

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Tatiana Litvina**

Role lipidových raftů v tvorbě amyloidu  $\beta$   
Role of lipid rafts in amyloid  $\beta$  formation

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Vladimír Rudajev, Ph.D.

Praha, 2024

### *Poděkování*

Ráda bych poděkovala zejména svému školiteli RNDr. Vladimír Rudajev, Ph.D za jeho nekonečnou trpělivost, soucit a poskytnuté rady.

### **Prohlášení o autorství práce:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 07.08.2024

**Abstrakt:**

Lipidové rafty hrají významnou roli v patogenezi Alzheimerovy choroby (AD), a to mimo jiné v souvislosti s tvorbou amyloidu  $\beta$  ( $A\beta$ ), což je klíčový faktor rozvoje nemoci. V práci jsou podrobně analyzovány procesy tvorby  $A\beta$  z amyloidového prekurzorového proteinu (APP) a jejich modulace prostřednictvím lipidových raftů. Lipidové rafty jsou obohaceny o specifické složky, jakými jsou cholesterol a sfingomyelin. Analýza vztahu jejich struktury k regulaci činnosti sekretáz štěpicích APP poskytuje možnosti pro terapii cílenou na snížení produkce  $A\beta$  a zpomalení progresu AD.

**Klíčová slova:**

Alzheimerova choroba, amyloid  $\beta$ , amyloid prekurzorový protein, lipidové rafty, cholesterol, sfingomyelin, neurodegenerativní onemocnění, terapie.

**Abstract:**

Lipid rafts play a significant role in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD), including in connection with the formation of amyloid  $\beta$  ( $A\beta$ ), a key factor in the development of the disease. The research analyzes in detail the processes of formation of  $A\beta$  from amyloid precursor protein (APP) and its modulation through lipid rafts. Lipid rafts are enriched with specific components such as cholesterol and sphingomyelin. Analysis of the relationship of their structure to the regulation of the activity of APP cleaving secretases provides opportunities for therapy aimed at reducing the production of  $A\beta$  and slowing the progression of AD.

**Key words:**

Alzheimer's disease, amyloid  $\beta$ , amyloid precursor protein, lipid rafts, cholesterol, sphingomyelin, neurodegenerative diseases, therapy.

## SEZNAM ZKRATEK

AD	–	Alzheimerova choroba (Alzheimer's disease)
ADAM	–	disintegrin a metaloproteinázy (A disintegrin and metalloproteinase)
AICD	–	intracelulární doména APP (APP intracellular domain)
APOE	–	apolipoprotein E
APP	–	amyloidový prekurzorový protein
A $\beta$	–	amyloid $\beta$
BACE	–	$\beta$ -sekretáza
CNS	–	centrální nervová soustava
CTF $\alpha$	–	C-terminální fragment $\alpha$
CTF $\beta$	–	C-terminální fragment $\beta$
EOAD	–	časně nastupující Alzheimerova choroba (Early-onset Alzheimer's disease)
ER	–	endoplazmatické retikulum
FAD	–	familiární Alzheimerova choroba
GA	–	Golgiho aparát
GM1	–	monosialotetrahexosylgangliosid
GPI	–	glykosylfosfatidylinositol
GSL	–	glykosfingolipidy
HIF-1	–	hypoxií indukovaný transkripční faktor-1 (Hypoxia-inducible factor 1)
HNE	–	4-hydroxynonenal
HRE	–	element reagující na hypoxii (Hypoxia-responsive element)
CHOL	–	cholesterol
KPI	–	inhibitor proteáz Kunitzova typu (Kunitz-type proteinase inhibitor)
LOAD	–	pozdě nastupující Alzheimerova choroba (Late-onset Alzheimer's disease)
LR	–	lipidové rafty
LTP	–	dlouhodobá potenciace (Long-term potentiation)
MK	–	mastné kyseliny
mRNA	–	messenger RNA

NFTs	–	neurofibrilární klubka (Neurofibrillary tangles)
NGF	–	nervový růstový faktor (Nerve growth factor)
NMDA-R	–	N-methyl-D-aspartátový receptor
PHF	–	párované helikání filamenty (Paired helical fillament)
PM	–	plazmatická membrána
PSEN1	–	presinilin 1
PSEN2	–	presinilin 2
RGN	–	reaktivní gliové sítě (Reactive glial net)
ROS	–	reaktivní formy kyslíku (Reactive oxygen species)
sAPP $\alpha$	–	rozpustný APP $\alpha$ (Soluble amyloid precursor protein $\alpha$ )
sAPP $\beta$	–	rozpustný APP $\beta$ (Soluble amyloid precursor protein $\beta$ )
SM	–	sfingomyelin

## OBSAH

Úvod.....	1
1 Alzheimerova choroba (AD).....	2
1.1 Klasifikace a rizikové faktory vzniku AD .....	2
1.2 Role A $\beta$ v patogenezi Alzheimerovy choroby .....	3
2 Amyloid $\beta$ .....	4
2.1 Kanonická tvorba A $\beta$ z APP.....	4
2.2 Oligomerizace a fibrilizace A $\beta$ .....	7
3 Lipidové rafty.....	9
4 Role komponent lipidových raftů v tvorbě A $\beta$ .....	13
4.1 Cholesterol .....	13
4.2 Sfingomyelin.....	16
5 Terapie cílená na lipidové rafty .....	17
Závěr .....	18
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	19

# Úvod

V současné době se Alzheimerova choroba stává stále více závažným problémem ve zdravotnictví, přičemž počet případů této neurodegenerativní choroby neustále roste. Od roku 1990 do roku 2019 se incidence a prevalence Alzheimerovy choroby (AD) a dalších demencí zvýšily o 147,95 % a 160,84 % (Li et al., 2022). Již v roce 1992 byla formulována amyloidová hypotéza (Hardy and Higgins., 1992) ukazující vztah mezi ukládáním amyloidu  $\beta$  ( $A\beta$ ) do plaků, což je hlavním znakem Alzheimerovy choroby, a vznikem neurofibrilárních klubek (NFTs), ztrátou buněk, poškozením cév a demencí. Výzkum cesty tvorby  $A\beta$ , mechanismu jeho agregace a způsobů, jakými moduluje vlastní neurotoxické účinky, by mohl ukázat cestu k objasnění časných stádií Alzheimerovy choroby a poskytnout klíčové informace pro umožnění včasné diagnózy a terapie (Haass & Selkoe, 2007).

Lipidové rafty (LR) jsou mikrodomény buněčných membrán a hrají klíčovou roli v zpracování a hromadění  $A\beta$  při AD. Tyto rafty jsou struktury bohaté na cholesterol (CHOL) a sfingolipidy. Díky svému odlišnému molekulárnímu složení poskytují platformu pro sestavení proteinů zapojených do tvorby  $A\beta$  a jejich další ukládání do plaků. Studie neuronální buněčné linie z myši pěstované na lipid-deficitním médiu vedla k prokázání klíčové role LR jako platformy pro enzymy  $\beta$ -sekretázu (BACE) a  $\gamma$ -sekretázu, které jsou zodpovědné za štěpení amyloidového prekurzorového proteinu (APP) vedoucím k produkci peptidů  $A\beta$  (Ehehalt et al., 2003). Navíc výzkum aktivity BACE přímo ukazuje, že změny ve složení lipidových raftů mohou ovlivnit agregaci a toxicitu  $A\beta$  (Kalvodova et al., 2005)

Cílem této práce je detailnější prozkoumání významu lipidových raftů v procesu tvorby amyloidu  $\beta$  a jejich možné role v patogenezi Alzheimerovy choroby. Práce se zaměří na analýzu struktury lipidových raftů, identifikaci klíčových lipidů a jejich vliv na tvorbu amyloidu  $\beta$ , neboť porozumění těmto mechanismům může vést k nalezení nových cílů pro léčbu Alzheimerovy choroby.

# 1 Alzheimerova choroba (AD)

## 1.1 Klasifikace a rizikové faktory vzniku AD

Alzheimerova choroba je progresivní neurodegenerativní porucha, která postupně zhoršuje kognitivní schopnosti pacienta, až nakonec způsobí jeho smrt (Cummings and Cole, 2002). Z molekulárního hlediska se projevuje dvěma charakteristickými proteiny: amyloidem  $\beta$  vytvářejícím extracelulární neuritické plaky a fosforylovaným proteinem tau, který se podílí na tvorbě intracelulárních neurofibrilárních klubek (NFTs) (Zhang et al., 2021).

Na základě rozdělení podle věku nástupu je AD rozlišena na časně nastupující před 65 lety věku (EOAD), čemuž odpovídá 1–5 % případů, a pozdě nastupující po 65 letech věku (LOAD), která představuje více než 95 % případů. Do patofyziologie EOAD jsou zapojené většinou autozomálně dominantní geny s penetrancí nad 85 % kódující APP, PSEN1 a PSEN2, které všestranně ovlivňují proces štěpení APP a budoucího ukládání A $\beta$ . Geny zapojené do LOAD zvyšují riziko onemocnění přes nemendelovskou dědičnost a ukazují dvojnásobné riziko onemocnění u příbuzných pacienta prvního stupně (Reitz and Mayeux, 2014). Jiným genetickým rizikovým faktorem je APOE- $\epsilon$ 4. Ve sledovaných 42 rodinách s pozdním nástupem AD se zvyšovalo riziko nástupu AD z 20 % na 90 % a snížil věk nástupu z 84 na 68 let se zvyšujícím se počtem alel APOE- $\epsilon$ 4 (Corder et al., 1993).

EOAD je forma obvykle závislá na genetice (familiární AD - FAD), zatímco LOAD je forma sporadická a většinou závisí na mnoha faktorech, jakými jsou věk, diabetes mellitus, cerebrovaskulární nemoci a jiné. Hlavním rizikovým faktorem nezávislým na genetice je věk. Věkově specifická prevalence AD se skoro zdvojnásobuje každých 5 let po věku 65 let (von Strauss et al., 1999). Ke kardiálním rizikům patří fibrilace síní (Ott et al., 1997). Kouření prokázalo zdvojnásobení rizika vzniku AD (Ott et al., 1998). Diabetes mellitus zhoršuje stav nejen pacientů bez genetických rizikových faktorů, ale i pacientů s APOE- $\epsilon$ 4, a to ve vyšší míře (Peila et al., 2002). Jiným rizikem je vysoký krevní tlak. U pacientů s hypertenzí byl nalezen nadměrný výskyt senilních plaků a NFT (Sparks et al., 1995). Výzkum vaskulárních rizikových faktorů a jejich vztahu ke vzniku AD ukázal výrazně zvýšené riziko AD u pacientů s třemi a více faktory, přičemž diabetes a kouření jsou nejsilnější (Luchsinger et al., 2005).



