



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Efecto del síndrome metabólico provocado por una dieta rica en grasa en ratones APP^{swe}/PS1^{dE9}, modelo experimental de la enfermedad de Alzheimer, y posibles terapias farmacológicas

Miren Ettcheto Arriola

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



FACULTAD DE FARMACIA Y CIENCIAS DE LA
ALIMENTACIÓN

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, TOXICOLOGÍA Y
QUÍMICA TERAPÉUTICA

**Efecto del síndrome metabólico provocado
por una dieta rica en grasa en ratones
APP^{swe}/PS1^{dE9}, modelo experimental de
la enfermedad de Alzheimer, y posibles
terapias farmacológicas**

Miren Ettcheto Arriola

2018



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

FACULTAD DE FARMACIA Y CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN

DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA, TOXICOLOGÍA Y QUÍMICA
TERAPÉUTICA

PROGRAMA DE DOCTORADO: RECERCA, DESENVOLUPAMENT I
CONTROL DE MEDICAMENTS

**Efecto del síndrome metabólico provocado por
una dieta rica en grasa en ratones
APP^{swe}/PS1^{dE9}, modelo experimental de la
enfermedad de Alzheimer, y posibles terapias
farmacológicas**

Memoria que presenta **Miren Ettcheto Arriola** para optar al título de doctor
por la Universidad de Barcelona

Directores:

Dr. Antoni Camins Espuny

Dr. Jaume Folch López

Doctorando

Miren Ettcheto Arriola

Este trabajo ha sido realizado en el departamento de Farmacología, Toxicología y Química Terapéutica de la Facultad de Farmacia y Ciencias de la Salud de la Universidad de Barcelona y ha sido financiado por:

Ministerio de Ciencia e Innovación

Proyecto: SAF2017-84283-R



CIBERNED

Proyectos: CB06/05/0024; PI2016/01

ciberNed isciiii

Centro Investigación Biomédica
en Red Enfermedades
Neurodegenerativas

GENERALITAT DE CATALUÑA

SUPORT ALS GRUPS DE RECERCA CONSOLIDATS

Proyecto: 2014SGR 525



**Generalitat
de Catalunya**

Publicaciones derivadas de la presente Tesis Doctoral

Ettcheto, M., Junyent, F., de Lemos, L., Pallas, M., Folch, J., Beas-Zarate, C., Verdaguer, E., Gómez-Sintes, R., Lucas, J. J., Auladell, C., Camins, A. (2015). Mice Lacking Functional Fas Death Receptors Are Protected from Kainic Acid-Induced Apoptosis in the Hippocampus. *Molecular Neurobiology*, 52(1), 120–129.

Ettcheto, M., Petrov, D., Pedrós, I., de Lemos, L., Pallàs, M., Alegret, M., Laguna, J. C., Folch, J., Camins, A. (2015). Hypercholesterolemia and neurodegeneration. Comparison of hippocampal phenotypes in LDLr knockout and APPswe/PS1dE9 mice. *Experimental Gerontology*, 65, 69–78.

Ettcheto, M., Petrov, D., Pedrós, I., Alva, N., Carbonell, T., Beas-Zarate, C., Auladell, C., Folch, J., Camins, A. (2016). Evaluation of Neuropathological Effects of a High-Fat Diet in a Presymptomatic Alzheimer's Disease Stage in APP/PS1 Mice. *Journal of Alzheimer's Disease*, 54(1), 233–251.

Sánchez-López, E., **Ettcheto, M.**, Egea, M. A., Espina, M., Calpena, A. C., Folch, J., Camins, A., García, M. L. (2017). New potential strategies for Alzheimer's disease prevention: pegylated biodegradable dexibuprofen nanospheres administration to APPswe/PS1dE9. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 13(3), 1171–1182.

Ettcheto, M., Sánchez-López, E., Pons, L., Busquets, O., Olloquequi, J., Beas-Zarate, C., Merce, P., García, M. L., Auladell, C., Folch, J., Camins, A. (2017). Dexibuprofen prevents neurodegeneration and cognitive decline in APPswe / PS1dE9 through multiple signaling pathways. *Redox Biology*, 13, 345–352.

