

Lorena Mosca<sup>1</sup>, Silvana Penco<sup>1</sup>, Antonio Federico<sup>2</sup>

<sup>1</sup>SS Genetica Medica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano; <sup>2</sup>UOC Clinica Neurologica e Malattie Neurometaboliche, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

# CADASIL: arteriopatia cerebrale autosomica dominante con infarti sottocorticali e leucoencefalopatia

## Introduzione

L'arteriopatia cerebrale autosomica dominante con infarti sottocorticali e leucoencefalopatia (CADASIL, acronimo di "Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy"; OMIM 125310) è una malattia cerebrovascolare ereditaria, autosomica dominante, ad alta penetranza, che colpisce gli adulti di mezza età e che porta a disabilità e demenza (1). E' caratterizzata da occlusioni delle piccole arterie del cervello, che si manifestano come piccoli infarti cerebrali profondi e accumulo progressivo di aree di demielinizzazione (1, 2).

In Europa, la prevalenza si aggira intorno a 1/50.000-21.475.000 (3) mentre in Italia non è chiara e la patologia è sottodiagnosticata.

La malattia è caratterizzata da una grande variabilità clinica sia inter- che intra-familiare (4), con una sintomatologia rappresentata principalmente da emicrania, eventi ischemici sottocorticali, cambiamenti di umore, apatia e decadimento cognitivo (1,2,4,5). La comparsa temporale dei sintomi è rappresentata in Fig. 1.

Il sospetto clinico è rafforzato dalla presenza di una storia familiare positiva e/o dall'identificazione tramite risonanza magnetica (RM) di uno o più infarti sottocorticali nella sostanza bianca tendenzialmente simmetrici (Fig. 2).

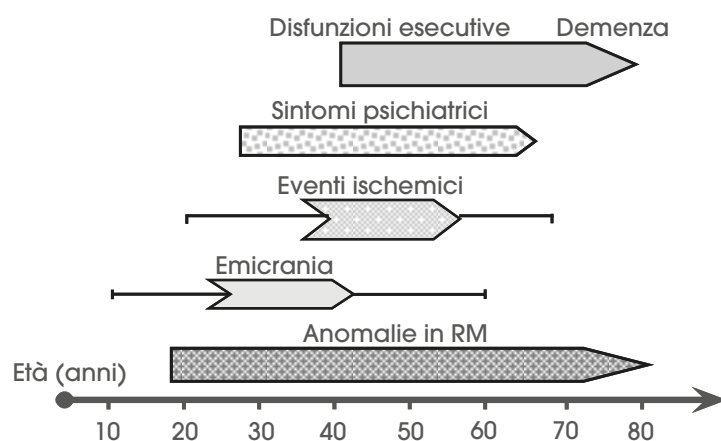
Il segno patologico caratteristico è la presenza di depositi elettrondensi di materiale granuloso osmiofilico (GOM) nei piccoli vasi cerebrali, ma anche nel derma, identificabili grazie alla microscopia elettronica effettuata su biopsie. Attualmente il gold standard per la diagnosi è il test genetico, che ha lo scopo di identifi-

care la presenza di mutazioni causative nel gene NOTCH3 (1).

Non esiste un trattamento di provata efficacia in grado di fermare o ritardare la progressione della malattia e il supporto farmacologico è specifico per ogni singola manifestazione clinica; in una patologia cronica

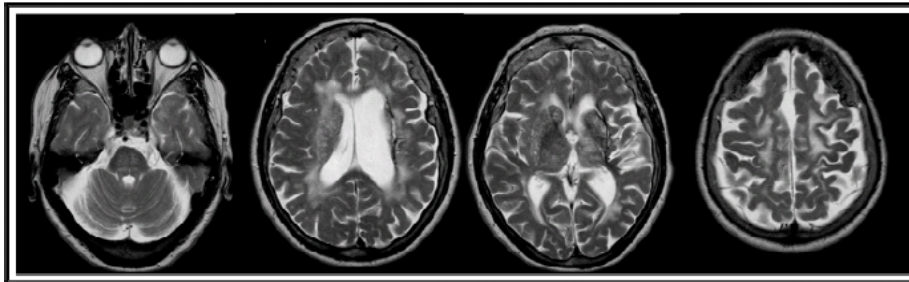
Probabilmente sottodiagnosticata, è caratterizzata da depositi di materiale osmiofilico in vasi cerebrali e derma