## 1.2 Role A $\beta$ v patogenezi Alzheimerovy choroby

Agregace amyloidních plaků je hlavním znakem AD vedoucím ke ztrátě paměti a kognitivních funkcí (Cummings and Cole, 2002). Kromě agregace plaků vede nadprodukce A $\beta$  k uvolnění solubilních oligomerů A $\beta$  (ADDL), které stimulují vznik reaktivních forem kyslíku (ROS) za pomoci aktivace N-methyl-D-aspartátového receptoru (NMDA-R) a NMDA-R dependentního toku vápníku. Závislost mezi koncentrací ADDL a nadprodukcí ROS byla prokázána pomocí protilátek, vázajících se na extracelulární doménu NMDA-R NR1 (De Felice et al., 2007). Nadbytek ROS vede k peroxidaci lipidů a oxidativnímu stresu, což je následováno produkcí 4-hydroxynonenalu (HNE) a zvýšenou aktivitou amyloidogenní dráhy, ale i zvýšením fluidity membrány při vyšších koncentracích HNE (50  $\mu$ M) (Subramaniam et al., 1997). U časných stadií AD bylo pozorováno masivní intracelulární hromadění A $\beta$  v endozomech, multivesikulárních tělíkách, lysozómech, mitochondriích, endoplazmatickém retikulu, trans-Golgi síti a cytosolu, což způsobuje kognitivní poruchy, fosforylaci tau proteinu, ztrátu neuronů a poruchu synapsí. Na tom se podílí nejen molekuly A $\beta$  vytvořené uvnitř buněk, ale i extracelulární oligomery A $\beta$  vnikající do buňky přes vazbu na receptory (LaFerla et al., 2007).

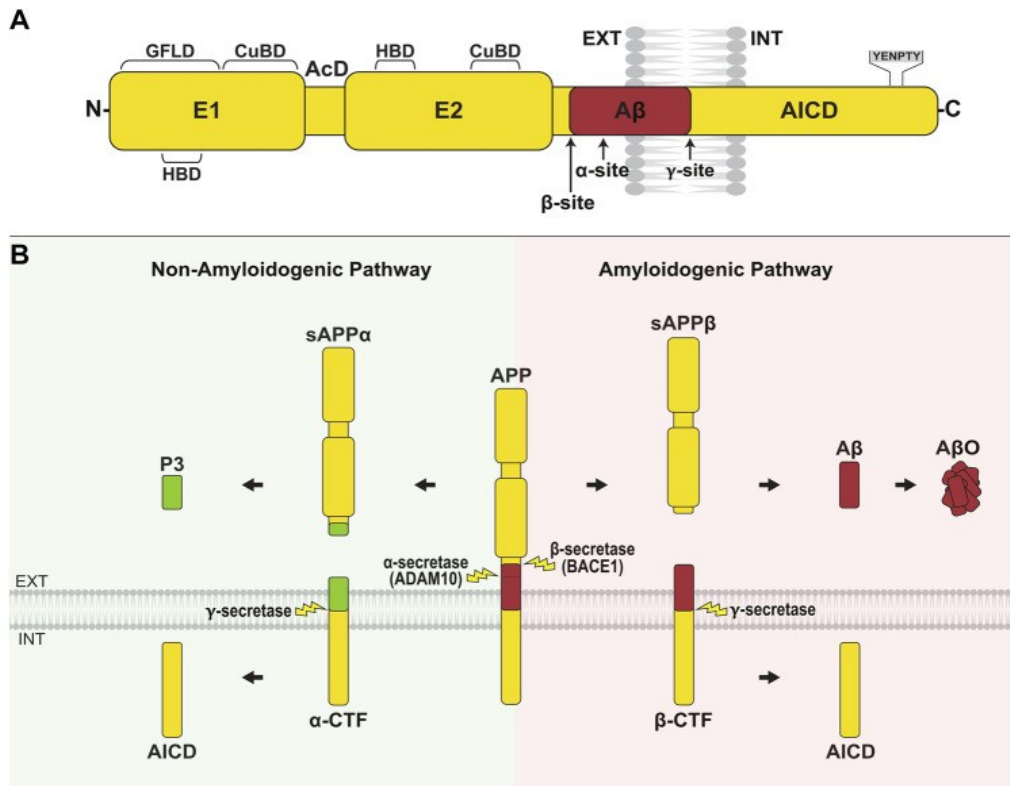
Kromě senilních plaků obsahuje mozek pacientů s AD neurofibrilární klubka (NFT) tvořená hyperfosforylovaným tau proteinem spojeným s mikrotubuly. Fosforylace tau proteinu vede ke snížení jeho afinity k mikrotubulům, které se pak stávají destabilizované, a tvorbě spárovaných helikálních filament (PHF), ze kterých pak vznikají NFT (Grundke-Iqbal et al., 1986). Studie provedená na transgenních myších odpovídajících fenotypu AD s navozenou patologií A $\beta$  a tau proteinu ukázala zrychlenou tvorbu NFT a zvýšenou fosforylaci tau proteinu v přítomnosti A $\beta$  (Hurtado et al., 2010).

S rozvojem AD a nárůstem extracelulárního ukládání amyloidních plaků dochází k častějšímu podráždění gliových buněk. Kolem amyloidních plaků vytvářejí mikrogliaální buňky a astrocyty specializované 3D struktury – reaktivní gliové sítě (RGN), oblasti koncentrovaných poškozených neuronů, tauopatie a zánětu (Bouvier et al., 2016).

## 2 Amyloid $\beta$

### 2.1 Kanonická tvorba A $\beta$ z APP

Amyloid  $\beta$  je peptid o délce 39 až 43 aminokyselin vznikající proteolytickým štěpením amyloidového prekurzorového proteinu (APP) (Obr.1). APP je transmembránový protein typu I, který za normálních fyziologických podmínek podléhá proteolytickým zpracováním dvěma kanonickými cestami: neamyloidogenní a amyloidogenní (Alraavi et al. 2022). APP existuje v několika isoformách díky alternativnímu sestřihu mRNA – APP770, APP751 a APP695, přičemž nejkratší APP695 jediný neobsahuje KPI (inhibitor proteáz Kunitzova typu) doménu a je nejvíc syntetizován v mozku (Sandbrink et al., 1996). Bylo prokázáno, že KPI doména ovlivňuje dimerizaci APP a podporuje patologickou dráhu tvorby amyloidních plaků vedoucí k AD (Byun et al., 2023). Kromě variabilní KPI domény se APP skládá z extracelulárních strukturovaných oblastí E1 a E2, které jsou vzájemně propojené kyselou doménou (AcD). E1 a E2 obsahují vazebné místo pro heparin a obě se podílí na dimerizaci APP (Lee et al., 2011). Druhou méně konzervovanou oblastí je úsek proteinu, propojující externí a transmembránovou část APP. Tento úsek je skoro nestrukturován a nese v sobě místa pro navázání  $\alpha$ - a  $\beta$ -sekretáz (Coburger et al., 2013). Flexibilně zakřivený transmembránový  $\alpha$ -helix plní dvě důležité funkce. Za prvé obsahuje místo pro štěpení  $\gamma$ -sekretázou a za druhé vazebné místo odpovídající za vazbu APP na CHOL v membránách (Barrett et al., 2012). Intracelulární C-konec nese AICD doménu, obsahující konzervovaný motiv Y<sup>682</sup>ENPTY<sup>687</sup>. Y<sup>682</sup>ENPTY<sup>687</sup> se podílí na transportu a třídění APP prostřednictvím fosforylace zbytku Tyr<sup>682</sup>. Několik studií naznačuje roli AICD při regulaci genové transkripce. S AICD byla mimo jiné spojena regulace genů pro APP,  $\beta$ -sekretázu, A $\beta$  degradující enzym neprilysin a p53 regulovanou apoptózu (Alves da Costa et al., 2006; Belyaev et al., 2009; Matrone et al., 2019) (Obr.1).



Obrázek 1: (A) Amyloidový prekurzorový protein (APP) se skládá z velké N-terminální extracelulární domény, transmembránové oblasti a krátkého cytoplasmatického konce. Extracelulární doména zahrnuje dvě kompaktní oblasti, E1 a E2, spojené kyselou doménou (AcD). E1 obsahuje doménu vázající heparin (HBD) v rámci větší domény podobné růstovému faktoru (GFLD) a doménu vázající měď/zinek (CuBD). E2 zahrnuje druhou HBD a CuBD. Oblast přiléhající k membráně obsahuje štěpná místa pro  $\alpha$ - a  $\beta$ -sekretázy, zatímco místo  $\gamma$ -štěpení se nachází v transmembránové doméně. C-terminální intracelulární doména (AICD) obsahuje sekvenci YENPTY, která váže cytozolární adaptorové proteiny. (B) Při amyloidogenním zpracování je APP štěpen  $\beta$ -sekretázou (BACE1) na N-konci  $A\beta$ , což vede k vzniku  $sAPP\beta$  a membránově vázaného  $\beta$ -CTF. Následné štěpení  $\beta$ -CTF  $\gamma$ -sekretázou uvolňuje  $A\beta$  do extracelulárního/luminálního prostoru a AICD do cytosolu.  $A\beta$  agreguje a vytvářejí oligomery. Při neamyloidogenním zpracování je APP štěpen  $\alpha$ -sekretázou (ADAM10) v oblasti  $A\beta$ , čímž vzniká  $sAPP\alpha$  a  $\alpha$ -CTF. Následné štěpení  $\alpha$ -CTF  $\gamma$ -sekretázou uvolňuje P3 do extracelulárního/luminálního prostoru a AICD do cytosolu. (převzato z Pfundstein et al., 2022).

APP je syntetizován v ER, odkud postupuje sekreční dráhou, během které pak podléhá O- a N-glykosylaci, fosforylaci a tyrozinové sulfataci. Na konci sekreční dráhy je jen malá část APP přítomná na povrchu plazmatické membrány (PM), většinou je lokalizován na Golgiho aparátu (GA). Z PM je APP internalizován a prochází endocytickou a recyklační dráhou, při které je znovu vrácen na povrch PM. Tyto cesty zdůvodňují nalezení APP nejen na povrchu PM, ale i v membránách endozomů a ER (Thinakaran and Koo, 2008).

