

**SABATO 9 NOVEMBRE 2019**

**GENOVA** AULA MAGNA DELLA CLINICA NEUROLOGICA  
LARGO PAOLO DANEI, 3



**IL CERVELLO  
CHE CAMBIA 9**

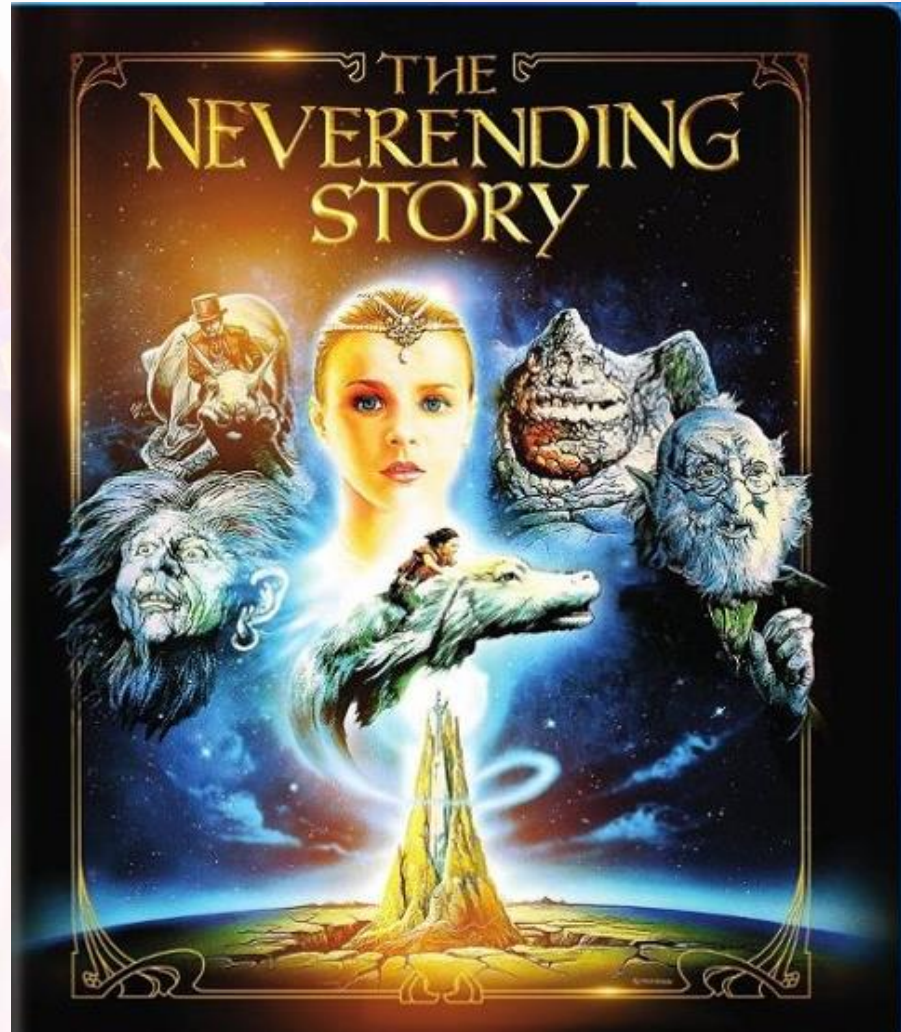
**DISORDINI COGNITIVI E DEMENZE:  
RECENTI AVANZAMENTI E FRONTIERE DI RICERCA**

Il Disease Management Team del IRCCS Ospedale Policlinico San Martino

# Genetica medica

Paola Mandich

## Tau and TDP-43



*Lab Invest.* 2019 July ; 99(7): 993–1007. doi:10.1038/s41374-019-0196-y.

# Tau and TDP-43 proteinopathies: kindred pathologic cascades and genetic pleiotropy

Yevgen Chornenkyy<sup>1</sup>, David W. Fardo<sup>2,3</sup>, and Peter T. Nelson<sup>1,2</sup>

Acta Neuropathologica  
<https://doi.org/10.1007/s00401-019-02077-x>

## REVIEW


### The basis of clinicopathological heterogeneity in TDP-43 proteinopathy

Ito Kawakami<sup>1,2</sup> · Tetsuaki Arai<sup>1,3</sup> · Masato Hasegawa<sup>1</sup> 

*Neuropathology and Applied Neurobiology* (2019), 45, 19–40

doi

### Review: Neuropathology of non-tau frontotemporal lobar degeneration

M. Neumann\*,†  and I. R. A. Mackenzie‡

*Neuropathology* 2018; **38**, 72–81

doi:10.1111/neup.

Symposium: Comorbid pathologies of neurodegenerative diseases

Possible concurrence of TDP-43, tau and other proteins in amyotrophic lateral sclerosis/ frontotemporal lobar degeneration

Takahiro Takeda\* 

## Di cosa parleremo oggi

- Malattie da accumulo di proteine a struttura alterata: «misfoldingpathies»
- Ruolo degli studi clinico-anatomopatologici nella definizione di marcatori di deficit cognitivo
- Effetti «upstream» nelle proteinopatie
- Effetti genetici pleiotropici
- Effetti «downstream» nelle proteinopatie
- Conclusioni

# «Misfoldingpathies» o proteinopatie

Fattori, genetici e non, conducono alla formazione, aggregazione e propagazione di proteine mal ripiegate (misfolded) che possono essere causa di effetti tossici (gain of function) o di perdita della funzione fisiologica della proteina coinvolta con successivo effetto sui pathways «a valle».

In generale le proteinopatie:

- ⇒ colpiscono regioni specifiche e distinte del SNC
- ⇒ coinvolgono networks diversi
- ⇒ le proteine mal ripiegate assumono caratteristiche diverse in cellule diverse e in regioni cerebrali differenti

- **proteinopatie tau- e TDP43-correlate**

- ⇒ **marcatori di deficit cognitivo**



# «Misfolding» delle proteine

- In condizioni normali è corretto da:
  - ⇒ degradazione proteina via ubiquitina
  - ⇒ proteine chaperon
    - diminuite nell'invecchiamento fisiologico e in diverse patologie neurodegenerative (AD, PD, HD...)
- In parallelo o in successione diversi fattori biochimici/cellulari possono essere associati a suscettibilità o a resilienza cellulare:
  - ⇒ modificazioni post traslazionali
  - ⇒ autofagia
  - ⇒ processi lisosomiali
  - ⇒ funzioni mitocondriali
  - ⇒ stress ossidativo
  - ⇒ trasporto nucleo-citoplasma
  - ⇒ neuroinfiammazione

# «Misfoldingpathies»

- malattia di Alzheimer
- parkinsonismi atipici
- demenze frontotemporali
- ...