Ettcheto, M., Abad, S., Petrov, D., Pedrós, I., Busquets, O., Sánchez-López, E., Casadesús, G., Beas-Zarate, C., Carro, Auladell, C., Olloquequi, J., E., Camins, A. (2017). Early Preclinical Changes in Hippocampal CREB-Binding Protein Expression in a Mouse Model of Familial Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*. doi:10.1007/s12035-017-0690-4

Folch, J., Busquets, O., **Ettcheto, M.**, Sánchez-López, E., Castro-Torres, R. D., Verdaguer, E., García, M. L., Olloquequi, J., Casadesús, G., Beas-Zarate,

C., Pelegrí, C., Vilaplana, J., Auladell, C., Camins, A. (2017). Memantine for the Treatment of Dementia: A Review on its Current and Future Applications. *Journal of Alzheimer's Disease*, 1–18. doi: 10.3233/JAD-170672

Ettcheto, M., Sánchez-López, E., Gómez-Mínguez, Y., Cabrera, H., Busquets, O., Beas-Zarate, C., García, M.L., Carro, E., Casadesús, G., Auladell, C., Vazquez-Carrera, M., Folch, J., Camins, A. (2018). Peripheral and central effects of memantine in a mixed preclinical mice model of obesity and familial Alzheimer's disease. *Molecular Neurobiology* (Accepted manuscript)

Comunicaciones en Congresos (Posters)

Ettcheto M.; Petrov D.; Pedrós I.; Pallàs M.; Folch J.; Laguna J. C.; Auladell C.; Camins A. Comparison of hippocampal phenotypes in C57Bl/6 wild type, APP^{swe}/PS1^{dE9} and LDL knockout mice. IX Simposi de Neurobiologia Experimental de la Sociedad Catalana de Biología. Barcelona (2014)

Ettcheto M.; Martínez-Jové A.; Petrov D.; Pallàs M.; Folch J.; Camins A. Early alterations caused by the intake of high fat diet in APP/PS1 mice as a model of familial Alzheimer's disease. 36 Congreso Sociedad Española de Farmacología. Valencia 2015

Ettcheto M.; Martínez-Jové A.; Petrov D.; Pallàs M.; Folch J.; Camins A. Alterations in APP/PS1 mice as a model of familial Alzheimer's disease caused by the intake of high fat diet at 3 month-old age. Congreso Internacional sobre Investigación e Innovación en Enfermedades Neurodegenerativas (CIIIEN). Málaga (2015)

Ettcheto M.; Sánchez-López E.; Gómez-Mínguez Y.; Auladell C.; García M.L.; Pallàs M.; Folch J.; Camins A. The effects of memantine in APP/PS1 mice as a model of familial Alzheimer's disease fed with high fat diet. 10th FENS Forum of Neuroscience (FENS 2016). Copenhage, (Denmark) 2016

Ettcheto M.; Sánchez-López E.; Busquets O.; Pallàs M.; García M.L.; Folch J.; Camins A. Memantine improves metabolic alterations in APP/PS1 mouse model of familiar Alzheimer's disease fed with high fat diet. Congreso

Internacional sobre Investigación e Innovación en Enfermedades Neurodegenerativas (CIIIEN). Alicante (2016)

Ettcheto M.; Sánchez-López E.; Busquets O.; García M.L.; Pallàs M.; Folch J.; Camins A. Strategies for Alzheimer's disease prevention: pegylated biodegradable dexibuprofen nanospheres administration to APP^{swe}/PS1^{dE9}. 2nd Falan Congress. Buenos Aires, (Argentina) (2016)

Sánchez-López E.; Cano A.; **Ettcheto M.**; Egea MA., Espina M.; Calpena AC.; Folch J.; Camins A.; García M.L. Dexibuprofen loaded PEGylated nanospheres for Alzheimer's disease treatment. 4th Symposium on Innovate Polymers for Controlled Delivery (SYPCD). Suzhou (China) (2016)