V neamyloidogenní dráze je APP nejprve štěpen  $\alpha$ -sekretázou v místě odpovídajícímu  $A\beta$ , což zabraňuje tvorbě dlouhého  $A\beta$  a vede k uvolnění rozpustného  $APP\alpha$  (sAPP $\alpha$ ) (Furukawa et al., 1996). Aktivita  $\alpha$ -sekretázy je regulovaná ionty kovů, přičemž roli  $\alpha$ -sekretázy plní enzymy z rodiny disintegrinu a proteinů s metaloproteinázovou doménou (ADAM), a to s největší pravděpodobností ADAM 9, 10, 17 a/nebo 19 (Asai et al., 2003; Tanabe et al., 2006). Bylo prokázáno, že produkce sAPP $\alpha$  nejen vylučuje tvorbu  $A\beta$ , ale také zvyšuje synaptickou plasticitu a tvorbu paměti, což ukazuje na jeho užitečnou roli ve funkci neuronů (Furukawa et al., 1996). Po uvolnění sAPP $\alpha$  zůstává na plazmatickou membránu vázaný C-terminální fragment (CTF $\alpha$  neboli C83), který pak podléhá štěpení  $\gamma$ -sekretázou za vzniku neamyloidogenního peptidu p3 a AICD (Esch et al., 1990).

Amyloidogenní cesta začíná štěpením APP  $\beta$ -sekretázou (BACE1) na N-konci amyloidu  $\beta$ , což vede ke uvolnění  $APP\beta$ . Na plazmatické membráně zůstává vázaná doména C99 (neboli CTF $\beta$ ) (Vassar et al., 1999), která pak podléhá štěpení  $\gamma$ -sekretázou za vzniku  $A\beta$  a AICD. Regulace BACE je komplexní a je zajištěna na mnoha úrovních za pomoci transkripčních, posttranskripčních a posttranslačních mechanismů. K regulaci na úrovni genové exprese dochází při hypoxii. Lidský gen *BACE1* obsahuje ve svém promotoru element reagující na hypoxii (HRE), který je aktivován faktorem indukovaným hypoxií (HIF-1) při nedostatku kyslíku. Úroveň *BACE1* mRNA po hypoxii dosahuje  $144.8 \pm 10.42$  % relativně k normoxickému stavu (Sun et al., 2006). Posttranskripční řízení je zajištěno miRNA. U pacientů se sporadickou AD byla pozorovaná ztráta clusteru miR-29a/b-1 miRNA, což vedlo k abnormální produkci BACE1 (Hébert et al., 2008). Aktivita BACE1 roste se zvětšující se produkcí amyloidu  $\beta$  a agregací plaků (Fukumoto et al., 2002). Mimo jiné interaguje BACE1 posttranslačně s intracelulárními metabolickými dráhami, mezi které patří peroxidace lipidů za vzniku HNE. Tato dráha moduluje aktivitu a stabilitu BACE 1. Ve studii z roku 2002 byl prokázán vztah mezi zvýšenou expresí

BACE 1 a oxidativním stresem, vedoucím ke vzniku ROS a následné peroxidaci lipidů (Tamagno et al., 2002).

Obou cest se zúčastní  $\gamma$ -sekretáza, která je regulovaná mutacemi genů pro presinilin 1 (PSEN1) a presinilin 2 (PSEN2), což jsou její podjednotky (Barber, 2012). Mimo jiné je její aktivita závislá na lipidovém složení membrány, což dále ovlivňuje tloušťku, fluiditu, tvar a kompaktnost membrány (Osenkowski et al., 2008).

## 2.2 Oligomerizace a fibrilizace A $\beta$

Monomery vzniklého A $\beta$  mohou tvořit oligomerní, protofibrilární a fibrilární struktury. Na agregaci se primárně podílejí delší amyloidy s 40 nebo 42 aminokyselinovými zbytky značené A $\beta$ 40 a A $\beta$ 42, přičemž minoritní A $\beta$ 42 je více hydrofobní na C-koncové doméně a mnohem náchylnější k rapidní agregaci (Jarrett and Lansbury, 1993). Větší nebezpečnost A $\beta$ 42 podporuje i nalezení velkého množství této formy v placích pacientů s AD (Lippa et al., 1998). Během výzkumu časně oligomerizace A $\beta$  bylo zjištěno, že A $\beta$ 40 a A $\beta$ 42 mají odlišná centra oligomerizace. U A $\beta$ 42 byl důležitý postranní řetězec zbytku Ile<sup>41</sup>, hrající roli jak v tvorbě jádra, tak pro agregaci jader do větších oligomerů stejně jako postranní řetězec zbytku Ala<sup>42</sup> a jeho C-koncová karboxylová skupina. Kromě toho byl A $\beta$ 42 citlivý na substituce Phe<sup>19</sup> nebo Ala<sup>21</sup>. Naopak oligomerizace A $\beta$ 40 nebyla citlivá na substituce Phe<sup>19</sup> nebo Ala<sup>21</sup>, ale na Glu<sup>22</sup> nebo Asp<sup>23</sup> a na zkrácení N-konce (Bitan et al., 2003). Když proces fibrilizace dále nepokračuje, zůstanou zachovány vysoce neurotoxické solubilní oligomery A $\beta$  (ADDLs), které dokázaly zabíjet neurony v organotypických kulturách CNS v nanomolárním množství. ADDLs vyvolávají smrt nervových buněk fyn-dependentní cestou a také inhibují dlouhodobou potenciaci, což vede k poškození tkáně (Lambert et al., 1998)

Z oligomerů jsou dále poskládané amyloidní fibrily, které představují seskupení A $\beta$  ve formě paralelně a antiparalelně uspořádaných  $\beta$ -listů (Mori et al., 1992). Fibrilizace vyžaduje jako první krok nukleaci neboli vznik oligomerizačního jádra, jehož tvorba je pomalá kvůli vysokým entropickým nákladům (Lansbury, 1997). Formování fibril může být ovlivněno pH, teplotou, osmolalitou a jinými fyziologickými faktory. Mimo jiné je agregace fibril ovlivněna přítomností iontů kovů. Byl prokázáno, že Zn<sup>2+</sup> je specificky vázán lidským A $\beta$  za normálních fyziologických podmínek a je hlavním neurochemickým faktorem agregace amyloidu do fibril

(Bush et al., 1994). Při fyziologické acidóze zrychlují agregaci A $\beta$  také Cu<sup>2+</sup> a Fe<sup>3+</sup> (Atwood et al., 1998). Vliv mají také posttranslační modifikace, jako je fosforylace, oxidace a nitrace. Fosforylace serinu na pozici 8 (Ser<sup>8</sup>) u A $\beta$  zrušila obvyklou lag-fázi nastupující během nukleace a vyvolala mnohem rychlejší agregaci (Kumar et al., 2011).

### 3 Lipidové rafty

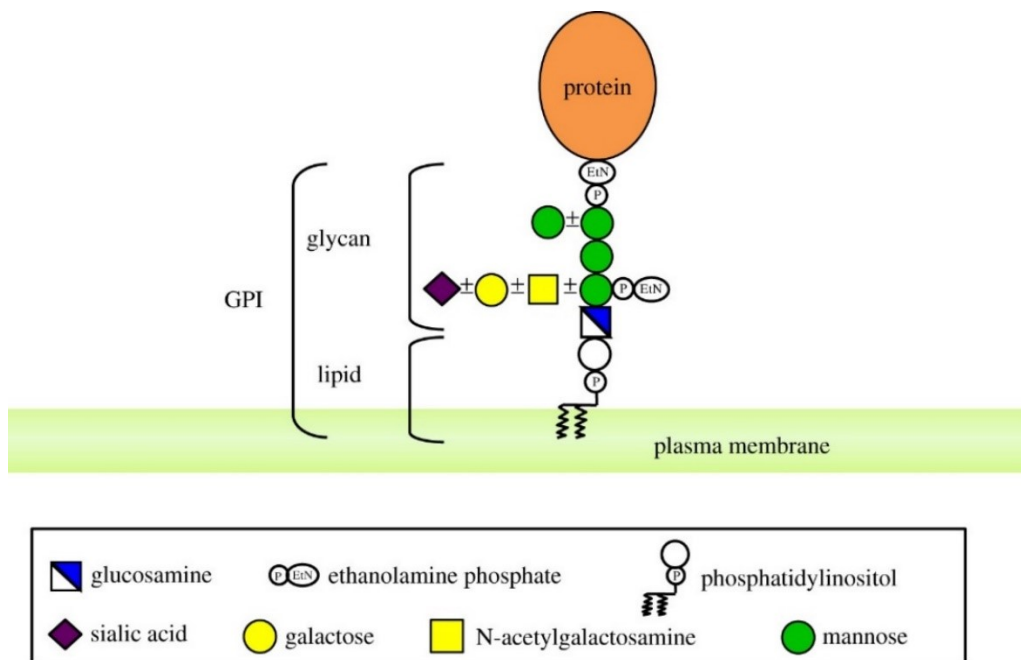
Lipidové rafty jsou specializované membránové mikrodomény obohacené o CHOL, sfingolipidy a určité proteiny, což přispívá k jejich odlišným fyzikálním a biochemickým vlastnostem ve srovnání s okolní membránou (Simons and Ikonen, 1997). Lipidové rafty vykazují vyšší uspořádanost díky větší nasycenosti uhlovodíkové kostry v raftových sfingolipidech a fosfolipidech ve srovnání s nenasycenými MK fosfolipidů v tekuté fázi membrány (Brown and London, 1998). Změny v lipidovém složení LR nastupují již na začátku neurodegenerativního procesu, a to ve frontálním a entorhinalním kortexu. Během časných stadií se objevuje snížená přítomnost sfingomyelinu (SM), CHOL a kyseliny arachidonové spolu se zvýšeným množstvím esterů sterolů a fosfolipidů. Destabilizace LR představuje změnu prostředí, která může vést k zesílení vazeb mezi APP a BACE1, iniciaci konformačních změn nově syntetizovaných A $\beta$  a produkci plaků (Fabelo et al., 2014).

Jedním z důležitých rysů lipidových raftů je jejich tloušťka, která je zvětšená kvůli delším řetězcům MK u sfingolipidů. Ukázalo se, že na tenčí membráně ER s mnohem větší pravděpodobností vzniká A $\beta$ 42, zatímco silnější PM a membrána GA podporuje štěpení směrem k A $\beta$ 40. Dalším výsledkem této studie bylo, že intracelulární produkce A $\beta$  je typická jen pro neurony (Hartmann et al., 1997).

LR jsou malé proměnlivé struktury, schopné zvětšovat vlastní stabilitu podle potřeb buňky, např. jako odpověď na podráždění receptoru a signalizaci. V závislosti na protein-lipidových nebo lipid-lipidových interakcích mohou vytvářet větší platformy, které usnadňují oddělení, lokalizaci a aktivitu signálních molekul a enzymů (Lingwood and Simons, 2010). Tento rozdíl ve struktuře je klíčový pro funkce LR, které mimo jiné zahrnují účast v procesech transportu Golgiho aparátem, endocytóze a signalizaci (Simons and Ikonen 1997).

