CADASIL

MICHELE RAGNO

Divisione di Neurologia

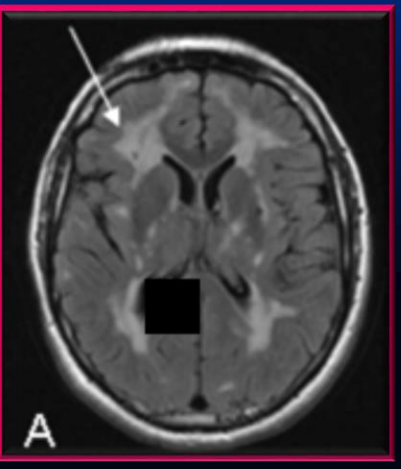
AV5:ASCOLI PICENO-SAN BENEDETTO DEL TRONTO

CADASIL

Con l’acronimo CADASIL(arteriopatia cerebrale auto= somico-dominante con infarti sottocorticali e leucoen= cefalopatia) si identifica una leucoencefalopatia vasco= lare ereditaria a trasmissione autosomico dominante ad esordio clinico giovanile/adulto causata da mutazioni nel gene NOTCH3.

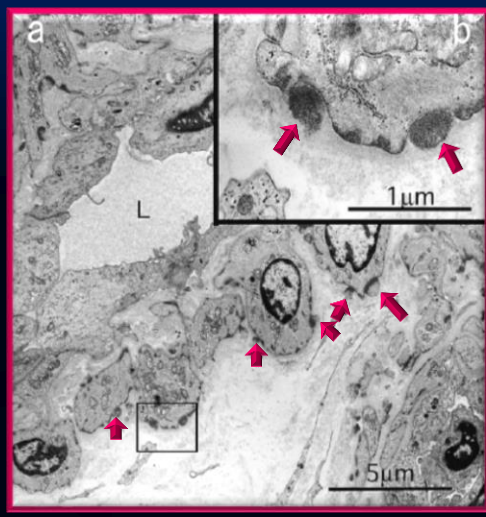
CADASIL:PERCORSO DIAGNOSTICO

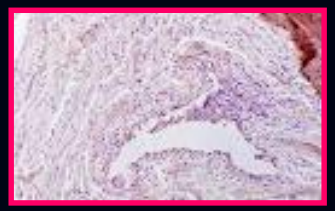
1)Anamnesi-Sintomi(Emicrania,TIA/Stroke,Deficit cognitivo, Sintomi psichiatrici)



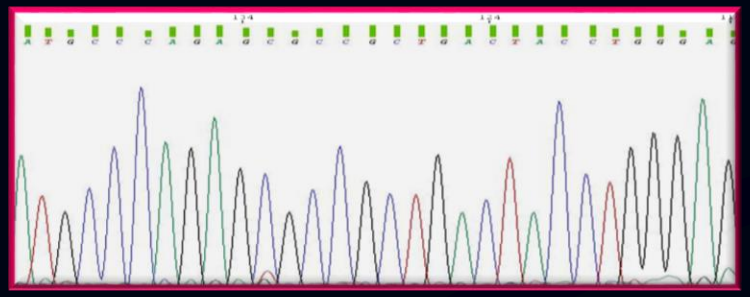
2)Le alterazioni(varia combinazione di iperintensità SB,lacune,Microbleeds ed atrofia)precedono l'esor= dio dei sintomi di 10–15 anni;aumentano con l'età e sono presenti in tutti i pz CADASIL dopo i 35 anni. Sedi "tipiche":Lobi temporali-capsula esterna.

3)Biopsia: Depositi di Materiale Granulare Osmiofilo(GOM)in prossimità delle CML. Se i test genetici identificano varianti non cisteina di significato sconosciuto





Immunocolorazione delle arteriole cutanee con un anticorpo monoclonale Notch3 specifico.
Lesnik Oberstein=alto n.ro di falsi-negativi e falsi-positivi:riduce sensibilità-specificità.



5) **1996.** Identificazione di <u>Notch3</u> come gene difettivo nella CADASIL → Diagnosi molecolare mediante analisi di sequenziamento →Gold Standard (Variabilità clinica e RMN).

Storia naturale e Profilo Temporale delle principali manifestazioni cliniche del CADASIL.

Emicrania(in genere con aura):circa 30 anni.

TIA/Stroke e Disturbi Psichiatrici(principalmente depressione):tra 40 e 60 anni.

Demenza:tra 50-60 anni.

Allettamento:a circa 65 anni.

Aspettativa di vita:circa 65 anni gli uomini e 71 le donne.

Esiste una spiccata variabilità del fenotipo clinico sia inter che intrafamiliare: età di esordio, tipologia, entità ed evoluzione delle manifestazioni cliniche.

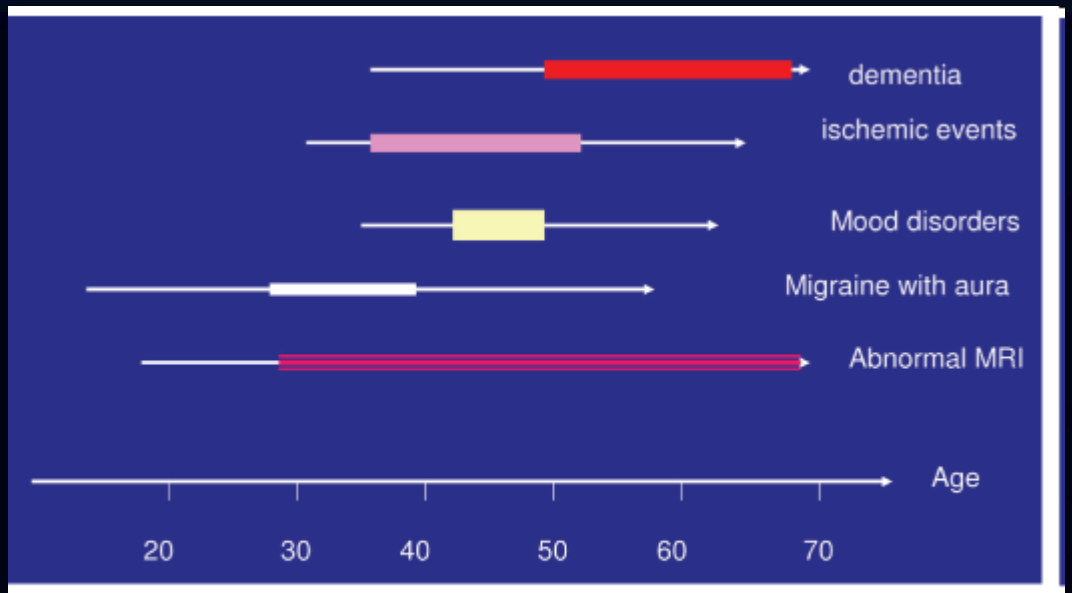


Fig 3. The natural history of CADASIL (redrawn from ref. 92). The main manifestations usually arise at different stages of the disease. Changes in magnetic resonance imaging (MRI) are also presented.

Chabriat 2009-Andrè 2010

EPIDEMIOLOGIA PREVALENZA

CADASIL in central Italy: a retrospective clinical and genetic study in 229 patients.

Bianchi,Zicari,Carluccio,Di Donato,Pescini,Nannucci Valenti,M Ragno,Inzitari, Pantoni,Federico,Dotti

Prevalenza minima (Toscana Marche,Umbria):4.1/100000

J Neurol. 2014

Narayan(‘12)prevalenza Minima 1.3-1.9 per 100000 adulti.

Razvi(‘05),Kalimo (’08) e Moreton (‘14) prevalenza media di 4/100.000.

