

The Astrocyte Neuron Lactate Shuttle (ANLS): relevance for neuronal plasticity, memory and disease, with a particular focus on Glut1 deficiency syndrome

Pierre J. Magistretti, MD, PhD

Division of Biological and Environmental Sciences and Engineering, KAUST, Thuwal, Saudi Arabia

Department of Psychiatry UNIL/CHUV, Switzerland

Brain Mind Institute, EPFL, Lausanne, Switzerland

A tight metabolic coupling between astrocytes and neurons is a key feature of brain energy metabolism (Magistretti and Allaman, *Neuron*, 2015). Over the years we have described two basic mechanisms of neurometabolic coupling. First the glycogenolytic effect of VIP and of noradrenaline indicating a regulation of brain homeostasis by neurotransmitters acting on astrocytes, as glycogen is exclusively localized in these cells. Second, the glutamate-stimulated aerobic glycolysis in astrocytes. Both the VIP- and noradrenaline-induced glycogenolysis and the glutamate-stimulated aerobic glycolysis result in the release of lactate from astrocytes as an energy substrate for neurons (Magistretti and Allaman, *Neuron*, 2015; Magistretti and Allaman, *Nat Neurosci Rev*, 2018). This form of neuron-glia metabolic coupling is now known as the Astrocyte Neuron Lactate Shuttle (ANLS), (Pellerin and Magistretti, *PNAS*, 1994).

We have subsequently shown that lactate is necessary not only as an energy substrate but also as a signaling molecule for long-term memory consolidation (Suzuki et al, *Cell*, 2011; Vezzoli et al, *Cerebral Cortex*, 2020). At the molecular level we have found that L-lactate stimulates the expression of synaptic plasticity-related genes such as *Arc*, *Zif268* and BDNF through a mechanism involving NMDA receptor activity and its downstream signaling cascade Erk1/2 (Yang et al, *PNAS*, 2014). A transcriptome analysis in cortical neurons has shown that the expression of a total of 20 genes is modulated by L-Lactate; of these, 16 involved in plasticity and neuroprotection are upregulated and 4 involved in cell death are downregulated (Margineanu et al. *Front. Mol Neurosci*, 2018). This set of results reveal a novel action of L-lactate as a signaling molecule in addition to its role as an energy substrate (Magistretti and Allaman, *Nat Neurosci Rev*, 2018).

These actions of L-Lactate are also relevant for neuropsychiatric disorders. Indeed we have shown that peripheral administration of lactate exerts antidepressant-like effects in three animal models of depression (Carrard et al., *Mol Psy*, 2016). These behavioral effects of L-Lactate administration are accompanied by changes in the expression of genes that have been associated with mood disorders and involve neurogenesis (Carrard et al, *Mol.Psy.*, 2016, 2021).

A disease in which glucose and lactate metabolism are altered is transporter type 1 deficiency syndrome (Glut1DS), also called De Vivo disease (De Vivo et al, *NEJM*, 1991). The disease is caused by mutations in *SLC2A1* gene that encodes for glucose transporter type 1 (Glut1). In human, this mutation results in deficient glucose transport to the brain and generates early onset epilepsy, complex movement disorders and cognitive impairment (Klepper et al, *Epilepsia Open*, 2020).

In order to assess the impact of Glut1 deficiency on brain energy metabolism, we measured glycogen, lactate, and glucose levels in the cerebral cortex and hippocampus of a male and female mouse model for Glut1DS (GLUT1 +/-).

A significant decrease in glucose levels was already observed at 2 weeks both in the hippocampus and cerebral cortex of GLUT1 +/- mice compared to wild type (WT) animals (-29% and -42%, respectively) together with a significant reduction in glycogen (-30%) and lactate (-36.9% and -24.7%) levels. In 10-week old mice, similar decreases in hippocampal and cortical glucose, glycogen and lactate level were observed in GLUT1 +/- compared to WT mice (Burllet et al, Society for Neuroscience Abstract, 2022).

These data show that Glut1 deficiency has an early and marked impact on brain energy metabolism not limited to glucose levels but extending to other important energy substrates including lactate and glycogen.

