

CADASIL*: UN CASO CON DIAGNOSTICO MOLECULAR

MARIA C. ZURRU¹, IGNACIO CASAS PARERA⁴, GRACIELA MOYA³, CLAUDIA GIOVANELLI²,
OSVALDO GENOVESE², EMILIA GATTO¹

¹Servicio de Neurología, Sanatorio Mitre; ²Servicio de Clínica Médica, Sanatorio Mitre; ³Fundación Genos; ⁴Servicio de Neurología, Instituto de Oncología Angel H. Roffo, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Resumen La enfermedad CADASIL (*Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy*) fue descrita como entidad en 1991 por Tournier-Lasserre y col. Dos años más tarde el mismo grupo describe su asociación con el cromosoma 19, pero recién en 1996 se describen las mutaciones en el gen Notch3. En estos pacientes se describen alteraciones en la anatomía patológica con depósitos de gránulos osmófilos en la capa media de los vasos de piel, músculo e intracraneanos. Se presenta una paciente de 40 años de edad, portadora de la enfermedad CADASIL, con antecedentes de cirugía de cavernoma temporoparietal izquierdo sintomático, caracterizado por episodios de afasia transitoria desde hace 9 años, y padre fallecido con diagnóstico de demencia vascular. La paciente ingresa por hemiparesia faciobraquiocrural derecha y disartria. No se evidenció fuente embolígena en un ecocardiograma transesofágico ni en estudio ultrasonográfico de vasos de cuello. Se realizó estudio reumatológico, análisis de factores protrombóticos, VDRL y serología para HIV, todos con resultados no significativos. La resonancia magnética multimodal demostró la secuela quirúrgica de la resección del cavernoma, la presencia de múltiples lesiones subcorticales de aspecto isquémico secuelar, hiperintensidad de la sustancia blanca periventricular en T2 y FLAIR, y la presencia de una lesión en las imágenes por difusión de localización cápsulo-putaminal izquierdo, aguda y de origen isquémico. La angiografía fue normal. El análisis del LCR no mostró alteraciones. Se realizó un estudio molecular de ADN que detectó la presencia de una mutación del gen Notch3 con sustitución de un nucleótido en la posición 583 en el exón 4 del gen. Este tipo de mutación confirmó el diagnóstico de CADASIL. Este sería el primer caso con confirmación molecular informada en nuestro medio.

Key words: CADASIL, diagnóstico molecular, angioma cavernoso

Abstract *CADASIL disease diagnosed by molecular DNA test.* CADASIL disease (*Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy*) was described in 1991 by Tournier-Lasserre. Two years later the same authors described its association with chromosome 19; nonetheless, the mutations in gene Notch3 were not described until 1996. Clinical findings depend on the age at onset. The early form of the illness is found in young patients, generally less than 30 years old, and the main clinical manifestation is a migraine headache with subcortical lesions in the white matter, while in the later form ischemic events and behavioral symptoms are predominant. Anatomic-pathological findings in CADASIL include the presence of osmophilic granular deposits in vessel walls, skin, muscles and cerebral arteries. We present a patient with CADASIL and cavernous angioma. We studied a 40-year-old woman who underwent surgery for a left temporal-parietal cavernous angioma, with aphasia as the only symptom, two years before admission. Her family history showed that her father had suffered from vascular dementia. She was admitted to our hospital with right-side hemiparesis and dysarthria. A CT scan showed the presence of ischemic vascular lesions and former surgery sequelae. The duplex scan of the neck vessels and a transesophageal echocardiogram ruled out an embolic source. Laboratory tests including VDRL, HIV, prothrombotic profile and rheumatologic screening tests were normal. An MRI in T2W and FLAIR showed the presence of multiple subcortical cerebral lesions and hyperintensity in the white matter (leukoencephalopathy). We found a left acute putaminal-capsular infarct in the diffusion-MRI. The MRA was normal. Analysis of the cerebrospinal fluid was unremarkable. A molecular DNA test was performed, and a nucleotide substitution in position 583 in exon 4 of gene Notch3 was detected. This mutation was found only in CADASIL patients. The association with cavernous angioma has not been previously reported, and we believe that it was unrelated to CADASIL, either clinically or genetically. To our knowledge, this is the first case of CADASIL diagnosed by molecular DNA test in our country.