MEDIA:2-5/100000

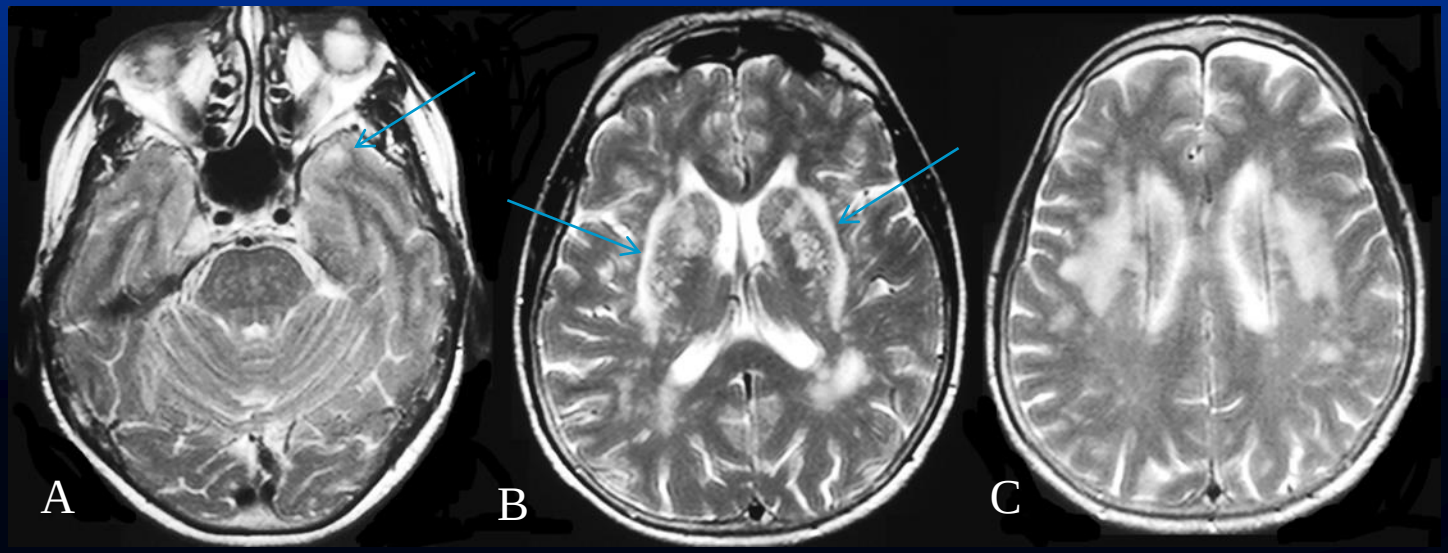
DIAGNOSI DIFFICILE ?

-Apparente assenza di ereditarietà in molti casi(casi apparentemente sporadici).
-Correlazione genotipo-fenotipo è elusiva(Bianchi,Rufa, Ragno et al.J Neurol 2010: **ex 10 e disturbi psichiatrici** ; Wang et al. J NeurolNeurosurg Psychiatry 2011; **maggiore incidenza di emorragia cerebrale nella popolazione asiatica;Liao YC et al ,PLos One 2015:popolazione cinese in Taiwan=minore frequenza di alterazione dei lobi temporali,esordio più tardivo-54.1 anni invece di 33.6/48.5-,minore frequenza di emicrania e maggiore incidenza di emorragia cerebrale).**
-Variabilità (anche intrafamiliare) fenotipica,età di esordio,evoluzione.
-Difficile dd con altre malattie cerebrovascolari(malattia ancora poco conosciuta ?).
-La presenza di fattori di rischio vascolare non esclude la diagnosi di CADASIL.
-RMN suggestiva(non in fase precoce) ma non specifica,Biopsia falsi neg fino al 50%

IN SINTESI: In caso di sospetto CADASIL **Non esistono dei markers specifici !** **DIAGNOSI GENETICA.**

DIAGNOSI DD

- DONNA DI 76 ANNI.
- PREGRESSO IMA.IMPIANTO DI PMK. SINDROME ANSIOSA.
- ANAMNESI FAMILIARE POSITIVA PER CARDIOPATIA ISCHEMICA
- RICOVERO PER IPOVITAMINOSI B12 (PARESTESIE DISTALI-RALLEN= TAMENTO PSICOMOTORIO) ED IPEROMOCISTEINEMIA.
- LIEVE DEFICIT DELLE FUNZIONI ESECUTIVE.
- TC CEREBRALE(LEUCOENCEFALOPATIA).
- MALATTIA DEI PICCOLI VASI ?ETA',FATTORI DI RISCHIO VASCOLARE
- REVISIONE DI UNA RMN EFFETTUATA OLTRE 10 ANNI PRIMA.

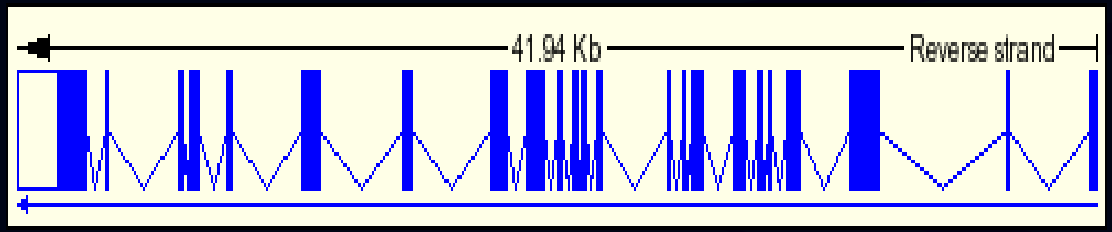


-Alterazioni a carico della regione anteriore dei lobi temporali(A).
-Alterazioni a carico delle capsule esterne(B)
-Leucoencefalopatia(C)

-CADASIL ?

NOTCH3: IL GENE

Il gene Notch3 è localizzato nel braccio corto del cromosoma 19, tra la posizione 13.2 e la posizione 13.1



Il gene è lungo 41.94 Kb ed è composto da 33 esoni, il trascritto è lungo 8.666 nucleotidi e codifica per un recettore di membrana di circa 2500 aa

Stroke, 43(11):2871-6, 2012

Stroke
Journal of the American Heart Association

American Heart Association | American Stroke Association

The Cerebral Autosomal-Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (CADASIL) Scale

A Screening Tool to Select Patients for *NOTCH3* Gene Analysis

Francesca Pescini, MD, PhD; Serena Nannucci, MD; Bruno Bertaccini, PhD; Emilia Salvadori, PhD; Silvia Bianchi, BSc, PhD; Michele Ragno, MD; Cristina Sarti, MD, PhD; Raffaella Valenti, MD; Enza Zicari, MD, PhD; Marco Moretti, MD; Stefano Chiti, RT(MR), MSc; Maria Laura Stromillo, MD; Nicola De Stefano, MD; Maria Teresa Dotti, MD; Antonio Federico, MD; Domenico Inzitari, MD; Leonardo Pantoni, MD, PhD

CADASIL scale .Il punteggio totale (range da 0 a 25) è ottenuto dalla somma del punteggio attribuito a ciascuna variabile.Un punteggio totale ≥15 è predittivo di CADASIL.
The CADASIL scale: a screening tool to select patients for NOTCH3 gene analysis.Stroke 2012.

Migraine 1
Migraine with aura 3
TIA or stroke 1
TIA/stroke onset ≤ 50 years 2
Psychiatric disturbances 1
Cognitive decline/dementia 3
Leukoencephalopathy 3
Leukoencephalopathy extended to temporal pole 1
Leukoencephalopathy extended to external capsule 5
Subcortical infarcts 2
Family history* in at least one generation 1
Family history* in at least two generations 2

*for at least one of the typical disturbances (headache, TIA/stroke, cognitive decline, psychiatric disturbances).

GENETICA

-Verifichiamo la eventuale presenza di mutazioni nel gene NOTCH3
-Mutazione p.C875R nell'esone 17.
-Mutazione con scarse-nulle implicazioni fenotipiche ?
-DIAGNOSI CASUALE ? Questa mutazione potrebbe essere associata con una forma di CADASIL "attenuata" o a un fenotipo di malattia dei piccoli vasi indistinguibile da quello considerato essere un "normale" processo cerebrovascolare relato all'invecchiamento (e che per manifestarsi ha necessità di più fattori di rischio vascolare)?