As astrocytes are, along with capillaries, the major site of glucose uptake into the brain through Glut1, glycogen storage and release of lactate, these data suggest that Glut1DS may affect the metabolic cooperation between astrocytes and neurons as operated by the full function of the ANLS. Further elucidation of the mechanisms underlying alterations in the astrocyte-neuron metabolic cooperation in GLUT1+/- mice should help to develop therapeutic targets for the treatment of De Vivo disease. In this context work carried out at GliaPharm has identified a series of molecules that boost the activity of the ANLS and improve motor coordination in an animal model of Glut1 DS.

Conflict of interest declared: PJM is co-founder of GliaPharm.

Der Astrozyten Neuronen Laktat Pendler "Shuttle" (ANLS): Relevanz für neuronale Plastizität, Gedächtnis und Erkrankung, mit einem speziellen Fokus auf Glut1-Defekt-Syndrom

Pierre J. Magistretti, MD, PhD

Division of Biological and Environmental Sciences and Engineering, KAUST, Thuwal, Saudi Arabia

Department of Psychiatry UNIL/CHUV, Switzerland

Brain Mind Institute, EPFL, Lausanne, Switzerland

Eine Schlüsseleigenschaft im Gehirnenergiestoffwechsel ist die enge Stoffwechsel-Kopplung zwischen Astrozyten und Neuronen (Magistretti and Allaman, Neuron, 2015). Im Rahmen unserer Forschung haben wir zwei grundsätzliche Mechanismen der neurometabolischen Kopplung beschrieben:

1. den glykogenolytischen Effekt von VIP und Noradrenalin. Das Stoffwechsel-Gleichgewicht im Gehirn wird somit durch Neurotransmitter, die auf Astrozyten einwirken reguliert, da Glykogen exklusiv in Astrozyten lokalisiert ist.
2. die Glutamat-stimulierte aerobe Glykolyse in Astrozyten.

Beide Mechanismen setzen Laktat aus Astrozyten als Energiesubstrat für Neuronen frei (Magistretti and Allaman, Neuron, 2015; Magistretti and Allaman, Nat Neurosci Rev, 2018).

Diese Form von metabolischer Neuron-Glia-Kopplung ist jetzt als *Astrozyten Neuronen Laktat Shuttle* bekannt (**ANLS**)(Pellerin and Magistretti, PNAS, 1994).

Wir haben weiter gezeigt, dass Laktat nicht nur als Energiesubstrat notwendig ist, sondern auch als Signalmolekül für das Langzeitgedächtnis (Suzuki et al, Cell, 2011; Vezzoli et al, Cerebral Cortex, 2020). Auf molekularer Ebene konnten wir zeigen, dass L-Laktat die Expression von synaptischen plastizitäts-assoziierten Genen wie Arc, Zif268 and BDNF stimuliert. Dies erfolgt durch einen Mechanismus, der die NMDA-Rezeptoraktivität und die Signalkaskade Erk1/2 beinhaltet (Yang et al, PNAS, 2014).

Eine Transkriptomanalyse in kortikalen Neuronen hat gezeigt, dass die Expression von insgesamt 20 Genen durch L-Laktat moduliert wird. 16 der 20 Gene, die an Plastizität und Neuroprotektion beteiligt sind, hochreguliert – 4 der 20 Gene, die am Zelltod beteiligt sind, werden herunterreguliert (Margineanu et al. Front. Mol Neurosci, 2018). Diese Ergebnisse belegen eine neue Rolle von L-Laktat als Signalmolekül, zusätzlich zu seiner Funktion als Energiequelle (Magistretti and Allaman, Nat Neurosci Rev, 2018).

Dies ist auch relevant für neuropsychiatrische Störungen. So kann die periphere Verabreichung von Laktat einen antidepressivaartigen Effekt in drei Tiermodellen für Depression ausüben (Carrard et al., Mol Psy, 2016). Diese Verhaltenseffekte werden durch Expressionsveränderungen von Genen, die mit Stimmungsstörungen assoziiert sind und Neurogenese steuern, begleitet (Carrard et al, Mol.Psy., 2016, 2021).

Der Glut1-Defekt (Glut1DS), auch De Vivo-Erkrankung genannt (De Vivo et al, NEJM, 1991) verändert den Glukose- und Laktatstoffwechsel. Die Erkrankung wird u.a. durch *SLC2A1*-Genmutationen verursacht, das den Glukose Transporter Typ 1 (Glut1) kodiert. Bei

Menschen resultiert dies in einem defekten Glukosetransport in das Gehirn und löst eine Epilepsie mit frühem Beginn, eine komplexe Bewegungsstörung und kognitive Einschränkungen aus (Klepper et al, Epilepsia Open, 2020).