Key words: CADASIL, molecular diagnosis, cavernous angioma

Se conoce como CADASIL (Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarct and Leukoencephalopathy) (OMIM #125310)¹ un cuadro descrito como entidad en 1991 por Tournier-Lasserre y col.² Dos años más tarde el mismo grupo confirmó el ligamiento con la región cromosómica 19p13.1, y en 1996 se detectaron las mutaciones del gen Notch3 (OMIM #600276) como responsables de esta enfermedad^{3, 4}.

Los síntomas iniciales dependen de la edad de comienzo. Se describe una forma precoz en pacientes generalmente menores de 30 años con manifestaciones de tipo migrañoso y lesiones en resonancia magnética (RM) que afectan la sustancia blanca subcortical, y una forma tardía en la cual predominan los eventos isquémicos y los síntomas psiquiátricos⁵. El CADASIL es una entidad sistémica, en la cual los cambios en la pared arterial (depósitos granulares osmófilos visibles únicamente por microscopía electrónica) pueden ser detectados en arteriolas cerebrales y en otros sistemas del organismo, incluyendo piel⁶.

Si bien la enfermedad CADASIL fue reportada en diversos países, la mayoría de las familias descritas provienen de Europa y Estados Unidos.

Presentamos una paciente con diagnóstico clínico y molecular de CADASIL en asociación con un angioma cavernoso.

Caso clínico

Paciente de 40 años de edad, de sexo femenino, con antecedente de cirugía de cavernoma temporoparietal izquierdo sintomático, con episodios transitorios de afasia de 9 años de

evolución. Una hermana padece de migraña con aura, y su padre que comenzó con síntomas neurológicos isquémicos a los 28 años de edad, falleció a los 67 años con diagnóstico de demencia vascular. Ingresó al Servicio de Neurología del Sannatorio Mitre por hemiparesia faciobraquiocrural derecha y disartria. Se realizó una tomografía computada de cerebro que evidenció la presencia de lesiones vasculares isquémicas de tipo lacunar, hipodensidad de la sustancia blanca periventricular y la secuela quirúrgica de la extirpación del cavernoma. No se evidenció fuente embolígena con un ecocardiograma transesofágico y estudios ultrasonográficos de vasos del cuello. El perfil reumatológico, estudio de factores protrombóticos, VDRL y serología para HIV fueron todos negativos. Una angiografía digital de los vasos de cuello extra e intracraneanos efectuada antes de la cirugía del cavernoma fue normal.

La resonancia magnética (RM) multimodal mostró la presencia de múltiples lesiones subcorticales de aspecto isquémico secuelar, hiperintensidad de la sustancia blanca periventricular en T2 y FLAIR, y la presencia de una lesión aguda cápsulo-putaminal izquierda observada en secuencias de difusión (Figuras 1 y 2). La angiorresonancia cerebral y la de vasos del cuello fueron normales. El estudio físicoquímico, cultivos y proteinograma inmunolectroforético del líquido cefalorraquídeo no mostró alteraciones.

Con diagnóstico presuntivo de enfermedad CADASIL, dado por el antecedente familiar, la clínica de presentación e imágenes, y la ausencia de factores de riesgo, se realizó estudio molecular de ADN para la evaluación del gen Notch3. Este se efectuó en el laboratorio del Hospital Lariboisière a cargo de la Profesora E. Tournier-Lasserre, detectándose la presencia de una mutación del gen Notch3 con sustitución de un nucleótido en la posición 583 en el exón 4 del gen, anomalías características de la enfermedad CADASIL.

La paciente evolucionó favorablemente aunque con secuelas motoras. Actualmente en rehabilitación por paresia crural leve, y severa en la mano. Se medicó con antiagregantes plaquetarios (25 mg de aspirina y 200 mg de dipiridamol c/12 hs).

Se efectuó el asesoramiento genético de los familiares en riesgo de padecer la enfermedad.

