



Fundació
La Marató de TV3

20è SIMPOSIUM
Malalties neurodegeneratives



EL COLESTEROL I L'ESTRÈS OXIDATIU MITOCONDRIAL INDUÏT PER $A\beta$ COM A FACTORS CAUSALS I DIANES TERAPÈUTIQUES EN LA MALALTIA D'ALZHEIMER

Anna Colell Riera

Institut Investigacions Biomèdiques de BCN

Tobias Hartmann

Deutsches Institut für Demenzprävention (DIDP) / Saarland University

1. Resum

L'augment del colesterol s'ha relacionat amb l'amiloidogènesi. Evidències recents suggereixen que el colesterol pot tenir un impacte encara més gran sobre la malaltia d'Alzheimer (MA), tot regulant també l'eliminació de beta amiloide (Ab). Els nostres resultats previs demostraven que l'acumulació de colesterol a les mitocondries, mitjançant la disminució dels nivells de glutatió (GSH) mitocondrial i la promoció de l'estrès oxidatiu induït per Ab, accelerava l'aparició de símptomes característics de la MA. En la mateixa línia, s'havia descrit la inactivació oxidativa d'enzims degradadors d'A β i la inhibició de la fagocitosi microglial per un increment d'espècies reactives de l'oxigen (ROS). A més, els nostres treballs preliminars suggereixen que els canvis en l'activitat transcripcional del domini intracel·lular de la proteïna precursora d'A β (AICD) poden tenir un paper en les alteracions de l'homeòstasi del colesterol i del metabolisme de l'Ab. A partir d'aquestes dades, la nostra hipòtesi plantejava que el colesterol contribuïa en part a l'acumulació d'A β perquè afectava negativament la funció d'AICD i d'altres components clau dels sistemes de degradació cel·lular. Per provar aquesta hipòtesi vam utilitzar homogenats de cervell i neurones aïllades a partir de ratolins APP/PSEN1 de mitjana edat que sobreexpressen el factor de transcripció relacionat amb la síntesi de colesterol SREBP-2, a més de cultius cel·lulars tractats amb agents que modifiquen el contingut de colesterol (GSH).

El resultat d'aquests estudis proporcionen una comprensió més profunda de la interrelació entre el colesterol i l'acumulació d'A β , tot descobrint la capacitat dual del colesterol cel·lular per estimular la síntesi i agregació d'Ab, i al mateix temps bloquejar-ne l'eliminació correcta. Hem demostrat que el colesterol pot afectar diferents mecanismes cel·lulars de depuració d'A β , incloent-hi l'autofàgia, la degradació proteolítica d'A β i la fagocitosi microglial. Hem mostrat que l'estrès oxidatiu mitocondrial potenciat pel colesterol és un factor que contribueix a aquesta eliminació defectuosa d'A β impedit la correcta funció d'enzims degradadors d'A β . D'altra banda, la millora que observem en l'eliminació d'A β després de la recuperació dels nivells de GSH mitocondrial per l'administració *in vivo* d'èster de GSH, posa de manifest el paper clau de l'estrès oxidatiu mitocondrial i proporciona una nova estratègia terapèutica per al tractament de la MA. Paral·lelament hem identificat els àcids grassos curts presents a l'oli de coco com a molècules dietètiques que poden augmentar fortament l'activitat d'IDE (*insulin degrading enzyme*), un dels principals enzims degradadors d'A β . El fet

que l'administració d'aquests àcids grassos i d'èster de GSH pugui ser fàcilment ajustable per al consum humà, fa pensar que aquestes intervencions experimentals puguin tenir rellevància terapèutica.

2. Resultats obtinguts

- Els nivells de colesterol regulen l'expressió i l'activitat d'enzims degradadors d'Ab, com IDE (*insulin degrading enzyme*) i NEP (*neprilysin*). Un augment de colesterol intracel·lular, mitjançant disminuir els nivells de GSH mitocondrial, dona lloc a la inhibició oxidativa de tots dos enzims. Alhora, l'increment de colesterol cel·lular afavoreix l'alliberament d'IDE en vesícules extracel·lulars. La secreció d'IDE és dependent d'autofàgia i ve regulada pels canvis en el flux autofàgic induïts per l'augment de colesterol. La recuperació del GSH mitocondrial mitjançant tractament amb la forma soluble de GSH (èster etílic de GSH) restableix l'activitat enzimàtica de tots dos enzims i millora la degradació proteolítica d'Aβ extracel·lular. Per contra, hem observat que a diferència del colesterol cel·lular, l'augment de colesterol al medi té un paper antiamiloidogènic que afavoreix la funció de l'IDE extracel·lular.