Um die Auswirkungen des Glut1-Defekts auf den Gehirnergiestoffwechsel zu erforschen, haben wir Glykogen, Laktat und Glukosespiegel im cerebralen Kortex und im Hippocampus in einem männlichen und weiblichen Mausmodell für Glut1DS (GLUT1 +/-) gemessen. Ein signifikant niedrigerer Glukosespiegel wurde bereits nach 2 Wochen sowohl im Hippocampus, als auch im cerebralen Kortex von GLUT1 +/- Mäusen im Vergleich zum Wildtyp (WT) gemessen (-29% und -42%). Gleichzeitig verringerte sich Glykogen(-30%) und Laktatspiegel (-36,9%). In 10-Wochen alten Mäusen wurden ähnliche Abfälle in Glukose-, Glykogen- und Laktatspiegeln im Hippocampus und kortikal in GLUT1 +/- -Mäusen, verglichen mit WT Mäusen, beobachtet (Burllet et al, Society for Neuroscience Abstract, 2022).

Diese Daten zeigen, dass der Glut1-Defekt einen frühen und ausgeprägten Einfluss auf den Gehirnergiestoffwechsel hat. Dies ist nicht auf die Glukosespiegel beschränkt, sondern bezieht andere wichtige Energiesubstrate wie Laktat und Glykogen mit ein.

Astrozyten sind neben den Kapillaren der Hauptort der Glukoseaufnahme in das Gehirn durch Glut1. Sie sind Glykogenspeicher und verantwortlich für die Freisetzung von Laktat. Unsere Daten lassen daher vermuten, dass Glut1 die Stoffwechsel-Interaktion zwischen Astrozyten und Neuronen innerhalb der Funktion des ANLS beeinflussen kann. Die weitere Aufklärung der Mechanismen, welche den Änderungen in der Astrozyten-Neuronen-Kooperation in GLUT1+/- Mäusen zugrunde liegen, sollten helfen, neue Therapieansätze for den Glut1-Defekt zu entwickeln. Hier hat GliaPharm eine Reihe von Molekülen identifiziert, welche die Aktivität des ANLS verstärken und die motorische Koordination in einem Tiermodel des Glut1-Defektes verbessern.

Interessenskonflikte: PJM ist Mitbegründer von GliaPharm.

L'Astrocyte Neuron Lactate Shuttle (ANLS): rilevanza per la plasticità neuronale, la memoria e le malattie, con particolare attenzione alla sindrome da deficit di Glut1

Pierre J. Magistretti, MD, PhD

Divisione di Scienze Biologiche e Ambientali e Ingegneria, KAUST, Thuwal, Arabia Saudita

Dipartimento di Psichiatria UNIL/CHUV, Svizzera

Istituto Brain Mind, EPFL, Losanna, Svizzera

Uno stretto accoppiamento metabolico tra astrociti e neuroni è una caratteristica fondamentale del metabolismo energetico cerebrale (Magistretti e Allaman, *Neuron*, 2015). Nel corso degli anni abbiamo descritto due meccanismi fondamentali di accoppiamento neurometabolico. In primo luogo, l'effetto glicogenolitico della VIP e della noradrenalina, che indica una regolazione dell'omeostasi cerebrale da parte di neurotrasmettitori che agiscono sugli astrociti, poiché il glicogeno è localizzato esclusivamente in queste cellule. In secondo luogo, la glicolisi aerobica stimolata dal glutammato negli astrociti. Sia la glicogenolisi indotta da VIP e noradrenalina che la glicolisi aerobica stimolata dal glutammato determinano il rilascio di lattato dagli astrociti come substrato energetico per i neuroni (Magistretti e Allaman, *Neuron*, 2015; Magistretti e Allaman, *Nat Neurosci Rev*, 2018). Questa forma di accoppiamento metabolico tra neuroni e glia è oggi nota come Astrocyte Neuron Lactate Shuttle (ANLS) (Pellerin e Magistretti, *PNAS*, 1994).

