

Poster P.25.153

CROSSTALK BETWEEN OXIDATIVE STRESS AND INFLAMMATION IN THE PATHOGENESIS OF CEREBRAL CAVERNOUS MALFORMATION (CCM) DISEASE: FROM THE IDENTIFICATION OF BASIC MECHANISMS TO THE DEVELOPMENT OF THERAPEUTIC STRATEGIES

Perrelli A.^[1], Fornelli C.^[1], Goitre L.^[1], Antognelli C.^[4], Marchi S.^[2], Finetti F.^[3], Pinton P.^[2], Trabalzini L.^[3], Saverio Francesco R.*^[1]

^[1]University of Torino ~ Torino ~ Italy, ^[2]University of Ferrara ~ Ferrara ~ Italy, ^[3]University of Siena ~ Siena ~ Italy, ^[4]University of Perugia ~ Perugia ~ Italy

Cerebral Cavernous Malformation (CCM) is a major cerebrovascular disease affecting 0.3-0.5% of the human population. It is characterized by the formation of single or multiple (up to hundreds) clusters of abnormally dilated and leaky capillaries, which occur mainly in the central nervous system and may result in severe clinical symptoms at any age, including recurrent headaches, focal neurological deficits, seizures and intracerebral hemorrhage (ICH). It is a disease of proven genetic origin, which may arise sporadically or as autosomal dominant inherited condition with incomplete penetrance and highly variable expressivity. Three disease genes, namely CCM1/KRIT1, CCM2 and CCM3, have been identified and proven to be implicated in the regulation of major cellular structures and mechanisms, including cell-cell and cell-matrix adhesion and actin cytoskeleton dynamics, suggesting that they may act as pleiotropic regulators of cellular homeostasis. Indeed, our original discoveries in cellular and animal models have demonstrated that the emerging pleiotropic functions of CCM proteins are mainly due to their ability to modulate redox-sensitive pathways and mechanisms involved in adaptive responses to oxidative stress and inflammation, thus contributing to the preservation of cellular homeostasis and stress defenses. In particular, whereas there is now clear evidence that mutations of CCM genes are not sufficient to cause CCM disease, we have originally demonstrated that they affect major molecular mechanisms involved in cellular redox homeostasis and defense against oxidative stress and inflammation, including redox signaling, autophagy and antioxidant defenses. Consistently, our genetic studies in large CCM patient cohorts have suggested that interindividual differences in CCM disease severity can be attributable to genetic susceptibility factors related to differences in sensitivity to oxidative stress and inflammation. Overall, our findings point to a novel pathogenic mechanism whereby CCM lesions may result from an impaired endothelial cell defense against local oxidative stress and inflammatory events, thus opening novel preventive and therapeutic perspectives.

IDENTIFICAZIONE DEL RUOLO CRUCIALE DELLO STRESS OSSIDATIVO E DELL'INFIAMMAZIONE NELLA PATOGENESI DELLE MALFORMAZIONI CAVERNOSE CEREBRALI: DALLA SCOPERTA DEI MECCANISMI MOLECOLARI ALLO SVILUPPO DI NUOVE STRATEGIE TERAPEUTICHE

La Malformazione Cavernosa Cerebrale (CCM) è una grave malattia cerebrovascolare che colpisce lo 0,3-0,5% della popolazione umana. È caratterizzata dalla formazione di capillari sanguigni anormalmente dilatati e fragili, che si riscontrano principalmente nel sistema nervoso centrale attraverso analisi di risonanza magnetica e possono provocare gravi sintomi clinici a qualsiasi età, tra cui mal di testa ricorrenti, deficit neurologici focali, attacchi epilettici ed emorragia intracerebrale. È una malattia di provata origine genetica, che può insorgere sporadicamente o come condizione ereditaria autosomica dominante con penetranza incompleta ed espressività altamente variabile. Sono stati identificati tre geni-malattia, CCM1/KRIT1, CCM2 e CCM3, che sono stati dimostrati essere

