

## Poster P.06.33

### FINDING NEW TARGETS TO COUNTERACT BRAIN PROGENITOR CELLS DYSREGULATION IN AGC1 DEFICIENCY HYPOMYELINATION: A MULTIDISCIPLINARY APPROACH.

Poeta E.<sup>[1]</sup>, Petralla S.<sup>[1]</sup>, Bentivoglia M.<sup>[1]</sup>, Virgili M.<sup>[1]</sup>, Tartagni O.<sup>[1]</sup>, Fiermonte G.<sup>[2]</sup>, Pisano I.<sup>[2]</sup>, Porcelli V.<sup>[2]</sup>, Giorgi F.<sup>[1]</sup>, Mercolini L.<sup>[1]</sup>, Pinton P.<sup>[3]</sup>, Hentschel J.<sup>[4]</sup>, Lasorsa F.M.<sup>[5]</sup>, **Monti B.\*<sup>[1]</sup>**

<sup>[1]</sup>Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Alma mater studiorum – Università degli studi di Bologna ~ Bologna ~ Italy,

<sup>[2]</sup>Dipartimento Di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica, Università degli studi di Bari “Aldo Moro” ~ Bari ~ Italy,

<sup>[3]</sup>Dipartimento di Morfologia, chirurgia e medicina sperimentale, Università degli Studi di Ferrara ~ Ferrara ~ Italy,

<sup>[4]</sup>Institut für Humangenetik, University of Leipzig ~ Leipzig ~ Germany, <sup>[5]</sup>Consiglio Nazionale delle Ricerche - CNR, Istituto di Biomembrane, Bioenergetica e Biotecnologie Molecolari (IBIOM) ~ Bari ~ Italy

AGC1 deficiency (EIEE39, OMIM 612949) is a rare genetic disease leading to a severe encephalopathy in early childhood, caused by mutations in SLC25A12 gene encoding the mitochondrial aspartate/glutamate carrier isoform 1 (AGC1). Patients show arrested psychomotor development, seizures, cerebral atrophy and global hypomyelination, with a marked reduction in N-Acetyl-Aspartate (NAA), a crucial metabolite for myelin formation (Wibom et al, 2009; Falk et al, 2014). No cure is currently available. Ketogenic diet improves psychomotor symptoms and restore myelination (Dahlin et al, 2015), but mechanisms are still unclear. We have previously demonstrated an essential role of AGC1 in regulating the proliferation of neuron- (NPCs; Profilo et al, 2017) and oligodendrocyte-precursor cells (OPCs; Petralla et al, 2019), as well as in sustaining NAA synthesis, potentially explaining patients' clinical symptoms. In OPCs, AGC1 downregulation reduces proliferation through the dysregulation of trophic factors pathways, transcription factors, histone acetylation and HDACs expression, all involved in OPCs proliferation/differentiation (Palazuelos et al, 2015; Liu et al, 2016), without apparent changes in mitochondrial energetic activity (Petralla et al, 2019). A dysregulation in metabolites, such as acetyl-coA and  $\beta$ -oh-butyrate, whose level are regulated by AGC1 activity, are known to modulate HDACs activity, histone acetylation and therefore transcription (Menzies et al, 2016), suggesting a role of acetyl group precursors in limiting AGC1 deficiency pathogenesis. Therefore, the main aim of this proposal is to identify, in new and more appropriate in vitro models of the disease, the molecular, epigenetic and biochemical mechanisms that alter the myelination/remyelination process. We will focus on NPCs and OPCs involved in this process, by using: 1) control and siAGC1 neuronal and OPCs cell lines; 2) neurospheres, NPCs and OPCs from control and AGC1+/- mice sub-ventricular zone; 3) human iPSCs-derived NPCs and OPCs from healthy individuals and AGC1 deficiency patients. In these models, we will investigate, through molecular and computational biology, transcriptional and epigenetic targets potentially influencing myelination, as well as the altered cytosolic and mitochondrial pathways, through biochemistry and metabolomic approach. Finally, we will demonstrate the validity of identified targets through in vitro proof of concept experiments. This multidisciplinary approach will help to identify the altered mechanisms leading to dysregulation of myelination in AGC1 deficiency, thus indicating the potential targets to counteract AGC1 deficiency hypomyelination and eventually develop more appropriate and personalized therapies for patients. Furthermore, considering that AGC1 deficiency shares many clinical features with other rare neurological diseases, including hypomyelination, these targets could be also tested in other similar pathologies.

Alla ricerca di nuovi bersagli terapeutici per contrastare l'ipomielinizzazione nell'AGC1-deficiency: uno studio multidisciplinare sui precursori delle cellule cerebrali.

L'AGC1 deficiency (EIEE39, OMIM 612949) è una malattia genetica rara che determina una grave