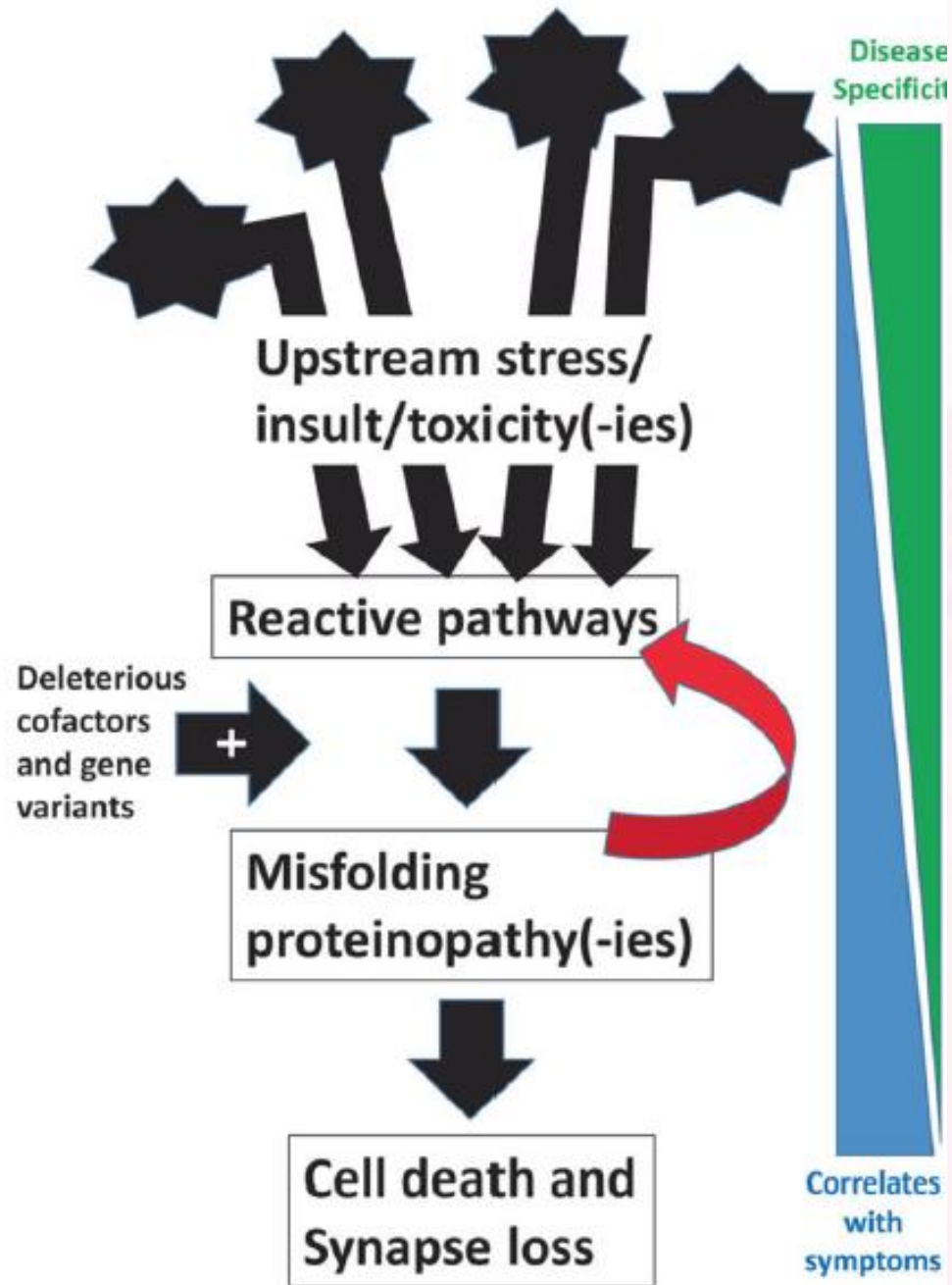
In generale il quadro e il decorso clinico correlano con il pattern di distribuzione anatomico

⇒ ? pazienti, con stesso pattern, hanno decorso diverso (sia per velocità di progressione, sia per tipologia di sintomi)

# IL CERVELLO CHE CAMBIA 9

## Variabili

- differenze di conformazione di proteine patologiche
- fattori genetici
- fattori ambientali: suscettibilità-resilienza di diversi tipi cellulari





# Demenza frontotemporale (FTLD)

- sindrome clinicamente eterogenea caratterizzata da cambi progressivi nel comportamento, personalità e linguaggio
- nel 25-50% dei pazienti è presente storia familiare con mutazioni in geni diversi
  - ⇒ neuropatologia associata a FTD eterogenea anche se la degenerazione dei lobi frontali e temporali è una caratteristica relativamente comune
- determinazione biochimica delle componenti patologiche
  - ⇒ suddivisione in ampie categorie basate sul difetto molecolare **maggiormente rappresentativo**, ma non unico.

# Frontotemporal lobar degeneration

	FTLD-tau	FTLD-TDP	FTLD-FET	FTLD-UPS
Molecular subgroup				
Deposited proteins	tau	TDP-43 (+DPR in <i>C9orf72</i> )	FUS EWS TAF15	?
Pathological subtypes	PiD CBD PSP GGT AGD	Subtypes A-D	aFTLD-U BIBD NIFID	
Associated genes	<i>MAPT</i>	<i>GRN</i> <i>C9orf72</i> <i>VCP</i> ( <i>TARDBP</i> ) ( <i>TBK1</i> )	( <i>FUS</i> )	<i>CHMP2B</i>

# tau

- microtubule-associate protein tau:
  - ⇒ assemblaggio e stabilizzazione microtubuli
    - mantenimento integrità neurone e trasporto assonale
  - ⇒ sei isoforme
- taupatie:
  - ⇒ accumulo intracellulare di tau iperfosforilata
  - ⇒ differiscono per grado di fosforilazione e per contenuto delle diverse isoforme
    - specificità cellulare e morfologia delle inclusioni
- 40% di tutti i casi FTLD

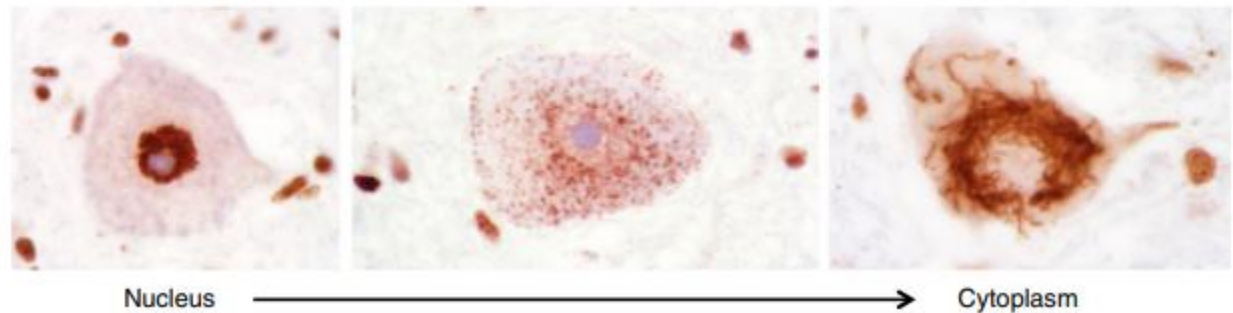
# TDP-43

- 50% di tutti i casi di FTLD (e FTD/ALS e ALS)
- proteina nucleare attivamente importata dal citoplasma (rapporto nucleo/citoplasma 70-30%)
  - ⇒ regolazione metabolismo RNA
    - legame con >6000 RNA (in particolare quelli connessi allo sviluppo neuronale e alle funzioni sinaptiche)