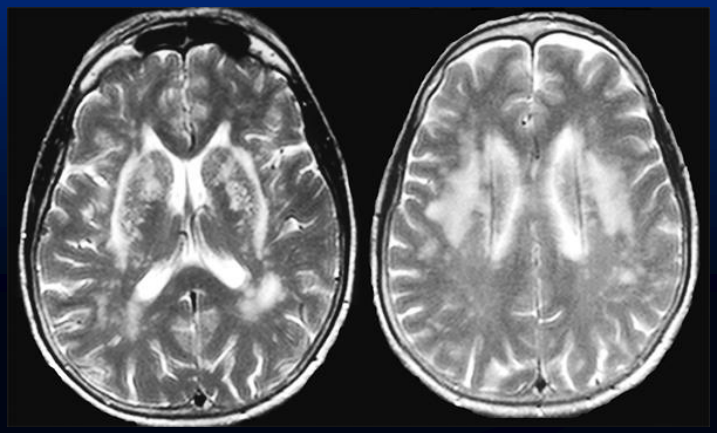
Nuova mutazione p.C875R esone 17

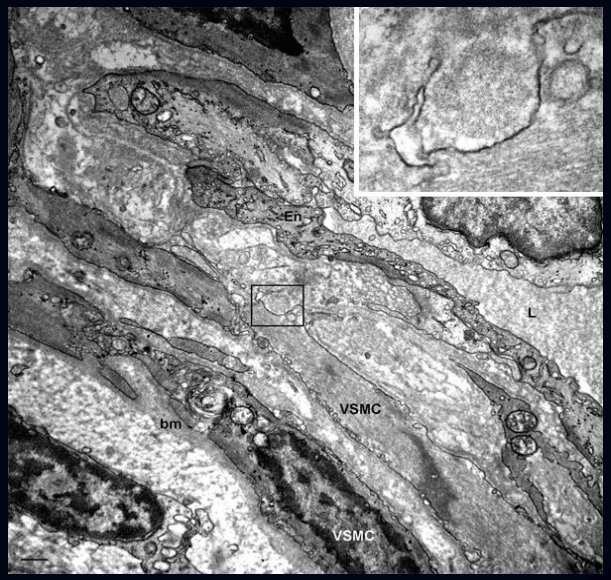
Int J Clin Exp Med 2016;9(11):21860-21865
www.ijcem.com /ISSN:1940-5901/IJCEM0035381

Original Article

Anxiety disorder as the sole clinical manifestation of a new CADASIL mutation associated with occasional GOM deposits

Michele Ragno[1], Luigi Pianese[2], Cristina Paci[1], Sandro Sanguigni[1], Valeria Cozzolino[2], Teresa Lorenzi[3], Luigi Trojano[4], Manrico Morroni[3,5]





Paziente (F) di 76 anni

- quadro neuroradiologico: tipico
- manifestazione clinica: ansia
- presenza di GOM

GENETICA

IN SINTESI:

In caso di sospetto CADASIL

Non esistono markers specifici

ed essendo causata da mutazioni nel gene NOTCH3

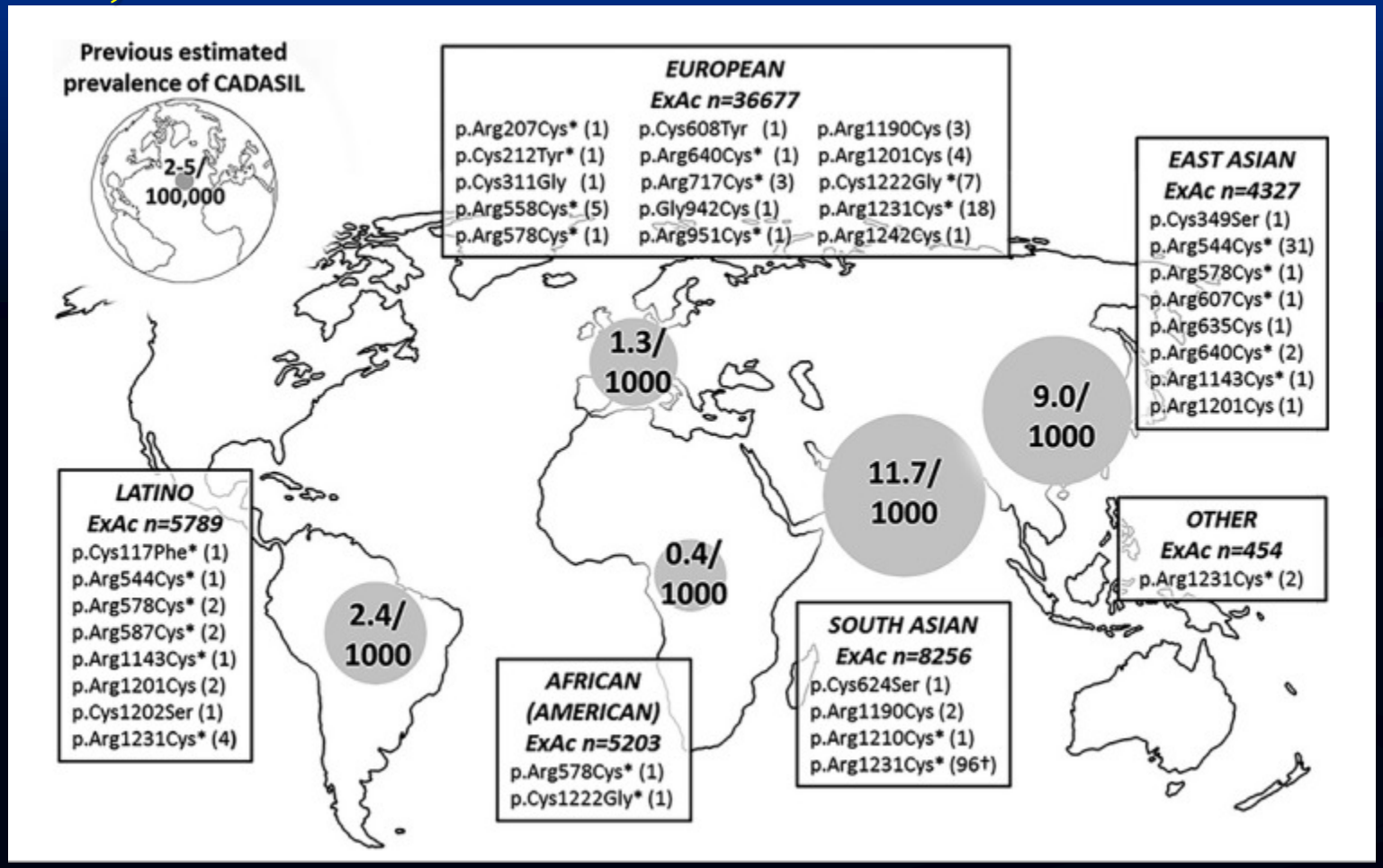
la conferma diagnostica E' SOLO GENETICA !

EPIDEMIOLOGIA.PREVALENZA NELLA POPOLAZIONE EUROPEA

MEDIA:2-5/100000 ?

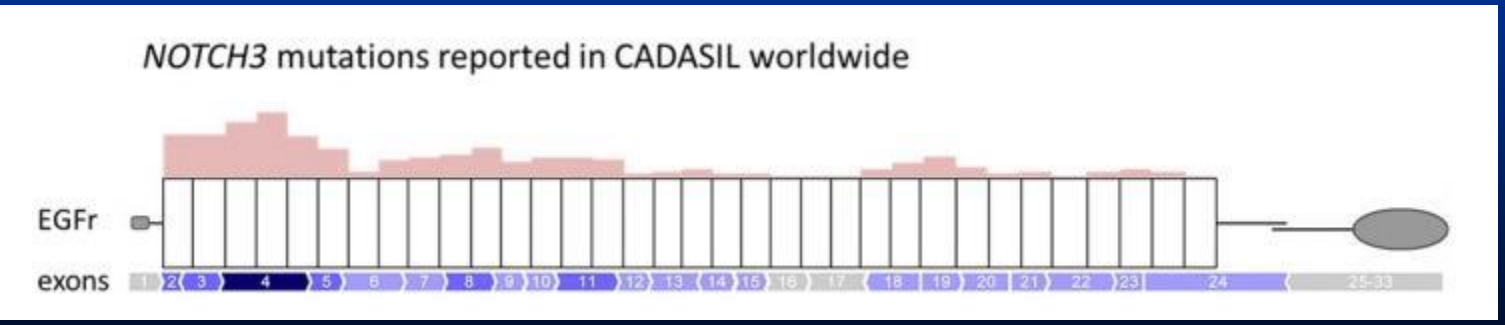
Nel 2016 Rutten et al hanno determina= to la frequenza delle mutazioni Notch3 (che coinvolgono i residui di Cisteina) in **60706 esomi**(33644 M e 27062 F) pre= senti nell' "Exome aggregation Consor= tium(ExAC) database". Il database com prendeva 14 indipendenti studi di coorte nessuno dei quali specifico per stroke e demenza con individui assegnati a 6 di= verse popolazioni.