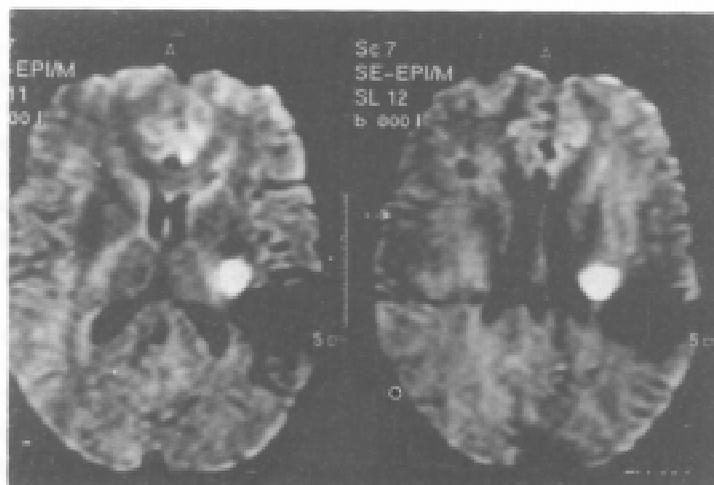


Fig. 1.— RM multimodal que muestra en secuencias de difusión, una lesión aguda (brillante) cápsulo-putaminal izquierda con extensión a la sustancia blanca paraventricular.

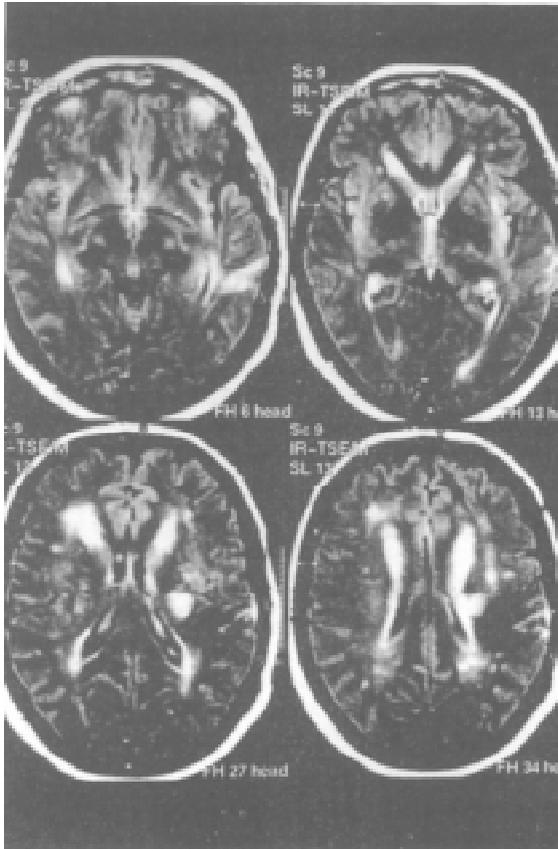


Fig. 2.— RM en secuencia FLAIR que evidencia múltiples lesiones subcorticales de aspecto isquémico e hiperintensidad de la sustancia blanca periventricular.

Discusión

Actualmente existen aproximadamente 250 familias reportadas con diagnóstico de CADASIL, y la gran mayoría de los casos proviene de Europa y Estados Unidos, y en menor medida de Sudamérica, Australia o Asia⁷. Recientemente, en un meta-análisis de Desmond y col. sobre 105 pacientes de 33 familias no relacionadas, 34 eran franceses, 16 italianos, 39 de otros países europeos, 13 de Estados Unidos, 2 de El Salvador y 1 del Japón⁷.

La enfermedad típicamente se hace evidente en edad temprana o en adultos jóvenes con clínica de migraña y lesiones de la sustancia blanca en la RM, mientras que en la cuarta década predominan los eventos isquémicos subcorticales de tipo lacunar, los cuales evolucionan a una demencia vascular similar a la reportada en la enfermedad de Binswanger⁸. En nuestra paciente, la forma de presentación corresponde a la forma tardía con eventos isquémicos subcorticales.

El diagnóstico de CADASIL puede efectuarse mediante el examen anátomo-patológico; especialmente de piel

y músculo, y/o con el estudio molecular de ADN para la detección de mutaciones del gen Notch3, como en nuestro caso.

