

Streszczenie rozprawy doktorskiej lek. Natalii Grabskiej pt.: „ Zaburzenia sakkad jako marker progresji w chorobie Huntingtona”

Wstęp: Choroba Huntingtona (ang. *Huntington's disease*, HD) jest dziedziczną autosomalnie dominującą chorobą neurodegeneracyjną, prowadzącą do postępujących zaburzeń ruchowych, poznawczych i behawioralnych. Początek choroby przypada na 40-50 rok życia. U części pacjentów choroba rozwija się przed 20 rokiem życia. Jest to tzn. młodzieńcza postać choroby Huntingtona (ang. *Juvenile Huntington's disease*, JHD), której przebieg kliniczny i obserwowane objawy często różnią się od pacjentów, którzy rozwinęli chorobę w wieku dorosłym. Kliniczna diagnoza HD stawiana jest na podstawie obecności objawów ruchowych, jednak już w stadium przedobjawowym choroby pojawiają się subtelne zaburzenia funkcji poznawczych, ruchowych i behawioralnych. Identyfikacja bezobjawowych nosicieli mutacji genu *HTT* (ang. *Huntingtin protein*, *HTT*), u których obecne są już pierwsze, dyskretne symptomy choroby świadczące o rozwijających się zmianach neuropatologicznych w OUN, pozwoliłaby na wprowadzenie odpowiedniego leczenia farmakologicznego na etapie, kiedy nie doszło jeszcze do nieodwracalnych zmian zanikowych. Aktualnie prowadzonych jest wiele badań celem detekcji tych dyskretnych zaburzeń ruchowych, poznawczych bądź zmian w badaniach obrazowych, które jednocześnie mogłyby posłużyć jako markery postępu choroby wśród objawowych pacjentów z HD. Jednym z takich badań jest ocena ruchów sakkadowych gałek ocznych. Sakkady są to szybkie, skokowe ruchy gałek ocznych, których zadaniem jest przeniesienie obrazu interesujące obiektu w polu widzenia na dołek środkowy siatkówki tak by był widziany wyraźnie. Wyróżnia się sakkady odruchowe i wolicjonalne. Zaburzenia sakkad są obecne w okresie bezobjawowym choroby, na wiele lat przed kliniczną diagnozą HD. Następnie ulegają stopniowej progresji, korelując ze stopniem zaawansowania choroby, innymi zaburzeniami ruchowymi, poznawczymi oraz nieprawidłowościami widocznymi w badaniach obrazowych. Dostępnych jest kilka systemów oceniających ruchy sakkadowe gałek ocznych. Jednym z nich jest urządzenie sakkadometr, który pozwala na łatwą i szybką ocenę parametrów sakkad, takich jak: latencja, prędkość, amplituda i czas trwania sakkad.

Cel badania: Celem niniejszej pracy była charakterystyka zaburzeń sakkad u bezobjawowych nosicieli mutacji genu *HTT* oraz objawowych pacjentów HD

w różnym stadium zaawansowania choroby oraz pacjentów JHD. Na tej podstawie dokonano porównania zaburzeń sakkad pomiędzy bezobjawowymi nosicielami mutacji *HTT* i pacjentami HD i JHD oraz oceny progresji sakkad w ciągu trzech lat trwania choroby, oceny korelacji pomiędzy zaburzeniami sakkad a wybranymi danymi klinicznymi, stopniem zaawansowania choroby ocenionym za pomocą skal CGI i UHDRS-TFC, zaburzeniami funkcji ruchowych ocenionymi za pomocą skali UHDRS-TMS oraz funkcji poznawczych ocenionymi za pomocą odpowiednich testów neuropsychologicznych. Dokonano także oceny korelacji pomiędzy zaburzeniami sakkad a zanikiem istoty szarej korowej i podkorowej oraz uszkodzeniem istoty białej ocenionym za pomocą badania tensora dyfuzji rezonansu magnetycznego.