Mol Neurobiol (2018) 55:7789–7801

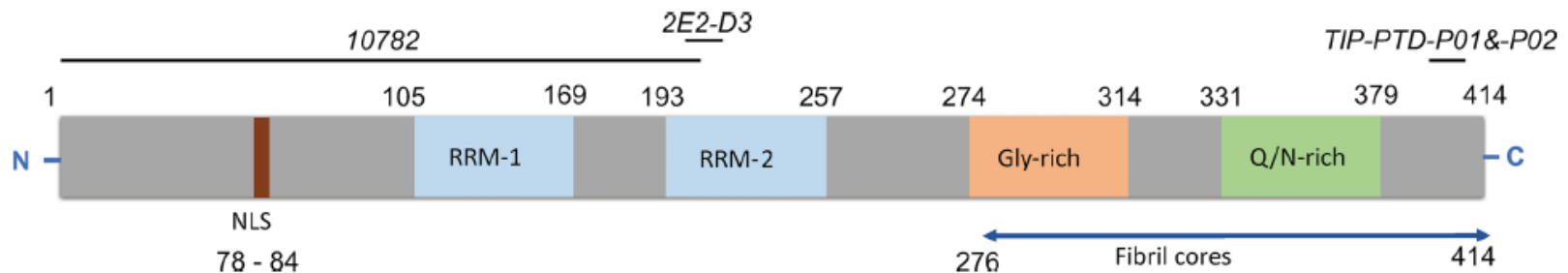
7791

**Fig. 2** TDP-43 mislocalization from the nucleus into the cytoplasm and aggregate formation in motor neurons of the spinal cord of amyotrophic lateral sclerosis



# TDP-43

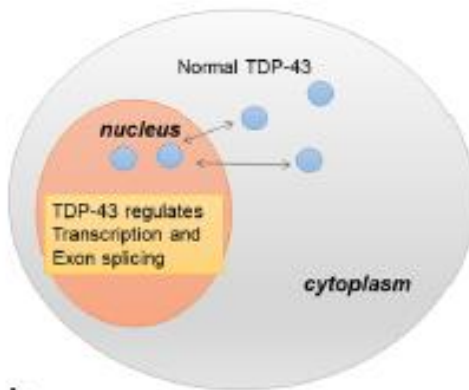
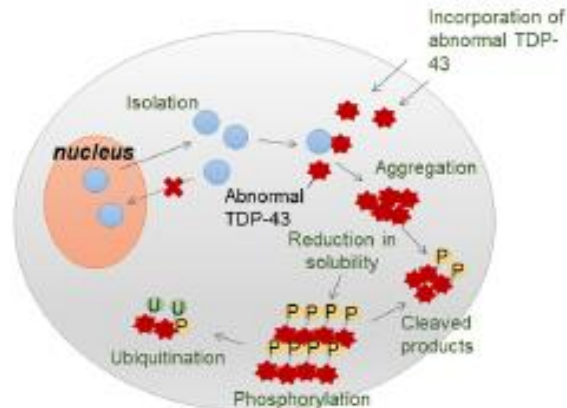
- C-terminale: prion-like domain:
  - ⇒ in modelli animali TDP-43 patologica induce la diffusione di patologia secondo un modello tempo- e regione-dipendente.
  - ⇒ la stessa forma di proteina anomala è depositata in regioni cerebrali diverse



**Fig. 1** Schematic diagram of TDP-43 functional regions involved in the pathogenesis and progression of TDP proteinopathy. TDP-43 in human brain is a heterogenous ribonucleoprotein with two RNA recognition motifs (RRM-1 and 2) in the middle portion and with a glycine-rich domain and Q/N-rich domain in the C-terminal region. Protein in abnormal conformations is accumulated in brains of patients

in the form of amyloid-like fibril structures. The blue arrow indicates the protease-resistant fibril core. Mapping of three selected antibodies to the TDP-43 protein is shown. Antibodies in italics are widely used in TDP-43 immunohistochemical studies [62]. *NLS* nuclear localization signal, *RRM* RNA-recognition motif, *Gly-rich* glycine-rich domain



**a***Normal physiological condition**Pathophysiological condition***Postulated pathway for intracellular propagation**

- Secretion by exocytosis
- Intraneuronal transport (anterograde and/or retrograde)
- Exosomes, microvesicles and tunneling nanotubes
- Translocation by non-neuronal cells
- Bodily fluids
- Through synapses or synapse-like structures
- Active and/or passive endocytosis

**b***Type A strain**Type B strain**Type C strain**Type D strain*

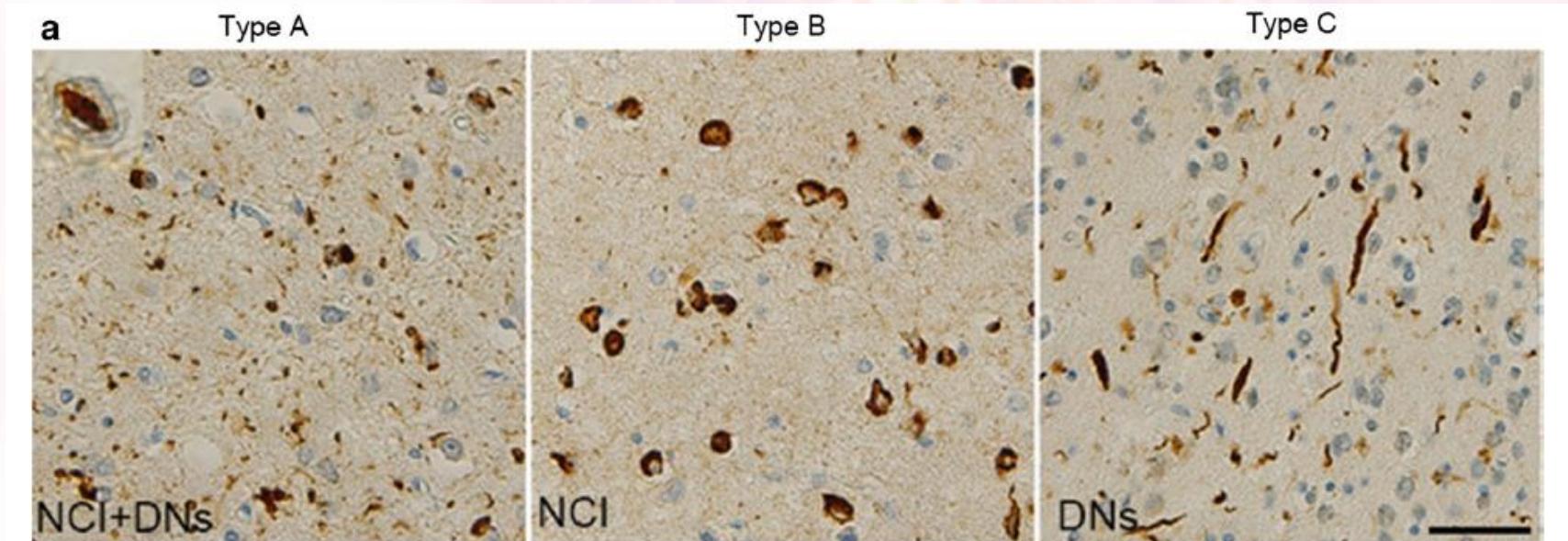
*Different strains formed in different cell types  
(neuron, glia, other cell types)*