Abbiamo successivamente dimostrato che il lattato è necessario non solo come substrato energetico, ma anche come molecola di segnalazione per il consolidamento della memoria a lungo termine (Suzuki et al, *Cell*, 2011; Vezzoli et al, *Cerebral Cortex*, 2020). A livello molecolare abbiamo scoperto che l'L-lattato stimola l'espressione di geni legati alla plasticità sinaptica come *Arc*, *Zif268* e *BDNF* attraverso un meccanismo che coinvolge l'attività del recettore NMDA e la sua cascata di segnalazione a valle *Erk1/2* (Yang et al, *PNAS*, 2014). Un'analisi del trascrittoma nei neuroni corticali ha dimostrato che l'espressione di un totale di 20 geni è modulata dal L-lattato; di questi, 16 coinvolti nella plasticità e nella neuroprotezione sono upregolati e 4 coinvolti nella morte cellulare sono downregolati (Margineanu et al. *Front. Mol Neurosci*, 2018). Questa serie di risultati rivela un'azione inedita del L-lattato come molecola di segnalazione oltre al suo ruolo di substrato energetico (Magistretti e Allaman, *Nat Neurosci Rev*, 2018).

Queste azioni del L-lattato sono rilevanti anche per i disturbi neuropsichiatrici. Abbiamo infatti dimostrato che la somministrazione periferica di lattato esercita effetti simil-antidepressivi in tre modelli animali di depressione (Carrard et al., *Mol Psy*, 2016). Questi effetti comportamentali della somministrazione di L-lattato sono accompagnati da cambiamenti nell'espressione di geni che sono stati associati ai disturbi dell'umore e che coinvolgono la neurogenesi (Carrard et al, *Mol.Psy.*, 2016, 2021).

Una malattia in cui il metabolismo del glucosio e del lattato è alterato è la sindrome da deficit del trasportatore di tipo 1 (Glut1DS), chiamata anche malattia di De Vivo (De Vivo et al, *NEJM*, 1991). La malattia è causata da mutazioni nel gene *SLC2A1* che codifica per il trasportatore di glucosio di tipo 1 (Glut1). Nell'uomo, questa mutazione determina un insufficiente trasporto di glucosio al cervello e genera epilessia a esordio precoce, disturbi complessi del movimento e deterioramento cognitivo (Klepper et al, *Epilepsia Open*, 2020).

Per valutare l'impatto della carenza di Glut1 sul metabolismo energetico cerebrale, abbiamo misurato i livelli di glicogeno, lattato e glucosio nella corteccia cerebrale e nell'ippocampo di un modello murino maschio e femmina per Glut1DS (GLUT1 +/-).

Una diminuzione significativa dei livelli di glucosio è stata osservata già a 2 settimane sia nell'ippocampo che nella corteccia cerebrale dei topi GLUT1 +/- rispetto agli animali wild type (WT) (-29% e -42%, rispettivamente), insieme a una riduzione significativa dei livelli di glicogeno (-30%) e lattato (-36,9% e -24,7%). Nei topi di 10 settimane di età, sono state osservate riduzioni simili dei livelli di glucosio, glicogeno e lattato nell'ippocampo e nella corticale nei topi GLUT1 +/- rispetto ai topi WT (Burlet et al, Society for Neuroscience Abstract, 2022).

Questi dati dimostrano che la carenza di Glut1 ha un impatto precoce e marcato sul metabolismo energetico cerebrale, non limitato ai livelli di glucosio ma esteso ad altri importanti substrati energetici, tra cui il lattato e il glicogeno.

Poiché gli astrociti sono, insieme ai capillari, il principale sito di assorbimento del glucosio nel cervello attraverso il Glut1, l'immagazzinamento del glicogeno e il rilascio di lattato, questi dati suggeriscono che la Glut1DS può influenzare la cooperazione metabolica tra astrociti e neuroni, operata dalla piena funzione dell'ANLS. Un'ulteriore delucidazione dei meccanismi alla base delle alterazioni della cooperazione metabolica tra astrociti e neuroni nei topi GLUT1+/- dovrebbe aiutare a sviluppare bersagli terapeutici per il trattamento della malattia in vivo. In questo contesto, il lavoro svolto da GliaPharm ha identificato una serie di molecole che potenziano l'attività dell'ANLS e migliorano la coordinazione motoria in un modello animale di Glut1 DS.

Conflitto di interessi dichiarato: PJM è cofondatore di GliaPharm.