

## Nederlandse samenvatting

Titel: Risicofactoren voor amyotrofische laterale sclerose

### Introductie

Amyotrofische laterale sclerose (ALS) is een progressieve neurodegeneratieve aandoening waarbij de motorische zenuwcellen in de hersenen, hersenstam en het ruggenmerg langzaam afsterven. De ziekte kenmerkt zich door toenemende spierzwakte in armen en benen, moeite met spreken en slikken en zwakte van de ademhalingspiëren. Het beloop van de ziekte is zeer variabel. Gemiddeld overlijden patiënten 3 jaar na ontstaan van de eerste verschijnselen, waarbij twintig procent van de patiënten langer leeft dan 5 jaar. Jaarlijks krijgen 400-500 Nederlanders de diagnose ALS. Naast de motorische uitval ontwikkelt een klein deel van de patiënten ook een stoornis in het denken of het gedrag, ook wel fronto-temporale dementie (FTD) genoemd, een vorm van dementie met gedragsveranderingen. Tot op heden is er geen curatieve behandeling voor ALS: het sinds 1995 geregistreerde medicijn Riluzole verlengt het leven gemiddeld slechts met drie maanden.

Een klein percentage patiënten met ALS heeft een erfelijke vorm, waarbij er meerdere personen binnen één familie gedurende hun leven ALS ontwikkelen (familiaire ALS). Bij deze patiënten is er sprake van een belangrijke genetische factor (DNA-afwijking) als oorzaak van de ziekte, die wordt overgeërfd binnen de familie. Bij de meeste patiënten (in 90-95%) gaat het echter om de sporadische vorm, waarbij ALS verder niet binnen de familie voorkomt. De oorzaak van sporadische ALS is waarschijnlijk meer complex: een combinatie van risicofactoren die gezamenlijk de ziekte veroorzaken. Hierbij gaat het zowel om leefstijlfactoren, als omgevingsfactoren, als genetische factoren. In de drie verschillende delen van dit proefschrift worden deze risicofactoren uiteengezet: in **deel I** leefstijlfactoren, in **deel II** omgevingsfactoren, en in **deel III** genetische factoren.

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift is onderdeel van de Prospectieve ALS studie Nederland (PAN studie). In deze studie worden sinds 2006 prospectief alle nieuw-gediagnosticeerde ALS patiënten in Nederland geïnccludeerd. Via de huisarts worden controlepersonen benaderd die gematcht zijn aan de patiënt op basis van geslacht en leeftijd. Van zowel de patiënten als de controlepersonen wordt informatie over risicofactoren verzameld door gebruik te maken van uitgebreide en gestructureerde vragenlijsten en wordt bloed afgenomen voor DNA onderzoek.

### Deel I - Leefstijlfactoren

Fysieke inspanning is één van de veelbesproken factoren in het internationale ALS onderzoek. De relatie met fysieke inspanning is eerder geopperd in een Italiaanse studie waarin een verhoogde incidentie van ALS werd beschreven onder professionele voetballers. Tevens zijn er diverse bekende sporters die gediagnosticeerd zijn met ALS, zoals Lou Gehrig, een Amerikaanse honkbalspeler naar

wie de ziekte in Amerika vernoemd is, of de recent gediagnosticeerde Nederlandse profvoetballer Fernando Ricksen. In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift hebben we onderzocht of er een relatie is tussen de mate van fysieke inspanning en het risico op ALS. Hieruit blijkt dat patiënten met ALS in hun vrije tijd (sport en hobby's) meer fysieke inspanning leveren dan controlepersonen (gemiddelde cumulatieve MET score 1.51 vs. 1.25; MET = metabole equivalent van fysieke activiteiten). Patiënten leveren echter niet meer fysieke inspanning in hun beroep of ondergaan niet vaker extreme inspanningen, zoals het lopen van een marathon. Tevens hebben we geen dosis-respons relatie gevonden, dat wil zeggen dat het risico op ALS niet toeneemt naarmate de mate van fysieke inspanning toeneemt. Concluderend hebben we in ons onderzoek geen oorzakelijk verband kunnen aantonen tussen fysieke inspanning en ALS. Mogelijk is er wel een gezamenlijke basis (predispositie) die er enerzijds voor zorgt dat iemand aanleg heeft om fysiek actief te zijn, zoals in het sporten, en anderzijds een verhoogd risico op ALS geeft.