Fig. 1 Comparsa e decorso delle principali manifestazioni cliniche della CADASIL



## Fig. 2 Immagini di T2w RM tipiche di un paziente affetto da CADASIL

Sono visibili iperintensità bilaterali diffuse e confluenti localizzate a livello della sostanza bianca periventricolare, del centro semiovale, delle regioni nucleo capsulari e talamiche



## I sintomi più frequenti sono eventi ischemici (85% dei pazienti), emicrania, disturbi psichiatrici e demenza sottocorticale

così grave e debilitante restano fondamentali la riabilitazione, la fisioterapia e il supporto psicologico (4, 6).

### Manifestazioni cliniche

L'emicrania, spesso con aura, costituisce solitamente un sintomo precoce presente in circa il 20-40% dei pazienti, con una frequenza di 4/5 volte superiore rispetto alla popolazione generale (1); l'età media di esordio è compresa tra i 26 e i 38 anni (6).

Gli eventi ischemici (attacchi ischemici transitori - TIA e ictus) sono in assoluto i sintomi più frequenti e si verificano in circa il 60-85% dei pazienti (1,6); si presentano ad un'età media di 49 anni (range: 20-70 anni) e spesso in assenza di fattori di rischio vascolare convenzionali (1, 2, 5). La maggior parte dei pazienti manifestano ictus ricorrenti (2/5) nel corso degli anni.

Il quadro clinico totalmente sviluppato, caratterizzato anche dalla presenza di disturbi psichiatrici e demenza sottocorticale, si registra nel 70% dei pazienti con un'età compresa tra i 50 e i 60 anni e può essere associato a segni pseudobulbari (di-

sartrica, disfagia e labilità emotiva) (6). I disturbi dell'umore sono presenti nel 20% dei pazienti, soprattutto sotto forma di gravi crisi depressive (1,3,5). La demenza è di tipo sottocorticale (2); la sua incidenza raggiunge il 60% negli individui sintomatici con un'età superiore ai 60 anni.

L'età media di decesso è di 65 anni negli uomini e di 70 anni nelle donne e la morte è solitamente il risultato di complicanze mediche, quali malnutrizione e malattie infettive (es, polmonite *ab ingestis*) (2).

Anche se raramente, sono stati comunque descritti soggetti asintomatici in età adulta (6).

### Patogenesi

Causa della malattia sono mutazioni nel gene NOTCH3 (cromosoma 19p13) (1), codificante per il recettore transmembrana NOTCH3, coinvolto nel pathway di signaling nella maturazione dei vasi sanguigni cerebrali e la cui espressione è limitata alle cellule muscolari lisce vasali delle pareti delle arterie (5, 7).

La proteina subisce un taglio proteolitico e sulla superficie cellulare funzio-

na come un eterodimero composto da un dominio extracellulare legato non covalentemente ad un dominio intracellulare fissato alla membrana (Fig. 3A) (7, 8).

Le mutazioni del gene NOTCH3 responsabili di CADASIL sono tutte localizzate nel dominio extracellulare della proteina e causano il suo accumulo nella parete vascolare (1, 2), rappresentando quindi uno dei principali componenti degli accumuli di GOM tipici della patologia.