Studie ukazují, že lipidové rafty mají nejen odlišné lipidové, ale i proteinové složení. Jedním z hlavních markerů LR jsou proteiny s GPI-kotvou (Roduit et al., 2008), která je využívána jako faktor třídění. GPI-kotva se skládá z lipidu fosfatidylinositolu, glykanového jádra a glykanových postranních řetězců (Obr.2). Lipidové řetězce fosfatidylinositolu jsou vmezeřené do vnější vrstvy membrány, zatímco ethanolamin fosfát na konci glykanu zprostředkuje vazbu s C-koncem proteinu. Díky tomu GPI-kotva umožňuje nasedání hydrofilních proteinů na

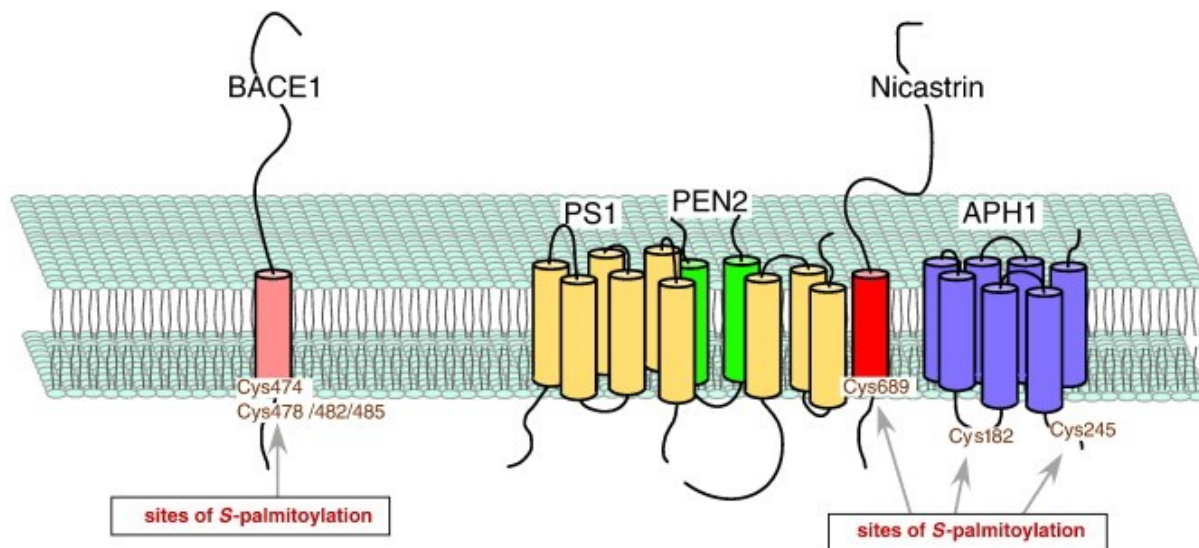
hydrofobní lipidovou membránu (Homans et al., 1988). Tyto proteiny hrají důležitou roli v signalizaci, adhezi a imunitních reakcích.



Obrázek 2: schematické zobrazení struktury proteinu s GPI-kotvou (převzato z Kinoshita 2020).

V LR byly nalezené dvojitě acylované kinázy z rodiny Src, které se účastní iniciace a propagace signálních procesů (Harder and Simons, 1997). K lipidovým markerům LR patří glykosfingolipidy, včetně gangliosidů, jako je GM1, přičemž 40 až 60 % celkové buněčné zásoby GM1 se nachází v raftových membránách (Waugh, 2013). Nejdůležitějšími enzymy v patogenezi AD jsou na rafty vázané sekretázy, které zpracovávají APP. K ukotvení na lipidové rafty podléhají BACE1 i  $\gamma$ -sekretázové podjednotky posttranslační S-palmitoylaci, která způsobuje jejich cílené třídění a navázání na raftové domény (Vetrivel et al., 2010) (Obr.3).





Obrázek 3: Signály na BACE1 a  $\gamma$ -sekretázovém komplexu (presenilin 1 – PS1, presenilin enhancer – PEN, nicastrin a anterior pharynx-defective 1 – APH-1), které umožňují palmitoylaci sloužící k zacílení proteinů do lipidových raftů. (převzato z Vetrivel and Thinakaran, 2010).

Důležitým důkazem vlivu lipidových raftů na patogenezi Alzheimerovy choroby je studie srovnávající účinnost wild type  $\beta$ -sekretázy a  $\beta$ -sekretázy s přidanou GPI-kotvou. V lidské neuroblastomové buněčné linii navedla GPI-kotva velké množství BACE1 přímo do LR, což výrazně ovlivnilo nadprodukcí sAPP $\beta$  a A $\beta$  ve srovnání s wild type buňkami. Druhým důkazem byla redukce amyloidogenní dráhy v obou typech buněk po odstranění CHOL, který odpovídá za integritu LR (Cordy et al., 2003). V případě  $\gamma$ -sekretázy se také jedná o CHOL-dependentní lokalizaci. Za pomoci imunofluorescenčního značení byla potvrzena přítomnost všech čtyř komponent  $\gamma$ -sekretázového komplexu (preseniliny, presenilin enhancer, nicastrin a APH-1 (anterior pharynx-defective 1)) spolu se SNARE proteiny a APP CTFs, a to v LR intracelulárních organel, jakými jsou Golgiho aparát a endozomy. Po úspěšné společné maturaci všech komponent prochází  $\gamma$ -sekretáza sekretorickou drahou, ale v případě nedozrání podjednotek je degradována v ER. Kromě toho  $\gamma$ -sekretáza není přítomná v raftech pocházejících z PM, které obsahují SNAP-23, ale může existovat v membránových raftech původem z GA a endozomů (Vetrivel et al., 2004). V důsledku potřeby participace  $\gamma$ -sekretázy v tvorbě A $\beta$ , musí APP po dozrání v sekretorické drazě projít internalizací z povrchu do endozomu a až odtud je pak uvolněn A $\beta$ . První část amyloidogenní cesty zajištěna  $\beta$ -sekretázou probíhá nezávisle, což prokázal experiment, ve kterém se i při absenci možnosti internalizace nadále uvolňovaly p3 fragmenty a sAPP $\beta$  (Koo and Squazzo, 1994).

Lipidové rafty jsou hojnější ve zralých hipokampálních neuronech než v jiných typech buněk. Toto zdůrazňuje jejich fyziologický význam v paměťovém centru zdravého mozku a může vysvětlit, proč jsou hipokampální neurony primárním cílem toxicity A $\beta$  oligomerů v AD (Malchiodi-Albedi et al., 2010).

## 4 Role komponent lipidových raftů v tvorbě A $\beta$

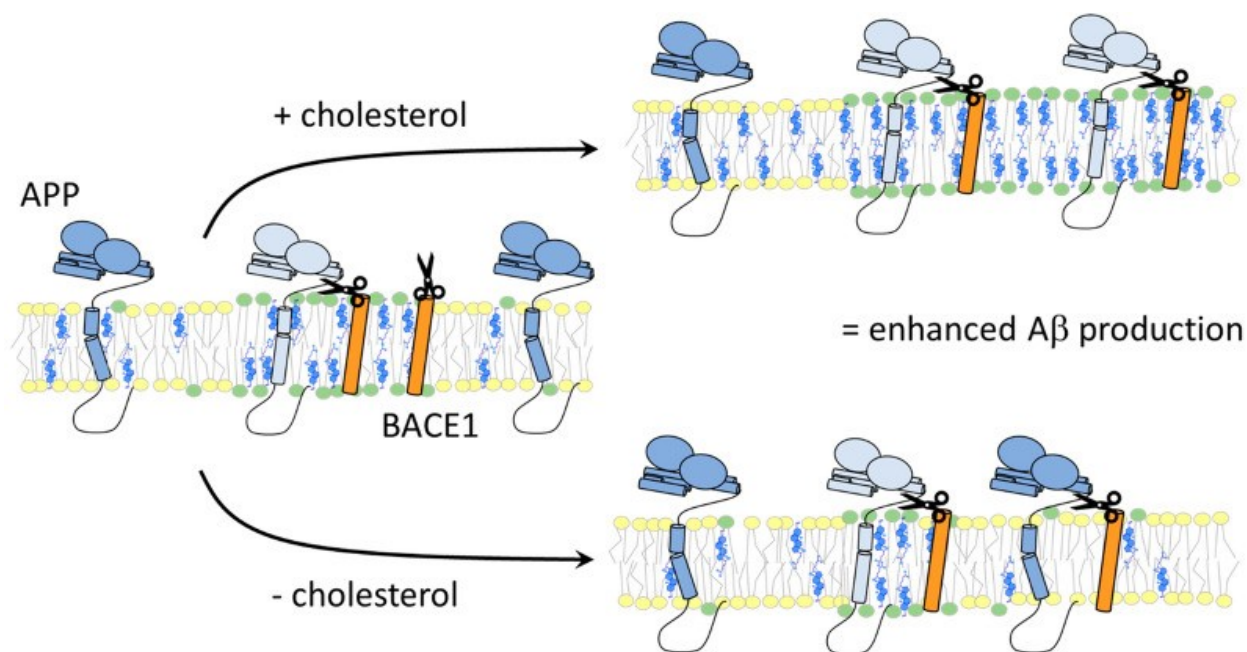
### 4.1 Cholesterol

Cholesterol je esenciální složka lipidových raftů odpovídající za jejich fluiditu, stabilitu a strukturní integritu. V membráně je organizován tak, že vyplňuje mezery mezi sfingolipidy a je přítomen v obou vrstvách membránových raftů (Simons and Ikonen, 1997). Přítomnost CHOL v LR hraje klíčovou roli v regulaci BACE1, a proto i tvorbě neurotoxického A $\beta$ . V nepřítomnosti raftového CHOL dochází k disociaci BACE1 z raftů (Obr.4), což vede k snížení produkce A $\beta$  (Riddell et al., 2001). Je prokázáno, že APP nasedá nejen na lipidové rafty, ale následné štěpení sekretázou je přímo závislé na přítomnosti CHOL a celkově LR. Mimo domény LR je APP nejčastější štěpen  $\alpha$ -sekretázou, což vede k neamyloidogenní cestě, ale na LR probíhá hlavně  $\beta$ -sekretázové štěpení za vzniku A $\beta$ , a to s větší afinitou APP k LR kvůli velké koncentraci BACE1 a  $\gamma$ -sekretázy (Ehehalt et al., 2003).

