

ALS jako TDP43-proteinopatie: kognitivní poruchy u ALS, ALS Plus

MUDr. Daniel Baumgartner

Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

Poznatky o amyotrofické laterální skleróze posledních dvou desetiletí na molekulárně-genetické a celulární úrovni změnil „mapu“ neurodegenerativních onemocnění. Model proteinopatie TDP-43, progredující napříč CNS podél předdefinované trajektorie umožňuje vysvětlit současný výskyt zdánlivě nesouvisejících symptomů. Hexanukleotidová expanze genu *C9ORF72* je modelový případ pro variabilní manifestaci jedné genetické mutace do různých fenotypů, konkrétně FTD, ALS nebo kombinace obou jednotek u jednoho pacienta současně, tak jako s nižší frekvencí řada dalších mutací. Obě dříve samostatné jednotky jsou tak nově chápány jako součást klinicko-patologického spektra. Praktickým výstupem je podrobnější charakterizace jednotlivých subtypů choroby s odlišnou prognózou. Jednoduché diagnostické a prognostické nástroje by mohly brzy umožnit s touto novou koncepcí pracovat v klinické praxi.

Klíčová slova: amyotrofická laterální skleróza, frontotemporální demence, TDP-43 proteinopatie.

TDP43-proteinopathy in ALS: cognitive deficits in ALS, ALS Plus syndromes

New insights into the molecular genetics and cellular pathophysiology of the amyotrophic lateral sclerosis changed the landscape of neurodegenerative diseases during the last two decades. The model of TDP-43 proteinopathy disseminating through the CNS along predetermined pathways brought an plausible explanation for seemingly unrelated symptoms. Hexanucleotid expansion of the gene *C9ORF72*, among other mutations, is an outstanding example of various manifestations of one genotype into different phenotypes, namingly FTD, ALS or combination of both disorders in one patient. Both former entities are now considered a part of a clinico-pathological spectrum of syndromes. This allows a preciser definition of the different subtypes of ALS with different prognosis. User-friendly tools for diagnostics and prognostication have been developed and could soon find its way to daily clinical routine.

Key words: amyotrophic lateral sclerosis, frontotemporal dementia, TDP-43 proteinopathy.

Úvod

Historicky byla amyotrofická laterální skleróza (ALS) chápána jako selektivní postižení somatomotorického systému v důsledku izolované degenerace kortikálních, bulbárních a spinálních alfa-motoneuronů a jejich axonů, což odráží i pojmenování širší kategorie motor-neuron disease, jejímž nejčastějším zástupcem ALS je. Výskyt demence, resp. kognitivní poruchy u pacienta s ALS, je revidovanými El-Escorial kritérii řazeno do kategorie tzv. ALS-Plus syndromů, spolu s výskytem příznaků postižení jiných systémů, resp. endemickým výskytem specifických syndromů (tabulka 1). Toto pojetí

se postupně změnilo poté, co byl v r. 2006 identifikován hlavní protein, tvořící u ~97% všech pacientů s ALS (familiárních i sporadických forem) ubikvitinované cytoplazmatické inkluze jako patognomonický histopatologický nález, a to nejen v uvedených motorických neuronech, nýbrž i v dalších neuronálních a gliových subpopulacích (Geser et al., 2008). Onen výrazný posun pak přineslo zjištění, že agregáty zcela identického proteinu jsou, byť s poněkud odlišnou regionální distribucí na mikro- i makroskopické úrovni, nalézány u ~50% všech pacientů s frontotemporální demencí (FTD) (Geser et al., 2009).

Proteinopatie TDP-43

Jedná se o cytoplazmatické agregáty transaktivního DNA vázajícího proteinu o délce 43 kDa (TDP-43), ubikvitárního proteinu ze skupiny RNA-/DNA- vázajících proteinů. Mimo jiné má funkci regulátoru transkripce a sestřihu mRNA. Vyskytuje se hlavně v buněčném jádru, ze kterého pravděpodobně transportuje mRNA do cytoplazmy. Specificky u neuronů je asociován s mikrotubulárním anterográdním axonálním transportem, pomocí kterého je mRNA dopravována k synapsím, kde dochází k její translaci na vitální proteiny synaptické štěrbiny (Jovicic et Gitler, 2014). TDP-43 je schopen měnit konformaci mezi rozpustným



