

# ALS IMPRINTS ON THE BRAIN LINKED TO THE CONNECTOME

Proefschrift Ruben Schmidt - UMC Utrecht Hersencentrum

## Nederlandse samenvatting

### ALS afdrucken op het brein gelinkt aan het connectoom

#### *Amyotrofische laterale sclerose*

Amyotrofische laterale sclerose (ALS) is een progressieve neuromusculaire ziekte waarvoor tot nog toe geen effectieve behandeling bestaat. Patiënten ervaren toenemende spierzwakte, verliezen bewuste spiercontrole en hebben een mediane overleving van drie tot vier jaar vanaf de eerste symptomen. Hoewel de oorzaak van de ziekte nog grotendeels onbekend is, zijn wel verschillende genetische mutaties gevonden die gedragen worden door een substantieel deel van de ALS patiënten, waarvan de expansie in het *C9orf72* gen de meest frequente ALS-gerelateerde mutatie is.

#### *Neuroimaging in ALS*

Medische beeldvormingstechnieken waarmee de hersenen in beeld gebracht kunnen worden (ook wel neuroimaging technieken genoemd), bieden de mogelijkheid om *in vivo* de structuur en activiteit van het brein te bestuderen. Het onderzoek in dit proefschrift maakt gebruik van magnetic resonance imaging (MRI), een veelgebruikte neuroimaging techniek waarmee zowel structuur als activiteit gemeten kan worden. De belangrijkste doelen van neuroimaging studies in ALS zijn: i. het ontrafelen van het onderliggende ziektemechanisme en ii. het ontwikkelen van een

gevoelige en betrouwbare biomarker voor ziekteprogressie.

De eerste neuroimaging studies in ALS, veelal gebaseerd op enkele patiënten en gezonde controle subjecten, rapporteerden effecten in de witte stof van het ruggenmerg de corticospinale baan en het corpus callosum. Later werd ook een dunnere hersenschors gemeten in patiënten ter plekke van de primaire motorische schors. In grotere cohorten werden daarnaast meer subtiele effecten in structurele (witte stof) en functionele connectiviteit gedetecteerd, strekkend tot buiten de motor gebieden.

#### *Het humane connectoom*

De term “connectoom” verwijst naar de complete kaart van alle neurale verbindingen van een zenuwstelsel. Binnen de humane neurowetenschappen wordt het connectoom over het algemeen verstaan als de macroscopische beschrijving van de verbindingen van de hersenen. Men spreekt van het structurele connectoom als verbindingen (bundels van) axonale projecties tussen hersengebieden voorstellen en van het functionele connectoom als de verbindingen gebaseerd zijn op de overlap (correlatie) van activatie niveaus tussen hersengebieden over tijd.

Omdat het brein een geïntegreerd complex systeem is van sterk verbonden neurale gebieden, in plaats van zelfstandig opererende eenheden, is het connectoom zo een geschikte beschrijving van het hersennetwerk om het (dis)functioneren van het brein te bestuderen. In ALS is met behulp van connectoom studies aangetoond dat de verbindingen van met name het motorische netwerk zowel structureel als functioneel aangedaan zijn.

## *Bevindingen*

Het eerste deel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift, hoofdstuk 2 en 3, is methodologisch van aard en draagt bij aan de ontwikkeling van het jonge onderzoeksveld *connectomics*. Vanaf hoofdstuk 4 ligt de focus van het onderzoek op ziekte-effecten van ALS op het brein. Het connectoom is aangedaan in ALS patiënten blijktens verminderde structurele en functionele hersenconnectiviteit, maar lijkt daarnaast ook betrokken bij verspreiding van ziekte over de hersenen.

In het functionele connectoom stellen de verbindingen de overlap (correlatie) voor van activatie niveaus over tijd van de twee hersengebieden horend bij de verbinding. Met deze definitie van functionele verbindingen is ieder mogelijk paar hersengebieden - in zekere mate - met elkaar verbonden en is het functionele connectoom een volledig verbonden netwerk. Netwerkeigenschappen worden veelal uitgedrukt in netwerkmaten zoals kortste padlengte en clustering die hun oorsprong vinden in de grafentheorie, een tak van wiskunde. Om duidelijk onderscheid te kunnen maken tussen de topologie (de structuur in ligging van verbindingen) van een netwerk en de sterktes van verbindingen, worden netwerkmaten vaak op ongewogen, binaire netwerken berekend. Om de topologie van functionele netwerken te bestuderen dient een selectie gemaakt te worden van verbindingen. Een bekende methode hiervoor is het toepassen van een 'proportionele drempel' (proportional thresholding) die bijvoorbeeld de 15% sterkste verbindingen selecteert waardoor het aantal verbindingen over verschillende subjecten constant blijft. De experimenten beschreven in hoofdstuk 2 laten zien dat netwerkmaten berekend op functionele connectooms waarbij deze proportionele drempel toegepast is, sterk beïnvloed worden door de gemiddelde functionele verbindingssterkte van een

subject. In een patiënt – controle setting wordt aangetoond dat verschillen in de gemiddelde functionele verbindingsterkte tussen de twee groepen interfereert met topologische groepseffecten.