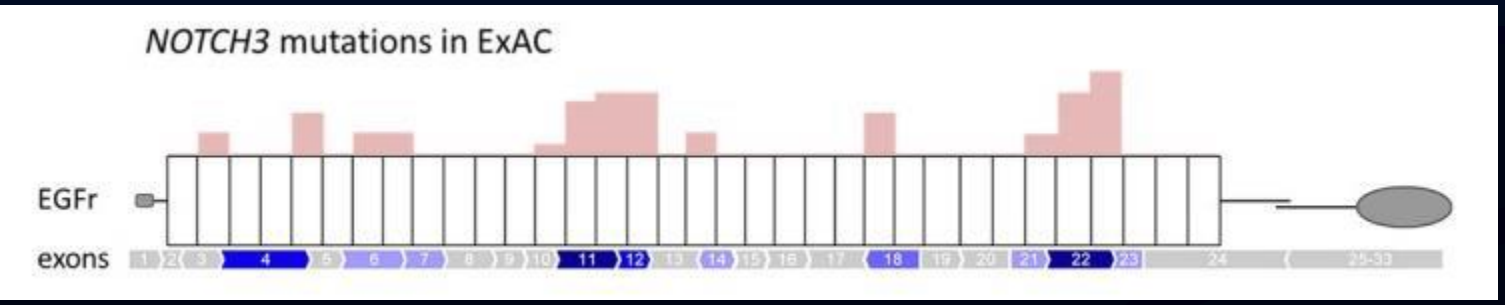
Frequenza delle mutazioni Notch3 nel ExAC database:
Sono state identificate 206 mutazioni in Notch3 con una prevalenza totale di 3,4 / 1000

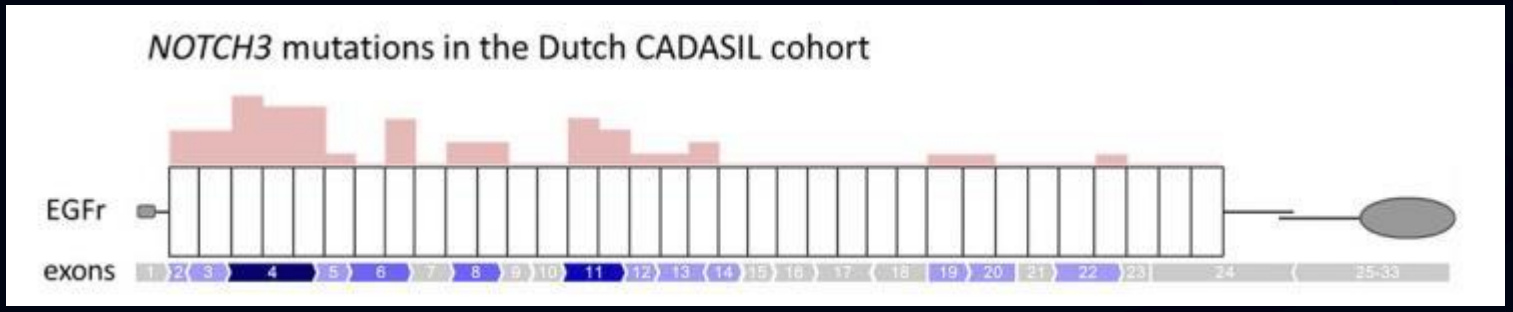


I CONSIDERAZIONE

Distribuzione delle mutazioni NOTCH3 nei 34 domini EGFr



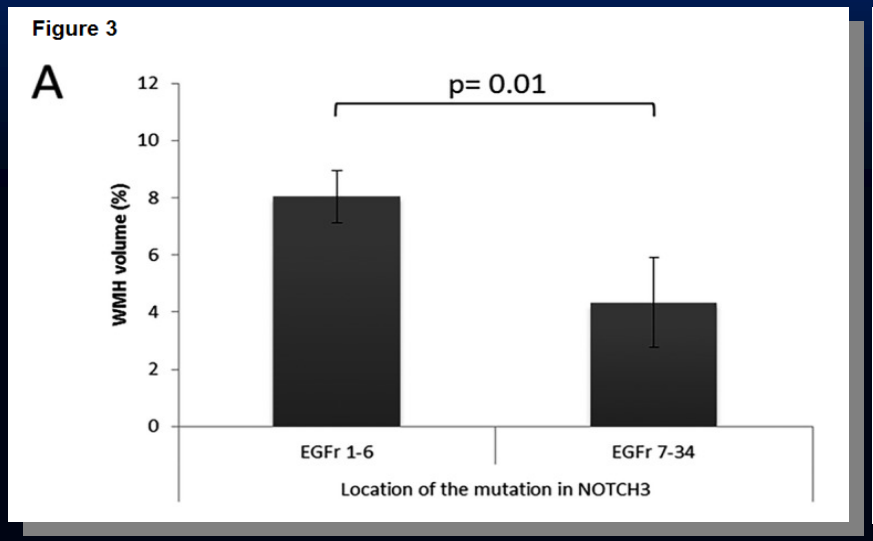


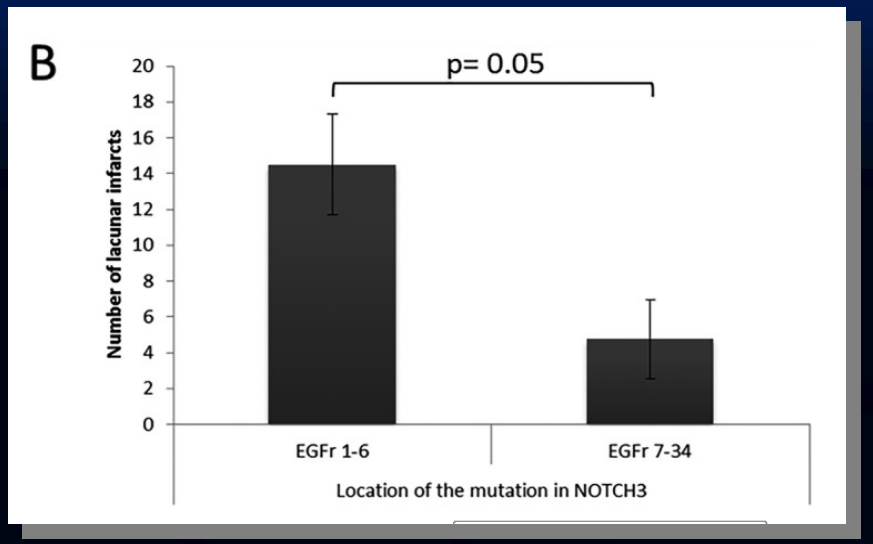


Le mutazioni nella popolazione genera le sono prevalente= mente situate al di fuori dei domini EGFR 1-6

II CONSIDERAZIONE

Le mutazioni che si trovano nei domini EGFR 1-6 predispongono ad una forma di CADASIL "classico" con un fenotipo più severo rispetto ai domini EGFR 7-34 (Rutten et al.,Ann.Clin Transl,2016)





Correlazione tra localizzazione delle mutazioni nei domini EGFR e volume delle lesioni della sostanza bianca (A) e numero di infarti lacunari (B).Le mutazioni nei domini EGFr 7-34 sono meno severe (anche paucisintomatiche) e pertanto possono essere NON RICONOSCIUTE come CADASIL (sottodiagnosticato!).