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

MUDr. Daniel Baumgartner, daniel.baumgartner@fnmotol.cz

Neurologická klinika 2. LF UK a FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Cit. zkr: Neurol. praxi 2016; 17(6): 366–369

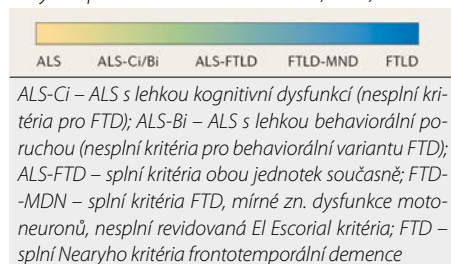
Článek přijat redakcí: 19. 7. 2016

Článek přijat k publikaci: 15. 10. 2016

Tab. 1. Volně podle Brooks BR et al., 2000; ALS-Plus syndromy musí splnit revidovaná El-Escorial kritéria (klinická, elektrofyziologická, zobrazovací) pro klinicky možnou, pravděpodobnou nebo definitivní ALS a přitom vykazují jeden či více z následujících znaků:

- endemický výskyt (Západní Pacifik, Guam, Kii poloostrov, Severní Afrika, Madras, atd.)
- extrapyramidové poruchy (bradykineze, rigidita, tremor, familiární či sporadické)
- cerebelární symptomy
- demence (frontální typ; amyotrofická forma CJD, familiární či sporadické)
- postižení autonomního nervového systému (abnormální kardiiovaskulární reflexy, mikční či defekační dysfunkce, familiární či sporadické)
- objektivní somatosenzitivní poruchy (palhypestezie; porucha diskriminace tupé/ostře, termhypestezie, familiární či sporadické)
- okulomotorické poruchy (supranukleární, nukleární, familiární či sporadické)

Obr. 1. Spektrum ALS-FTD syndromů (se svolením Macmillan Publishers Ltd: Nat Rev Neurosci, Robberecht W, Philips T, The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis Mar 6, 2013)



a nerozpustným stavem, a to díky C-terminální, tzv. „prion-like“ doméně (dle strukturální i funkční podobnosti s prionovými proteiny kvasinek). Fyziologický význam této vlastnosti tkví ve vazbě TDP-43 na stresová granula, přechodné cytoplazmatické nemembránové orgány, v nichž při buněčném stresu dochází k selektivnímu „vypnutí“ translace aktuálně nepotřebné mRNA. Po návratu buňky do rovnovážného stavu dochází k desagregaci těchto granul. Naopak v patologické situaci (patogenní mutace nebo dosud nejasná série procesů) dochází ke kumulaci nerozpustných proteinových agregátů a u ~97% pacientů s ALS je jejich hlavní komponentou právě TDP-43. Tato „těliska“ by mohla být schopna indukovat agregaci dosud patologicky nezměněných proteinů, což dokládají pokusy s přenosem patologického TDP-43 z mozku pacientů s ALS na tkáňové kultury motoneuronů (Nonaka et al., 2013). V patofyziologii se pravděpodobně mohou kombinovat dva vzájemně komplementární mechanismy: „toxické“ působení inkluzí TDP-43 ve smyslu vyvazování vitálních buněčných proteinů („zisk“ patologické funkce) s následnou ztrátou jejich fyziologických funkcí, včetně TDP-43 samotného. Výslednicí je dysfunkce a finálně zánik (moto-)neuronů (Jovicic

et Gitler, 2014). Dále se předpokládá šíření patologického TDP-43, jednak pomocí vezikulární exocytózy mezi sousedícími neurony (hypotéza šíření per continuitatem), klinickým projevem je progresse oslabení mezi sousedními míšními segmenty (Kanouchi et al., 2012), jednak transsynaptické vzdálené šíření cestou kortikospinálních drah, o kterém bude blíže pojednáno v posledním oddílu článku. Patofyziologické mechanismy se v klíčových aspektech (prion-like doména, vazba na stresová granula) jeví být obdobné pro fused-in-sarcoma protein (*FUS*), druhý patogenní protein, společný pro ALS a FTD, podrobnější rozbor ale přesahuje rámec tohoto článku a čtenáře odkazují na literaturu (Aulas et Vande Velde, 2015).

