

Influjo de factores convergentes (BACE1 y Desaturasa SCD1) sobre la composición de ácidos grasos de fosfolípidos en eventos pro-inflamatorios y degenerativos en un modelo in vitro neurovascular (neurona-astrocito, astrocito- endotelio)

Ferley Alejandro Bedoya-Guzmán^{1,3},
Rafael Andrés Posada-Duque (Co-tutor)^{2,3},
Gloria Patricia Cardona-Gómez (Tutor)³.

PRESENTACIÓN

En la enfermedad de Alzheimer se acumulan péptidos tóxicos que irrumpen la homeostasis del ambiente del parenquima cerebral. Estos péptidos son el producto de la alteración de vías metabólicas, transporte y degradación de proteínas que conllevan a la toxicidad progresiva. Hasta ahora, el control sobre la acumulación de dichos peptidos no ha resuelto el problema clínico.

Los lípidos son señales moleculares que gobiernan las funciones celulares, y varios de los eventos de procesamiento y degradación de proteínas depende de la composición y conformación de membranas y el diálogo con el balance energético. Por dicha razón, la investigación del laboratorio se basa en desentrañar la relación entre los fosfolípidos y procesos proinflamatorios tempranos rígidos desde los componentes de la Unidad Neurovascular como posible etiopatogénesis del trastorno cognitivo y demencia.

RESUMEN

La adecuada funcionalidad del sistema nervioso central depende de la integridad de la unidad neurovascular, un entorno donde interactúan de manera íntima los principales componentes celulares del cerebro: neuronas, astrocitos y endotelio. Pero, la vía amiloidogénica, un evento metabólico activado por

la acción de la enzima β -secretasa (BACE1) sobre la proteína precursora amiloide (APP), produce peptidos tóxicos que se acumulan y generan un ambiente inflamatorio, el cual es mediado principalmente por astrocitos. Así, se pierde la integridad de la unidad neurovascular, y finalmente, se obtiene la muerte neuronal.

Esta vía enzimática es llevada a cabo en compartimentos membranosos especializados ricos en colesterol y esfingolípidos, conocidos como balsas lipídicas. Lo que sumado a la alteración de los lípidos y al regulador del colesterol, apolipoproteína E (ApoE), como uno de los principales factores de riesgo genético de padecer la enfermedad de Alzheimer, dirige la mirada hacia la investigación de los lípidos como posibles actores importantes en el evento patológico.

En nuestro laboratorio, hemos encontrado cambios estructurales en ácidos grasos de especies fosfolípidicas particulares en animales modelo de la enfermedad de Alzheimer. Se ha logrado recuperar la función cognitiva, acompañada de cambios en el perfil de fosfolípidos y otros marcadores de neurodegeneración tras la reducción de BACE1 con la participación de enzimas modificadoras de la insaturación de ácidos grasos, desaturasa SCD1 y FADS6.

Por lo tanto, en el presente estudio se hipotetiza el astrocito-BACE1 inhibido como célula reguladora central del metabolismo de fosfolípidos en las neuronas y el endotelio, a partir de lo cual se podría diseñar estrategias de terapia celular en etapas tempranas de la enfermedad. Por lo tanto, el objetivo principal de esta investigación es: Determinar la relación de BACE1 y la desaturasa SCD1 sobre el perfil diferencial de fosfolípidos en Astrocitos, Neuronas y Endotelio.

Para ello se realizará la inhibición de BACE1 y SCD1 en astrocitos expuestos en cocultivos con endotelio y neuronas, sometidos a estrés por el neurotransmisor glutamato para inducir procesos de degeneración neural. Y en estos cultivos se evaluarán los cambios en el perfil y composición de fosfolípidos en los tres tipos celulares y se evaluará la participación de las enzimas de interés (BACE1, desaturasa 1 y 6), (BACE1 y SCD1)... en la recuperación de la integridad celular de astrocitos, neuronas y endotelio.

¹ Estudiante de maestría en Ciencias Básicas Biomédicas con énfasis en Neurociencias, Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas.

² Instituto de Biología.

³ Grupo de Neurociencias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

E.mails: ferley.bedoya@udea.edu.co; rafael.posada@udea.edu.co; patricia.cardonag@udea.edu.co

Financiación: Colciencias código # 111577757084 (2017-2020)

Como parte de la aproximación metodológica se realizará prueba colorimétrica de muerte celular por LDH, microscopía confocal-DSU para observar cambios morfológicos y cambios en el patrón de expresión por intensidad de fluorescencia, y fluorogramas; complementado con el análisis por espectrometría de masas para identificar el perfil y composición de fosfolípidos en cada tipo celular. Finalmente, se realizará verificación de los cambios más relevantes en cerebro de un modelo animal de deterioro cognitivo.