In **hoofdstuk 3** hebben we onderzocht of er andere ziekten zijn die verband houden met ALS. Zo hebben we aangetoond dat patiënten met ALS vaker dan controlepersonen in de voorgeschiedenis een ernstig hoofdletsel hebben gehad, zoals een hersenschudding of schedelbasisfractuur (2.8% vs. 1.5%). Hoofdtrauma lijkt dus een mogelijke risicofactor voor ALS te zijn. Hierbij is het echter wel van groot belang om rekening te houden met de mogelijkheid van omgekeerde causaliteit, wat inhoudt dat het hoofdtrauma juist het gevolg zou kunnen van een beginnende maar nog niet onderkende ALS. Rekening houdend met deze eventuele omgekeerde causaliteit hebben we de analyse herhaald, waarbij hoofdtrauma opgelopen binnen vijf jaar voor de eerste symptomen van ALS geëxcludeerd werden. Ook dan blijkt er nog steeds een significant verband tussen hoofdtrauma en ALS, en blijft de hypothese, dat hoofdtrauma een risicofactor is voor ALS, staan. Bovendien wordt er in de literatuur steeds meer aandacht besteed aan de gevolgen van herhaald (licht tot matig) hoofdtrauma, zoals bij boksen, rugby, en ook bij voetbal gezien wordt. Er wordt beschreven dat deze sporters een verhoogd risico hebben om op de lange termijn geheugenstoornissen of andere centraal neurologische aandoeningen (zoals mogelijk ook ALS) te krijgen. Bij bokkers worden tevens dezelfde pathologische afwijkingen in hersenen gevonden als bij ALS (TDP-43 inclusies), wat het verband tussen hoofdtrauma en ALS ondersteunt.

In eerdere onderzoeken is vaak gesuggereerd dat patiënten met ALS een gezonder cardiovasculair profiel hebben: zowel bij patiënten als bij hun familieleden komen cardiovasculaire ziekten minder vaak voor. Ook dit hebben wij in **hoofdstuk 3** gestructureerd onderzocht. Het blijkt dat patiënten met ALS een lager cholesterol gehalte hebben in vergelijking met controlepersonen: ze rapporteren minder vaak hypercholesterolemie, 26% vs. 31%, en ze gebruiken beduidend minder statines, 12% vs. 21%. Dit sluit aan bij de bevinding dat patiënten gemiddeld een lagere body mass index (BMI) hebben, mediaan van 24 kg/m<sup>2</sup> vs. 26 kg/m<sup>2</sup>. Een lager cholesterol gehalte en een lager BMI dragen

bij aan een gezonder cardiovasculair risicoprofiel, maar dit lijkt op een meer indirecte relatie met ALS te berusten. We hebben daarnaast geen verband gevonden tussen ALS en auto-immuun aandoeningen, kanker of psychiatrische aandoeningen.

Voeding bevat allerlei bestanddelen die het risico op ziekten kunnen verhogen (zoals suikers en vetten) of juist kunnen beschermen tegen ziekten (zoals vitaminen). We hebben een grote studie uitgevoerd naar het verband tussen voedingspatronen en het risico op ALS (**hoofdstuk 4**). In samenwerking met Wageningen University is een gevalideerde voedsel-frequentie-vragenlijst afgenomen met meer dan 199 items. Uit de resultaten blijkt dat de totale hoeveelheid energie (in kilocalorieën, kCal) die patiënten tot zich nemen voordat zij ziek worden (2258 kCal), aanmerkelijk hoger is dan bij controlepersonen (2119 kCal). Daarnaast vinden we dat patiënten meer verzadigde vetzuren en cholesterol innemen dan controle personen.