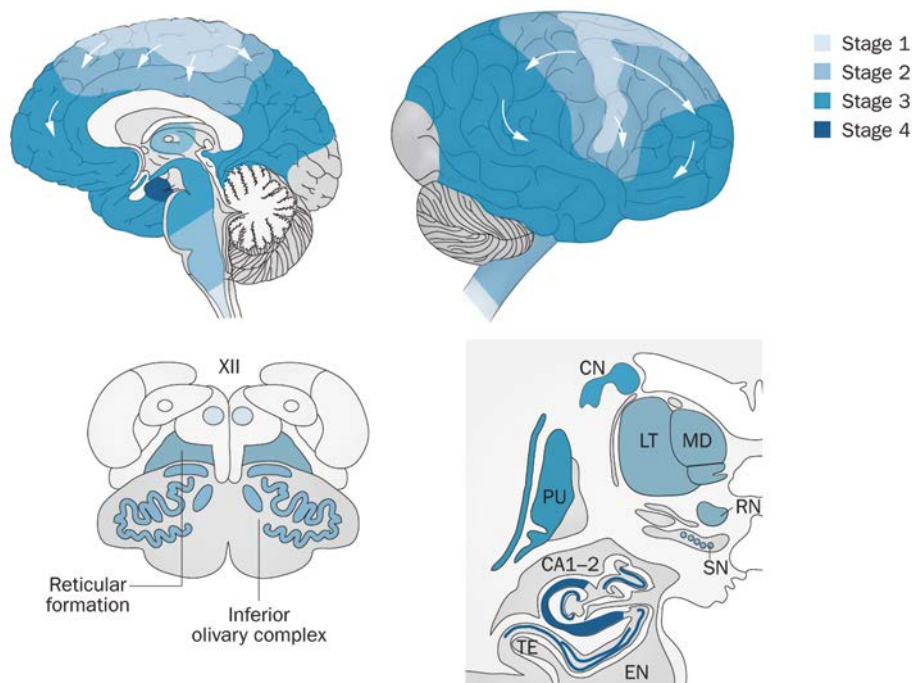
Genetické aspekty

Kauzální mutace genu TARDBP, kódujícího TDP-43 (většina lokalizována v oblasti kódující „prion-like“ doménu), je nalézána pouze u ~1% všech pacientů s ALS a ~1% pacientů s FTD. (Imuno) histopatologické nálezy jsou však velmi podobné mezi pacienty se sporadickou formou i pacienty s mnoha dalšími patogenními mutacemi, s výjimkou mutací v genech *FUS* a *SOD1*, u kterých agregují stejnojmenné proteiny. Nejčastější z patogenních mutací je intronová hexanukleotidová expanze v genu *C9ORF72*, známá teprve od r. 2011, která je nalézána u 5–7% všech, tzn. jak familiárních, i sporadických pacientů s ALS a ~11% všech pacientů s FTD (Majounie et al., 2012). Tato mutace je i v rámci jedné rodiny schopna manifestovat u jednotlivých nosičů buď fenotyp s „čistými“ nebo dominujícími rysy FTD, nebo naopak s dominujícími rysy ALS. Ovšem i u nosičů-pacientů, kteří splní kritéria ALS, je FTD přítomna u 50% a dalších 20% vykazuje lehký kognitivní deficit frontálního typu (Byrne et al., 2012). Další kauzální mutace, společné pro ALS i FTD, jsou – již ve významně nižší četnosti – nalézány u genů *FUS*, *VCP*, *P62/sequestosome 1*, *ubiquilin 2*, *angiogenin*, *optineurin* a řadě dalších. Jak již bylo zmíněno, krom *FUS* vykazují všechny tyto mutace cytoplazmatické neuronální inkluze TDP-43. Ačkoliv tyto geny kódují funkčně různorodé proteiny, pojitkem u většiny z nich se zdá být vazba na (dysfunkční) ubikvitin-proteázomový, resp. lyzozomální autofagický systém, které nejspíše hrají klíčovou roli v patologii TDP-43 jak u familiárních, tak sporadických forem. Dosud ale není jasné, je-li to role spouštěče, či pouze modifikátoru patologické agregace (Janssens et Van Broeckhoven, 2013).

