su correcta eliminación. Hemos demostrado que el colesterol puede afectar a diferentes mecanismos celulares de eliminación de A $\beta$ , que incluyen la autofagia, la degradación proteolítica de A $\beta$  y la fagocitosis microglial. Hemos mostrado que el estrés oxidativo mitocondrial potenciado por el colesterol es un factor que contribuye a esta eliminación defectuosa de A $\beta$ , impidiendo la correcta función de enzimas degradadoras de A $\beta$ . Por otra parte, la mejora que observamos en la eliminación de A $\beta$  tras la recuperación de los niveles de GSH mitocondrial a través de la administración *in vivo* de éster de GSH, pone de manifiesto el papel clave del estrés oxidativo mitocondrial y proporciona una nueva estrategia terapéutica para el tratamiento de la EA. En paralelo, hemos identificado los ácidos grasos de cadena corta < C16 presentes en el aceite de

coco como moléculas dietéticas que pueden aumentar con fuerza la actividad de IDE (*insulin degrading enzyme*), una de las principales enzimas degradadoras de A $\beta$ . Que la administración de estos ácidos grasos y del éster de GSH pueda ser fácilmente ajustable para el consumo humano lleva a pensar que estas intervenciones experimentales puedan tener relevancia terapéutica.

## 2. Resultados obtenidos

- Los niveles de colesterol regulan la expresión y actividad de enzimas degradadoras de A $\beta$ , como IDE (*insulin degrading enzyme*) y NEP (*neprilysin*). Un aumento del colesterol intracelular, a través de la disminución de los niveles de GSH mitocondrial, da lugar a la inhibición oxidativa de ambas enzimas. Asimismo, el incremento de colesterol celular favorece la liberación de IDE en vesículas extracelulares. La secreción de IDE es dependiente de autofagia y se ve regulada por los cambios en el flujo autofágico inducidos por el aumento de colesterol. La recuperación del GSH mitocondrial mediante tratamiento con la forma soluble de GSH (éster etílico de GSH) restablece la actividad enzimática de ambas proteínas, mejorando la degradación proteolítica de A $\beta$  extracelular. Por el contrario, hemos observado que a diferencia del colesterol celular, un aumento de colesterol en el medio desempeña un papel antiamiloidogénico, favoreciendo así la función del IDE extracelular.

- Paralelamente, con el fin de identificar moléculas que puedan contrarrestar la disminución en la degradación de A $\beta$  en la EA, hemos analizado distintos ácidos grasos. Hemos identificado los ácidos grasos de cadena corta < C16 como inductores de la degradación de A $\beta$  dependiente de IDE. Asimismo, ratones APP/PSEN1 alimentados con aceite de coco (altamente enriquecido con ácidos grasos de cadena corta como el ácido láurico (12:0) y el ácido mirístico (14:0)) muestran una mayor actividad de IDE en comparación con animales alimentados con dieta control, incremento que se acompaña de una significativa reducción en los niveles de A $\beta$  en cerebro.

- El colesterol impide la correcta eliminación de proteína TAU y A $\beta$  intracelular a través de la autofagia, promoviendo al mismo tiempo la secreción de A $\beta$  al medio extracelular. Unos niveles de colesterol elevados favorecen la formación de los autofagosomas,

resultado de un mayor estrés oxidativo mitocondrial, pero bloquean su correcta fusión con los lisosomas.

- El colesterol regula la mitofagia (eliminación de mitocondrias defectuosas a través de procesos de autofagia), así como la biogénesis mitocondrial. Un aumento de colesterol promueve el reclutamiento de proteínas claves en la mitofagia, como PINK1 y PRKN, y disminuye la expresión de PGC-1 $\alpha$ .

- El colesterol, estimulando el estrés oxidativo mitocondrial inducido por A $\beta$ , también favorece la formación del inflammasoma y la consiguiente respuesta inflamatoria, que finalmente da lugar a una disminución de la viabilidad neuronal y un cambio en el fenotipo microglial (proinflamatorio vs. fagocítico).

- El metabolismo de A $\beta$  regula los niveles de colesterol. La AICD, producto resultante del procesado amiloidogénico de la proteína precursora de A $\beta$  (APP), reduce la expresión de enzimas clave en la síntesis de colesterol, como HMGCS1 (*3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA synthase 1*), HMGCR (*3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase*) y FDPS (*farnesyl diphosphate synthase*). Estos estudios nos han permitido identificar una cascada de cinasas que vincularía el A $\beta$  con la función mitocondrial y la actividad de la enzima HMGCR.

- El colesterol induce la síntesis de A $\beta$  al dirigir las proteínas amiloidogénicas a las áreas de membrana llamadas *lipid rafts* y favorecer así el procesado de APP.