### Genetica

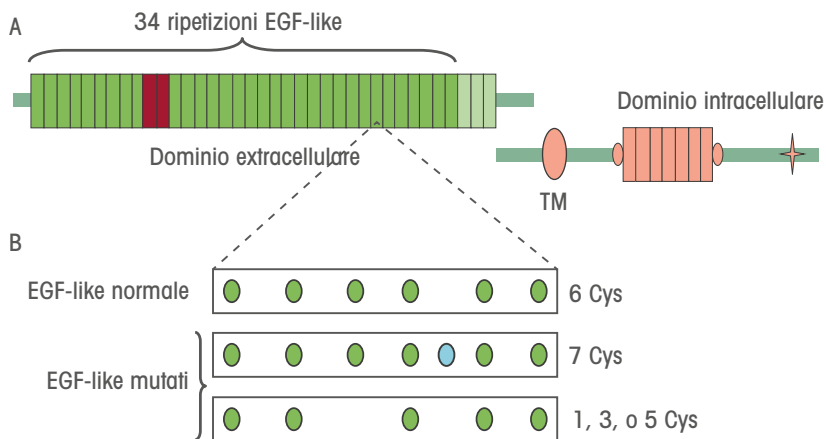
Ad oggi NOTCH3 è l'unico gene causativo (1, 6). Il dominio extracellulare della proteina codificata contiene 34 ripetizioni simili a quelle del recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR), ciascuna delle quali contiene 6 residui di cisteina che formano tra loro 3 ponti disolfuro. Le mutazioni patogenetiche note sono localizzate in queste ripetizioni EGF-like codificate dagli esoni 2/24, e risultano nella sostituzione di una cisteina con un altro aminoacido o viceversa (1, 2, 8) (Fig. 3B); pertanto il dominio mutato viene a contenere un numero dispari di cisteine, causa dell'alterazione della struttura della proteina e delle sue interazioni sulla superficie cellulare (7).

Sono state identificate anche alcune inserzioni e delezioni, due varianti di splicing e tre duplicazioni (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>); inoltre, sono state descritte mutazioni *de novo*, pertanto il sospetto di CADASIL non deve essere escluso in assenza di una storia familiare positiva; sono stati riportati cinque casi con mutazioni in omozigosi (6).

La maggior parte delle mutazioni sono localizzate negli esoni 3 e 4 (9); tuttavia un numero crescente di varianti causative è stato identificato

**Fig. 3** Rappresentazione schematica del recettore NOTCH3 e delle mutazioni causative di CADASIL (modificata da 1)

A) La proteina matura è costituita da un eterodimero composto da un dominio extracellulare contenente 34 ripetizioni EGF-like e da un dominio transmembrana (TM)-intracellulare. Le ripetizioni EGF-like 10 e 11 (in rosso) sono le responsabili del legame con il ligando.  
B) Le ripetizioni EGF-like normali contengono 6 domini di cisteina (Cys); le ripetizioni EGF-like mutate sono caratterizzate dall'acquisto o dalla perdita di un residuo di Cys.



anche al di fuori di queste regioni (4, 9), rendendo pertanto necessario lo screening di tutti gli esoni codificanti per le regioni EGF-like. Oggi sappiamo che le mutazioni sono differenti a seconda dell'etnia e della regione geografica (6).

Lo spettro fenotipico e l'età di insorgenza variano notevolmente tra i pazienti, anche in presenza della stessa mutazione (9); tale variabilità è stata segnalata anche in gemelli monozioti (6) e, allo stato attuale delle conoscenze, non esiste una correlazione genotipo-fenotipo (9).

Sono stati inoltre identificati diversi soggetti portatori di mutazioni "non-canoniche" e comunque associate a CADASIL o a fenotipi CADASIL-like con demenza vascolare: è tuttavia ancora dibattuto se tali varianti non coinvolgenti residui di cisteina siano o meno la vera causa della malattia (6, 8). Tali varianti andrebbero interpretate come causative solo se:

- lo screening completo delle regioni

EGF-like esclude la presenza di altre mutazioni classiche;

- la biopsia cutanea dimostra la presenza di GOM (tuttavia l'analisi di GOM potrebbe essere meno sensibile in quei pazienti portatori di varianti "non canoniche" (6));
- la variante identificata segrega con il fenotipo clinico (tuttavia non sempre si hanno a disposizione grandi famiglie per valutare l'analisi di segregazione).

Le mutazioni che causano perdita di funzione (es.: delezioni frame-shift o mutazioni non senso) sono raramente riportate, e il loro ruolo patogenetico è ancora incerto (6, 8).