Spektrum ALS-FTD syndromů

Recentní studie doložily výskyt kognitivního či behaviorálního deficitu frontálního typu, nesplňujícího kritéria FTD u ~25% pacientů s ALS, u ~5–12% pacientů pak výskyt plně vyjádřeného FTD, u dalších ~12% pacientů byl zaznamenán kognitivní deficit bez postižení exekutivních funkcí (Elamin et al., 2013; Oh et al., 2014). Na druhé straně pak asi 30% pacientů s FTD vykazuje klinické, nebo elektrofyziologické známky lehké dysfunkce horního či dolního motoneuronu (Burrell et al., 2011). Obě dříve samostatné jednotky jsou tak chápány jako součást klinicko-patologického spektra ALS-FTD, čili kontinua TDP-43 proteinopatie (obrázek 1). V situaci, kdy genetické, histopatologické a klinické poznatky posledních 20 let „rozdělily“ nozologickou jednotku ALS do heterogenního souboru geneticko-patologických syndromů a korelace genotypu a fenotypu nejsou spolehlivé (Harms et Baloh, 2013), vnáší koncept proteinopatie TDP-43 určitý ucelující pohled. V rámci tohoto spektra lze zároveň definovat podskupiny pacientů s pravděpodobně odlišnou prognózou. Jak totiž ukazují longitudinální studie, nejen pacienti s ALS-FTD, ale i ti s lehkou kognitivní dysfunkcí exekutivního typu mají významně kratší prognózu přežití oproti pacientům, kteří jsou na začátku sledování kognitivně intaktní (Elamin et al., 2013). Dle autorů se velmi pravděpodobně jedná o dva odlišné subtypy onemocnění s dosud nejasnými modifikujícími faktory v pozadí. Tyto poznatky odráží i recentně validovaný návrh jednoduchého prognostického algoritmu (tabulka 2). Krom fenotypu (bulbární vs. spinální) a rychlosti progresu v ALSFRS-R (revidovaná škála funkčního hodnocení ALS, nejužívanější nástroj globálního zhodnocení o 12 položkách, hodnotící deficit hrubé a jemné motoriky, bulbární a respirační funkce) zohledňuje právě dysexekutivní syndrom, resp. FTD jako negativní prognostický faktor (Elamin et al., 2015). Pro klinickou praxi zůstává zásadní otázka, jak lehkou kognitivní dysfunkci detekovat. Standardizované neuropsychologické baterie představují sice „zlatý standard“, jejich limitací je, krom jejich dostupnosti, zároveň i časová náročnost (až 3 hodiny) a nedostatečná adaptace na motorické deficity pacientů s ALS. Zdá se, že všechny tyto limitace řeší nově validovaný screeningový „bed-side“ test, tzv. ECAS (Edinburgh Cognitive and Behavioural ALS Screen), jehož provedení nevyžaduje specializovaný zázvuk, trvá do 30 minut a eliminuje prvek motorických deficitů (Abrahams et al., 2014). Jeho česká verze ovšem

Obr. 2. Model progresu TDP-43 patologie u ALS (se svolením Macmillian Publishers Ltd., Nat Rev Neurol. H Braak et al., Amyotrophic lateral sclerosis – a model of corticofugal axonal spread, Nov 12, 2013)



CN – nucleus caudatus; EN – entorinální kortex; LT – laterální talamus; MD – mediodorzální talamus; PU – putamen, RN – nucleus ruber; SN – substantia nigra

Tab. 2. Návrh prognostického nástroje – prognostický index ALS (volně upraveno a přeloženo dle Elamin et al., 2015, v souladu s licencí Creative Commons: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Fenotyp	Bulbární / Respirační Spinální	1 0
ΔALSFRS-R	<0,25 bodů / měsíc	0
	0,25–0,44 bodů / měsíc	1
	0,45–0,99 bodů / měsíc	2
	>1 bod / měsíc	3
Dysexekutivní sy. / FTD?	Přítomno	1
	Nepřítomno	0
Součet – prognostický index ALS; ΔALSFRS-R – rychlost poklesu v škále ALSFRS-R: rozdíl mezi maximální hodnotou a hodnotou v čase diagnózy, dělený dobou trvání od prvních příznaků do diagnózy (48 bodů – aktuální skóre ALSFRS-R / počet měsíců trvání)		
Prognostický index ALS		Riziko časného úmrtí
0–1 bod		nízké
2–3 body		střední
>4 body		vysoké

dosud validovaná není. Alternativou by mohl být tzv. FAB (Frontal Assessment Battery), rychlý (~10 min.) screeningový test exekutivní poruchy, v zahraničí již validovaný pro dysexekutivní syndrom u ALS (Barulli et al., 2015). Jeho česká verze byla úspěšně validována pro demenci u Parkinsonovy nemoci (Maková, 2014). U pokročilé dysartrie či parézy ruky jsou možné modifikace testových úloh, ovšem již nevalidované (Osborne et al., 2013). Nejvhodnější načasování kognitivního screeningu se tak jeví v období vzápětí po stanovení diagnózy ALS (Elamin et al., 2013).