Material: Do badania włączono grupę 101 osób z mutacją genu *HTT*: 14 osób w stadium przedobjawowym choroby (8 kobiet, wiek: $33,4 \pm 7,6$) i 87 objawowych pacjentów, podzielonych na 75-osobową grupę pacjentów z HD (38 kobiet, wiek: $50,7 \pm 10,7$) i 12 pacjentów z JHD (6 kobiet, wiek: $26,3 \pm 4,2$). Pacjenci z HD zostali podzieleni na trzy grupy ze względu na stopień zaawansowania choroby oceniony w skali UHDRS-TFC, na grupę wczesno-, średnio i zaawansowanych chorych. Do każdej grupy uczestników badania z mutacją genu *HTT* dobrano pod względem płci i wieku (± 3 lata) odpowiednie grupy kontrolne. Łącznie do grupy kontrolnej zrekrutowano 51 osoby.

Metodologia: Przeprowadzono badanie główne i dwa badania dodatkowe. W ramach badania głównego wszystkie osoby z mutacją genu *HTT* i uczestnicy z grupy kontrolnej mieli wykonane następujące procedury: badanie neurologiczne; badanie funkcji poznawczych za pomocą testów neuropsychologicznych, tj. testu Stroopa, VFT-P, VFT-S, TMT A i B, SDMT oraz podstawowe badanie sakkadometryczne obejmujące ocenę sakkad odruchowych, sakkad naprzemiennych i sakkad kierowanych wskazówką. U 16 objawowych pacjentów z HD procedury wykonane podczas pierwszej wizyty zostały powtórzone po 3 latach trwania choroby. W pierwszym badaniu dodatkowym u 14 bezobjawowych nosicieli mutacji genu *HTT*, 50 objawowych pacjentów z HD i JHD oraz 42-osobowej grupie kontrolnej wykonano dodatkowe badanie sakkadometryczne obejmujące badanie sakkad ekspresowych, antysakkad i sakkad kierowanych pamięcią. W drugim badaniu dodatkowym wzięło udział 20 osób w stadium przedobjawowym i objawowym HD

oraz 20 osobowa grupa kontrolna. Wykonano badanie MRI głowy, za pomocą którego oceniono objętość struktur: całego mózgu, istoty białej i szarej, jądra ogoniastego i skorupy; grubość kory mózgu w obszarach, w których zlokalizowane były następujące struktury: pierwszo – i drugorzędowej kory wzrokowej, cMFG, rMFG, SFG, IPL, ACC oraz badanie metodą tensora dyfuzji MRI, w którym oceniono parametry FA, MD, AD, RD włókien pomiędzy ośrodkami odpowiedzialnymi za ruchy gałek ocznych zlokalizowanych w korze a pniem mózgu i jądrem ogoniastym.

Wyniki: W grupie bezobjawowych nosicieli mutacji w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono wydłużenie czasu trwania sakkad odruchowych ($p=0,02$) oraz zwiększenie różnicy latencji sakkad w teście nakładania i teście przerwy ($p=0,03$). Objawowi pacjenci różnili się od grupy kontrolnej wynikami większości parametrów sakkad odruchowych i wolicjonalnych. Wśród parametrów sakkad stwierdzono wydłużenie latencji, również w teście nakładania i teście przerwy, zmniejszenie amplitudy, zwiększenie odchylenia standardowego latencji i amplitudy, wydłużenie czasu trwania i zmniejszenie prędkości sakkad odruchowych i wolicjonalnych. Ponadto objawowi pacjenci z HD wykonywali istotnie mniej sakkad ekspresowych, sakkad naprzemiennych oraz popełniali więcej błędów w teście antysakkadowym, teście sakkad kierowanych wskazówką i pamięcią ($p<0,01$). Objawowi pacjenci z HD i JHD różnili się tylko pojedynczymi parametrami. Pacjenci z JHD wykonywali sakkady o istotnie dłuższej latencji w teście przerwy ($p<0,01$) oraz mniejszej wartości różnicy latencji w teście nakładania i teście przerwy ($p<0,01$). Ponadto popełnili mniej błędów w teście sakkad kierowanych wskazówką ($p<0,01$), sakkady te miały dłuższy czas trwania ($p<0,01$) w porównaniu do pacjentów z HD. Analizując wyniki objawowych pacjentów z HD w różnym stadium zaawansowania choroby stwierdzono, że wraz z zaawansowaniem choroby dochodziło do wydłużenia latencji i zwiększenia odchylenia standardowego latencji sakkad odruchowych, zmniejszenia odsetka sakkad ekspresowych, zmniejszenia amplitudy i prędkości sakkad naprzemiennych oraz zwiększenia odsetka popełnianych błędów w teście sakkad kierowanych wskazówką i kierowanych pamięcią. Porównując wyniki sakkad po 3 latach trwania choroby u objawowych pacjentów z HD nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic.