Las lesiones en la RM incluyen la presencia de áreas extensas hiperintensas en T2 y FLAIR que se localizan fundamentalmente en la sustancia blanca subcortical de los lóbulos frontal y occipital, y la presencia de lesiones isquémicas subcorticales de tipo lacunar⁹. Estas lesiones pueden preceder a las manifestaciones clínicas, y su extensión puede o no correlacionarse con el grado de deterioro clínico. En el 50% de los pacientes, las lesiones pueden comprometer el tronco cerebral por afectación de las arterias perforantes, fundamentalmente a nivel mesencefálico y protuberancial¹⁰. Los pacientes con CADASIL tienen ausencia de hipertensión arterial y de otros factores de riesgo vascular que pudieran causar la enfermedad de pequeñas arterias. En un número no determinado de casos se rescatan antecedentes familiares que pueden contribuir a la sospecha diagnóstica. La severidad de presentación y la rapidez en la progresión clínica es variable entre individuos de igual edad con la misma mutación genética, sin que haya determinantes claros para la progresión de la enfermedad, la cual puede darse en ausencia de eventos isquémicos¹¹.

En la enfermedad CADASIL, la microscopía óptica muestra característicamente adelgazamiento de las paredes de las arteriolas cerebrales y palidez de los tractos de mielina. En el examen con técnicas de microscopía electrónica se observan degeneración de las células musculares lisas y depósitos de gránulos osmófilos en la capa media y basal de los vasos de pequeño calibre en cerebro, tejido muscular, nervio sural y piel¹².

Dado que el CADASIL es una enfermedad arterial sistémica pero de presentación clínica exclusivamente neurológica, se sugiere que la afectación del sistema nervioso estaría condicionada por la angioarquitectura cerebral y el patrón circulatorio. Algunas alteraciones severas de la hemodinamia podrían resultar de la destrucción de las células musculares lisas arteriolares. La función de estas células parece fundamental en la preservación de la perfusión y la autorregulación del flujo sanguíneo cerebral en áreas irrigadas por arterias perforantes⁶. Finalmente, se observó que las áreas vasculares que primero se afectan son las zonas más vulnerables, como la región periventricular y la sustancia blanca profunda¹³.

En el presente caso el diagnóstico presuntivo se basó en la tríada: historia familiar de demencia vascular, la presencia en la RM de múltiples lesiones de tipo isquémico por afectación de pequeñas arterias y leucoencefalopatía, y la ausencia de factores de riesgo para enfermedad cerebrovascular. Por ello se solicitó el estudio molecular de ADN para CADASIL, el cual permitió confirmar el diagnóstico clínico de la enfermedad. Para el

estudio molecular se extrajo ADN de leucocitos de sangre periférica de la paciente, amplificando la muestra mediante técnica de PCR. Se realizó la secuenciación directa de los exones 3, 4, 11 y 18 en ambas cadenas de ADN. En el cuarto exón del cromatograma, se evidenciaron dos picos en el nucleótido 583 (referencia U97669), y esto es debido a la sustitución de una Citosina por una Timina en el alelo mutado. Esta sustitución determina el reemplazo del codón 169 CGC (codifica para una Arginina) por el codón TGC (codifica para Cisteína). Ello determina la ganancia de un residuo de Cisteína en la cuarta repetición del EGF (epidermal growth factor-like) y la disrupción de la unión disulfídica.

Los miembros de la familia génica Notch codifican receptores transmembranosos conservados evolutivamente, y están involucrados en la determinación y especificidad celular durante el desarrollo embrionario. El gen Notch3 posee 33 exones que codifican para una proteína de 2321 aminoácidos, constituida por un ligando extracelular compuesto por 34 repeticiones de un dominio tipo EGF, del que depende la unión a otras células, un segmento transmembranoso y un dominio intracelular que posee actividad intrínseca como señal de traducción. La mayoría de las mutaciones que afectan al gen Notch3 son debidas a un cambio de una base que determina una ganancia o pérdida de un residuo de Cisteína en una de las 34 repeticiones del EGF, y esto modificaría la estructura terciaria de la proteína, originando una disrupción de la unión disulfídica de los residuos de Cisteína. El 80% de las mutaciones se localizan en los exones 3, 4, 11 y 18 alterando la función del dominio extracelular¹⁴.