Risulta quindi assolutamente necessario usare grande competenza e cautela nell'interpretazione delle varianti in NOTCH3 "non-canoniche" dal momento che una loro errata definizione potrebbe portare ad una diagnosi errata di CADASIL, con considerevoli implicazioni per i pazienti e i loro familiari (8).

E' causata da mutazioni del gene NOTCH3 con accumulo della proteina nella parete vascolare; la diagnosi molecolare è molto complessa

### Neuroimaging

Gli infarti sottocorticali e leucoencefalopatia tipici della patologia sono rilevati attraverso l'utilizzo della risonanza magnetica (1, 10); le sequenze T2 ponderate (T2w) e le sequenze FLAIR MRI ad alta sensibilità e risoluzione sono i metodi più utili ed importanti nella diagnostica per immagini. Le iperintensità ventricolari sono segnalate in circa il 96% dei pazienti e, di conseguenza, sono così comuni che la loro assenza in pratica esclude la diagnosi di CADASIL (6).

I cambiamenti osservati in risonanza magnetica precedono di solito l'insorgenza dei sintomi di 10-15 anni (1). I primi segni, visibili ad un'età media di 30 anni (5), sono anomalie puntiformi e nodulari, localizzate principalmente nelle regioni periventricolari e nel centro semiovale; con il tempo tendono a diffondersi in maniera simmetrica, coinvolgono la capsula esterna e si estendono ai lobi temporali anteriori (Fig. 2) (5, 10). Dopo i 35 anni tutti i soggetti con diagnosi di CADASIL presentano una risonanza magnetica anomala (6).

### Diagnosi

Riuscire a differenziare la CADASIL da altri disturbi che interessano la sostanza bianca può essere arduo e difficile. La patologia dovrebbe essere sospettata in presenza di (2, 6):

- 1) uno o più infarti sottocorticali (soprattutto prima dei 60 anni), emi-

crania (di solito con aura), decadimento cognitivo o demenza subcorticale precoci, sintomi psichiatrici;

2) lesioni significative nella sostanza bianca prima dell'età di 35 anni (Fig. 2):

3) storia familiare caratterizzata da un'ereditarietà di tipo autosomico dominante per uno o più sintomi tipici della malattia.

Per gli individui con queste caratteristiche cliniche peculiari la diagnosi è stabilita attraverso l'esecuzione di test genetico e/o biopsia cutanea (Fig. 4). Il test genetico è diventato ormai uno strumento diagnostico sempre più accessibile nei pazienti con sospetto di CADASIL; lo screening di tutti gli esoni che codificano per i 34 domini EGF-like ha una specificità del 100% e una sensibilità che si avvicina al 100% (5).

Per i familiari (sia sintomatici che asintomatici) il test genetico è eseguibile una volta che è stata identificata la mutazione causativa nel paziente indice (6).

Altro importante approccio utile alla diagnosi è l'analisi tramite microscopia elettronica delle biopsie cutanee per il rilievo dei GOM (2, 6). La specificità della presenza del GOM permette la conferma della diagnosi nel 100% dei casi, ma i dati inerenti la sensibilità sono controversi (con stime minori del 50%) (6).

Le ragioni di questa discrepanza possono essere dovute a diversi fattori, tra cui i diversi stadi della malattia, la dimensione della biopsia, il numero di arteriole e vasi precapillari nel campione o la focalità delle lesioni.

### Diagnosi differenziale

Tra le patologie che devono essere poste in diagnosi differenziale si segnalano (4, 6):

Nei soggetti a rischio (con storia di infarti sottocorticali, lesioni della sostanza bianca prima dei 35 anni, storia familiare), la diagnosi viene stabilita con test genetico e/o biopsia cutanea