Ettcheto M.; Sánchez-López E.; Gorriz S.; Busquets O.; Auladell C.; Folch J.; Camins A. Dexibuprofen prevents cognitive and metabolic parameters associated with Alzheimer's disease in APP^{swe}/PS1^{dE9} mice. Institut de neurociències. Barcelona (2017)

Comunicaciones orales en congresos

Preclinical therapeutic strategies for Alzheimer's disease prevention. Hybrid molecular and polypharmacology in drug discovery and development workshop. Wurzburg (Germany) (2017)

*“Investigar es ver lo que todo el mundo ha visto
y pensar lo que nadie más ha pensado”.*
Albert Szent-Györgyi

ÍNDICE

ACRÓNIMOS	VII
INTRODUCCIÓN	21
1. LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	3
1.1 Epidemiología	4
1.2 Neuropatología	6
1.3 Clasificación de la enfermedad	9
<i>1.3.1 Enfermedad de Alzheimer familiar</i>	9
<i>1.3.2 Enfermedad de Alzheimer esporádica</i>	10
1.4 Factores de riesgo	10
<i>1.4.1 Factores de riesgo genéticos</i>	10
<i>1.4.2 Factores de riesgo exógenos o ambientales</i>	10
Edad	10
Sexo	11
Traumatismo craneoencefálico	11
Dieta	12
Enfermedades cardiovasculares	13
1.5 Patogénesis	13
<i>1.5.1 Hipótesis de la cascada β-amiloide</i>	14
Vía no-amiloidogénica	15
Vía amiloidogénica	15
<i>1.5.2 EA como Taupatía</i>	18
<i>1.5.3 Hipótesis colinérgica</i>	20

1.5.4 Hipótesis glutamatérgica/excitotóxica	21
1.5.5 Paradigma de la APOE	24
1.5.6 Hipótesis del estrés oxidativo	27
1.5.7 Disfunción mitocondrial o hipótesis de la cascada mitocondrial	29
1.5.8 Hipótesis de la neuroinflamación	31
1.6 Modelos experimentales de ratón para el estudio de la EA	32
1.6.1 Modelo experimental APP ^{swe} /PS1 ^{dE9} (APP/PS1)	35
Combinación de rica en grasa con modelo APP/PS1	36
2. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER Y DIABETES MELLITUS	37
2.1 Glucosa y función cognitiva	39
2.2 Vía de la insulina	40
2.2.1 La insulina en el SNC	40
2.2.2 El receptor de la insulina en el cerebro	41
2.2.3 Transducción de la señal	42
Vía de la señalización de PI3K	43
2.2.4 El receptor de la insulina en la cognición y neurodegeneración	44
Función de la insulina	44
Insulina y memoria	45

2.3 Efectos del Péptido Beta a nivel sistémico	46
3. ESTRATEGIAS TERAPEUTICAS PARA EL	
DESARROLLO DE FÁRMACOS	49
3.1 Inhibidores de la acetilcolinesterasa	50
3.2 Antagonista de los NMDAR (hipótesis glutamatérgica)	
MEMANTINA.....	51
3.3. Antiinflamatorios como terapias alternativas.....	53
3.4 La situación actual	54
HYPOTHESIS AND OBJECTIVES.....	57
RESULTADOS	61
PUBLICACIÓN I	63
PUBLICACIÓN II.....	85
PUBLICACIÓN III	95
DISCUSIÓN.....	111
Efectos neuropatológicos de la dieta rica en grasa en el	
estado presintomático de la EA en el modelo animal	
APP/PS1	115
Estudio del dexibuprofeno como posible fármaco preventivo	
en la EA	122
Estudio de la memantina en el modelo preclínico de mixto	
de obesidad y EA.....	126
CONCLUSIONES	135
Effect of HFD in a presymptomatic stage of APP/PS1 familial	
AD mice model	137

Effect of chronic administration of DXI in APP/PS1 familial AD mice model	138
Effect of MEM in mixed preclinical mice model of obesity, induced by the intake of HFD, and familial AD	138
BIBLIOGRAFÍA	139
ANEXO.....	195
Anexo I (Publicación IV).....	197
Anexo II (Publicación V).....	209
Anexo III (Publicación VI).....	221
Anexo IV (Publicación VII)	235
Anexo V (Publicación VIII)	249