*Multiplication of the abnormal TDP-43*

*Multiplication of the abnormal TDP-43*


# Patologia TDP-43-correlata

- ogni sindrome clinica è associata con un diverso coinvolgimento cerebrale topografico di deposito di proteina patologica
  - ⇒ depositi di diverso tipo: inclusioni citoplasmatiche neuronali (NCI), neuriti distrofiche (DN), inclusioni gliali citoplasmatiche (GCI)
- studi neuropatologici hanno permesso stadiazioni diverse di patologie associate a TDP-43





## Symposium: Comorbid pathologies of neurodegenerative diseases

Possible concurrence of TDP-43, tau and other proteins in amyotrophic lateral sclerosis/ frontotemporal lobar degeneration

Takahiro Takeda\* 

**Table 1** Topographical distribution and cytopathology of TDP-43 and tau in ALS/FTLD-TDP and AD

	ALS	Prevalence	AD
<b>TDP-43</b>	<b>Distribution</b> Motor cortex Spinal cord and brainstem motor neurons Reticular formation Inferior olivary nucleus Striatum Amygdala Transentorhinal cortex, dentate gyrus		Amygdala, hippocampus Inferior olivary nucleus Frontal cortex Striatum
	<b>Cytopathology</b> Rounded, skein-like, dot-like Many NCI, few DN Neuronal, oligodendroglial		Many NCI, few DN Many NCI, short DN Many DN, few NCI
<b>Tau</b>	<b>Distribution</b> Amygdala Entorhinal cortex Superior frontal gyrus Cingulate gyrus Striatum		Transentorhinal cortex Entorhinal cortex, CA1 Meynert nucleus Temporo-occipital cortex, CA2-3 Association neocortex, dentate gyrus Pyramidal neurons of neocortex Primary visual cortex
	<b>Cytopathology</b> Similar to AD Neuronal, glial inclusion Tau <sub>45–230</sub> fragments Similar to AD		Neurofibrillary tangles, threads

AD, Alzheimer disease; ALS, amyotrophic lateral sclerosis; DN, dystrophic neurites; FTLD/TDP, frontotemporal lobar degeneration with TDP-43; NCI, neuronal cytoplasmic inclusions; TDP-43, transactivation response DNA-binding protein 43 kDa.

## TDP-43 proteinopatia: possibili meccanismi

- Aumento dello stress ossidativo → fosforilazione, insolubilizzazione e distribuzione citoplasmatica di TDP-43
- Nelle inclusioni TDP-43 è iperfosforilata (Ser al C-term)
  - ⇒ ? ruolo delle kinasi
- Difetti di autofagia → eliminazione via autofagosoma di proteine patologiche
  - ⇒ la diminuzione di autofagia rende i neuroni prone all'accumulo patologico di TDP43
  - ⇒ mTOR inibitori: aumento autofagia, diminuzione inclusioni TDP-43
  - ⇒ deficit di progranulina: diminuzione autofagia, accumulo TDP-43



## «Misfoldingpathies: pathological synergy»

= accumulo di una specie proteica che condiziona diversi processi cellulari e innesca, nella stessa cellula, il misfolding di altre proteine accelerando il processo di declino cognitivo

- sinergia patologica tra tau e TDP-43
  - ⇒ nel 25% dei pazienti con proteinopatie TDP-43 c'è colocalizzazione di fosfo tau e di TDP-43
  - ⇒ molte taupatie (CBD, PSP, AGD, ...) hanno colocalizzazione di depositi di entrambe le proteine nella stessa cellula neuronale
  - ⇒ colocalizzazione tau e TDP-43 in amigdala di pazienti con AD e estese all'ippocampo in pazienti con AD avanzata



# Pleiotropia nella neurodegenerazione e nelle proteinopatie tau e TDP-43

- *MAPT*
- *TREM106B*
- *GRN*
- *APOE*



# *MAPT*

- mutazioni
  - ⇒ rare, ad elevata penetranza, disease-causing
    - FTLD
- aplotipi (H1-H2)
  - ⇒ frequenti nella popolazione, a bassa penetranza, risk-modifying
    - PSP, FTLD-tau, AD, PD, CBD,...

## *TMEM106B*

- proteina transmembrana lisosomiale
  - ⇒ regolazione di sintesi, dimensione, trafficking e localizzazione dei lisosomi
    - alterazioni della funzione lisosomiale associate a neurodegenerazione
  - ⇒ dominio altamente glicosilato
    - trasporto della proteina dal reticolo endoplasmatico ai lisosomi
- rs3173615 (T185S)
  - in prossimità di un sito di glicosilazione critico
    - diminuzione 2X dei livelli di proteina rispetto a wildtype
  - ⇒ fattore di rischio per proteinopatie TDP-43