Výzkum z roku 1998 ukázal kompletní inhibici tvorby A $\beta$  při snížení vnitrobuněčné hladiny CHOL o 70 %, a to bez ovlivnění hladiny APP (Simons et al., 1998). Tuto teorii podporuje retrospektivní výzkum role CHOL v produkci A $\beta$ . Pacienti léčení léky snižujícími hladinu CHOL (simvastatin, lovastatin, pravastatin aj.) vykázali silnou a reverzibilní redukci tvorby A $\beta$ 40 a A $\beta$ 42 (Fassbender et al., 2001; Jick et al., 2000; Wolozin et al., 2000). Kromě toho byla prokázána pozitivní korelace mezi množstvím A $\beta$ 42 v mozku pacientů s AD a hladinou sérového CHOL, ApoB a LDL CHOL (Kuo et al., 1998). Existuje i výzkum přímo potvrzující vztah mezi hypercholesterolemií a časným ukládáním amyloidu u pacientů ve věku od 40 do 55 let (Pappolla et al., 2003).

Pozdější výzkum ale přinesl výsledky odporující této teorii, které ukazovaly opačný vztah mezi produkcí A $\beta$  a přítomností CHOL. U myši léčených lovastatinem se objevil nedostatek CHOL v plazmě, ale to nevedlo k očekávanému snížení, ale naopak ke zvýšení produkce A $\beta$  a senilních plaků v hipokampu a kortexu, a to jen u žen (Park et al., 2003). Nadměrná produkce A $\beta$  se objevila i u pacientů bez AD, ale majících onemocnění vedoucí k narušení metabolismu CHOL a jeho snížené přítomnosti v membránách. V jiném výzkumu vedlo snížení CHOL v buněčných membránách hipokampu o 25-30 % k nárůstu produkce CTF $\beta$  o 39 % (Obr.4). APP a BACE1 mají mnohem větší afinitu k fluidnější membráně, což je přímo ovlivněno přítomností CHOL (Abad-Rodriguez et al., 2004).

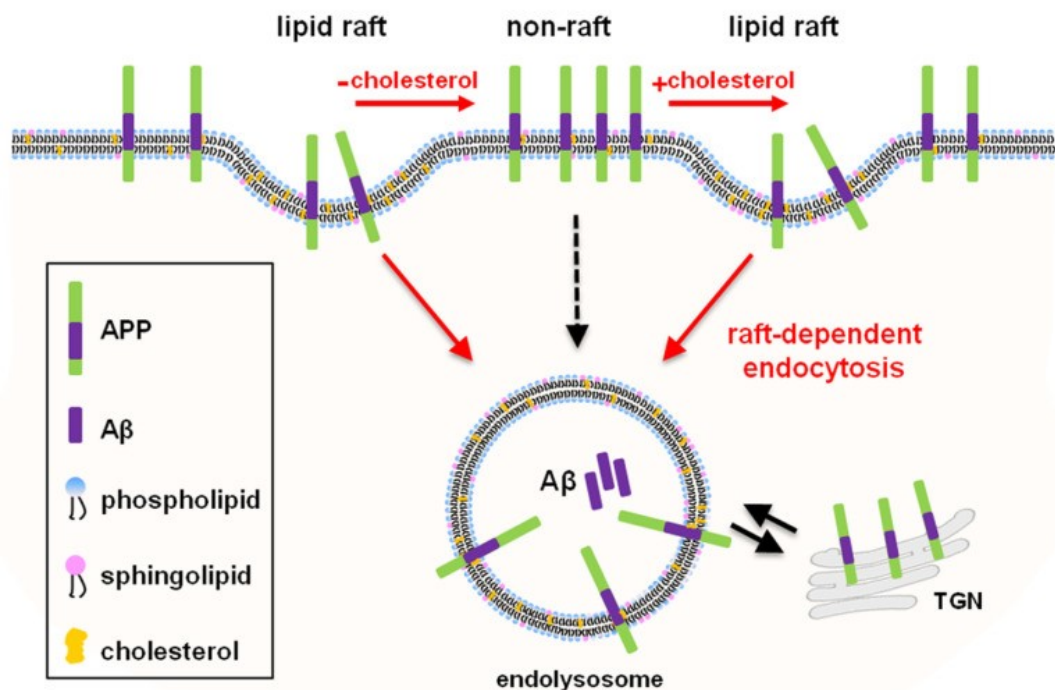
Výzkum cílený na PSEN1 podjednotku  $\gamma$ -sekretázy na modelu FAD ukázal, že buňky mají narušený metabolismus CHOL, což zvyšuje jeho intracelulární hladinu. Bylo prokázáno, že samotné snížení hladiny intracelulárního CHOL vedlo ke snížení zpracování APP na LR, přičemž snížení extracelulárního CHOL zvýšilo aktivitu amyloidogenní dráhy (Cho et al., 2019).



Obrázek 4: schematické zobrazení efektu CHOL na štěpení APP  $\beta$ -sekretázou (BACE1). Zvýšená přítomnost CHOL (modře) vede ke zvýšení asociace APP-BACE1 v raftových oblastech a produkci A $\beta$  (+ cholesterol). Snížení hladiny CHOL může také podporovat amyloidogenezi zrušením integrity LR (– cholesterol). V důsledku toho BACE1 opouští raftovou oblast a nasedá na mimoraftový APP (žlutě fosfolipidy, zeleně GM1) (převzato z Rudajev and Novotny, 2023).

Jinou cestou membránový CHOL reguluje aktivitu  $\gamma$ -sekretázy. Subcelulární transport CHOL ovlivňuje jak zpracování APP tak i lokalizaci presinilinů. Inhibice intracelulárního toku CHOL prokázala snížení  $\beta$ -sekretázové aktivity, ale přitom vedla k nárůstu  $\gamma$ -sekretázového štěpení C-terminálních domén APP, což bylo provázáno nadprodukcí dlouhých A $\beta$ 40 a A $\beta$ 42 (Runz et al., 2002). Kromě toho zvyšování hladiny CHOL vede ke zvýšení endocytózy APP, stejně jako snižování hladiny CHOL vede k snížení endocytózy APP, což umožňuje regulace

zpracování APP. Byla také prokázána závislost lokalizace APP a jeho preferována internalizace na přítomnosti LR (Cho et al., 2020) (Obr.5).



Obrázek 5: Schematické zobrazení vlivu CHOL v LR na internalizaci APP. (převzato z Cho et al., 2020).

Existuje také řada mechanismů, kterými zvýšená hladina CHOL negativně ovlivňuje patogenezi AD, což podporuje zájem o léčbu schopnou normalizovat hladinu CHOL. A $\beta$ -indukovaný stres na ER podporuje nadměrnou syntézu CHOL a jeho zacílení do membrán mitochondrií, což má za následek vyčerpání mitochondriálního glutathionu (Barbero-Camps et al., 2014). Změněný metabolismus CHOL a hypercholesterolemie výrazně přispívají k poškození neuronů a k progresi AD. Oxidativní stres podporuje přeměnu CHOL na oxysteroly, které jsou schopné překonávat hematoencefalickou bariéru, což vysvětluje vztah mezi vysokou hladinou krevního CHOL a jeho nadměrnou přítomností v mozku (Gamba et al., 2015). Narušený metabolismus CHOL vede ke zvýšeným hladinám oxysterolů s bočními řetězci aktivujícími mikroglie, které následně vylučují IL-1 $\beta$ . Aktivace mikroglie a následná neuroinflamace přispívá k rozvoji AD (Son et al., 2023). Neuronální pyroptóza ovlivňuje funkci mikroglie obohacené

CHOL, snižuje její fagocytární aktivitu a tím i schopnost degradovat extracelulární A $\beta$  (de Dios et al., 2023).

## 4.2 Sfingomyelin

Hlavním sfingolipidovým komponentem lipidových raftů je SM, který se aktivně podílí na regulaci BACE1 a produkci A $\beta$  z APP. Spolu s CHOL zvýrazňuje SM odlišnost a uspořádanost lipidových raftů vzhledem k okolní membráně. Kromě toho je metabolismus SM těsně vázán s ceramidem, působícím jako regulátor antiproliferativních procesů, jakými jsou inhibice růstu, apoptóza, diferenciací a senescence (Hannun and Obeid, 2008). Po zpracování enzymem sfingomyelinázou vznikne ze SM ceramid a fosfocholin. Inhibice syntézy SM o 50 % vedla k částečnému blokování staurosporinem zprostředkované apoptózy. Podání staurosporinu vedlo k aktivaci neutrální sfingomyelinázy, která má největší aktivitu v LR, což prokazuje důležitou roli konverze SM na ceramid v apoptóze nervových buněk (Kilkus et al., 2003).

Při využití analogu ceramidu byla prokázána jeho aktivní účast v biogenezi A $\beta$ , a to indukci  $\beta$ -sekretázového štěpění během zpracování APP. Kromě toho bylo ve stejné studii ukázáno, že ceramid posttranslačně stabilizuje BACE1, což vede k prodloužení času její aktivity (Puglielli et al., 2003).

## 5 Terapie cílená na lipidové rafty

V normální frontální kůře existují homeostatické mechanismy zachovávající stav lipidového raftu. Narušení takových mechanismů v mozcích pacientů s AD vede ke značnému zvýšení uspořádanosti a viskozity lipidového raftu, což může vysvětlit změny v signalizaci závislé na lipidových raftech pozorované při AD a ukazuje LR jako možný cíl terapie (Martín et al., 2010). Cílená terapie směřovaná na lipidové rafty může regulovat aktivitu klíčových enzymů, jako jsou  $\beta$ -sekretáza (BACE1) a  $\gamma$ -sekretáza, které jsou zodpovědné za amyloidogenní zpracování APP. Jejich aktivita je inhibovaná zároveň za pomoci farmakologických látek snižujících množství CHOL v lipidových raftech.

Jednou z terapeutických metod je nepřímé ovlivnění amyloidogenní dráhy. Buňky upravené za pomoci CHOL-extrahujících činidel ukázaly narůst fluidity membrány a internalizace APP. Přidání lovastatinu k buňkám vedlo k aktivaci ADAM 10 neboli  $\alpha$ -sekretázy. Obě tyto akce vedly k blokování amyloidogenní dráhy a silnému posunu zpracování APP ve prospěch neamyloidogenní dráhy, což zvýšilo množství neuroprotektivních produktů  $\alpha$ -sekretáz (Kojro et al., 2001). Jíným způsobem je inhibice syntézy glykosfingolipidů. To vede k následné inhibici maturace a buněčného povrchového transportu APP (Tamboli et al., 2005).

Terapie zaměřená na CHOL představuje hlavně použití statinů. Jak již bylo zmíněno, existují různé studie ukazující jak zpomalení amyloidogenního procesu, tak i zvýšení produkce  $A\beta$  při výrazném snižování hladiny CHOL. Při zohlednění současných znalostí však můžeme říci, že zvýšená hladina CHOL zhoršuje patogenezi AD. Pacienti s mírnou až středně závažnou AD s časným použitím statinů měli 0,85 rizika progresí AD oproti pacientům bez příjmu statinů (Lin et al., 2015). Kromě toho bylo v nedávné studii zjištěno, že léčení statiny zlepšilo kognitivní funkce řady pacientů s AD (Petek et al., 2023). Redukce CHOL nebo alosterická aktivace CHOL 24-hydroxylázy vede k degradaci esterů CHOL a nezávislé regulaci fosforylovaného tau proteinu a  $A\beta$  (van der Kant et al., 2019).