En la fase preliminar se confirmó que el glutamato genera hiperreactividad y alteración del citoesqueleto de actina en los astrocitos en cultivo y que la inhibición de BACE1 recupera parcialmente dicha morfología a su estado basal y disminuye la intensidad de fluorescencia de BACE1 e IL-1Beta.

Los resultados esperados son verificar la capacidad de recuperación del perfil lipídico y reversión de los marcadores de inflamación y degeneración neural lo grado desde el astrocito- BACE1 inhibido en el modelo *in vitro* de unidad neurovascular bajo el estrés por glutamato, y proponer esta célula como blanco de regulación homeostática en el parenquima cerebral.

PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Alzheimer, Beta-secretasa 1, Desaturasa 1, Ácidos Grasos, Fosfolípidos, Astrocitos, Endotelio, Neuronas, Unidad Neurovascular

BIBLIOGRAFÍA

- Iadecola, C. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience* [Internet] 2004; 5(5):347-360. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrn1387>. Doi: 10.1038 / nrn1387
- Harder D R, Zhang C, Gebremedhin D. Astrocytes function in matching blood flow to metabolic activity. *News Physiol Sci* 2002; [Internet] (17): 27-31. Doi: 10.1152 / physiologyonline.2002.17.1.27
- Simard M, Arcuino G, Takano T, Liu Q S, Nedergaard M. Signaling at the gliovascular interface. *J Neurosci* [Internet] 2003; (23): 9254-9262. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6740832/>. Doi: 10.1523 / JNEUROSCI.23-27-09254.2003
- Takami M, Nagashima Y, Sano Y, et al. gamma-Secretase: successive tripeptide and tetrapeptide release from the transmembrane domain of beta-carboxyl terminal fragment. *J Neurosci* [Internet] 2009; 29(41):13042-13052. Disponible en: <https://www.jneurosci.org/content/29/41/13042> doi:10.1523/JNEUROSCI.2362-09.2009
- Wang W, Hou TT, Jia LF, Wu QQ, Quan MN, Jia JP. Toxic amyloid- β oligomers induced self-replication in astrocytes triggering neuronal injury. *EbioMedicine* [Internet] 2019;42:174-187. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6491655/>. Doi:10.1016/j.ebiom.2019.03.049
- Tallon C, Farah MH. Beta secretase activity in peripheral nerve regeneration. *Neural Regen Res* [Internet] 2017;12(10):1565-1574. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5696827/>. Doi:10.4103/1673-5374.217319
- Guglielmotto M, Monteleone D, Vaschiaveo V, et al. The Decrease of Uch-L1 Activity Is a Common Mechanism Responsible for A β 42 Accumulation in Alzheimer's and Vascular Disease. *Front Aging Neurosci* [Internet] 2017;9:320. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5627155/>. Doi:10.3389/fnagi.2017.00320
- Pike LJ. Rafts defined: a report on the Keystone Symposium on Lipid Rafts and Cell Function. *J Lipid Res* [Internet] 2006;47(7):1597-1598. Disponible en: <https://www.jlr.org/content/47/7/1597.long>. Doi:10.1194/jlr.E600002-JLR200
- Cordy JM, Hooper NM, Turner AJ. The involvement of lipid rafts in Alzheimer's disease. *Mol Membr Biol* [Internet] 2006; 23(1):111-122. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09687860500496417>. Doi:10.1080/09687860500496417
- Ye S, Huang Y, Müllendorff K, et al. Apolipoprotein (apo) E4 enhances amyloid beta peptide production in cultured neuronal cells: apoE structure as a potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet] 2005;102(51):18700-18705. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1311738/>. Doi: 10.1073/pnas.0508693102
- Jing D, Junlei C, Songxi G, Qing Z. ApoE 4 reduces the expression of A β degrading enzyme IDE by activating the NMDA receptor in hippocampal neurons. *Neuroscience Letters* [Internet] 2009; 464(2):140-145. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304394009009574>. Doi: 10.1016/j.neulet.2009.07.032

12. Villamil-Ortiz JG, Barrera-Ocampo A, Piedrahita D, Velásquez-Rodríguez CM, Arias-Londoño JD, Cardona-Gómez GP. BACE1 RNAi Restores the Composition of Phosphatidylethanolamine-Derivates Related to Memory Improvement in Aged 3xTg-AD Mice. *Front Cell Neurosci* [Internet] 2016;10:260. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5105502/>. Doi:10.3389/fncel.2016.00260
13. Villamil-Ortiz JG, Cardona-Gómez GP. cPLA2 and desaturases underlie the tau hyperphosphorylation offset induced by BACE knock-down in neuronal primary cultures. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* [Internet] 2018;1864(11):3696-3707. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925443918303211>. Doi:10.1016/j.bbadis.2018.08.028