## GRN

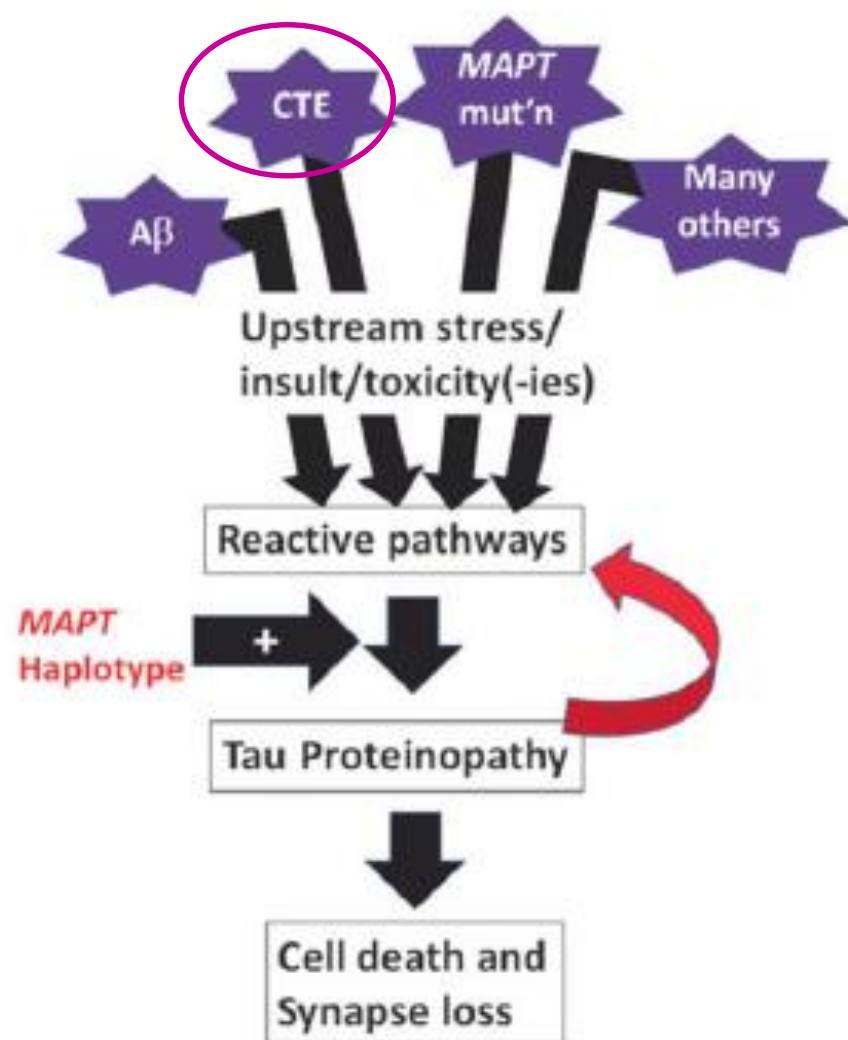
- **fattore di crescita**
  - ⇒ crescita e sopravvivenza cellulare, riparazione delle ferite e infiammazione
- **mutazioni associate al 5-20% di FTLD familiari.**
  - ⇒ maggior parte annullano o che riducono la proteina funzionale
  - ⇒ variabilità inter e intra-familiare:
    - interazione con altri fattori genetici e non
      - varianti di *TMEM106B* influenzano il rischio di sviluppo di FTD in soggetti con mutazioni *GRN*
  - ⇒ i livelli di espressione sono in parte regolati da miRNA
    - miR-659 che si lega a 3'UTR
      - rs5848: SNP C>T nel 3'UTR (40% della popolazione)
      - associato a 3x rischio di sviluppo FTLD-TDP (soggetti omozigoti per allele T)
      - associato a sclerosi ippocampale e TDP-43 proteinopatia nell'invecchiamento (LATE)