encefalopatia nella prima infanzia: è causata da mutazioni nel gene SLC25A12 che codifica per l'isoforma 1 del trasportatore mitocondriale di aspartato/glutammato (AGC1). I pazienti presentano ritardo psicomotorio, epilessia, atrofia cerebrale e diffusa ipomielinizzazione nel cervello, con marcata riduzione dell'N-acetil-aspartato (NAA), un metabolita cruciale per la formazione della mielina. Nessuna cura è attualmente disponibile. La dieta chetogenica migliora i sintomi psicomotori e permette un recupero della mielinizzazione (Dahlin et al, 2015), ma i meccanismi con cui agisce non sono ancora chiari. La mielinizzazione è un processo che coinvolge sia i neuroni che gli oligodendrociti, che li avvolgono e che si differenziano a partire da precursori in proliferazione. In precedenza, il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato un ruolo essenziale di AGC1 nella regolazione della proliferazione sia dei precursori dei neuroni (NPC; Profilo et al, 2017) che degli oligodendrociti (OPC; Petralla et al, 2019), nonché nella sintesi di NAA, contribuendo a spiegare i sintomi clinici dei pazienti. Nelle OPC, il deficit di AGC1 riduce la proliferazione attraverso la disregolazione di fattori trofici dovuta all'alterazione di fattori di trascrizione e dell'acetilazione degli istoni, meccanismi coinvolti nella proliferazione/differenziamento delle OPC stesse (Palazuelos et al, 2015; Liu et al, 2016), senza apparenti alterazioni dell'attività energetica mitocondriale (Petralla et al, 2019). Poiché è noto che metaboliti regolati dall'AGC1 modulano l'acetilazione degli istoni e quindi la trascrizione di geni (Menziés et al, 2016), ciò suggerisce un legame tra metabolismo mitocondriale e acetilazione degli istoni nella disregolazione della proliferazione dei precursori di cellule cerebrali nell'AGC1-deficiency. Pertanto, l'obiettivo principale del progetto è identificare i meccanismi molecolari, epigenetici e biochimici che alterano il processo di mielinizzazione/rimielinizzazione. Ci concentreremo sia sui precursori neuronali che degli oligodendrociti, utilizzando diversi modelli in vitro e un approccio multidisciplinare che spazia dalla biologia molecolare e computazionale alla biochimica e metabolomica: ciò aiuterà a identificare i meccanismi alterati che portano alla disregolazione della mielinizzazione nell'AGC1 deficiency, indicando così potenziali target per contrastare l'ipomielinizzazione e sviluppare terapie più appropriate e personalizzate per i pazienti. Inoltre, poiché l'AGC1 deficiency ha caratteristiche cliniche simili ad altre rare malattie neurologiche, tra cui la carenza di mielina, questi target potrebbero essere testati anche in altre patologie.

Dahlin M, Martin DA, Hedlund Z, Jonsson M, von Döbeln U, Wedell A. (2015) The ketogenic diet compensates for AGC1 deficiency and improves myelination. *Epilepsia*. 56(11):e176-81. doi: 10.1111/epi.13193.

Falk MJ, Li D, Gai X, McCormick E, Place E, Lasorsa FM, Otieno FG, Hou C, Kim CE, Abdel-Magid N, Vazquez L, Mentch FD, Chiavacci R, Liang J, Liu X, Jiang H, Giannuzzi G, Marsh ED, Yiran G, Tian L, Palmieri F, Hakonarson H. (2014) AGC1 Deficiency Causes Infantile Epilepsy, Abnormal Myelination, and Reduced NAcetylaspartate. *JIMD Rep*. 14:77-85. doi: 10.1007/8904\_2013\_287.

Liu J, Moyon S, Hernandez M, Casaccia P. (2016) Epigenetic control of oligodendrocyte development: adding new players to old keepers. *Curr Opin Neurobiol*. 39:133-8. doi: 10.1016/j.conb.2016.06.002.

Menziés KJ, Zhang H, Katsyuba E, Auwerx J. (2016) Protein acetylation in metabolism - metabolites and cofactors. *Nat Rev Endocrinol*. 12(1):43-60. doi: 10.1038/nrendo.2015.181.

Palazuelos J, Klingener M, Aguirre A. (2014) TGF $\beta$  signaling regulates the timing of CNS myelination by modulating oligodendrocyte progenitor cell cycle exit through SMAD3/4/FoxO1/Sp1. *J Neurosci*. 34(23):7917-30. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0363-14.2014.

Petralla S\*, Peña-Altamira LE\*, Poeta E, Massenzio F, Virgili M, Barile SN, Sbrano L, Profilo E, Corricelli M, Danese A, Giorgi C, Ostan R, Capri M, Pinton P, Palmieri F, Lasorsa FM#, Monti B#.

(2019) Deficiency of mitochondrial Aspartate/glutamate Carrier 1 leads to Oligodendrocyte Precursor cell proliferation defects both in vitro and in vivo. IJMS September 2019. doi: 10.3390/ijms20184486.

Profilo, E., Peña-Altamira, L. E., Corricelli, M., Castegna, A., Danese, A., Agrimi, G., Petralla, S., Giannuzzi, G., Porcelli, V., Sbanò, L., Viscomi, C., Massenzio, F., Palmieri, E. M., Giorgi, C., Fiermonte, G., Virgili, M., Palmieri, L., Zeviani, M., Pinton, P., Monti, B., Palmieri, F., & Lasorsa, F. M. (2017). Down-regulation of the mitochondrial aspartate-glutamate carrier isoform 1 AGC1 inhibits proliferation and N-acetylaspartate synthesis in Neuro2A cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1863(6), 1422-1435. doi: 10.1016/j.bbadis.2017.02.022.

Wibom R, Lasorsa FM, Töhönen V, Barbaro M, Sterky FH, Kucinski T, Naess K, Jonsson M, Pierri CL, Palmieri F, Wedell A. (2009) AGC1 deficiency associated with global cerebral hypomyelination. *N Engl J Med.* 361(5):489-95. doi: 10.1056/NEJMoa0900591

Deficit di AGC1

Coordinator: Barbara Monti

Partner: Francesco Massimo Lasorsa

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2019

**Telethon Project (nr):**

GGP19067

**Disease Name:**

AGC1 Deficiency

**Keywords:**

Hypomyelination, Global Cerebral Psychomotor Disorders, Mitochondrial Diseases