ACRÓNIMOS

4-HNE	4-hidroxinonenal
AchE	Acetilcolinesterasa
AEM	Agencia europea del medicamento
AD	Alzheimer's disease
ADAM10	α -secretasa
ADDL	Ligando difusible derivado del β A
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADN	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
AICD	Fragmento C-terminal intracelular de la proteína precursora amiloide (<i>Amyloid precursor protein intracellular domain</i>)
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
AMPA	Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico
APO	Apolipoproteína
<i>APOE4</i>	Isoforma ϵ 4 de la apolipoproteína E
<i>APP</i>	Proteína precursora amiloide (<i>Amyloid precursor protein</i>)
<i>Arc</i>	Proteína asociada al citoesqueleto con actividad regulada
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ATP	Adenosín trifosfato
β A	β -amiloide
BACE1	β -secretasa
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
BHE	Barrera hematoencefálica

BSLCR	Barrera sangre-líquido cefalorraquídeo
CDK5	Cinasa dependiente de ciclina 5
COX	Ciclooxigenasa
CREB	Elemento de unión en respuesta al AMPc
CTF α	Fragmento C-terminal de la proteína precursora amiloide cortada por α -secretasa
CTF β	Fragmento C-terminal de la proteína precursora amiloide cortada por β -secretasa
CYPD	Ciclofilina D
DAG	Diacilglicerol
DM	Diabetes Mellitus
DMT1	Diabetes Mellitus del tipo 1
DMT2	Diabetes Mellitus del tipo 2
DXI	Dexibuprofeno
EA	Enfermedad de Alzheimer
EAc	Enfermedad de Alzheimer esporádica
EAF	Enfermedad de Alzheimer familiar
EDI	Enzima degradadora de insulina
GDNF	Factor neurotrófico derivado de la glía
GSK3 β	Cinasa de la sintetasa de glucógeno 3
HFD	High fat diet
IDE	Insulin degrading enzyme
iGluR	Receptor glutamatérgico ionotrópico
IL-1 β	Interleucina 1 β
IL-6	Interleucina 6
iNOS	Oxido nítrico sintetasa inducible
IRS	Sustrato del receptor de insulina
IRS2	Sustrato del receptor de insulina 2

mGluR	Receptor glutamatérgico metabotrópico
LCR	Líquido cefalorraquídeo
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LDLR	Receptor de lipoproteína de baja densidad
LIS	Líquido intersticial
LRP1	Proteína 1 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad
LTD	Depresión a largo plazo (<i>Long-term depression</i>)
LTP	Potenciación a largo plazo (<i>Long-term potentiation</i>)
MAPs	Proteínas asociadas a microtúbulos
MAPK	Cinasas activadas por mitógenos
MEM	1-amino-3,5-dimetiladamantana
NF κ B	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras κ de las células B activada
NFR1/2	Factor respiratorio nuclear 1/2
NMDAR	Receptor N-metil-D-aspartato
NEP	Neprilisina
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONF	Ovillos neurofibrilares
O β A	Oligómeros de β -amiloide
PET	Tomografía por positrón de electrones
PGC1 α	<i>Peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 α</i>
PI3K	Fosfatidilinositol 3-cinasa
PIP2	Fosfatidil inositol 3,4 difosfato
PIP3	Fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato
PKA	Proteína cinasa A
PKB	Proteína cinasa B
PPAR γ	<i>Peroxisome proliferator activated receptor gamma</i>

Acrónimos

PS	Placas seniles
<i>PSEN1</i>	Presenilina 1
<i>PSEN2</i>	Presenilina 2
PTBs	Dominios de unión a fosfotirosinas
PTP1B	Proteína fosfatasa tirosina 1B
RI	Receptor de insulina
sAPP α	α Proteína precursora amiloide soluble
sAPP β	β Proteína precursora amiloide soluble
SNC	Sistema nervioso central
SYP	Sinaptofisina
T2DM	Type 2 diabetes mellitus
TFAM	Factor a de transcripción mitocondrial
TNF α	Factor de necrosis tumoral α
US FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos
WT	Wild type