IL CERVELLO  
CHE CAMBIA 9

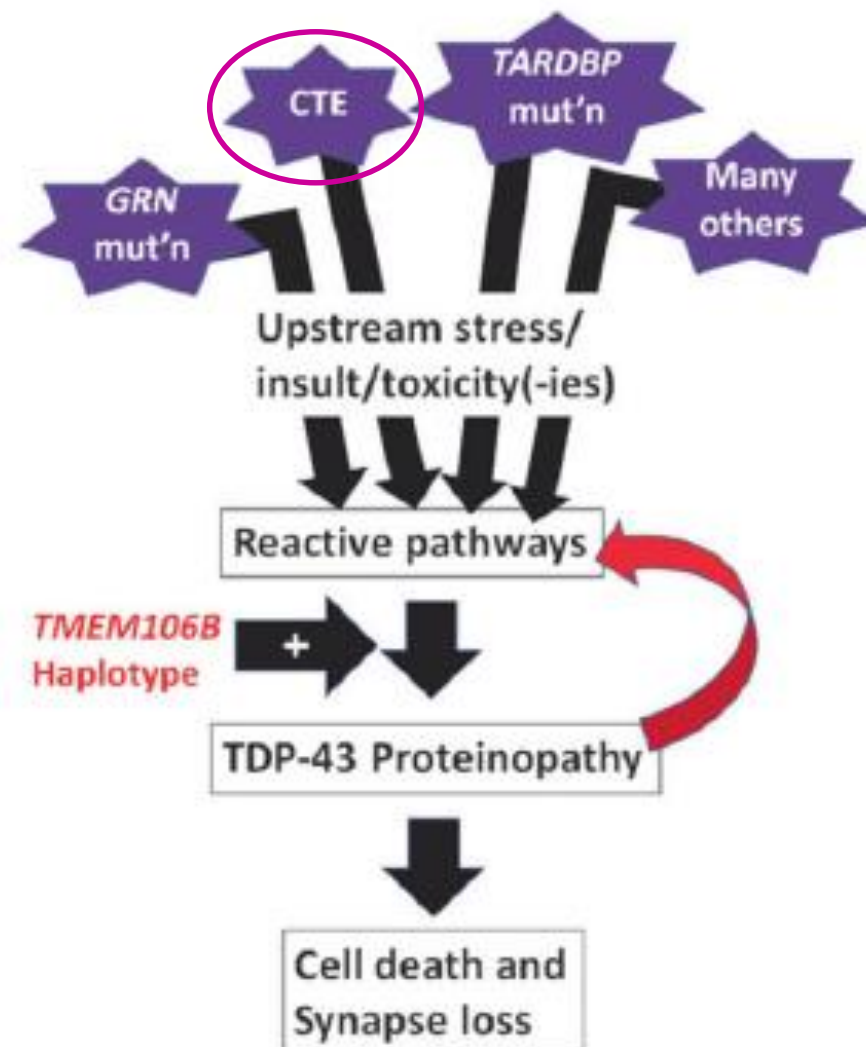
**COMING SOON**

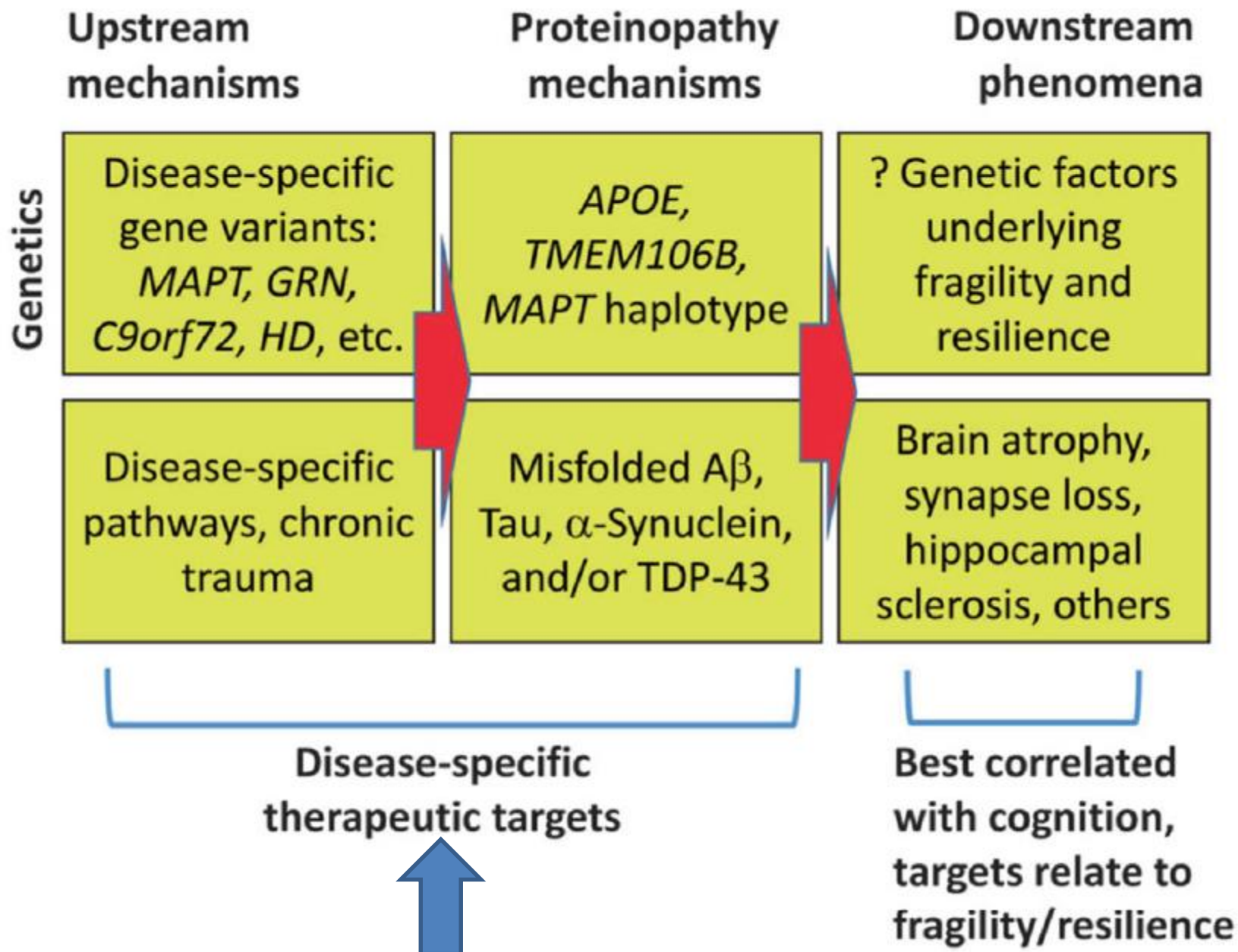


## A. Tauopathy cascade



## B. TDP-43 proteinopathy cascade





# Conclusioni

- La neurodegenerazione in patologie e nell'aging deriva da un complesso sistema di fattori promuoventi alcuni meccanismi di danno neuronale sui quali si innescano fattori diversi (genetici e non) in grado di modificarne l'entità e la distribuzione e quindi di determinare quadri clinici anche molto differenti tra loro

# Conclusioni

- La neurodegenerazione in patologie e nell'aging deriva da un complesso sistema di fattori promuoventi alcuni meccanismi di danno neuronale sui quali si innescano fattori diversi (genetici e non) in grado di modificarne l'entità e la distribuzione e quindi di determinare quadri clinici anche molto differenti tra loro
- Spesso coesistono differenti proteinopatie

# Conclusioni

- La neurodegenerazione in patologie e nell'aging deriva da un complesso sistema di fattori promuoventi alcuni meccanismi di danno neuronale sui quali si innescano fattori diversi (genetici e non) in grado di modificarne l'entità e la distribuzione e quindi di determinare quadri clinici anche molto differenti tra loro
- Spesso coesistono differenti proteinopatie
- Varianti di un gene specifico possono essere sia fattori di rischio a bassa penetranza per un gruppo di patologie sia essere la causa di forme specifiche ad alta penetranza, rapida progressione e ad esordio precoce



# Conclusioni

- La neurodegenerazione in patologie e nell'aging deriva da un complesso sistema di fattori promuoventi alcuni meccanismi di danno neuronale sui quali si innescano fattori diversi (genetici e non) in grado di modificarne l'entità e la distribuzione e quindi di determinare quadri clinici anche molto differenti tra loro
- Spesso coesistono differenti proteinopatie
- Varianti di un gene specifico possono essere sia fattori di rischio a bassa penetranza per un gruppo di patologie sia essere la causa di forme specifiche ad alta penetranza, rapida progressione ed esordio precoce
- Le proteinopatie tau e TDP-43 sono il risultato di cascate patologiche che hanno diverse cause a monte ma che forniscono possibile sovrapposizione di target terapeutici



Grazie per l'ascolto

# Effetti downstream

## Fattori confondenti

- ⇒ continua evoluzione tecniche immunoistochimiche per studi neuropatologici
- ⇒ deposizione di A $\beta$  peptide e di tau in AD driver di deficit cognitivo
  - assunzione che la maggior parte delle demenze non vascolari è secondario ad AD
  - caratteristiche neuropatologiche non specifiche (perdita sinaptica, sclerosi ippocampale) siano da attribuire a cause specifiche e quindi essere considerate malattie specifiche.

# Patologia TDP-43-correlata in malattia di Alzheimer

- TDP-43 protein deposition is often encountered in hippocampal sclerosis and AD.
  - ⇒ Typically when observed in AD, TDP-43 inclusions are first observed in the amygdala and later the hippocampus (“limbic”), followed by involvement of neocortex and subcortical areas (“diffuse”) analogous to terms used to describe distribution of Lewy-related pathology.
- Hippocampal sclerosis of aging is now recognized to almost always include TDP-43 deposits and sometimes arteriolosclerosis that lead to intracellular and neuritic deposits of TDP-43 in the hippocampus during the preclinical state and eventually hippocampal sclerosis and cerebral atrophy in the disease state
  - ⇒ This independent disease process may affect up to 10% of clinical AD cases over age 85 without pathologically confirmed AD.