## Závěr

Tato práce se zaměřila na vysvětlení role lipidových raftů v patogenezi AD a související potenciální terapeutické přístupy. Lipidové rafty, které jsou významné svým odlišným složením od okolních membrán, hrají klíčovou roli v regulaci zpracování APP a následné tvorbě A $\beta$ , což je klíčovým patologickým rysem AD.

Práce poskytuje náhled na strukturu a vlastnosti lipidových raftů a jejich vztah ke zpracování APP. Studie ukázaly, že změny v lipidovém složení a organizaci lipidových raftů mohou ovlivnit aktivitu klíčových enzymů, jako jsou  $\beta$ - a  $\gamma$ -sekretáza, které jsou zodpovědné za amyloidogenní zpracování APP. Narušení metabolismu CHOL ovlivňuje tvorbu a transport A $\beta$ , což poskytuje další cíle pro terapeutické intervence. Farmakologické látky, které ovlivňují hladiny cholesterolu nebo inhibují syntézu glykosfingolipidů, mohou hrát klíčovou roli v prevenci nebo léčbě AD. Přestože jsou známé role konkrétních lipidů, dosud neexistuje jednoznačná odpověď na otázku, jakým mechanismem je regulovaná tvorba a syntéza A $\beta$ . Změny ve složení lipidových raftů mohou ovlivnit fluiditu membrány a tím i procesy endocytózy a signalizace, které jsou kritické pro regulaci tvorby A $\beta$ . Největší pozornost zasluhuje štěpení APP  $\beta$ -sekretázou, které je limitujícím faktorem v procesu syntézy A $\beta$ .



## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

\* označena review

ABAD-RODRIGUEZ, J., LEDESMA, M. D., CRAESSAERTS, K., PERGA, S., MEDINA, M., DELACOURTE, A., DINGWALL, C., DE STROOPER, B., & DOTTI, C. G. (2004). Neuronal membrane cholesterol loss enhances amyloid peptide generation. *The Journal of cell biology*, 167(5), 953–960. <https://doi.org/10.1083/jcb.200404149>

\* ALRAAWI, Z., BANERJEE, N., MOHANTY, S., & KUMAR, T. K. S. (2022). Amyloidogenesis: What Do We Know So Far?. *International journal of molecular sciences*, 23(22), 13970. <https://doi.org/10.3390/ijms232213970>

ALVES DA COSTA, C., SUNYACH, C., PARDOSSI-PIQUARD, R., SÉVALLE, J., VINCENT, B., BOYER, N., KAWARAI, T., GIRARDOT, N., ST GEORGE-HYSLOP, P., & CHECLER, F. (2006). Presenilin-dependent gamma-secretase-mediated control of p53-associated cell death in Alzheimer's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(23), 6377–6385. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0651-06.2006>

ASAI, M., HATTORI, C., SZABÓ, B., SASAGAWA, N., MARUYAMA, K., TANUMA, S., & ISHIURA, S. (2003). Putative function of ADAM9, ADAM10, and ADAM17 as APP alpha-secretase. *Biochemical and biophysical research communications*, 301(1), 231–235. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(02\)02999-6](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(02)02999-6)

ATWOOD, C. S., MOIR, R. D., HUANG, X., SCARPA, R. C., BACARRA, N. M., ROMANO, D. M., HARTSHORN, M. A., TANZI, R. E., & BUSH, A. I. (1998). Dramatic aggregation of Alzheimer abeta by Cu(II) is induced by conditions representing physiological acidosis. *The Journal of biological chemistry*, 273(21), 12817–12826. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.21.12817>

BARBER R. C. (2012). The genetics of Alzheimer's disease. *Scientifica*, 2012, 246210. <https://doi.org/10.6064/2012/246210>

BARBERO-CAMPS, E., FERNÁNDEZ, A., BAULIES, A., MARTINEZ, L., FERNÁNDEZ-CHECA, J. C., & COLELL, A. (2014). Endoplasmic reticulum stress mediates amyloid  $\beta$  neurotoxicity via mitochondrial cholesterol trafficking. *The American journal of pathology*, 184(7), 2066–2081. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.03.014>

BARRETT, P. J., SONG, Y., VAN HORN, W. D., HUSTEDT, E. J., SCHAFER, J. M., HADZISELIMOVIC, A., BEEL, A. J., & SANDERS, C. R. (2012). The amyloid precursor protein has a flexible transmembrane domain and binds cholesterol. *Science (New York, N.Y.)*, 336(6085), 1168–1171. <https://doi.org/10.1126/science.1219988>

BELYAEV, N. D., NALIVAEVA, N. N., MAKOVA, N. Z., & TURNER, A. J. (2009). Nprilysin gene expression requires binding of the amyloid precursor protein intracellular domain to its promoter: implications for Alzheimer disease. *EMBO reports*, 10(1), 94–100. <https://doi.org/10.1038/embor.2008.222>

BITAN, G., VOLLERS, S. S., & TELOW, D. B. (2003). Elucidation of primary structure elements controlling early amyloid beta-protein oligomerization. *The Journal of biological chemistry*, 278(37), 34882–34889. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300825200>

BOUVIER, D. S., JONES, E. V., QUESSEVEUR, G., DAVOLI, M. A., A FERREIRA, T., QUIRION, R., MECHAWAR, N., & MURAI, K. K. (2016). High Resolution Dissection of Reactive Glial Nets in Alzheimer's Disease. *Scientific reports*, 6, 24544. <https://doi.org/10.1038/srep24544>

BROWN, D. A., & LONDON, E. (1998). Functions of lipid rafts in biological membranes. *Annual review of cell and developmental biology*, 14, 111–136. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.14.1.111>

BUSH, A. I., PETTINGELL, W. H., MULTHAUP, G., D PARADIS, M., VONSATTEL, J. P., GUSELLA, J. F., BEYREUTHER, K., MASTERS, C. L., & TANZI, R. E. (1994). Rapid induction of Alzheimer A beta amyloid formation by zinc. *Science (New York, N.Y.)*, 265(5177), 1464–1467. <https://doi.org/10.1126/science.8073293>

BYUN, J., VELLAMPATTI, S., CHATTERJEE, P., HWANG, S. H., KIM, B. C., & LEE, J. (2023). Characterization of the role of Kunitz-type protease inhibitor domain in dimerization

of amyloid precursor protein. *Journal of computational chemistry*, 44(15), 1437–1445.  
<https://doi.org/10.1002/jcc.27100>

COBURGER, I., DAHMS, S. O., ROESER, D., GÜHRS, K. H., HORTSCHANSKY, P., & THAN, M. E. (2013). Analysis of the overall structure of the multi-domain amyloid precursor protein (APP). *PloS one*, 8(12), e81926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081926>

CORDER, E. H., SAUNDERS, A. M., STRITTMATTER, W. J., SCHMECHEL, D. E., GASKELL, P. C., SMALL, G. W., ROSES, A. D., HAINES, J. L., & PERICAK-VANCE, M. A. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science (New York, N.Y.)*, 261(5123), 921–923.  
<https://doi.org/10.1126/science.8346443>

CORDY, J. M., HUSSAIN, I., DINGWALL, C., HOOPER, N. M., & TURNER, A. J. (2003). Exclusively targeting beta-secretase to lipid rafts by GPI-anchor addition up-regulates beta-site processing of the amyloid precursor protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(20), 11735–11740.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.1635130100>

\* CUMMINGS, J. L., & COLE, G. (2002). Alzheimer disease. *JAMA*, 287(18), 2335–2338.  
<https://doi.org/10.1001/jama.287.18.2335>

DE DIOS, C., ABADIN, X., ROCA-AGUJETAS, V., JIMENEZ-MARTINEZ, M., MORALES, A., TRULLAS, R., MARI, M., & COLELL, A. (2023). Inflammasome activation under high cholesterol load triggers a protective microglial phenotype while promoting neuronal pyroptosis. *Translational neurodegeneration*, 12(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s40035-023-00343-3>

DE FELICE, F. G., VELASCO, P. T., LAMBERT, M. P., VIOLA, K., FERNANDEZ, S. J., FERREIRA, S. T., & KLEIN, W. L. (2007). Aβ oligomers induce neuronal oxidative stress through an N-methyl-D-aspartate receptor-dependent mechanism that is blocked by the Alzheimer drug memantine. *The Journal of biological chemistry*, 282(15), 11590–11601.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M607483200>

EHEHALT, R., KELLER, P., HAASS, C., THIELE, C., & SIMONS, K. (2003). Amyloidogenic processing of the Alzheimer  $\beta$ -amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J Cell Biol* 6 January 2003; 160 (1): 113–123. doi: <https://doi.org/10.1083/jcb.200207113>

ESCH, F. S., KEIM, P. S., BEATTIE, E. C., BLACHER, R. W., CULWELL, A. R., OLTERSODORF, T., MCCLURE, D., & WARD, P. J. (1990). Cleavage of amyloid beta peptide during constitutive processing of its precursor. *Science (New York, N.Y.)*, 248(4959), 1122–1124. <https://doi.org/10.1126/science.2111583>

FABELO, N., MARTÍN, V., MARÍN, R., MORENO, D., FERRER, I., & DÍAZ, M. (2014). Altered lipid composition in cortical lipid rafts occurs at early stages of sporadic Alzheimer's disease and facilitates APP/BACE1 interactions. *Neurobiology of aging*, 35(8), 1801–1812. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.02.005>

FASSBENDER, K., SIMONS, M., BERGMANN, C., STROICK, M., LUTJOHANN, D., KELLER, P., RUNZ, H., KUHL, S., BERTSCH, T., VON BERGMANN, K., HENNERICI, M., BEYREUTHER, K., & HARTMANN, T. (2001). Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease beta-amyloid peptides Abeta 42 and Abeta 40 in vitro and in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(10), 5856–5861. <https://doi.org/10.1073/pnas.081620098>

FUKUMOTO, H., CHEUNG, B. S., HYMAN, B. T., & IRIZARRY, M. C. (2002). Beta-secretase protein and activity are increased in the neocortex in Alzheimer disease. *Archives of neurology*, 59(9), 1381–1389. <https://doi.org/10.1001/archneur.59.9.1381>