III CONSIDERAZIONE

Genetics inMedicine | ARTICLE

Corrected: Correction

© The Author(s) 2018

Open

The effect of *NOTCH3* pathogenic variant position on CADASIL disease severity: *NOTCH3* EGFr 1–6 pathogenic variants are associated with a more severe phenotype and lower survival compared with EGFr 7–34 pathogenic variants

Julie W. Rutten, MD, PhD[1,2], Bastian J. Van Eijsden, BSc[1], Marco Duering, MD[3], Eric Jouvent, MD, PhD[4], Christian Opherk, MD[5], Leonardo Pantoni, MD, PhD[6], Antonio Federico, MD, PhD[7], Martin Dichgans, MD, PhD[3], Hugh S. Markus, MD, PhD[8], Hugues Chabriat, MD, PhD[4] and Saskia A. J. Lesnik Oberstein, MD, PhD[1]

RUTTEN et al

- Confrontando il fenotipo relativamente alla localiz= zazione delle mutazioni in 664 individui europei diagnosticati affetti da CADASIL :
- I pz CADASIL con mutazioni nei domini EGFr 1–6 hanno un esordio di stroke più precoce(12 anni prima),una minore sopravvivenza ed un più alto carico lesionale alla RMN rispetto ai pz con muta= zioni nei domini EGFr 7–34

I CONSIDERAZIONE

RUTTEN et al

- Confrontando la localizzazioni delle mutazioni in 463 individui europei diagnosticati CADASIL e nella popolazione generale (76266,europei,genome Aggregation Database,gnomAD) :
- Il 70% dei pz diagnosticati CADASIL avevano una mutazione nei domini EGFr 1–6 ,mentre nella popolazione generale predominavano le mutazioni nei domini EGFr 7–34(NON DIAGNOSTICATE !).

II CONSIDERAZIONE

RUTTEN et al SPECTRUM fenotipico ?

- La posizione della mutazione è (potrebbe essere)
- il fattore più importante (dopo l'età) nel determinare la variabiltà e la severità della malattia ?
- più importante dei fattori di rischio vascolare e dei geni modifi= catori (es.APOE ε2)?,che cmq sono players determinanti(insieme ad altri da identificare)la variabilità (anche intrafamiliare) del CADASIL ?
- Si può parlare di un CADASIL spectrum?: una mutazione nei domini EGFr 1–6 predispone ad un CADASIL "classico" (seve ro) mentre mutazioni nei domini EGFr 7–34 determinano un fenotipo più attenuato(lieve),fenotipo non/poco diagnosticato?

FUTURO

- E' indispensabile studiare ampie popolazioni di pz con CADASIL con maggiori informazioni fenotipiche (cliniche -laboratoristiche e di neuroimaging) per :
- confermare l'effetto "specifico" di una certa mutazione per **una corretta prognosi soprattutto** per tutti quei soggetti che saranno «casualmente» diagnosticati CADASIL nell'era del sequenziamento dell'intero genoma o dell'esoma;
- verificare se esistono fattori protettivi da una forma severa di CADASIL.

Questi studi potrebbero far luce su biomarker ?Nuovi targets terapeutici?.

CADASIL

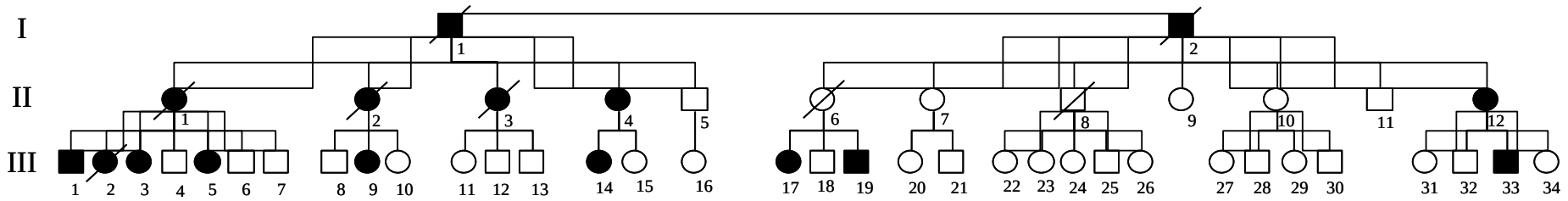
ESPERIENZA NEL PICENO

Ann Neurol. 1995 Aug;38(2):231-6.

An Italian kindred with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL).

Ragno M, Tournier-Lasserve E, Fiori MG, Manca A, Patrosso MC, Ferlini A, Sirocchi G, Trojano L, Chabriat H, Salvi F

C



Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy , Genetic Homogeneity, and Mapping of the Locus within a 2-cM Interval

A. Ducros,T. Nagy, S. Alamowitch,A. Nibbio,A. Joutel,K. Vahedi,H. Chabriat,M. T. Iba-Zizen, J. Julien, P. Davousi J. Y. Goas,Lyon-Caen,B. Dubois,X. Ducrocq,F. Salsa, M. Ragno, P. Burkhard,C. Bassetti,M. Hutchinson,M. Verin,F. Viader,F. Chapon,M. Levasseur,J. L. Mas,Delrieu,J. Maciazek,M. Prieur,H. Mohrenweiser,J. F. Bach,M. G. Bousser and E. Tournier-Lasserve

Am J Hum Genet 171-181 1996

Stroke, 27 Febbraio 2014

Stroke
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION

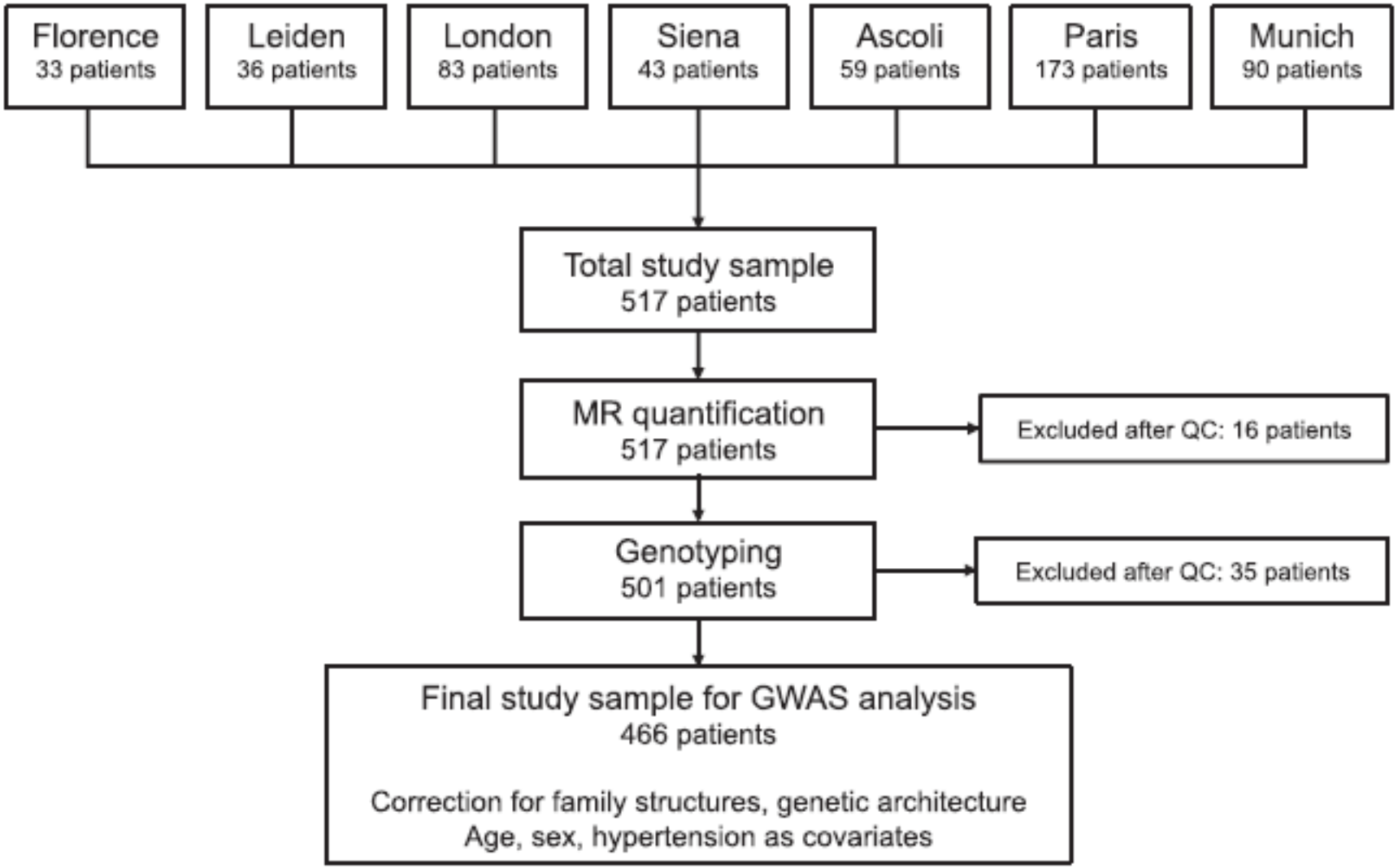
American Heart Association | American Stroke Association