## Conclusioni 2

- ci sono multiple malattie con impatto clinico che colpiscono il cervello nell'aging e che devono essere valutate in un contesto clinico e di ricerca
- spesso differenti proteinopatie coesistono
- le proteinopatie tau e TDP-43 sono il risultato di cascate patologiche che hanno diverse cause a monte ma che forniscono possibile sovrapposizione di target terapeutici



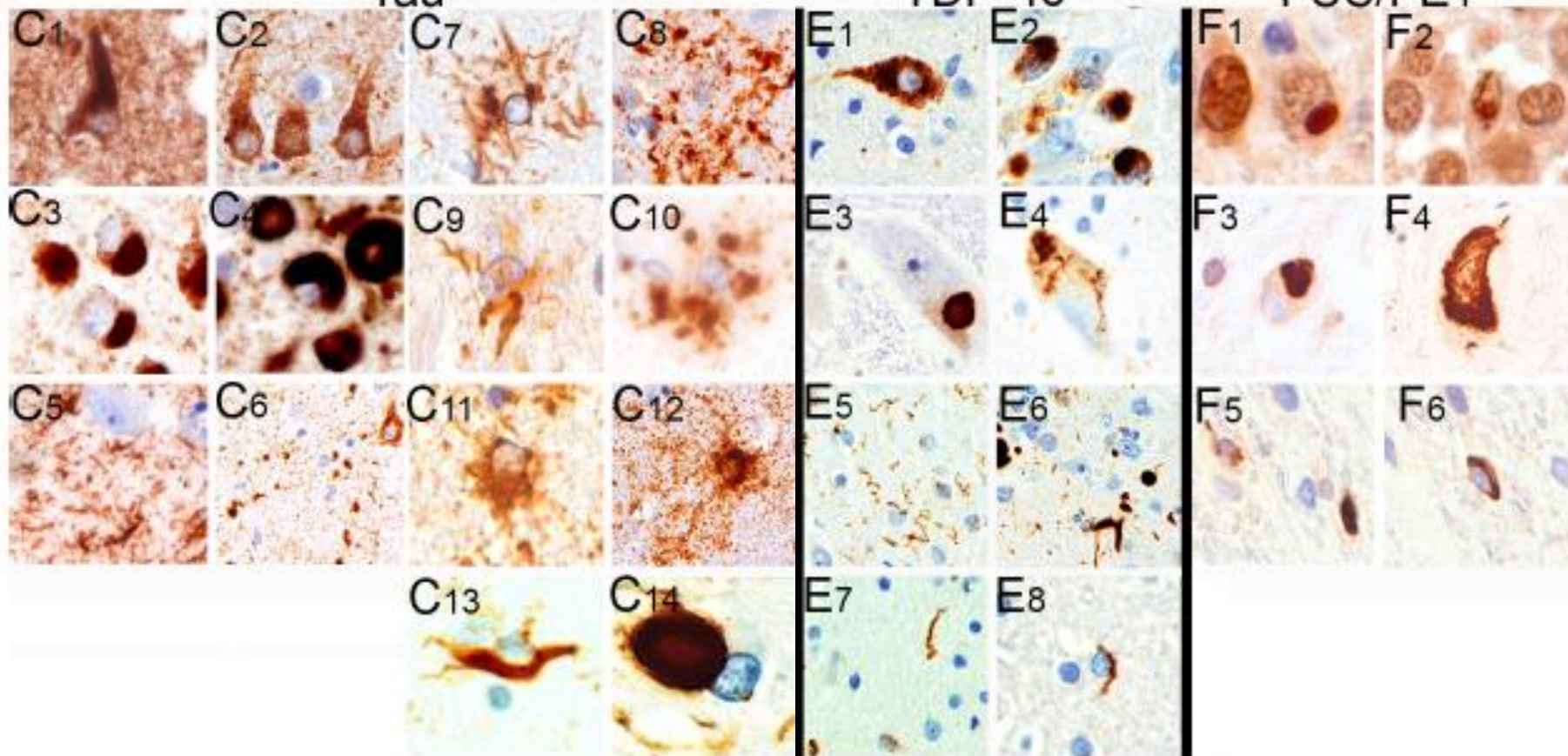
# Fenomeni associati ad malattia di Alzheimer

- Perdita sinaptica
  - ⇒ considerata a lungo caratteristica specifica di AD (diffusamente presente)
  - ⇒ in realtà caratterizza numerose differenti patologie dove è un buon indicatore di neurodegenerazione
- Sclerosi ippocampale
  - ⇒ per molto tempo associata a epilessia
  - ⇒ dagli anni '90 associata a deficit cognitivo
  - ⇒ ora...

Tau

TDP-43

FUS/FET



## «Misfolding»

Indipendenteme  
specie proteica c  
misfolding di altr  
Questa interazio

- sinergia patolo

- ⇒ molte taupat  
di entrambe
- ⇒ colocalizzazio  
all'ippocamp
- ⇒ nel 25% dei p  
fosfo tau e di

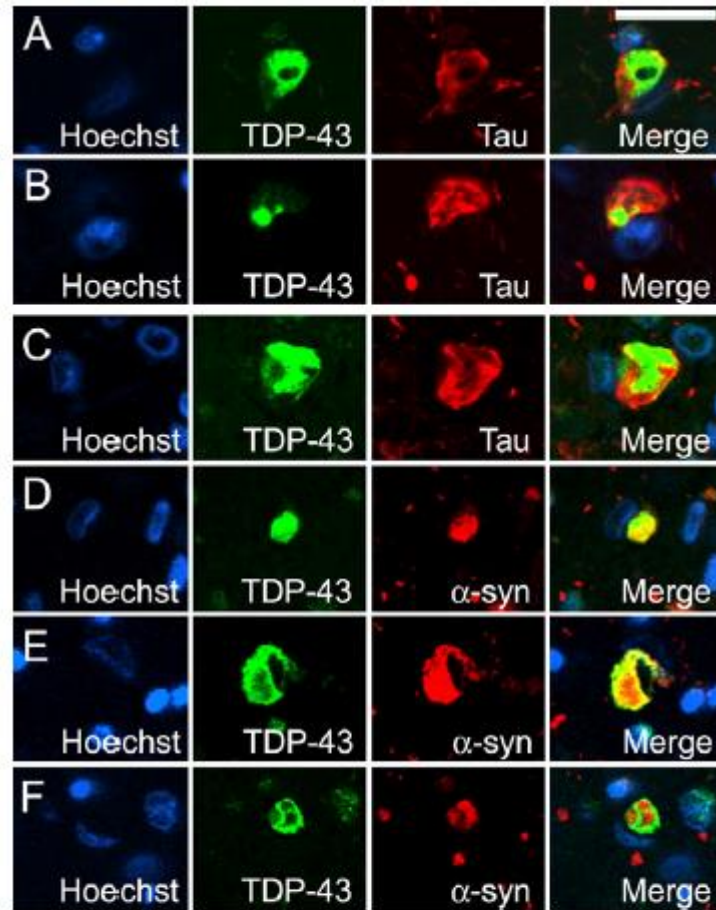


Fig. 4 – Confocal microscopic images of double-immunofluorescent labeling with TDP-43 and tau or  $\alpha$ -synuclein. Co-existence of TDP-43 with tau (A–C) or  $\alpha$ -synuclein (D–F) in the amygdala (A and B) in the AD cases as well as the hippocampus (C) and amygdala (D–F) in the DLB cases. Note that TDP-43 is hardly superimposed with tau in the same neurons (A–C), while TDP-43 is partially superimposed with  $\alpha$ -synuclein (D–F). TDP-43 is assigned to green, while tau or  $\alpha$ -synuclein is assigned to red. Scale bars; 25  $\mu$ m.