W grupie bezobjawowych nosicieli mutacji nie stwierdzono korelacji parametrów sakkad z liczbą powtórzeń CAG oraz prawdopodobnym wiekiem początku choroby. W grupie objawowych pacjentów z HD stwierdzono silne korelację pomiędzy parametrami sakkad a wiekiem początku choroby, skalami oceniającymi stopień zaawansowania choroby UHDRS-TFC i CGI oraz zaburzeniami funkcji ruchowych ocenionymi w skali UHDRS-TMS. Oceniając zależność pomiędzy parametrami sakkad a zaburzeniami funkcji poznawczych stwierdzono pojedyncze, silne korelację wyników sakkad z wynikami testów: Stroopa, VFT-S i SDMT w grupie osób w przedklinicznym stadium choroby. W grupie objawowych pacjentów stwierdzono, że zaburzenia sakkad korelowały z wynikami wszystkich testów neuropsychologicznych, prócz testu MMSE. Najwięcej zależności obserwowano pomiędzy odsetkiem błędów w teście antysakkadowym, sakkadach kierowanych wskazówką i pamięcią a testem Stroopa, VFT-S, TMT B i SDMT.

Wydłużenie latencji sakkad odruchowych korelowało z zanikiem całego mózgu, istoty białej i szarej, natomiast zwiększony odsetek błędów w teście sakkad kierowanych wskazówką korelował z zanikiem całego mózgu oraz istoty szarej. Zwiększona latencja sakkad odruchowych i wolicjonalnych korelowała z zanikiem ciała modzelowatego, podczas gdy spadek prędkości maksymalnej i amplitudy tych sakkad korelował z zmniejszeniem objętości jądra ogoniastego i skorupy. Zmniejszenie prędkości i wydłużenie czasu trwania sakkad odruchowych i wolicjonalnych oraz spadek amplitudy sakkad wolicjonalnych korelowały z zanikiem pierwszo- i drugorzędowej kory wzrokowej. Wydłużenie latencji sakkad odruchowych korelowało z zanikiem IPL obu półkul mózgu, rMFG oraz SFG lewej półkuli mózgu. Wraz ze wzrostem odsetka błędów w teście sakkad kierowanych wskazówką dochodziło do zmniejszenia grubości kory cMFG prawej półkuli mózgu oraz SFG obu półkul mózgu. Analizując korelację pomiędzy parametrami sakkad odruchowych i wolicjonalnych a wynikami tensora dyfuzji szlaków istoty białej stwierdzono liczne korelację pomiędzy danymi parametrami.

Wnioski: Zaburzenia sakkad występują już u bezobjawowych nosicieli mutacji genu *HTT*. Nosiciele mutacji w porównaniu do grupy kontrolnej wykonywali sakkady odruchowe o wydłużonym czasie trwania oraz zwiększonej różnicy latencji sakkad odruchowych w teście nakładania i przerwy. Objawowi pacjenci z HD i JHD charakteryzowali się licznymi zaburzeniami sakkad odruchowych i wolicjonalnych

polegającymi na wydłużeniu latencji i czasu trwania, zwolnieniu prędkości, zmniejszeniu amplitudy i zmniejszeniu odsetka sakkad ekspresowych. Dodatkowo w badaniach oceniających sakkady wolicjonalne stwierdzono zwiększenie odsetka błędów i zmniejszenie liczby sakkad naprzemiennych. Pacjenci z HD i JHD nie różnili się pod względem zaburzeń sakkad, poza nielicznymi wyjątkami. Zaburzenia sakkad ulegały nasileniu wraz z progresją choroby jednak zmiany te nie były wystarczająco czułe, aby odzwierciedlać postępowanie choroby w czasie 3 lat. Parametry sakkad korelowały z zaburzeniami funkcji poznawczych w grupie bezobjawowych nosicieli mutacji genu *HTT*. W grupie objawowych pacjentów z HD zaburzenia sakkad korelowały zarówno z czasem trwania choroby, stopniem zaawansowania choroby ocenionym w skalach UHDRS-TFC i CGI, z zaburzeniami funkcji ruchowych ocenionych w skali UHDRS-TMS oraz zaburzeniami funkcji poznawczych ocenionymi za pomocą testów: Stroopa, VFT-S, TMT B i SDMT. Zaburzenia sakkad korelowały głównie z zaburzeniami funkcji wzrokowo-przestrzennych. Zaburzenia sakkad korelowały także z zanikiem całego mózgu, z zanikiem istoty szarej korowej i podkorowej oraz z uszkodzeniem szlaków istoty białej ocenionym metodą tensora dyfuzji MRI.