ALS-Plus syndromy

Koncept proteinopatie TDP-43 dále vnáší ucelující pohled i na problematiku ALS-Plus syndromů (tabulka 1). Dle recentní studie s 550 ALS pacienty byly tyto syndromy nalézány u ~ 16 %

pacientů z celého souboru (McCluskey et al., 2014). Nejčastějším projevem byly supranukleární poruchy okulomotoriky, dále ALS-FTD syndrom a soubor extrapyramidových projevů (u 70,5 % resp. u 22,5 % resp. 19 % pacientů ze souboru ALS-Plus). Dysautonomní a cerebelární projevy tvořily jen nízké procento nálezů (5 %, resp 1 %). Skupina pacientů s ALS-Plus syndromy jako celek vykazovala významně kratší délku přežití oproti pacientům s klasickou ALS (tedy izolovaným postižením horních a/nebo dolních motoneuronů). Dále byly ve skupině ALS-Plus dvakrát čteněji zachyceny mutace v genech *C9ORF72*, *TARDBP*, *VCP* a *SOD1*. Stanovení kognitivního deficitu bylo v této práci omezeno pouze na přítomnost ALS-FTD, představující sám o sobě ALS-Plus syndrom, zhodnocení asociace symptomů ze skupiny ALS-Plus a lehkého kognitivního de-

ficitu tato práce neumožňovala. Dle dalších prací, vycházejících z pitevních nálezů, se jako histopatologický korelát příznaků z kategorie ALS-Plus jeví distribuce patologického TDP-43 v příslušných regionech CNS (Braak et al., 2013). Na základě těchto poznatků byl navržen model stereotypního transsynaptického šíření patologie podél projekčních axonů se čtyřmi definovanými fázemi (obrázek 3). První fází je izolované postižení Betzových projekčních (pyramidových) neuronů motorického kortexu a bulbárních a spinálních alfa-motoneuronů. Klinickým korelátem je postižení horních a dolních motoneuronů, tedy klasická ALS. Ve druhé fázi se patologie šíří projekčními axony do precerebelárních kmenových jader, retikulární formace a prefrontálního kortexu, klinickým korelátem jsou supranukleární okulomotorické deficity (detekovatelné nejlépe videookulograficky) a exekutivní kognitivní deficit, vyskytující se s významnou vzájemnou asociací (Gorges et al., 2015). Ve třetí fázi pak patologie postihuje mimo jiné striatum s důsledkem extrapyramidových poruch. Dle tohoto modelu tedy symptomy z kategorie ALS-Plus představují jednak pokročilejší fázi patologie, jak nasvědčuje průměrná doba 22 měsíců do výskytu ALS-Plus symptomů od prvních příznaků ALS (McCluskey et al., 2014). Jednak také představují agresivnější formu šíření patologie, čemuž odpovídá větší rozsah globálního postižení pozorovaný již v čase stanovení diagnózy u pacientů s ALS-Plus oproti klasické ALS (dle srovnání průměrných hodnot ALSFRS-R obou skupin). Konkrétní prediktory agresivní formy procesu (krom expanze *C9ORF72*) zůstávají zatím neobjasněny.

Souhrn

Pacienti s klinickými známkami postižení prefrontálního kortexu, resp. dalších systémů CNS představují v souhrnu více než jednu třetinu všech pacientů s ALS. Tento subtyp choroby je spojen s výrazně horší prognózou přežití. Histopatologické studie podávají vysvětlení na základě rozsáhlejší diseminace a větší „nálože“ proteinopatie TDP-43 napříč CNS. Tyto poznatky spolu s vyšší pravděpodobností zachytu patologické mutace v této skupině oproti klasické ALS a také se stále se rozšiřující dostupností cílených genetických testů v budoucnosti dále zpřesní diagnostiku a odhad prognózy u pacientů s ALS, souhlasně s obecným trendem ostatních neurogeneticky vázaných onemocnění.