FURUKAWA, K., SOPHER, B. L., RYDEL, R. E., BEGLEY, J. G., PHAM, D. G., MARTIN, G. M., FOX, M., & MATTSON, M. P. (1996). Increased activity-regulating and neuroprotective efficacy of alpha-secretase-derived secreted amyloid precursor protein conferred by a C-terminal heparin-binding domain. *Journal of neurochemistry*, 67(5), 1882–1896. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.67051882.x>

\* GAMBA, P., TESTA, G., GARGIULO, S., STAURENGHI, E., POLI, G., & LEONARDUZZI, G. (2015). Oxidized cholesterol as the driving force behind the development of Alzheimer's disease. *Frontiers in aging neuroscience*, 7, 119. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00119>

GRUNDKE-IQBAL, I., IQBAL, K., TUNG, Y. C., QUINLAN, M., WISNIEWSKI, H. M., & BINDER, L. I. (1986). Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(13), 4913–4917. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.13.4913>

\* HAASS, C., & SELKOE, D. J. (2007). Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 8(2), 101–112. <https://doi.org/10.1038/nrm2101>

\* HANNUN, Y. A., & OBEID, L. M. (2008). Principles of bioactive lipid signalling: lessons from sphingolipids. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 9(2), 139–150. <https://doi.org/10.1038/nrm2329>

\* HARDER, T., & SIMONS, K. (1997). Caveolae, DIGs, and the dynamics of sphingolipid-cholesterol microdomains. *Current opinion in cell biology*, 9(4), 534–542. [https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(97\)80030-0](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(97)80030-0)

HARDY, J.A., HIGGINS, G.A., (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 256, 184–185. <https://doi.org/10.1126/science.1566067>

HARTMANN, T., BIEGER, S. C., BRÜHL, B., TIENARI, P. J., IDA, N., ALLSOP, D., ROBERTS, G. W., MASTERS, C. L., DOTTI, C. G., UNSICKER, K., & BEYREUTHER, K. (1997). Distinct sites of intracellular production for Alzheimer's disease A beta40/42 amyloid peptides. *Nature medicine*, 3(9), 1016–1020. <https://doi.org/10.1038/nm0997-1016>

HÉBERT, S. S., HORRÉ, K., NICOLAÏ, L., PAPADOPOULOU, A. S., MANDEMAKERS, W., SILAHTAROGLU, A. N., KAUPPINEN, S., DELACOURTE, A., & DE STROOPER, B. (2008). Loss of microRNA cluster miR-29a/b-1 in sporadic Alzheimer's disease correlates with increased BACE1/beta-secretase expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(17), 6415–6420. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710263105>

HOMANS, S. W., FERGUSON, M. A., DWEK, R. A., RADEMACHER, T. W., ANAND, R., & WILLIAMS, A. F. (1988). Complete structure of the glycosyl

phosphatidylinositol membrane anchor of rat brain Thy-1 glycoprotein. *Nature*, 333(6170), 269–272. <https://doi.org/10.1038/333269a0>

HURTADO, D. E., MOLINA-PORCEL, L., IBA, M., ABOAGYE, A. K., PAUL, S. M., TROJANOWSKI, J. Q., & LEE, V. M. (2010). A  $\beta$  accelerates the spatiotemporal progression of tau pathology and augments tau amyloidosis in an Alzheimer mouse model. *The American journal of pathology*, 177(4), 1977–1988. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.100346>

CHO, Y. Y., KWON, O. H., & CHUNG, S. (2020). Preferred Endocytosis of Amyloid Precursor Protein from Cholesterol-Enriched Lipid Raft Microdomains. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(23), 5490. <https://doi.org/10.3390/molecules25235490>

CHO, Y. Y., KWON, O. H., PARK, M. K., KIM, T. W., & CHUNG, S. (2019). Elevated cellular cholesterol in Familial Alzheimer's presenilin 1 mutation is associated with lipid raft localization of  $\beta$ -amyloid precursor protein. *PloS one*, 14(1), e0210535. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210535>

\* JARRETT, J. T., & LANSBURY, P. T., JR (1993). Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie?. *Cell*, 73(6), 1055–1058. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90635-4](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90635-4)

JICK, H., ZORNBERG, G. L., JICK, S. S., SESHADRI, S., & DRACHMAN, D. A. (2000). Statins and the risk of dementia. *Lancet (London, England)*, 356(9242), 1627–1631. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(00\)03155-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)03155-x)

KALVODOVA, L., KAHYA, N., SCHWILLE, P., EHEHALT, R., VERKADE, P., DRECHSEL, D., & SIMONS, K. (2005). Lipids as modulators of proteolytic activity of BACE: involvement of cholesterol, glycosphingolipids, and anionic phospholipids in vitro. *The Journal of biological chemistry*, 280(44), 36815–36823. <https://doi.org/10.1074/jbc.M504484200>

KILKUS, J., GOSWAMI, R., TESTAI, F. D., & DAWSON, G. (2003). Ceramide in rafts (detergent-insoluble fraction) mediates cell death in neurotumor cell lines. *Journal of neuroscience research*, 72(1), 65–75. <https://doi.org/10.1002/jnr.10549>

\* KINOSHITA T. (2020). Biosynthesis and biology of mammalian GPI-anchored proteins. *Open biology*, 10(3), 190290. <https://doi.org/10.1098/rsob.190290>

KOJRO, E., GIMPL, G., LAMMICH, S., MARZ, W., & FAHRENHOLZ, F. (2001). Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on the alpha -secretase ADAM 10. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(10), 5815–5820. <https://doi.org/10.1073/pnas.081612998>

KOO, E. H., & SQUAZZO, S. L. (1994). Evidence that production and release of amyloid beta-protein involves the endocytic pathway. *The Journal of biological chemistry*, 269(26), 17386–17389. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)32449-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)32449-3)

KUMAR, S., REZAEI-GHALEH, N., TERWEL, D., THAL, D. R., RICHARD, M., HOCH, M., MC DONALD, J. M., WÜLLNER, U., GLEBOV, K., HENEKA, M. T., WALSH, D. M., ZWECKSTETTER, M., & WALTER, J. (2011). Extracellular phosphorylation of the amyloid  $\beta$ -peptide promotes formation of toxic aggregates during the pathogenesis of Alzheimer's disease. *The EMBO journal*, 30(11), 2255–2265. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.138>

KUO, Y. M., EMMERLING, M. R., BISGAIER, C. L., ESSENBURG, A. D., LAMPERT, H. C., DRUMM, D., & ROHER, A. E. (1998). Elevated low-density lipoprotein in Alzheimer's disease correlates with brain abeta 1-42 levels. *Biochemical and biophysical research communications*, 252(3), 711–715. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9652>

\* LAFERLA, F. M., GREEN, K. N., & ODDO, S. (2007). Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nature reviews. Neuroscience*, 8(7), 499–509. <https://doi.org/10.1038/nrn2168>

LAMBERT, M. P., BARLOW, A. K., CHROMY, B. A., EDWARDS, C., FREED, R., LIOSATOS, M., MORGAN, T. E., ROZOVSKY, I., TROMMER, B., VIOLA, K. L., WALSH, P., ZHANG, C., FINCH, C. E., KRAFFT, G. A., & KLEIN, W. L. (1998). Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(11), 6448–6453. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.11.6448>

\* LANSBURY P. T., JR (1997). Structural neurology: are seeds at the root of neuronal degeneration?. *Neuron*, 19(6), 1151–1154. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80406-7](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80406-7)

LEE, S., XUE, Y., HU, J., WANG, Y., LIU, X., DEMELER, B., & HA, Y. (2011). The E2 domains of APP and APLP1 share a conserved mode of dimerization. *Biochemistry*, 50(24), 5453–5464. <https://doi.org/10.1021/bi101846x>

LI, X., FENG, X., SUN, X., HOU, N., HAN, F., & LIU, Y. (2022). Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990-2019. *Frontiers in aging neuroscience*, 14, 937486. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.937486>

LIN, F. C., CHUANG, Y. S., HSIEH, H. M., LEE, T. C., CHIU, K. F., LIU, C. K., & WU, M. T. (2015). Early Statin Use and the Progression of Alzheimer Disease: A Total Population-Based Case-Control Study. *Medicine*, 94(47), e2143. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002143>

\* LINGWOOD, D., & SIMONS, K. (2010). Lipid rafts as a membrane-organizing principle. *Science (New York, N.Y.)*, 327(5961), 46–50. <https://doi.org/10.1126/science.1174621>

LIPPA, C. F., NEE, L. E., MORI, H., & ST GEORGE-HYSLOP, P. (1998). Abeta-42 deposition precedes other changes in PS-1 Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)*, 352(9134), 1117–1118. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(05\)79757-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(05)79757-9)

LUCHSINGER, J. A., REITZ, C., HONIG, L. S., TANG, M. X., SHEA, S., & MAYEUX, R. (2005). Aggregation of vascular risk factors and risk of incident Alzheimer disease. *Neurology*, 65(4), 545–551. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000172914.08967.dc>

MALCHIODI-ALBEDI, F., CONTRUSCIERE, V., RAGGI, C., FECCHI, K., RAINALDI, G., PARADISI, S., MATTEUCCI, A., SANTINI, M. T., SARGIACOMO, M., FRANK, C., GAUDIANO, M. C., & DIOCIUTI, M. (2010). Lipid raft disruption protects mature neurons against amyloid oligomer toxicity. *Biochimica et biophysica acta*, 1802(4), 406–415. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.01.007>

MARTÍN, V., FABELO, N., SANTPERE, G., PUIG, B., MARÍN, R., FERRER, I., & DÍAZ, M. (2010). Lipid alterations in lipid rafts from Alzheimer's disease human brain cortex. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 19(2), 489–502. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1242>



\* MATRONE, C., IANNUZZI, F., & ANNUNZIATO, L. (2019). The Y682ENPTY687 motif of APP: Progress and insights toward a targeted therapy for Alzheimer's disease patients. *Ageing research reviews*, 52, 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.04.003>

MORI, H., TAKIO, K., OGAWARA, M., & SELKOE, D. J. (1992). Mass spectrometry of purified amyloid beta protein in Alzheimer's disease. *The Journal of biological chemistry*, 267(24), 17082–17086. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)41896-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)41896-0)

OSSENKOWSKI, P., YE, W., WANG, R., WOLFE, M. S., & SELKOE, D. J. (2008). Direct and potent regulation of gamma-secretase by its lipid microenvironment. *The Journal of biological chemistry*, 283(33), 22529–22540. <https://doi.org/10.1074/jbc.M801925200>

OTT, A., BRETELER, M. M., DE BRUYNE, M. C., VAN HARSKAMP, F., GROBBEE, D. E., & HOFMAN, A. (1997). Atrial fibrillation and dementia in a population-based study. The Rotterdam Study. *Stroke*, 28(2), 316–321. <https://doi.org/10.1161/01.str.28.2.316>