- emicrania emiplegica familiare (FHM), caratterizzata dalla presenza di debolezza motoria durante l'aura;
- malattia di Binswanger, caratterizzata da infarti della sostanza bianca comunemente associati a disturbi della pressione arteriosa (solitamente assenti nei soggetti affetti da CADASIL);
- MELAS (encefalomiopatia mitocondriale con acidosi lattica ed episodi simili a ictus) che può causare ictus in pazienti giovani, ma a livello dei lobi occipitali e corticali;
- CARASIL (arteriopatia cerebrale autosomica recessiva con infarti sottocorticali e leucoencefalopatia), una malattia ereditaria dei piccoli vasi cerebrali, con disturbi della deambulazione a esordio precoce, alopecia prematura del cuoio capelluto, ictus ischemico acuto, do-

lore acuto alla metà inferiore della schiena e disturbi cognitivi progressivi che esitano in demenza grave;

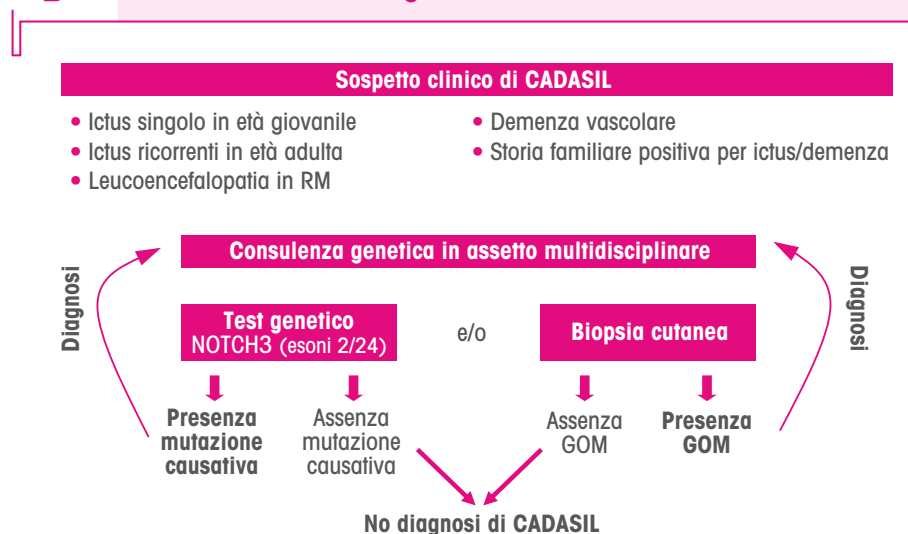
- sclerosi multipla, che alla comparsa può mostrare aspetti neuroradiologici simili alla CADASIL, ma che con il progredire della patologia tendono a differenziarsi.

### Consulenza genetica

La malattia è ereditata in maniera autosomica dominante (1).

La maggior parte degli individui CADASIL ha almeno un parente affetto, anche se sono stati riportati casi con familiarità negativa; la storia familiare può sembrare negativa a causa del mancato riconoscimento del disturbo in altri membri della famiglia, della morte precoce del genitore prima della comparsa dei sintomi, o dell'insorgenza tardiva della malattia nel genitore affetto (3, 4).

Fig. 4 Flow chart utile alla diagnosi di CADASIL



Il rischio per i fratelli del caso indice dipende dallo stato genetico dei genitori. Se uno dei genitori è affetto con una variante patogenetica in NOTCH3, il rischio di fratelli e sorelle di ereditare il difetto genetico è pari al 50% (3, 4).

Se la variante patogenetica non può essere rilevata nel DNA dei leucociti di entrambi i genitori, il rischio di fratelli e sorelle è ridotto quasi a zero, dal momento che il probando ha probabilmente una mutazione de novo; il mosaicismo germinale è teoricamente possibile, ma fino ad oggi non è stato mai segnalato/dimostrato (3, 6). Il test genetico può essere offerto a familiari adulti una volta che è già stata identificata la mutazione causativa del gene NOTCH3; tale test deve essere offerto ed eseguito nel contesto di una consulenza genetica, e non è utile nel predire l'età di insorgenza, la gravità, il tipo di sintomi, o la velocità di progressione della malattia (3, 6). Non è considerato opportuno offrire il test genetico ai minorenni asintomatici (6). Considerando i sintomi della CADASIL, così gravi e debilitanti, la diagnosi può avere gravi conseguenze psicologiche in famiglia e può alterare radicalmente il rapporto tra i parenti più prossimi. E' pertanto fondamentale sostenere il paziente e i suoi familiari avvalendosi di un approccio multidisciplinare (neurologo, genetista e psicologo/psichiatra) in

**E' fondamentale fare riferimento a centri specializzati che permettano un approccio integrato clinico, neuroradiologico, genetico e psicologico per sostenere i pazienti e i loro familiari a rischio con una consulenza multidisciplinare**

modo da aiutare le persone a prendere decisioni informate durante il processo di diagnosi e di minimizzare le conseguenze psicologiche potenzialmente negative di un particolare risultato (5, 6).