- Paral·lelament, per identificar molècules que puguin contrarestar la disminució en la degradació d'Ab en la situació patològica de la MA, hem analitzat diversos àcids grassos. Hem identificat els àcids grassos de cadena curta < C16 com a inductors de la degradació d'Aβ dependent d'IDE. Ratolins APP/PSEN1 alimentats amb oli de coco (altament enriquit amb àcids grassos de cadena curta, com l'àcid làuric (12:0) i l'àcid mirístic (14:0)) mostren una activitat més alta d'IDE en comparació amb els animals alimentats amb dieta control, i aquest increment s'acompanya amb nivells reduïts d'Aβ al cervell.

- El colesterol impedeix l'eliminació correcta de proteïna TAU i Aβ intracel·lular a través de l'autofàgia, i al mateix temps promou la secreció d'Aβ al medi extracel·lular. Uns nivells de colesterol elevats afavoreixen la formació dels autofagosomes, resultat d'un estrès oxidatiu mitocondrial més elevat, però en bloquegen la fusió correcta amb els lisosomes.

- El colesterol regula la mitofàgia (eliminació de mitocondries defectuoses a través de processos d'autofàgia), així com la biogènesi mitocondrial. Un augment de colesterol promou el reclutament de proteïnes claus en la mitofàgia, com PINK1 i PRKN, i fa minvar l'expressió de PGC-1 α .
- El colesterol, estimulants l'estrès oxidatiu mitocondrial induït per A β , també afavoreix la formació de l'inflamasoma i la consegüent resposta inflamatòria, que finalment dona lloc a una disminució de la viabilitat neuronal i un canvi en el fenotip microglial (proinflamatori vs. fagocític).
- El metabolisme d'A β regula els nivells de colesterol. L'AICD, producte resultant del processament amiloidogènic de la proteïna precursora d'A β (APP), redueix l'expressió d'enzims claus en la síntesi de colesterol, com HMGCS1 (*3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA synthase 1*), HMGCR (*3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase*) i FDPS (*farnesyl diphosphate synthase*). Aquests estudis ens han permès identificar una cascada de cinases que vincularia l'A β amb la funció mitocondrial i l'activitat de l'enzim HMGCR.
- El colesterol induïx la síntesi d'A β en dirigir les proteïnes amiloidogèniques a àrees de membrana anomenades *lipid rafts* i afavorir d'aquesta manera el processament d'APP.

3. Rellevància i implicacions futures

Els nostre estudi, mitjançant una anàlisi sistemàtica de l'impacte del colesterol en diferents processos cel·lulars, mostra com un augment de l'estrès oxidatiu induït per colesterol pot alterar la síntesi d'A β i afectar els diferents processos responsables de l'eliminació d'A β , incloent-hi els enzims degradadors d'A β , l'autofàgia i el fenotip microglial. Amb aquests estudis hem adquirit una millor comprensió d'aquests processos; hem identificat l'estrès oxidatiu mitocondrial i el manteniment dels nivells de GSH mitocondrial, principal defensa antioxidant de la mitocondria, com a factors reguladors claus en l'eliminació d'A β . També creiem que hem establert les bases per millorar les estratègies terapèutiques enfocades a reduir l'acumulació d'A β , especialment de les espècies solubles i altament tòxiques d'aquests pèptids. Els nostres

resultats experimentals, obtinguts tant en línies cel·lulars com en ratolins models de la MA, suggereixen que un suplement dietètic amb èster de glutatió (compost capaç de mantenir els nivells de GSH mitocondrial), així com una dieta enriquida amb àcids grassos de cadena curta (com els que es troben a l'oli de coco), mitjançant la recuperació dels mecanismes de eliminació d'A β endògens, podrien tenir uns efectes beneficiosos en el tractament de la malaltia d'Alzheimer.

4. Bibliografia 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- β ($A\beta$) 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**, Schwartz 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, Stötzel 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.