SUMMARY

Background: Huntington's disease (HD) is an autosomal dominant, neurodegenerative disorder, characterized by progressive motor, cognitive and psychiatric disturbances. A mean age of HD onset is 40–50 years. Some patients develop HD before the age of 20. This variant of HD is called a juvenile Huntington's disease (JHD), which is characterized by a different clinical course and symptoms from patients with HD. The clinical diagnosis is based on the presence of diagnostic motor signs, but many years before diagnosis, in the premanifest period of the disease, there are subtle cognitive, motoric and behavioral symptoms underlying neuropathological changes. Identification of premanifest carriers of the gene, who presents with this subtle symptoms, could allow us to start with disease-modifying therapy, when irreversible changes of the brain are not yet presents. Many studies have been performed to find the most suitable symptoms revealing motoric, cognitive or behavioral deterioration and could be used as a biomarker of the disease progression. Saccades seem to be such a symptom. Saccades are rapid eye movements, which bring the point of the object of interest onto the fovea of the retina, where it can be seen the best. We distinguish the reflexive and volitional saccades. Saccades impairment is present in the premanifest period of the disease and progress successfully during the course of HD. It correlates with the stage of the disease, cognitive and motoric symptoms and neuropathological changes visible in the neuroimaging. We have a few systems that measure saccades. One of them is saccadometry, which allows us to measure all parameters of saccades: latency, velocity, amplitude and duration.

Goal: The goal of the study is to characterize saccadic abnormalities in premanifest carriers of the gene and HD patients in a different stage of the disease, compare saccades impairment in patient with HD and JHD, assess the progression of saccades abnormalities during the 3 – years period of the disease, assess correlation between saccades impairment and clinical information, scales of the disease progression – UHDRS-TFC and CGI, motor symptoms assessed with the UHDRS-TMS scale and cognitive impairment assessed with neuropsychological tests, assess correlation between saccades abnormalities and atrophy of grey and white matter and dysfunction of the white matter track in the tensor-based MRI neuroimaging.

Material: 101 gene carriers were included into the study: 14 in the premanifest stadium (8 women, age: $33,4 \pm 7,6$) and 87 manifest patients in the different disease stadium: 75 patients with HD (38 women, age: $50,7 \pm 10,7$) and 12 patients with JHD (6 women, age: $26,3 \pm 4,2$). Patients were divided into 3 stages on the basis of the UHDRS-TFC: mild, moderate and severe HD. Participants in the control group were matched according to age (± 3) and sex to the each gene carriers group. 51 healthy control subjects were included.

Methods: The study was divided into the main study and two additional sub-studies. During the main study all participants underwent: neurological examination, cognitive assessment consisting of the battery of neuropsychological tests: Stroop'a, VFT-P, VFT-S, TMT A and B, SDMT and basic saccadic examination consisting of 3 paradigms: reflexive saccades, alternation saccades and centrally cued saccades. 16 symptomatic participants repeated this procedure after 3 years period. During the first sub-study, 64 premanifest and manifest gene carriers and 42 control subjects underwent additional saccadic assessment consisting of 3 paradigms: express saccades, antisaccades and memory guided saccades. In the second sub-study 20 gene carriers in premanifest and manifest stage of the disease and 20 control subjects underwent MRI neuroimaging. The volume of the whole brain, grey and white matter, nucleus caudate and putamen; thickness of visual cortex, cMFG, rMFG, SFG, IPL and ACC was made. The tensor based MRI was made to assess the white matter integrity. The diffusion parameters: FA, MD, AD and RD were made for the white matter tracks connecting cortex and brain stem and cortex and nucleus caudate.