E' sempre richiesta la firma di un consenso informato specifico per test genetici e tutta la documentazione deve essere mantenuta riservata.

Non esistono linee guida specifiche per la consulenza genetica dedicata alla CADASIL; si raccomanda pertanto di seguire le linee guida pubblicate per l'esecuzione del test genetico nella malattia di Huntington, una patologia che presenta le stesse problematiche psicologiche ed etiche tipiche delle malattie neurologiche autosomiche dominanti con esordio in età adulta e prive di terapia/azioni preventive (6).

### Conclusioni

La CADASIL è una patologia rara e probabilmente sottodiagnosticata; infatti non sono ancora disponibili dati attendibili sulla sua reale prevalenza. La diagnosi molecolare è complessa: non tutti i laboratori sono in grado di

eseguire con la necessaria qualità i test genetici e gli esami istopatologici e di dare loro una corretta interpretazione. Inoltre, numerose evidenze cliniche suggeriscono l'esistenza di fenotipi simili che potrebbero essere causati da mutazioni "non classiche" nel gene NOTCH3; per valutare il loro effettivo ruolo causale può essere necessaria l'esecuzione di studi funzionali in modelli sperimentali.

Dal momento che si tratta di una patologia estremamente complessa, è fortemente consigliato fare riferimento a centri specializzati che permettano un approccio integrato clinico, neuroradiologico, genetico e psicologico; è inoltre fondamentale sostenere i pazienti e i loro familiari a rischio con una consulenza multidisciplinare.

Riteniamo che sia molto importante la creazione di una rete di collaborazione di specialisti coinvolti nel trattamento e nello studio della CADASIL in modo da rendere possibile la condivisione di un approccio comune nella sua diagnosi e cura e, la realizzazione e condivisione di linee guida appropriate.

### Bibliografia

- 1 Chabriat H, Joutel A, Dichgans M, et al. Cadasil. *Lancet Neurol.* 2009;8:643-53.
- 2 André C. CADASIL: Pathogenesis, clinical and radiological findings and treatment. *Arq Neuropsiquiatr.* 2010;68:287-99.
- 3 Goldman JS. Genetic testing and counseling in the diagnosis and management of young-onset dementias. *Psychiatr Clin North Am.* 2015;38:295-308.
- 4 Rutten J, Lesnik Oberstein SAJ. CADASIL in: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJM, Bird TD, Fong CT, Mefford HC, Smith RJH, Stephens K, editors. *GeneReviews®* (Internet). Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2016. 2000 Mar 15 (updated 2016 Jul 14).
- 5 Hervé D, Chabriat H. CADASIL. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2010;23:269-76.
- 6 Mosca L, Marocchi A, Penco S. Migraine, stroke and mood disturbances: beware of CADASIL. *Review. Curr Trends Neurol.* 2015;6:57-70.
- 7 Bianchi S, Dotti MT, Federico A. Physiology and pathology of notch signalling system. *J Cell Physiol.* 2006;207:300-8.
- 8 Rutten JW, Haan J, Terwindt GM, et al. Interpretation of NOTCH3 mutations in the diagnosis of CADASIL. *Expert Rev Mol Diagn.* 2014;14:593-603.
- 9 Federico A, Bianchi S, Dotti MT. The spectrum of mutations for CADASIL diagnosis. *Neurol Sci* 2005;26:117-24
- 10 Zhu S, Nahas SJ. CADASIL: Imaging Characteristics and Clinical Correlation. *Curr Pain Headache Rep.* 2016;20:57.