Original Contribution

Genome-Wide Genotyping Demonstrates a Polygenic Risk Score Associated With White Matter Hyperintensity Volume in CADASIL

Christian Opherk, MD*; Mariya Gonik, PhD*; Marco Duering, MD; Rainer Malik, PhD; Eric Jouvent, MD, PhD; Dominique Hervé, MD; Poneh Adib-Samii, MBBS; Steve Bevan, PhD; Luigi Pianese, MSc, PhD; Serena Silvestri, MSc; Maria Teresa Dotti, MD; Nicola De Stefano, MD; Michael Liem, MD; Elles M.J. Boon, PhD; Francesca Pescini, MD, PhD; Chahin Pachai, PhD; Luc Bracoud, MSc; Bertram Müller-Myhsok, MD; Thomas Meitinger, MD; Natalia Rost, MD, MPH; Leonardo Pantoni, MD, PhD; Saskia Lesnik Oberstein, MD, PhD; Antonio Federico, MD; Michele Ragno, MD; Hugh S. Markus, MD, FRCP; Elisabeth Tournier-Lasserve, MD; Jonathan Rosand, MD, MSc; Hugues Chabriat, MD, PhD; Martin Dichgans, MD

Stroke, 27 Febbraio 2014



J Cereb Blood Flow Metab. 2015

APOE ε2 is associated with white matter hyperintensity volume in CADASIL.

Gesierich B, Opherk C, Rosand J, Gonik M, Malik R, Jouvent E, Hervé D, Adib-Samii P, Bevan S, **Pianese L**, **Silvestri S**, Dotti MT, De Stefano N, van der Grond J, Boon EM, Pescini F, Rost N, Pantoni L, Lesnik Oberstein SA, Federico A, **Ragno M**, Markus HS

Apolipoprotein E (APOE) increases the risk for Alzheimer's disease (ε4 allele) and cerebral amyloid angiopathy (ε2 and ε4), but its role in small vessel disease (SVD) is debated. Here we studied the effects of APOE on white matter hyperintensity volume (WMHV) in 488 CADASIL patients through a multicenter consortium. Compared with APOE ε3/ε3, WMHV was increased in APOE ε2 (P=0.02) but not APOE ε4.

Our findings suggest a modifying influence of APOE ε2 on WMHV caused by pure SVD.

SPETTRO MUTAZIONALE ?

- Inizialmente Joutel proponeva lo screening degli esoni 3 e 4(70% dei CADASIL francesi,80% di quelli inglesi e 60-70% di altre popolazioni europee o asiatiche hanno mutazioni in questi esoni) ma…
- Dotti(’05)descriveva in Italia una frequenza mutazionale negli es. 3 e 4 di circa il 60%,uno spettro mutazionale più eterogeneo ed una diversa distribuzione geografica di alcune mutazioni.

Esperienza nel Piceno

- Esiste una distribuzione geografica PICENA delle mutazioni CADASIL?

CADASIL

ESPERIENZA NEL PICENO

ESISTE UNO SPETTRO MUTAZIONALE DEL GENE NOTCH3 NEL PICENO ?

Neuroscience Letters 462 (2009) 176–178

Contents lists available at ScienceDirect

Neuroscience Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neulet

High recurrence of the R1006C NOTCH3 mutation in central Italian patients with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)

Alessia Cappelli [a,b,*], Michele Ragno [c], Gabriella Cacchiò [c], Maria Scarcella [c], Paolo Staffolani [a], Luigi Pianese [a]

[a] U.O. Laboratorio Analisi Cliniche e Microbiologiche, Settore di Medicina Molecolare ASUR ZT13, Ascoli Piceno, Italy
[b] Doctoral Course in Environmental Sciences and Public Health, School of Advanced Studies, Università degli Studi di Camerino, Italy
[c] U.O. Neurologia, ASUR ZT13, Ascoli Piceno, Italy

ARTICLE INFO

Article history:
Received 20 March 2009
Received in revised form 24 June 2009
Accepted 26 June 2009

Keywords:
CADASIL
Leukoencephalopathy
NOTCH3
Mutation

ABSTRACT

Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) is a heritable small-vessel disease caused by mutations in NOTCH3 gene and clinically characterized by recurrent ischemic strokes, migraine with aura, psychiatric symptoms, cognitive decline and dementia. Direct sequencing of NOTCH3 gene in 90 Italian patients of sixty-three unrelated families identified four heterozygous mutations (R141C and C144F in exon 4, G528C in exon 10 and R1006C in exon 19) in fifteen probands and sixteen relatives. We detected seventeen heterozygous/homozygous polymorphisms, four of them novel. Here we report the high recurrence of R1006C mutation in ten families all originate from a restricted area of central Italy, the town of Ascoli Piceno and same neighbour villages. We also developed a PCR–Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) assay to analyze the R1006C mutation. Our findings might suggest, for this mutation, the presence of a common ancestor.