Findings: In premanifest gene carriers, compared to control group, reflexive saccades were characterized by prolonged duration ($p=0,02$) and increased difference between latency in the overlap and gap paradigm ($p=0,03$). Reflexive and volitional saccades parameters in symptomatic patients differed from the results in the control group. The study revealed prolonged latency, also in the overlap and gap paradigm, decreased amplitude, increased distractibility index of latency and amplitude, prolonged duration and slowness of maximal velocity of reflexive and volitional saccades. Additionally manifest patient made decreased number of express saccades, alternative saccades and increased error rate in the antisaccadic test, centrally cued saccades and memory guided saccades ($p<0,01$). There was just few differences between saccades parameters in HD and JHD patients. In JHD patients saccades in

the gap paradigm have prolonged latency ($p < 0,01$) and the difference between latency in the overlap and gap paradigm was smaller ($p < 0,01$). Additionally, in the centrally cued saccades the error rate was smaller ($p < 0,01$) and duration was prolonged ($p < 0,01$) as compared to manifest HD patients. Saccades abnormalities worsen with disease stages in manifest patients with HD. Prolonged latency, increased distractibility index of reflexive saccades, increased number of express saccades, increase amplitude and maximal velocity of alternative saccades and increased error rate in centrally cued saccades and memory-guided saccades were observed. Compared saccades results after 3 years period in manifest HD patients show no statistically significant difference. There were no correlations between saccades' parameters and number of CAG repeats and probable age of disease onset in premanifest gene carriers. In manifest patients with HD the strong correlations were observed between saccades abnormalities and the age of HD onset, the disease progression assessed with scales: UHDRS-TFC and CGI, motor symptoms assessed with UHDRS-TMS scale. In comparison of saccades parameters and results of neurocognitive tests, some correlations were observed in premanifest gene carriers, especially between saccades results and tests: Stroop'a, VFT-S and SDMT. In manifest patients with HD this correlations were more prominent, and saccades abnormalities correlated with results of all neurocognitive test, except MMSE. The study showed strong correlation between increased error rate in antisaccadic test, centrally cued saccades and memory-guided saccades and tests: Stroop'a, VFT-S, TMT B and SDMT. There was some correlation between saccades abnormalities and neuroimaging parameters in manifest patients with HD. The latency of reflexive saccades correlated negatively with atrophy of whole brain, white and grey matter, and increased error rate of centrally cued saccades correlated negatively with atrophy of the brain and grey matter. The latency of reflexive and volitional saccades correlated negatively with atrophy of corpus callosum. The maximal velocity and amplitude correlated positively with decreased volume of nucleus caudate and putamen. Decreased maximal velocity and increased duration of reflexive and volitional saccades and decreased volitional saccades amplitude correlated with decreased thickness of visual and extrastriate cortex. Decreased reflexive saccades latency correlated with atrophy of IPL in both hemispheres, rMFG and SFG in the left hemisphere. Increased error rate in centrally cued saccades correlated with

atrophy of the cMFG in right hemisphere and SFG in both hemispheres. Correlation of saccades parameters and results of tensor based neuroimaging were revealed.

Interpretation: Saccades abnormalities are present in the premanifest period of the disease. They could precede the disease onset for many years, even 20 years. In premanifest gene carriers, in the age distant from probable disease onset, reflexive saccades were characterized by prolonged duration and increased difference between latency in the overlap and gap paradigm, as compared to control group. In manifest period of the disease many saccades impairments were noted. Reflexive and volitional saccades in manifest patients with HD and JHD were characterized by prolonged latency and duration, decreased maximal velocity and amplitude and decreased number of express saccades. Additionally, increased error rate of antisaccades, centrally cued and memory guided saccades and decreased number of alternation saccades were observed. Saccades abnormalities in HD and JHD patients were very similar, except for some differences. Saccades impairment progressed during the disease duration, but saccadic examination could not be so sensitive to show changes of disease progression during the short period of 3 years. Correlation between saccades abnormalities and results of neurocognitive tests were found in premanifest gene carriers. In manifest patients with HD saccades abnormalities correlated with the disease duration, diseases stages according to scale UHDRS-TFC and CGI, motor changes in UHDRS-TMS scale and cognitive disturbances measured in scales: Stroop'a, VFT-S, TMT B and SDMT. Most of this tests assessed visual-scanning function. Saccades abnormalities correlated with atrophy of the brain, grey and white matter, cortical and subcortical grey matter and also impairment of white track showed in the tensor diffusion imaging.