cal synergy»

l'accumulo di una  
ulari e innesca il

ino cognitivo

izzazione di depositi  
onale

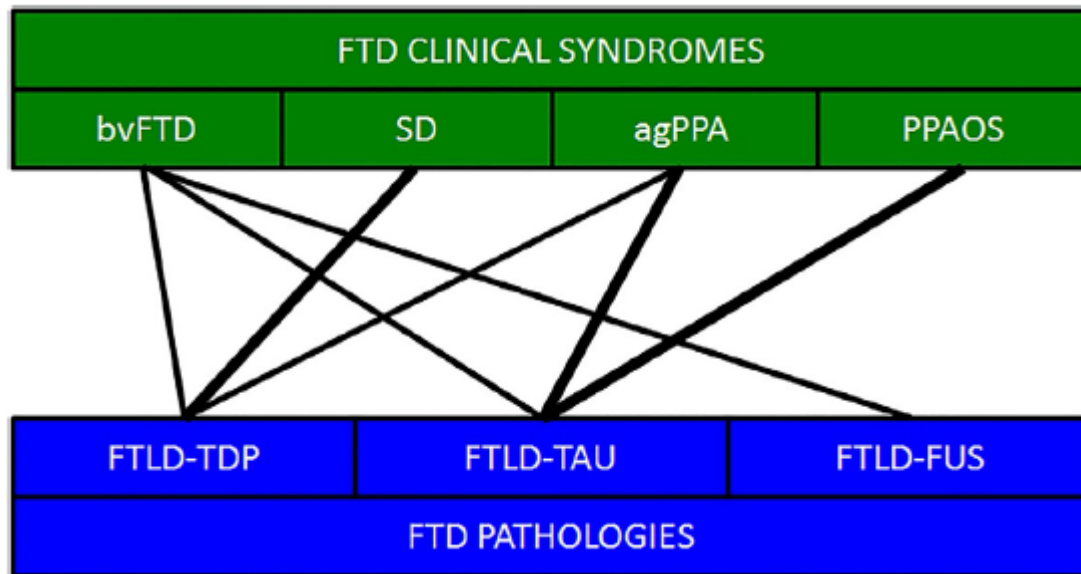
enti con AD e estese

è colocalizzazione di



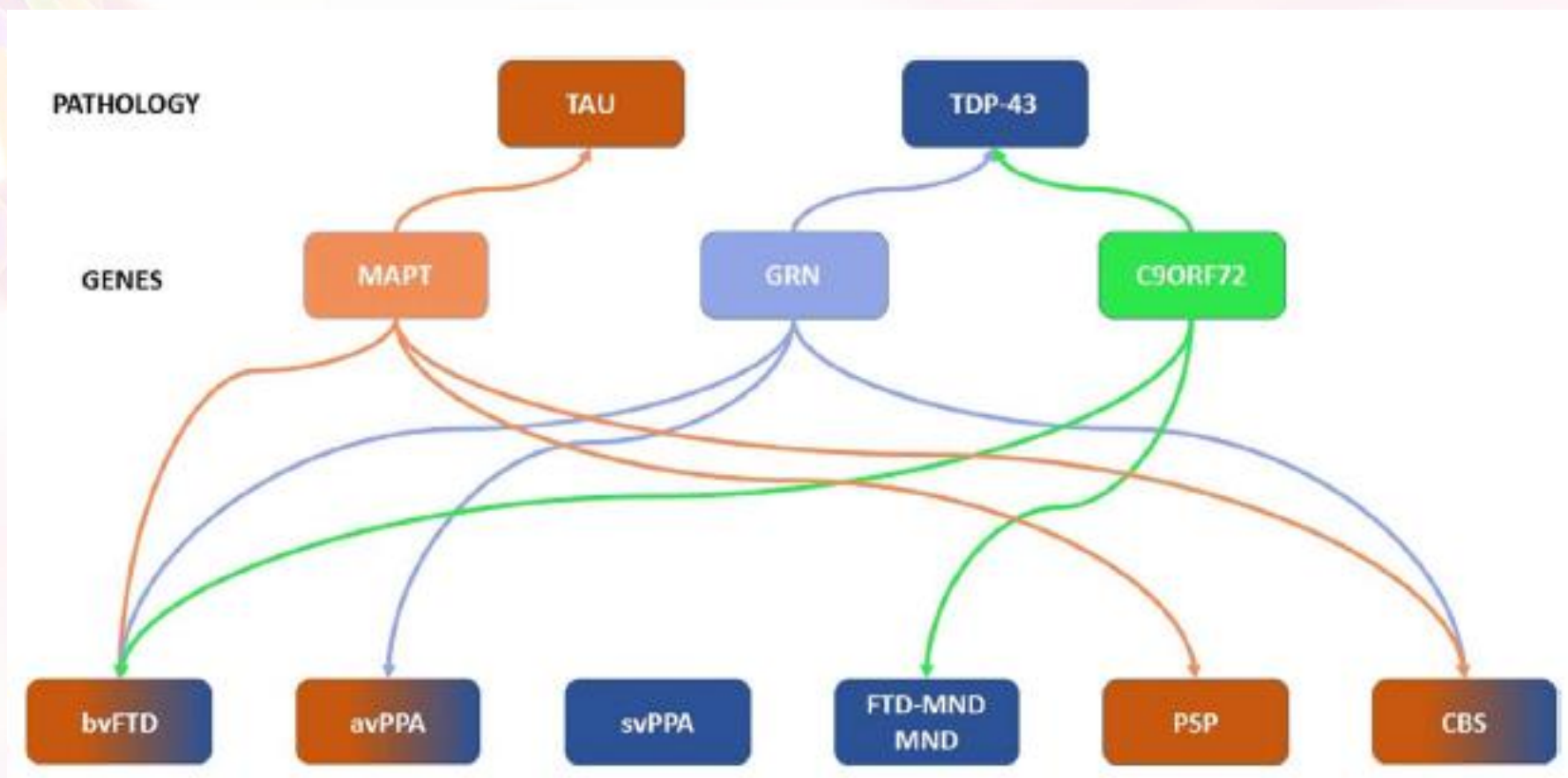
## Proteinopatie TDP-43 e tau

- sono prodotte da un diverso insieme di fattori «a monte»
- la maggior parte di questi fattori coinvolge stress cellulari cronici
- entrambe le proteinopatie non sono malattia-specifiche
  - ⇒ ruolo nell'influenzare o esacerbare molteplici meccanismi di malattia



Whitwell et al., 2019





Gazzina et al, 2017