© 2009 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

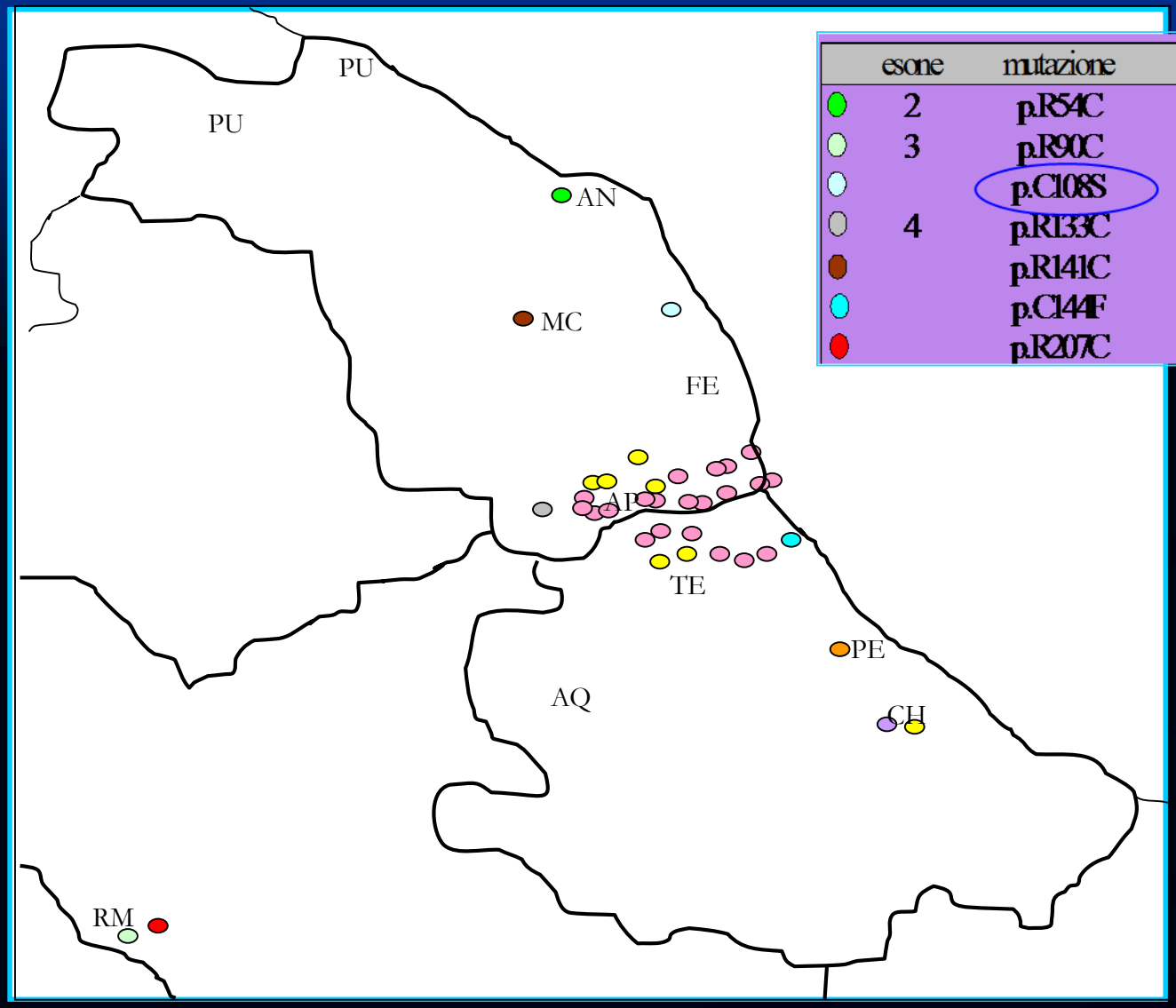
PAZIENTI

Abbiamo effettuato la diagnosi molecolare per sequenziamento diretto in 310 pazienti appartenenti a 200 famiglie con sospetto CADASIL.

I pazienti sono stati selezionati sulla base dei seguenti criteri:
- storia familiare compatibile con una trasmissione genetica autosomica dominante
- MRI compatibile con infarti cerebrali multipli e leucoaraiosi

Essi mostravano anche uno o più dei seguenti segni clinici come:
- TIA o stroke
- Difetti cognitivi
- Epilessia
- Emicrania
- Sintomi psichiatrici

RISULTATI



esone	mutazione	esone	mutazione
2	p.R54C	10	p.G528C
3	p.R90C	11	p.R558C
	p.C108S	19	p.R1006C
4	p.R133C	22	p.R1231C
	p.R141C		
	p.C144F		
	p.R207C		

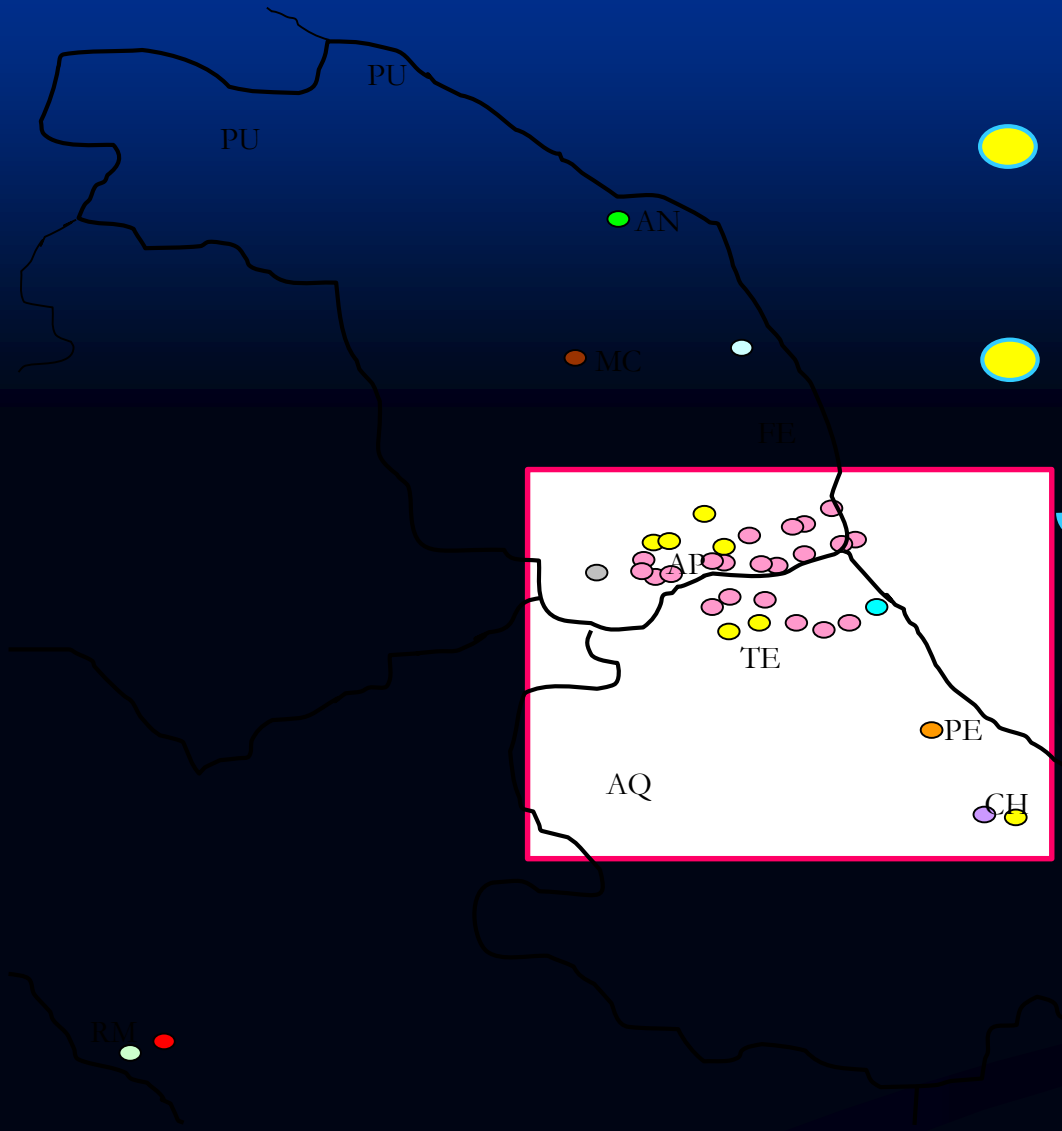
Sono state identificati:

1)94 soggetti (su 310) CADASILappartenenti a **41(su 200) famiglie(20.5%)**

2)11 diverse mutazioni(10 sono mutazioni eterozigoti missense già descritte in letteratura, mentre la C108S nell'Es 3 è una nuova mutazione missense).

