

Poster P.10.65

MITOCHONDRIAL CA²⁺ UPTAKE IN THE PATHOGENESIS OF FAMILIAL ALZHEIMER'S DISEASE

D'Orsi B.^[1], Galla L.^[1], Greotti E.^[2], Beamer E.^[3], Alves M.^[3], Engel T.^[3], Pizzo P.^[1], De Stefani D.^[1], Tullio P.^[2], Rizzuto R.^{*[1]}

^[1]Department of Biomedical Sciences, University of Padova ~ Padova ~ Italy, ^[2]Neuroscience Institute - Italian National Research Council (CNR) ~ Padova ~ Italy, ^[3]Department of Physiology & Medical Physics, Royal College of Surgeons in Ireland ~ Dublin ~ Ireland

In Alzheimer's disease (AD), the role of genetic mutations in the pathogenesis is firmly established, despite their role in determining neuronal dysfunction and death is still unknown. Mitochondrial Ca²⁺ overload has been proposed as the no-return signal triggering neuronal death, and we have demonstrated that familial AD (FAD) due to PS2 mutations favors Ca²⁺ transfer from the endoplasmic reticulum (ER) to mitochondria. Recently, the molecular nature of the mitochondrial Ca²⁺ channel was unveiled, allowing the investigation of the role of mitochondrial Ca²⁺ dysregulation by new genetic tools. Our final goal is to test the genuine contribution of mitochondrial Ca²⁺ overload to FAD pathogenesis.

To do this, we compared mRNA profiles of the neurotransmitters, cell death pathways and MCU complex (MCUC) components between wild type (WT) and PS2-N141I/APP^{swe} (PS2APP) mouse brains, during disease progression. We included PS2KO mice to test if the hypothesis of a loss-of-function phenotype associated to FAD-PS1 mutations can be extended also to FAD-PS2 mutations. PCR arrays reveal an early transcriptional impairment in PS2APP and PS2KO brains, with a non-overlapping profile between them. An early remodelling of the MCU complex was also evident, with a significant up-regulation of the MCUC enhancers. Given the transcriptional remodelling of excitatory neurotransmission, cytosolic Ca²⁺ dynamics of hippocampal slices have been studied. An altered NMDA-induced Ca²⁺ signalling is evident in 1.5-month-old PS2APP and PS2KO mice. Mitochondrial Ca²⁺ handling is currently under investigation.

As mentioned above, we found increased mRNA levels of genes involved in cell death, together with an up-regulated expression of MCU enhancers. We manipulated MCU protein levels to investigate how mitochondrial Ca²⁺ handling controls neuronal death. Since only MCU^{+/-} mice are viable and fertile with no evident phenotype, we employed primary neuronal cultures from MCU^{+/+} and MCU^{+/-} mice. The latter display a decreased mitochondrial Ca²⁺ uptake and neuronal death in response to NMDA-induced excitotoxicity. We could not detect a decreased cell death when neurons were exposed to a milder and transient NMDA stimulus. In line with this, increasing mitochondrial Ca²⁺ levels by overexpressing of MCU is per se sufficient to cause neuronal death in situ and to trigger gliosis and neuronal loss in vivo. Accordingly, MCU^{+/-} mice were more resistant to excitotoxicity in vivo, protecting neurons from kainite acid-induced injury (a model of epilepsy).

In summary, our results suggest that a substantial rearrangement of gene expression occurs early in PS2APP and PS2KO mice, especially of those involved in Ca²⁺ homeostasis and cell death regulation, with no evidence of a loss-of function phenotype associated to FAD-PS2 mutations. Furthermore, we provided important new insights into the role of MCU in neuronal excitotoxicity both in situ and in vivo.

L'accumulo mitocondriale di calcio nella patogenesi delle forme familiari della malattia di Alzheimer

L'Alzheimer è una demenza a lenta evoluzione causata dalla morte delle cellule nervose, con conseguente alterazione del comportamento, perdita della memoria, del linguaggio, che alla fine porta il paziente alla perdita dell'autonomia e morte prematura. Di solito l'Alzheimer si presenta in modo sporadico, senza apparenti cause specifiche, ma in 1 caso su 10 la malattia è determinata da difetti genetici ben precisi (familial Alzheimer's Disease, FAD). I meccanismi che innescano la morte delle cellule nervose non sono ancora noti, ma diverse ipotesi sono state fatte. Questo progetto vuole capire uno di questi meccanismi, ossia il contributo dell'accumulo mitocondriale dello ione Ca^{2+} alla morte delle cellule nervose. Grazie alla scoperta della vera identità del canale che fa entrare calcio nei mitocondri, abbiamo oggi a disposizione gli strumenti necessari per studiare come il calcio mitocondriale regola la morte neuronale. I dati raccolti fino ad ora da questo progetto evidenziano come aumentando o diminuendo la quantità di canale espresso si possa ottenere una sensibilizzazione o una protezione verso la morte cellulare sia in cellule in coltura che nel cervello di un topo adulto. Inoltre, abbiamo verificato che nei cervelli di animali modello per FAD si verificano alterazioni precoci di geni coinvolti nella neurotrasmissione e nella morte cellulare. Pertanto, sfruttando diversi modelli murini di FAD, abbiamo rilevato alterazioni molto precoci dell'omeostasi dello ione calcio. Ad oggi, abbiamo dunque raccolto dati che sottolineano come la manipolazione dei livelli di calcio nei mitocondri sia in grado di regolare la morte dei neuroni. Abbiamo anche visto che la modifica degli attori cellulari che controllano sia l'omeostasi del calcio che la morte cellulare avvengono precocemente in modelli murini di FAD. Tali alterazioni trascrizionali sono inoltre accompagnate da una variazione funzionale della capacità della cellula di regolare le concentrazioni di calcio. Questi dati supportano quindi l'idea che l'accumulo mitocondriale di calcio sia effettivamente coinvolto nei processi di neurodegenerazione, e che possa quindi rappresentare un nuovo target per lo sviluppo di potenziali nuovi farmaci.

N/A

Malattia di Alzheimer

Coordinator: Rosario Rizzuto

Partner: Tullio Pozzan

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2017

Telethon Project (nr):

GGP16029

Disease Name:

Familial Alzheimer's Disease

Keywords:

mitochondria, calcium, Alzheimer