Wanneer je bovenstaande in context tot eerder genoemde resultaten plaatst, lijkt er een verstoring in het evenwicht te zijn tussen input (verhoogde vet inname) en output (lager cholesterol gehalte en lagere BMI). Dit wijst mogelijk op een verstoord energie-metabolisme bij patiënten met ALS, waarbij ze meer calorieën verbranden in rust en bij beweging dan normaal, ook wel hypermetabolisme genoemd. Mogelijk wordt dit veroorzaakt door dysfunctie van de mitochondriën, de energiefabriekjes van het lichaam. De resultaten wijzen niet op een schadelijk effect van een hoogcalorisch dieet. Er is dus geen bezwaar tegen het toevoegen van extra calorieën aan de voeding als compensatiemechanisme voor het hypermetabolisme en om een daling van het lichaamsgewicht te beperken.

Nutriënten die een mogelijke beschermende werking zouden kunnen hebben, zijn onder andere glutamaat en antioxidanten, zoals vitamine C, vitamine E en lycopene. We hebben echter geen verschil kunnen vinden in de inname van deze nutriënten tussen patiënten en controlepersonen. Wel hebben we in **hoofdstuk 4** laten zien dat de inname van alcohol geassocieerd is met een lager risico op ALS. Eerdere studies suggereren een beschermend effect van specifiek rode wijn, welke antioxidanten bevat en mogelijk glutamaat geïnduceerde celdood kan tegen gaan. Wij hebben echter niet kunnen aantonen dat de relatie tussen alcohol en een verlaagd risico op ALS gedreven wordt door het drinken van rode wijn.

## **Deel II - Omgevingsfactoren**

In het eerste hoofdstuk (**hoofdstuk 5**) van het deel over omgevingsfactoren, onderzoeken we beroepsmatige blootstelling aan potentieel schadelijke stoffen, zoals mineralen, dierlijke en plantaardige stoffen, pesticiden, gassen, metalen en oplosmiddelen. Hieruit blijkt dat hoge blootstelling aan diesel uitlaatgassen, zoals bij vrachtwagen- en buschauffeurs, militair personeel,

mijnwerkers en spoorwegwerkers, een verhoogd risico op ALS geeft. Mogelijk dat inhalatie van de schadelijke uitlaatgassen zorgt voor een ontstekingsreactie van de zenuwcellen, dan wel voor oxidatieve stress, leidend tot ALS.

Behalve onderzoek naar blootstellingen vanuit het beroep, hebben we ook blootstelling aan gevaarlijke stoffen onderzocht vanuit de woonomgeving. Hiervoor hebben we historische adresgegevens verzameld van alle patiënten en controlepersonen via de gemeentelijke basisadministratie. Deze adresgegevens hebben we vervolgens in samenwerking met het Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS) kunnen geocoderen en koppelen aan blootstellingskaarten van Nederland. Op deze manier hebben we in **hoofdstuk 6** de relatie tussen blootstelling aan luchtvervuiling vanuit de woonomgeving en ALS op een gestructureerde manier kunnen onderzoeken. De gegevens over de luchtvervuiling concentraties zijn verzameld als onderdeel van een Europese studie, de European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). Uit ons Nederlandse onderzoek blijkt dat patiënten voorafgaand aan het ontstaan van de eerste symptomen gemiddeld een hogere blootstelling hadden aan fijnstof (specifiek fijnstof dat terug te vinden is in roetfilters; PM<sub>2,5</sub>absorbance) en stikstofoxiden (zoals NO<sub>2</sub>), in vergelijking met controlepersonen. Zelfs waarden van luchtvervuiling onder de Europese richtlijn vormen een risico voor ALS. Deze bevindingen onderbouwen tevens de relatie tussen beroepsmatige blootstelling aan diesel uitlaatgassen en een verhoogd risico op ALS zoals beschreven in hoofdstuk 5.

In **hoofdstuk 7** hebben we de geografische gegevens gekoppeld aan een zeer gedetailleerde kaart van Nederland met daarop de precieze locaties van alle hoogspanningslijnen. De afstand tot een hoogspanningslijn staat gelijk aan de mate van blootstelling aan elektromagnetische straling. Voor elk woonadres van patiënten met ALS en controlepersonen hebben we met deze afstandsberekening de mate van blootstelling aan elektromagnetische straling vastgesteld. Uit de analyse blijkt dat er geen verschil is in afstand van de woning tot de hoogspanningslijnen tussen patiënten met ALS en controlepersonen. Blootstelling aan elektromagnetische straling vanuit de woonomgeving is dus geen grote risicofactor voor ALS.