OTT, A., SLOOTER, A. J., HOFMAN, A., VAN HARSKAMP, F., WITTEMAN, J. C., VAN BROECKHOVEN, C., VAN DUIJN, C. M., & BRETELER, M. M. (1998). Smoking and risk of dementia and Alzheimer's disease in a population-based cohort study: the Rotterdam Study. *Lancet (London, England)*, 351(9119), 1840–1843. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(97\)07541-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(97)07541-7)

PAPPOLLA, M. A., BRYANT-THOMAS, T. K., HERBERT, D., PACHECO, J., FABRA GARCIA, M., MANJON, M., GIRONES, X., HENRY, T. L., MATSUBARA, E., ZAMBON, D., WOLOZIN, B., SANO, M., CRUZ-SANCHEZ, F. F., THAL, L. J., PETANCESKA, S. S., & REFOLO, L. M. (2003). Mild hypercholesterolemia is an early risk factor for the development of Alzheimer amyloid pathology. *Neurology*, 61(2), 199–205. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000070182.02537.84>

PARK, I. H., HWANG, E. M., HONG, H. S., BOO, J. H., OH, S. S., LEE, J., JUNG, M. W., BANG, O. Y., KIM, S. U., & MOOK-JUNG, I. (2003). Lovastatin enhances Abeta production and senile plaque deposition in female Tg2576 mice. *Neurobiology of aging*, 24(5), 637–643. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(02\)00155-0](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(02)00155-0)

PEILA, R., RODRIGUEZ, B. L., LAUNER, L. J., & HONOLULU-ASIA AGING STUDY (2002). Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: The Honolulu-Asia Aging Study. *Diabetes*, 51(4), 1256–1262. <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.4.1256>

PETEK, B., HÄBEL, H., XU, H., VILLA-LOPEZ, M., KALAR, I., HOANG, M. T., MAIOLI, S., PEREIRA, J. B., MOSTAFAEI, S., WINBLAD, B., GREGORIC KRAMBERGER, M., ERIKSDOTTER, M., & GARCIA-PTACEK, S. (2023). Statins and cognitive decline in patients with Alzheimer's and mixed dementia: a longitudinal registry-based cohort study. *Alzheimer's research & therapy*, 15(1), 220. <https://doi.org/10.1186/s13195-023-01360-0>

\* PFUNDSTEIN, G., NIKONENKO, A. G., & SYTNYK, V. (2022). Amyloid precursor protein (APP) and amyloid  $\beta$  (A $\beta$ ) interact with cell adhesion molecules: Implications in Alzheimer's disease and normal physiology. *Frontiers in cell and developmental biology*, 10, 969547. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.969547>

PIKE L. J. (2006). Rafts defined: a report on the Keystone Symposium on Lipid Rafts and Cell Function. *Journal of lipid research*, 47(7), 1597–1598. <https://doi.org/10.1194/jlr.E600002-JLR200>

PUGLIELLI, L., ELLIS, B. C., SAUNDERS, A. J., & KOVACS, D. M. (2003). Ceramide stabilizes beta-site amyloid precursor protein-cleaving enzyme 1 and promotes amyloid beta-peptide biogenesis. *The Journal of biological chemistry*, 278(22), 19777–19783. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300466200> (Retraction published *J Biol Chem.* 2022 Jun;298(6):102052. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102052)

\* REITZ, C., & MAYEUX, R. (2014). Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochemical pharmacology*, 88(4), 640–651. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.12.024>

RODUIT, C., VAN DER GOOT, F. G., DE LOS RIOS, P., YERSIN, A., STEINER, P., DIETLER, G., CATSICAS, S., LAFONT, F., & KASAS, S. (2008). Elastic membrane heterogeneity of living cells revealed by stiff nanoscale membrane domains. *Biophysical journal*, 94(4), 1521–1532. <https://doi.org/10.1529/biophysj.107.112862>

\* RUDAJEV, V., & NOVOTNY, J. (2023). Cholesterol-dependent amyloid  $\beta$  production: space for multifarious interactions between amyloid precursor protein, secretases, and cholesterol. *Cell & bioscience*, 13(1), 171. <https://doi.org/10.1186/s13578-023-01127-y>

RUNZ, H., RIETDORF, J., TOMIC, I., DE BERNARD, M., BEYREUTHER, K., PEPPERKOK, R., & HARTMANN, T. (2002). Inhibition of intracellular cholesterol transport alters presenilin localization and amyloid precursor protein processing in neuronal cells. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(5), 1679–1689. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-05-01679.2002>

SANDBRINK, R., MASTERS, C. L., & BEYREUTHER, K. (1996). APP gene family. Alternative splicing generates functionally related isoforms. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 777, 281–287. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb34433.x>

\* SIMONS, K., & IKONEN, E. (1997). Functional rafts in cell membranes. *Nature*, 387(6633), 569–572. <https://doi.org/10.1038/42408>

SIMONS, M., KELLER, P., DE STROOPER, B., BEYREUTHER, K., DOTTI, C. G., & SIMONS, K. (1998). Cholesterol depletion inhibits the generation of beta-amyloid in hippocampal neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(11), 6460–6464. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.11.6460>

SON, Y., YEO, I. J., HONG, J. T., EO, S. K., LEE, D., & KIM, K. (2023). Side-Chain Immune Oxysterols Induce Neuroinflammation by Activating Microglia. *International journal of molecular sciences*, 24(20), 15288. <https://doi.org/10.3390/ijms242015288>

SPARKS, D. L., SCHEFF, S. W., LIU, H., LANDERS, T. M., COYNE, C. M., & HUNSAKER, J. C., 3RD (1995). Increased incidence of neurofibrillary tangles (NFT) in non-demented individuals with hypertension. *Journal of the neurological sciences*, 131(2), 162–169. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(95\)00105-b](https://doi.org/10.1016/0022-510x(95)00105-b)

SUBRAMANIAM, R., ROEDIGER, F., JORDAN, B., MATTSON, M. P., KELLER, J. N., WAEG, G., & BUTTERFIELD, D. A. (1997). The lipid peroxidation product, 4-hydroxy-2-trans-nonenal, alters the conformation of cortical synaptosomal membrane proteins. *Journal of neurochemistry*, 69(3), 1161–1169. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69031161.x>

SUN, X., HE, G., QING, H., ZHOU, W., DOBIE, F., CAI, F., STAUFENBIEL, M., HUANG, L. E., & SONG, W. (2006). Hypoxia facilitates Alzheimer's disease pathogenesis by up-regulating BACE1 gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(49), 18727–18732. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606298103>

TAMAGNO, E., PAROLA, M., BARDINI, P., PICCINI, A., BORGHI, R., GUGLIELMOTTO, M., SANTORO, G., DAVIT, A., DANNI, O., SMITH, M.A., PERRY, G. AND TABATON, M. (2005),  $\beta$ -Site APP cleaving enzyme up-regulation induced by 4-hydroxynonenal is mediated by stress-activated protein kinases pathways. *Journal of Neurochemistry*, 92: 628-636. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02895.x>

TAMBOLI, I. Y., PRAGER, K., BARTH, E., HENEKA, M., SANDHOFF, K., & WALTER, J. (2005). Inhibition of glycosphingolipid biosynthesis reduces secretion of the beta-amyloid precursor protein and amyloid beta-peptide. *The Journal of biological chemistry*, 280(30), 28110–28117. <https://doi.org/10.1074/jbc.M414525200>

TANABE, C., HOTODA, N., SASAGAWA, N., SEHARA-FUJISAWA, A., MARUYAMA, K., & ISHIURA, S. (2007). ADAM19 is tightly associated with constitutive Alzheimer's disease APP alpha-secretase in A172 cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 352(1), 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.10.181>

THINAKARAN, G., & KOO, E. H. (2008). Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *The Journal of biological chemistry*, 283(44), 29615–29619. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800019200>

VAN DER KANT, R., LANGNESS, V. F., HERRERA, C. M., WILLIAMS, D. A., FONG, L. K., LEESTEMAKER, Y., STEENVOORDEN, E., RYNEARSON, K. D., BROUWERS, J. F., HELMS, J. B., OVAA, H., GIERA, M., WAGNER, S. L., BANG, A. G., & GOLDSTEIN, L. S. B. (2019). Cholesterol Metabolism Is a Druggable Axis that Independently Regulates Tau and Amyloid- $\beta$  in iPSC-Derived Alzheimer's Disease Neurons. *Cell stem cell*, 24(3), 363–375.e9. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.12.013>

VASSAR, R., BENNETT, B. D., BABU-KHAN, S., KAHN, S., MENDIAZ, E. A., DENIS, P., TELOW, D. B., ROSS, S., AMARANTE, P., LOELOFF, R., LUO, Y., FISHER, S., FULLER, J., EDENSON, S., LILE, J., JAROSINSKI, M. A., BIERE, A. L., CURRAN, E.,

BURGESS, T., LOUIS, J. C., ... CITRON, M. (1999). Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science (New York, N.Y.)*, 286(5440), 735–741. <https://doi.org/10.1126/science.286.5440.735>

\* VETRIVEL, K. S., & THINAKARAN, G. (2010). Membrane rafts in Alzheimer's disease beta-amyloid production. *Biochimica et biophysica acta*, 1801(8), 860–867. <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2010.03.007>

VETRIVEL, K. S., CHENG, H., LIN, W., SAKURAI, T., LI, T., NUKINA, N., WONG, P. C., XU, H., & THINAKARAN, G. (2004). Association of gamma-secretase with lipid rafts in post-Golgi and endosome membranes. *The Journal of biological chemistry*, 279(43), 44945–44954. <https://doi.org/10.1074/jbc.M407986200>

VON STRAUSS, E., VIITANEN, M., DE RONCHI, D., WINBLAD, B., & FRATIGLIONI, L. (1999). Aging and the occurrence of dementia: findings from a population-based cohort with a large sample of nonagenarians. *Archives of neurology*, 56(5), 587–592. <https://doi.org/10.1001/archneur.56.5.587>

WAUGH M. G. (2013). Raft-like membranes from the trans-Golgi network and endosomal compartments. *Nature protocols*, 8(12), 2429–2439. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.148>

WOLOZIN, B., KELLMAN, W., RUOSSEAU, P., CELESIA, G. G., & SIEGEL, G. (2000). Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Archives of neurology*, 57(10), 1439–1443. <https://doi.org/10.1001/archneur.57.10.1439>

\* ZHANG, H., WEI, W., ZHAO, M., MA, L., JIANG, X., PEI, H., CAO, Y., & LI, H. (2021). Interaction between A $\beta$  and Tau in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *International journal of biological sciences*, 17(9), 2181–2192. <https://doi.org/10.7150/ijbs.57078>