### 3. Relevancia e implicaciones futuras

Nuestro estudio, mediante un análisis sistemático del impacto del colesterol en diferentes procesos celulares, muestra que un aumento del estrés oxidativo inducido por colesterol puede alterar la síntesis de A $\beta$  y afectar a los diferentes procesos responsables de la eliminación de A $\beta$ , incluyendo las enzimas degradadoras de A $\beta$ , la autofagia y el fenotipo microglial. A partir de nuestros estudios hemos adquirido una mejor comprensión de tales procesos; hemos identificado el estrés oxidativo mitocondrial y el mantenimiento de los niveles de GSH mitocondrial, principal defensa antioxidante de la mitocondria, como factores reguladores claves en la eliminación de

A $\beta$ . También creemos que hemos sentado las bases para mejorar las estrategias terapéuticas enfocadas a reducir la acumulación de A $\beta$ , en especial de las especies solubles y altamente tóxicas de estos péptidos. Nuestros resultados experimentales, obtenidos tanto en líneas celulares como en ratones modelos de la EA, sugieren que un suplemento dietético con éster de glutatión (compuesto capaz de mantener los niveles de GSH mitocondrial), así como una dieta enriquecida con ácidos grasos de cadena corta (como los que se encuentran en el aceite de coco), a través de la recuperación de los mecanismos de eliminación endógenos de A $\beta$ , podrían tener unos efectos beneficiosos en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

#### 4. Bibliografía científica generada

1. Barbero-Camps E, Roca-Agujetas V, Bartolessis I, de Dios C, Fernández-Checa JC, Marí M, Morales A, **Hartmann T, Colell A.**  
*Cholesterol impairs autophagy-mediated clearance of amyloid beta while promoting its secretion.*  
Autophagy. 2018; 14(7): 1129-1154.
2. Menal MJ, Jorba I, Torres M, Montserrat JM, Gozal D, **Colell A**, Piñol-Ripoll G, Navajas D, Almendros I, Farré R.  
*Alzheimer's Disease Mutant Mice Exhibit Reduced Brain Tissue Stiffness Compared to Wild-type Mice in both Normoxia and following Intermittent Hypoxia Mimicking Sleep Apnea.*  
Front Neurol. 2018; 9:1
3. Tutusaus A, Stefanovic M, Boix L, Cucarull B, Zamora A, Blasco L, Garcia de Frutos P, Reig M, Fernandez-Checa JC, Marí M, **Colell A**, Bruix J, Morales M.  
*Anti-apoptotic BCL-2 proteins determine sorafenib/regorafenib resistance and BH3-mimetic efficacy in hepatocellular carcinoma.*  
Oncotarget. 2018; 9(24):16701-16717.

4. De Mingo Pulido A, de Gregorio S, Chandra S, **Colell A**, Morales A, Kronenberg M, Marí M.  
*Differential role of cathepsins S and B in hepatic APC-mediated NKT cell activation and cytokine secretion.*  
Front Immunol. 2018; 9:391.
5. Grimm MOW, Thiel A, Lauer A, Winkler J, Lehmann J, Regner L, Nelke C, Janischke D, Benoist C, Streidenberger O, Stötzel H, Endres K, Herr C, Beisswenger C, Grimm HS, Bals R, Lammert F, **Hartmann T**.  
*Vitamin D and its analogues decrease Amyloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) formation and increase  $A\beta$ -degradation.*  
Int J Molecular Sciences. 2017; 18: 2764.
6. Jorba I, Menal MJ, Torres M, Gozal D, Piñol-Ripoll G, **Colell A**, Montserrat JM, Navajas D, Farré R, Almendros I.  
*Ageing and chronic intermittent hypoxia mimicking sleep apnea do not modify local brain tissue stiffness in healthy mice.*  
J Mech Behav Biomed Mater. 2017; 71:106-113.
7. Grimm MO, Michaelson D, **Hartmann T**.  
*Omega-3 fatty acids, Lipids and apoE lipidation in Alzheimer's disease: a rationale for multi-nutrient dementia prevention.*  
J Lipid Res. 2017; 58(11): 2083-2101.
8. Grimm MO, Mett J, Grimm HS, **Hartmann T**.  
*APP function and Lipids: A Bidirectional Link.*  
Front Mol Neurosci. 2017; 10:63  
Altered gut microbiome composition and tryptic activity of the 5xFAD
9. Brandscheid C, Schuck F, Reinhardt S, Schäfer KH, Pietrzik CU, Grimm M, **Hartmann T**, Schwierz A, Endres K.  
*Alzheimer's mouse model.*  
J Alzheimers Dis. 2017; 56(2): 775-788.

10. Grimm MO, Regner L, Mett J, Stahlmann CP, Schorr P, Nelke C, Streidenberger O, Stoetzel H, Winkler J, Zaidan SR, Thiel A, Endres K, Grimm HS, Volmer DA, **Hartmann T**.

*Tocotrienol affects oxidative stress, cholesterol homeostasis and the amyloidogenic pathway in neuroblastoma cells: Consequences for Alzheimer's disease.*

Int J. Mol Sci. 2016; 17(11): 1809.

11. Grimm MO, Mett J, **Hartmann T**.

*The impact of vitamin E and other fat-soluble vitamins on Alzheimer's disease.*

Int J Mol Sci. 2016; 17(11): 1785.

12. Stefanovic M, Tutusaus A, Martinez-Nieto GA, Bárcena C, de Gregorio E, Moutinho C, Barbero-Camps E, Villanueva A, **Colell A**, Marí M, García-Ruiz C, Fernandez-Checa JC, Morales A.

*Targeting glucosylceramide synthase upregulation reverts sorafenib resistance in experimental hepatocellular carcinoma.*

Oncotarget. 2016; 7(7):8253-67.