implicati nella regolazione di importanti strutture e meccanismi cellulari, tra cui l'adesione cellula-cellula e cellula-matrice e l'organizzazione del citoscheletro di actina, suggerendo un potenziale coinvolgimento nella regolazione dell'omeostasi cellulare. In effetti, le nostre scoperte originali in modelli cellulari e animali hanno dimostrato che le emergenti molteplici funzioni dei geni CCM sono principalmente dovute alla loro capacità di modulare importanti meccanismi molecolari implicati nel mantenimento dell'omeostasi ossidoriduttiva (redox) cellulare e nelle risposte cellulari allo stress ossidativo e all'infiammazione. In particolare, mentre da una parte è ormai emerso chiaramente che le mutazioni dei geni CCM non sono sufficienti a causare la malattia, i risultati sperimentali da noi ottenuti nell'ambito del nostro progetto Telethon hanno dimostrato che le proteine codificate da questi geni sono coinvolte nella regolazione di importanti meccanismi molecolari deputati alle difese cellulari contro lo stress ossidativo e l'infiammazione, tra cui l'autofagia e i meccanismi di difesa antiossidante e anti-infiammatoria delle cellule. Coerentemente, i nostri studi genetici in grandi coorti di pazienti affetti dalla forma familiare della malattia CCM hanno suggerito che le differenze interindividuali nella gravità di questa malattia possono essere attribuibili a fattori di suscettibilità genetica correlati a differenze interindividuali di sensibilità allo stress ossidativo e all'infiammazione. Nel complesso, i risultati da noi ottenuti hanno evidenziato nuovi meccanismi patogenetici in base ai quali lo sviluppo di lesioni CCM e le loro manifestazioni sintomatiche possono derivare da una compromissione più o meno accentuata delle difese delle cellule endoteliali contro eventi di stress ossidativo e infiammatori causata da mutazioni dei geni CCM, schiudendo così nuove prospettive per la prevenzione e il trattamento di questa malattia genetica.

1. Cianfruglia L, Perrelli A, Fornelli C, Magini A, Gorbi S, Salzano AM, Antognelli C, Retta F, Benedetti V, Cassoni P, Emiliani C, Principato G, Scaloni A, Armeni T, Retta SF*. (2019). KRIT1 Loss-Of-Function Associated with Cerebral Cavernous Malformation Disease Leads to Enhanced S-Glutathionylation of Distinct Structural and Regulatory Proteins. *Antioxidants (Basel)*. 2019 Jan 17;8(1). pii: E27.
2. De Luca E, Pedone D, Moglianetti M, Pulcini D, Perrelli A, Retta SF* & Pompa PP* (2018). Multifunctional Platinum@BSA-Rapamycin Nanocarriers for the Combinatorial Therapy of Cerebral Cavernous Malformation. *ACS Omega*, 2018 Nov 30;3(11):15389-15398.
3. Perrelli A, Goitre L, Salzano AM, Moglia A, Scaloni A, and Retta SF*. (2018). Biological Activities, Health Benefits, and Therapeutic Properties of Avenanthramides: From Skin Protection to Prevention and Treatment of Cerebrovascular Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018, 6015351.
4. Antognelli C, Trapani E, Delle Monache S, Perrelli A, Daga M, Pizzimenti S, Barrera G, Cassoni P, Angelucci A, Trabalzini L, Talesa VN, Goitre L, Retta SF*. (2018). KRIT1 loss-of-function induces a chronic Nrf2-mediated adaptive homeostasis that sensitizes cells to oxidative stress: Implication for Cerebral Cavernous Malformation disease. *Free Radic Biol Med*. 2018 Feb 1; 115:202-218. Epub 2017 Nov 21.
5. Antognelli C, Trapani E, Delle Monache S, Perrelli A, Fornelli C, Retta F, Cassoni P, Talesa VN, Retta SF*. (2017). Data in support of sustained upregulation of adaptive redox homeostasis mechanisms caused by KRIT1 loss-of-function. *Data Brief*. 2017 Dec 13; 16:929-938.
6. Goitre L, DiStefano PV, Moglia A, Nobiletti N, Baldini E, Trabalzini L, Keubel J, Trapani E, Shuvaev VV, Muzykantov VR, Sarelius IH, Retta SF* & Glading AJ*. (2017). Up-regulation of NADPH oxidase-mediated redox signaling contributes to the loss of barrier function in KRIT1 deficient endothelium.