Llama la atención en esta paciente la coexistencia de dos patologías vasculares de baja incidencia, como son la malformación cavernosa cerebral (CCM1, OMIM #116860)¹ y la enfermedad CADASIL. No encontramos en la literatura consultada reportes previos que informen esta asociación. Estas entidades son claramente distintas desde el punto de vista estructural ya que el angioma cavernoso o cavernoma se encuentra compuesto por sinusoides, siendo una malformación críptica no visible en los estudios angiográficos¹⁵. En la enfermedad CADASIL, los cambios fisiopatológicos se producen a nivel arteriolar o capilar ya descritos más arriba, y estos cambios generan la trombosis o estenosis de los pequeños vasos con los consiguientes fenómenos isquémicos. Las malformaciones cavernosas cerebrales son relativamente raras, y la forma familiar se presenta en un 20% de los casos¹⁶. Se asocian a mutaciones del gen KRIT-1 (OMIM # 604214), que codifica una proteína conocida como Krev Interaction Trapped I, y que mapea en 7q 21-q22. Se ha demostrado también ligamiento con otros dos loci adicionales CCM2 en 7p13-p15 y CCM3 en 3q 25.2-q27¹⁷. Los genes involucrados y

los cambios anatomopatológicos son claramente diferentes en estas dos entidades, por lo cual pensamos que se trata de una asociación casual.

Consideramos importante tener en cuenta causas inusuales de eventos vasculares isquémicos en pacientes jóvenes, como son las enfermedades genéticas. La enfermedad CADASIL representa una nueva forma de encefalopatía subcortical isquémica, de mal pronóstico, que carece de tratamiento específico. Si bien se encuentra principalmente descrito en países europeos, estaría subvalorado en nuestro medio por una baja sospecha clínica y un dificultoso acceso a los exámenes genéticos.

Bibliografía

1. OMIM. On line Mendelian Inheritance in Man. Database. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.
2. Tournier-Lasserre E, Iba-Zizen MT, Romero N, Bousser MG. Autosomal dominant syndrome with stroke-like episodes and leukoencephalopathy. *Stroke* 1991; 22: 1297-302.
3. Joutel A, Corpechot C, Ducros A, et al. Notch mutations in CADASIL, a hereditary adult onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 1996; 383: 707-10.
4. Chabriat H, Vahedi K, Iba-Zizen MT, Joutel A, et al. The clinical spectrum of CADASIL. *Lancet* 1995; 346: 934-9.
5. Davous P. CADASIL: a review with proposed diagnostic criteria. *Eur J Neurol* 1998; 5: 219-33.
6. Ruchoux MM, Chabriat H, Bousser MG, et al. Presence of ultrastructural arterial lesions in muscle and skin vessels of patients with CADASIL. *Stroke* 1994; 25: 2291-2.
7. Desmond DW, Moroney JT, Linch T, et al. The natural history of CADASIL. *Stroke* 1999; 30: 1230-3.
8. Gutiérrez-Molina M, Caminero Rodríguez A, Martínez García C, et al. Small arterial granular degeneration in familial Binswanger's syndrome. *Acta Neuropathol* 1994; 87: 98-105.
9. Yousry TA, Seelos K, Mayer M, et al. Characteristic MR lesion pattern and correlation of T1 and T2 lesion volume with neurologic and neuropsychological findings in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL). *AJNR* 1999; 20: 91-100.
10. Chabriat H, Mrisa R, Levy C, et al. Brainstem MRI signal abnormalities in CADASIL. *Stroke* 1999; 30: 457-9.
11. Dichgans MD, Mayer M, Uttner I, et al. The phenotypic spectrum of CADASIL: clinical findings in 102 cases. *Ann Neurol* 1998; 44: 731-9.
12. Ruchoux MM, Guerrouaou D, Vandehaute B, et al. Systemic vascular smooth muscle cell impairment in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Acta Neuropathol* 1995; 89: 500-12.
13. Nakai K, Naka Y, Yokote H, et al. Vascular "sphincter" and microangioarchitecture in the central nervous system: constriction of intraparenchymal blood vessels following a treatment of vasoconstrictive neurotransmitter. *Scanning Microsc* 1989; 3: 337-41.
14. Dichgans M, Ludwig H, Muller-Hocker J, Messerschmidt A, Gasser T. Small inframe deletions and missense mutations in CADASIL: 3D models predict misfolding of Notch3 EGF-like repeat domains. *Eur J Hum Gen* 2000; 8: 280-5.