In hoofdstuk 3 worden structuur-functie relaties in het brein bestudeerd middels een theoretisch model dat functionele connectiviteit simuleert als synchroniciteit tussen gebieden die verbonden zijn volgens het structurele connectoom. Neurale hubs (regio's met veel structurele verbindingen) blijken in dit model een voortrekkersrol te nemen in het bereiken van synchronisatie tussen gebieden van verschillende functionele modules. Structurele connectiviteitsschade aan deze hubs resulteerde in wijdverspreide effecten die integratie tussen modules en globale synchronisatie verhinderden. Deze simulaties, hoewel gebaseerd op een theoretisch model dat neurale communicatie extreem versimpelt, leren ons meer over hoe functionele effecten kunnen ontstaan als gevolg van (ziekte-gerelateerde) structurele connectiviteitsschade of vice versa.

De gecombineerde structurele en functionele connectoom analyses van hoofdstuk 4 lieten zien dat verminderde structurele en functionele connectiviteit hand in hand gaat in de verbindingen in direct contact met de motorische schors. Connecties verderaf van de motorische schors vertoonden wel structurele afwijkingen maar waren functioneel nauwelijks aangedaan, mogelijk een aanwijzing dat functionele effecten secundair zijn aan de primaire structurele ziekte-effecten.

Hoofdstuk 5 beschrijft een cohort van asymptomatische *C9orf72* mutatie dragers en niet-dragers uit dezelfde grote familie. Hoewel deze mutatiedragers geen

vrij waren van klinische tekenen van ALS, lieten zij wel verdunning van de hersenschors zien in vergelijking met de niet-dragers. Opvallend is dat de verdunning niet gevonden werd in de verwachte motorische schors, maar in temporale en pariëtale gebieden. Er werden geen connectiviteitseffecten in de witte stof waargenomen. Deze observaties duiden mogelijk op ontwikkelingseffecten van de mutatie die dragers predisponeren voor neurodegeneratieve processen die ten grondslag liggen aan ALS op latere leeftijd. Verder wijzen deze resultaten erop dat het ALS neuroimaging fenotype zich pas ontwikkelt kort op de eerste symptomen.

Het anatomische witte stof connectoom is niet enkel onderworpen aan de ziektemechanismes van ALS die resulteren in verminderde hersenconnectiviteit zoals beschreven in hoofdstuk 4. In hoofdstuk 6 wordt beargumenteerd dat het gezonde connectoom verspreidingspatronen van pathogene eiwitten over het brein dicteert. Op neuropathologie gebaseerde stadia worden voorspeld vanuit de topologie van het structurele connectoom. Hoofdstuk 7 laat een zelfde relatie zien tussen de netwerkorganisatie van het gezonde connectoom en ziektestadia in behavioral variant frontotemporale dementie (bvFTD), Alzheimer en Parkinson. Omdat deze ziektes net als ALS tot de zogenaamde proteinopathiën behoren, ziektes die geassocieerd zijn met misvouwen eiwitten, zou het witte stof connectoom de infrastructuur kunnen zijn voor verspreiding van ziekte over het brein.

Samenvattend, de bevindingen van dit proefschrift relateren aan een verscheidenheid aan ALS afdrucken op het brein zoals structurele en functionele

connectiviteitsveranderingen, verdunning van de hersenschors in asymptomatische *C9orf72* mutatie dragers en verspreidingspatronen van misvouwen eiwitten. De volgorde waarin deze reeks aan verschillende ziekte-effecten optreden en of zij de consequentie zijn van een en hetzelfde onderliggende ziektemechanisme is onduidelijk, maar een mogelijke volgorde die past bij het beeld dat geschetst wordt door de bevindingen uit dit proefschrift is de volgende:

1. aanwezigheid van neuronale inclusies van pathogene eiwitten
2. grijze stof atrofie (verdunning van de hersenschors)
3. degeneratie van axonale projecties van aangedane neuronen (verminderde structurele connectiviteit)
4. veranderde regionale hersenactivatie en synchronisatie niveaus (verminderde functionele connectiviteit)
5. Verspreiding van pathogenen via de witte stof verbindingen van het structurele connectoom