

Poster P.24.149

NEW PHARMACOLOGICAL TARGETS AND STRATEGIES IN AGEL AMYLOIDOSIS

Diomede L.^[1], Giorgino T.^[2], Mastrangelo E.^[2], Barbiroli A.^[3], Milani M.^[2], De Rosa M.*^[2]

^[1]Department of Molecular Biochemistry and Pharmacology, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS ~ Milano ~ Italy, ^[2]Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche ~ Milano ~ Italy, ^[3]DeFens, Università degli studi di Milano ~ Milano ~ Italy

Agel amyloidosis is a rare degenerative disease caused by the pathological deposition of mutated gelsolin. Its systemic variants, identified in the '70s, have been thoroughly characterized (reviewed in [1]) but six novel pathological mutants have been described in the last five years [2-7]. The disease mechanism promoted by these forms has been only partially characterized [8,9]. Moreover, no pharmacological therapy is available for any form of AGel. The amyloidogenic pathway underlying the better described variants is a multistep process, characterized by protein conformational changes and aberrant proteolytic events. We recently started to explore different strategies to block or at least slow down gelsolin aggregation and identified molecular species that can be targeted by small molecules:

i) gelsolin undergoes large conformational changes, necessary for its physiological activity. We demonstrated that only the open/active form is susceptible to aberrant proteolysis. Therefore, molecules able to lock the protein in the closed conformation have the potential to inhibit the amyloidogenic process. The molecules we tested so far are analogues of inositol tetrakisphosphate, we are planning to screen for molecules which maintain this inhibitory capacity but that lack other biological activities.

ii) all the mutations so far characterized lead to a destabilization of the second domain of the protein, increase its conformational flexibility and its susceptibility to proteolysis. We described the mechanism of action of a, previously developed, nanobody [10]. Such nanobody stabilizes the fold of the mutated domain to WT-like levels, preventing its degradation. This kind of molecules are known as chemical chaperones and have been already successfully developed for other amyloidoses. Based on the structure of the gelsolin-nanobody complex we are designing peptides able to chaperone the mutated protein.

iii) Once the amyloidogenic fragments are produced by the two proteolytic events, they readily aggregate. We already shown that well known anti-aggregation compounds, such as tetracyclines, counter gelsolin proteotoxicity in a *C. elegans*-based assay. We plan to better characterize the mechanism of action of these compounds and screen for more potent inhibitors of gelsolin aggregation.

Nuove strategie e bersagli farmacologici contro l'amiloidosi da gelsolina.

Le proteine sono lunghi polimeri lineari che si ripiegano ad assumere una determinata struttura tridimensionale. Quando la struttura non è corretta le proteine possono essere tossiche e dare origine a patologie note come malattie da conformazione. Le amiloidosi appartengono a questa ampia classe di disturbi e sono caratterizzate da depositi di aggregati proteici fibrosi in varie parti dell'organismo. L'amiloidosi da gelsolina, in particolare, è una malattia genetica rara, causata da mutazioni nel gene della gelsolina. Benché nota dagli anni 70, 6 nuove forme della malattia sono state descritte negli ultimi 5 anni. I meccanismi molecolari alla base di queste forme sono stati solo parzialmente descritti. Le forme della malattia note da più tempo, che sono anche le più frequenti, sono state invece abbondantemente caratterizzate e gli eventi molecolari che portano all'aggregazione della proteina sono noti: la proteina, inizialmente nella sua forma completa e strutturata, subisce cambi

conformazionali e degradazioni che portano alla formazione di corti frammenti della stessa che aggregano e si depositano in vari organi. Ultimamente, ci siamo interrogati su quali di questi eventi potessero essere bersaglio di nuove potenziali terapie farmacologiche. Siamo riusciti a dimostrare che tre diversi eventi del meccanismo patologico possono essere utilizzati come bersaglio: i) l'attivazione fisiologica della proteina che coincide con un importante cambio conformazionale. ii) La stabilizzazione della porzione mutata della proteina, che previene la sua degradazione. iii) L'utilizzo di composti che prevengono l'aggregazione dei frammenti di gelsolina. Benché queste strategie siano discretamente validate i composti utilizzati in queste prime prove non possono essere utilizzati come farmaci. Sono infatti molecole con altre attività biologiche, il cui utilizzo provocherebbe gravi effetti collaterali. E' quindi ora necessario identificare e caratterizzare nuove molecole che mantengano le proprietà di quelle già testate ma con maggiore specificità per il nostro bersaglio. A questo scopo, impieghiamo tecniche che permettono la visualizzazione delle proteine ad un livello di dettaglio "atomico". Inoltre integriamo i dati strutturali con altri dati, prodotti da esperimenti al computer (in silico), in provetta (in vitro) o utilizzando un piccolo invertebrato, il *C. elegans*, come organismo modello (in vivo).

- [1] Solomon JP, Page LJ, Balch WE, Kelly JW. Gelsolin amyloidosis: genetics, biochemistry, pathology and possible strategies for therapeutic intervention. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2012;47: 282–296.
- [2] Sethi S, Theis JD, Quint P, Maierhofer W, Kurtin PJ, Dogan A, et al. Renal amyloidosis associated with a novel sequence variant of gelsolin. *Am J Kidney Dis.* 2013;61: 161–166.
- [3] Efebera YA, Sturm A, Baack EC, Hofmeister CC, Satoskar A, Nadasdy T, et al. Novel gelsolin variant as the cause of nephrotic syndrome and renal amyloidosis in a large kindred. *Amyloid.* 2014;21: 110–112.
- [4] Feng X, Zhu H, Zhao T, Hou Y, Liu J. A new heterozygous G duplicate in exon1 (c.100dupG) of gelsolin gene causes Finnish gelsolin amyloidosis in a Chinese family. *Brain Behav.* 2018;8: e01151.
- [5] Sridharan M, Highsmith WE, Kurtin PJ, Zimmermann MT, Theis JD, Dasari S, et al. A Patient With Hereditary ATTR and a Novel AGel p.Ala578Pro Amyloidosis. *Mayo Clin Proc.* 2018;93: 1678–1682.
- [6] Oregel KZ, Shouse GP, Oster C, Martinez F, Wang J, Rosenzweig M, et al. Atypical Presentation of Gelsolin Amyloidosis in a Man of African Descent with a Novel Mutation in the Gelsolin Gene. *Am J Case Rep.* 2018;19: 374–381.
- [7] Gavinda S, Anthony B, Michael D, Cerys E, Alison H, Kevin T. 276 A new face for an old foe? *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2018;89: A40.3–A40.
- [8] Boni F, Milani M, Porcari R, Barbiroli A, Ricagno S, de Rosa M. Molecular basis of a novel renal amyloidosis due to N184K gelsolin variant. *Sci Rep.* 2016;6: 33463.
- [9] Boni F, Milani M, Barbiroli A, Diomede L, Mastrangelo E, de Rosa M. Gelsolin pathogenic Gly167Arg mutation promotes domain-swap dimerization of the protein. *Hum Mol Genet.* 2018;27: 53–65.
- [10] Giorgino T, Mattioni D, Hassan A, Milani M, Mastrangelo E, Barbiroli A, et al. Nanobody interaction unveils structure, dynamics and proteotoxicity of the Finnish-type amyloidogenic gelsolin variant. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2019;1865: 648–660.

Amiloidosi da Gelsolina

Coordinator: Matteo de Rosa

Duration (N. Years): 1 (exploratory project)

Starting year: 2016

Telethon Project (nr):

GEP15070

Disease Name:

Agel Amyloidosis

Keywords:

amyloidosis, protein, drug discovery