Scientific Reports, 2017 Aug 15; 7(1):8296.

7. Retta SF* and Glading AJ. (2016). Oxidative stress and inflammation in cerebral cavernous malformation disease pathogenesis: Two sides of the same coin. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2016 Dec; 81(Pt B):254-270.

8. Marchi S, Trapani E, Corricelli M, Goitre L, Pinton P, Retta SF*. (2016). Beyond Multiple Mechanisms and a Unique Drug: Defective Autophagy as Pivotal Player in Cerebral Cavernous Malformation Pathogenesis and Implications for Targeted Therapies. *Rare Diseases*, 2016 Jan 25; 4:1, e1142640.

9. Marchi S, Retta SF*, Pinton P*. (2016). Cellular processes underlying cerebral cavernous malformations: Autophagy as another point of view. *Autophagy*, 2016 Feb; 12(2):424-5.

10. Moglianetti M, De Luca E, Pedone D, Marotta R, Catelani T, Sartori B, Amenitsch H, Retta SF, Pompa PP. (2016). Platinum nanozymes recover cellular ROS homeostasis in oxidative stress-mediated disease model. *Nanoscale*, 2016 Feb 14; 8(6):3739-52.

11. Choquet H, Trapani E, Goitre L, Trabalzini L, Akers A., Fontanella M, Hart BL, Morrison LA, Pawlikowska L, Kim H, Retta SF*. (2016). Cytochrome P450 and matrix metalloproteinase genetic modifiers of disease severity in Cerebral Cavernous Malformation type 1. *Free Radical Biology and Medicine*, 2016 Jan 19; 92:100-109.

12. Marchi S, Corricelli M, Trapani E, Bravi L, Pittaro A, Delle Monache S, Ferroni L, Patergnani S, Missiroli S, Goitre L, Trabalzini L, Rimessi A, Giorgi C, Zavan B, Cassoni P, Dejana E, Retta SF*, Pinton P*. (2015). Defective autophagy is a key feature of cerebral cavernous malformations. *EMBO Molecular Medicine*, 2015. 7(11):1403-1417.

13. Trapani E, Retta SF*. (2015). Cerebral cavernous malformation (CCM) disease: from monogenic forms to genetic susceptibility factors. *Journal of Neurosurgical Sciences*, 2015 Sep; 59(3):201-9.

14. Moglia A., Goitre L., Gianoglio S., Baldini E., Trapani E., Genre A., Scattina A., Dondo G., Trabalzini L., Beekwilder J., Retta S.F.* (2015) Evaluation of the bioactive properties of avenanthramide analogues produced in recombinant yeast. *BioFactors*, 2015, 41(1):15-27.

15. Gibson C., Zhu W., Davis C.T., Bowman-Kirigin J.A., Chan A.C., Ling J., Walker A.E., Goitre L., Delle Monache S., Retta S.F., Shiu Y-T E., Grossmann A.H., Thomas K.R., Donato A.J., Lesniewski L.A., Whitehead K.J., Li D.J. (2015) Strategy for Identifying Repurposed Drugs for the Treatment of Cerebral Cavernous Malformation. *Circulation*, 2015; 131(3):289-99.

16. Fontanella MM, Panciani PP, Spina G, Roca E, Migliorati K, Ambrosi C, Sturiale CL, Retta SF (2015) Professional athletes and cerebral cavernomas: an obstacle to overcome. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 2015 Sep; 55(9):1046-7.

* Corresponding author

Malformazioni Cavernose Cerebrali

Coordinator: Saverio Francesco Retta
Partners: Paolo Pinton, Lorenza Trabalzini
Duration (N. Years): 3
Starting year: 2015

Telethon Project (nr):

GGP15219

Disease Name:

Cerebral Cavernous Malformations

Keywords:

Genetic cerebrovascular disease, Cerebral Cavernous Malformation (CCM), Redox signaling and oxidative stress and inflammatory responses