15. Churchyard A, Khangure M, Grainer A. Cerebral cavernous angioma: potentially benign condition. Successful treatment in 16 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55: 1040-9.
16. Kondzioka D, Lunsford LD, Kestle JRW. The natural history of central cavernous malformations. *J Neurosurg* 1995; 3: 820-4.
17. Eerola I, Plate KH, Spiegel R, Boon LM, Mulliken JB, Vikkula M. KRIT-1 is mutated in hyperkeratotic cutaneous capillary-venous malformation associated with cerebral capillary malformation. *Hum Molec Genet* 2000; 9: 1351-5.

- - - -

Charles Darwin y un corral en Buenos Aires

The city of Buenos Ayres is large (is said to contain 60 000 inhabitants) and I should think one of the most regular in the world. Every street is at right angles to the one it crosses, and the parallel ones being equidistant, the houses are collected into solid squares of equal dimensions, which are called quadras. (...) In the centre of the town is the Plaza, where the public offices, fortress, cathedral, &c., stand.

The great corral where the animals are kept for slaughter to supply food to this beef-eating population, is one of the spectacles best worth seeing. The strength of the horse as compared to that of the bullock is quite astonishing: a man on horseback having thrown his lazo round the horns of the beast, can drag it any where he chooses. The animal having ploughed up the ground with outstretched legs, in vain efforts to resist the force, generally dashes at full speed to one side; but the horse immediately turning to receive the shock, stands so firmly, that the bullock is almost thrown down, and one would think, would certainly have its neck dislocated. The struggle is not, however, one of fair strength; the horse's girth being matched against the bullock's extended neck. In a similar manner a man can hold the wildest horse, if caught with the lazo, just behind the ears. When the bullock has been dragged to the spot where it is to be slaughtered, the matador with great caution cuts the hamstrings. Then is given the death bellow; a noise more expressive of fierce agony than any I know: I have often distinguished it from a long distance, and have always known that the struggle was then drawing to a close. The whole sight is horrible and revolting, the ground is almost made of bones; and the horses, and riders are drenched with gore.

La ciudad de Buenos Ayres es grande (se dice que alberga unos 60 000 habitantes) y pensaría que es una de las más regulares del mundo. Cada calle se cruza en ángulo recto con las otras, y las calles paralelas son equidistantes, las casas reunidas dentro de cuadrados sólidos, de iguales dimensiones, llamados *quadras*. En el centro de la ciudad está la Plaza, donde se hallan las oficinas públicas, fortalezas, la catedral, etc.

El gran **corral**, en donde los animales son encerrados para el sacrificio, a fin de suministrar alimento a esta población comedora de carne, constituye uno de los espectáculos más dignos de ser vistos. La fuerza del caballo comparada con la del buey es sorprendente; un hombre a caballo, que haya tirado su lazo alrededor de los cuernos de una bestia, puede arrastrarla hacia donde quiera. El animal, que ha surcado el suelo con sus patas abiertas, se esfuerza en vano para resistir, generalmente tira hacia un lado a toda velocidad; pero el caballo se da vuelta de inmediato para resistir el *shock* y se planta con tanta firmeza, que el buey queda casi tirado, y uno podría pensar que su pescuezo quedó dislocado. La lucha no es, sin embargo, de fuerzas parejas: la cincha del caballo contra el cogote extendido del buey. De manera similar un hombre puede apoderarse del caballo más salvaje, si lo enlaza justo detrás de las orejas. Cuando el buey ha sido arrastrado hasta el lugar donde será sacrificado, el *matador*, con gran cuidado, lo desjarreta. Luego se da el aullido de muerte; un ruido de fiera agonía más expresivo que ningún otro que yo conozca: lo he distinguido a veces a gran distancia, y he sabido siempre que la lucha había llegado a su fin. Toda la escena es horrible y repugnante, el suelo cubierto de huesos, y los caballos y jinetes empapados con la espesa sangre de las heridas y las corneadas.

Charles Darwin (1809-1882)

Voyage of the Beagle. *Charles Darwin's Journal of Researches*. London: Penguin Books, 1989