### **Deel III - Genetische factoren**

In het laatste deel van mijn proefschrift heb ik genetische risicofactoren voor ALS onderzocht.

**Hoofdstuk 8** beschrijft twee genen, *hnRNPA1* en *hnRNPA2B1*, waarin DNA mutaties gevonden zijn in Amerikaanse families met multisysteem proteïnopathie (MSP). Dit is een zeldzame aandoening waarbij er degeneratie optreedt in verschillende orgaansystemen van het lichaam (hersenen, motorische zenuwen, spieren of botten) en er sprake is van karakteriserende TDP-43 pathologie. MSP is een overkoepelende naam voor symptomen die passen bij zowel inclusion body myositis (IBM: spierziekte), ziekte van Paget (botziekte), fronto-temporale dementie (FTD), als ook ALS. We hebben

onderzocht of we in een Nederlandse populatie patiënten met enkel ALS (n=1219), FTD (n=142) of IBM (n=32) ook mutaties in deze genen konden vinden. Dit blijkt echter niet het geval, en ook vergelijkbare studies in Frankrijk en Italië rapporteren geen mutaties in deze genen. Hieruit hebben we geconcludeerd dat als mutaties in *hnRNPA1* en *hnRNPA2B1* al een risicofactor voor ALS vormen, dat deze dan in ieder geval zeldzaam zijn.

In **hoofdstuk 9** hebben we onderzocht of er vaker dan verwacht meerdere mutaties in verschillende bekende ALS genen in één persoon samen voorkomen. Uit eerder onderzoek is gebleken dat er bij patiënten met familiale ALS vaker dan verwacht op basis van kans sprake is van meerdere mutaties. In de huidige studie hebben we dit ook onderzocht voor patiënten met sporadische ALS, waarbij de genetische predispositie minder duidelijk is. In deze studie hebben we in 4.1% van de patiënten met ALS en in 1.3% van de controlepersonen meerdere genetische mutaties gevonden. Dit is echter niet significant verschillend als je corrigeert voor de hogere toevalskans van ALS patiënten op één mutatie. Wel hebben we een significant verhoogde frequentie gevonden van patiënten die naast een *C9orf72* repeat expansie nog een tweede variatie hebben in *ATXN2*, *NIPA1* of *SMN1*. Specifiek de combinatie van *C9orf72* en *NIPA1* repeat expansies komen samen vaker voor dan je zou verwachten op basis van kans. Patiënten met een *C9orf72* repeat expansie laten een grote diversiteit zien in klinische presentatie (zoals in leeftijd op het moment van de eerste symptomen, de lokalisatie van de eerste symptomen, of het al dan niet hebben van cognitieve klachten). Het is goed mogelijk dat een tweede genetische variatie (zoals een *NIPA1* repeat expansie) bepaalt welk fenotype iemand ontwikkelt.

## **Discussie**

In **hoofdstuk 10** vat ik de beschreven studies samen en plaats ik deze in een breder kader. Hierin bespreek ik onder andere dat ALS een complexe aandoening is waarbij een combinatie van leefstijlfactoren, omgevingsfactoren en genetische factoren een rol speelt in de pathogenese van ALS. Een recente Europese epidemiologische studie toont aan dat er een combinatie van zes verschillende stappen (factoren) nodig is om ALS te ontwikkelen. De complexiteit van de aandoening is ook terug te zien in de grote klinische diversiteit van ALS, zoals het verschil in leeftijd op het moment van de eerste symptomen (op elke volwassen leeftijd), de lokalisatie van de eerste symptomen (bijvoorbeeld zwakte van de armen of benen, spraak- of slikstoornissen), het al dan niet hebben van cognitieve klachten (in het kader van fronto-temporale dementie) en de ziekteduur. In plaats van het concept ALS als één ziekte zou je kunnen hypothetiseren dat deze diversiteit gezien moet worden in het kader van ALS als syndroom met verschillende subtypen. Verder onderzoek naar subtypen van ALS en combinaties van risicofactoren is nodig om meer inzicht te krijgen in deze dodelijke ziekte.