LITERATURA

1. Abrahams S, Newton J, Niven E. Screening for cognition and behaviour changes in ALS. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2014 Mar; 15(1–2): 9–14.
2. Aulas A, Vande Velde C. Alterations in stress granule dynamics driven by TDP-43 and FUS: a link to pathological inclusions in ALS? *Front. Cell. Neurosci.* 2015; 9: 423.
3. Barulli MR, Fontana A, Panza F. Frontal assessment battery for detecting executive dysfunction in amyotrophic lateral sclerosis without dementia: a retrospective observational study. *BMJ Open.* 2015 Sep 3; 5(9): e007069.
4. Brooks BR, Miller G, Swash M. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *ALS and other motor neuron disorder.* 2000; 1: 293–299.
5. Braak H, Brettschneider J, Ludolph AC. Amyotrophic lateral sclerosis – a model of corticofugal axonal spread. *Nat Rev Neurol.* 2013 December; 9(12): 708–714.
6. Burrell JR, Kiernan MC, Vucic S. Motor Neuron dysfunction in frontotemporal dementia. *Brain* 2011; 134: 2582–2594.
7. Byrne S, Elamin M, Bede P. Cognitive and clinical characteristics of patients with amyotrophic lateral sclerosis carrying a C9orf72 repeat expansion: a population based cohort study. *Lancet Neurol.* 2012 Mar; 11(3): 232–240.
8. Elamin M, Bede P, Byrne S. Cognitive changes predict functional decline in ALS: a population-based longitudinal study. *Neurology.* 2013 Apr 23; 80(17): 1590–1597.
9. Elamin M, Bede P, Montuschi A. Predicting prognosis in amyotrophic lateral sclerosis: a simple algorithm. *J Neurol.* 2015 Jun; 262(6): 1447–54.
10. Geser F, Brandmeir NJ, Kwong LK. Evidence of multisystem disorder in whole-brain map of pathological TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol.* 2008 May; 65(5): 636–641.
11. Geser F, Martinez-Lage M, Robinson J. Clinical and Pathological Continuum of Multisystem TDP-43 Proteinopathies. *Arch Neurol.* 2009 February; 66(2): 180–189.
12. Gorges M, Müller HP, Lulé D. Eye Movement Deficits Are Consistent with a Staging Model of pTDP-43 Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *PLoS ONE* 10(11): 6 e0142546. doi:10.1371/journal.pone.0142546.
13. Harms MB, Baloh RH. Clinical neurogenetics: Amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Clin.* 2013 Nov; 31(4): 929–950.
14. Janssens J, Van Broeckhoven C. Pathological mechanisms underlying TDP-43 driven neurodegeneration in FTLD–ALS spectrum disorders. *Hum Mol Genet.* 2013 Oct 15; 22(R1): R77–87.
15. Jovicic A, Gitler AD. TDP-43 in ALS: Stay on Target...Almost There. *Neuron* 2014 Feb 5; 81(3): 463–465.
16. Kanouchi T, Okhubo T, Yokota T. Can regional spreading of amyotrophic lateral sclerosis motor symptoms be explained by prion-like propagation? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012; 83: 739–745.
17. Maková T. Validizační studie Frontal Assessment Battery k diagnostice dysexekutivního deficitu u Parkinsonovy nemoci. (Diplomová práce) is.muni.cz > Závěrečné práce.
18. Majounie E, Renton AE, Mok K. Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: a cross-sectional study. *Lancet Neurol.* 2012 Apr; 11(4): 323–330.
19. McCluskey L, Vandriel S, Elman L. ALS-Plus syndrome: non-pyramidal features in a large ALS cohort. *J Neurol Sci.* 2014 October 15; 345(0): 118–124.
20. Nonaka T, Masuda-Suzukake M, Arai T. Prion-like properties of pathological TDP-43 aggregates from diseased brains. *Cell Rep.* 2013 Jul 11; 4(1): 124–134.
21. Oh SI, Park A, Kim HJ. Spectrum of cognitive impairment in Korean ALS patients without known genetic mutations. *PLoS One.* 2014 Feb 3; 9(2): e87163.
22. Osborne AR, Sekhon R, Johnston W. Screening for frontal lobe and general cognitive impairment in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci.* 2014 Jan 15; 336(1–2): 191–196.
23. Robberecht W, Philips T. The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Rev Neurosci.* 2013 Apr; 14(4): 248–264.