2009

41 FAMIGLIE



9 famiglie con mutazione p.G528C nell'esone 10

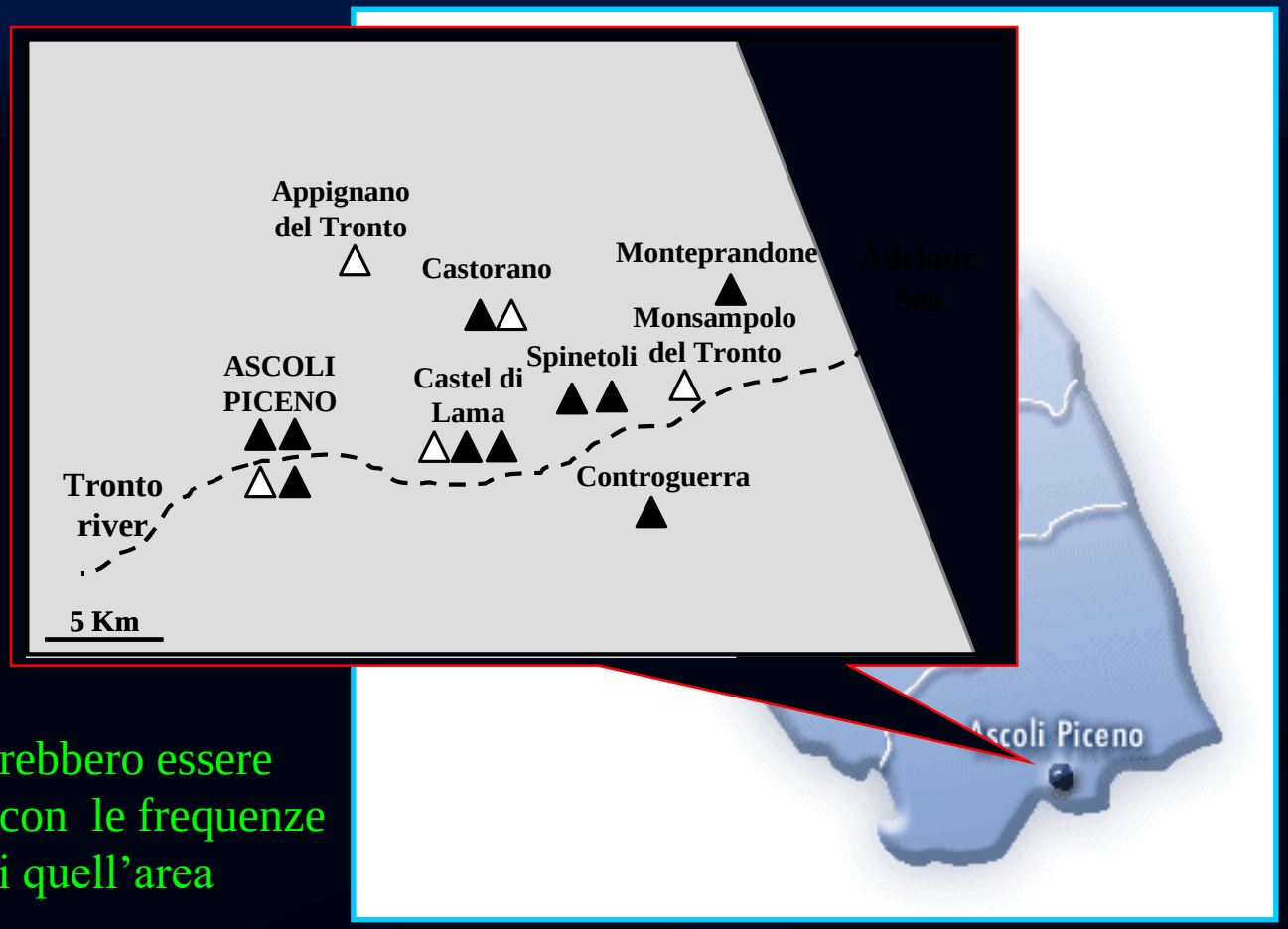
23 famiglie con mutazione p.R1006C nell'esone 19

Ristretta area geografica: Ascoli Piceno - Teramo

Effetto fondatore ?

Distribuzione della mutazione R1006C nella provincia di AP.
Cappelli,Ragno et al.Neuroscience Letters 462 ***(2009)*** *176–178*

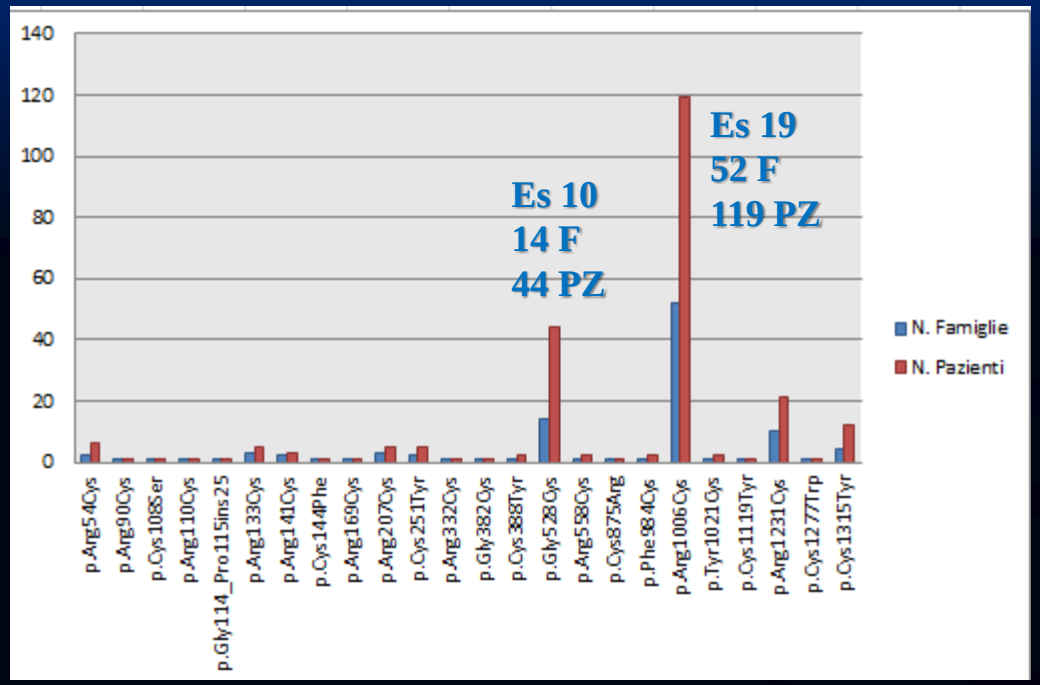
Questo studio, in accordo con Dotti et al,suggerisce la necessità di un'analisi "popolazione" orientata:l'analisi completa del gene NOTCH3 è costosa e time consuming!



I tests molecolari dovrebbero essere sviluppati in accordo con le frequenze mutazionali proprie di quell'area geografica!

NOTCH3: LE MUTAZIONI PICENE

I tests molecolari dovrebbero essere sviluppati in accordo con le frequenze mutazionali proprie di quell'area geografica!



ex 1 ex 3 ex 4 ex 6 ex 8 ex 10 ex 12 ex 14 intron 15 ex 17 ex 19 ex 21 ex 23 ex 25 ex 27 ex 29 ex 31 ex 33

Mutazioni Notch3

mutazione cDNA	cambio aa	esone /introne	EGFR	N. Famiglie	N. Pazienti
c.160C>T	p.Arg54Cys	esone 2	1	2	6
c.268C>T	p.Arg90Cys	esone 3	2	1	1
c.322T>A	p.Cys108Ser	esone 3	2	1	1
c.328C>T	p.Arg110Cys	esone 3	2	1	1
IVS3-26_24delAAC	p.Gly114_Pro115ins25	introne 3		1	1
c.397C>T	p.Arg133Cys	esone 4	3	3	5
c.421C>T	p.Arg141Cys	esone 4	3	2	3
c.431G>T	p.Cys144Phe	esone 4	3	1	1
c.505C>T	p.Arg169Cys	esone 4	4	1	1
c.619C>T	p.Arg207Cys	esone 4	5	3	5
c.752G>A	p.Cys251Tyr	esone 5	6	2	5
c.994C>T	p.Arg332Cys	esone 6	8	1	1
c.1144G>T	p.Gly382Cys	esone 7	9	1	1
c.1163G>A	p.Cys388Tyr	esone 7	9	1	2
c.1582G>T	p.Gly528Cys	esone 10	13	14	44
c.1672C>T	p.Arg558Cys	esone 11	14	1	2
c.2623T > C	p.Cys875Arg	esone 17	22	1	1
c.2951T>G	p.Phe984Cys	esone 18	25	1	2
c.3016C>T	p.Arg1006Cys	esone 19	26	52	119
c.3062A>T	p.Tyr1021Cys	esone 19	26	1	2
c.3356G>A	p.Cys1119Tyr	esone 21	28	1	1
c.3691C>T	p.Arg1231Cys	esone 22	31	10	21
c.3831T>G	p.Cys1277Trp	esone 23	32	1	1
c.3944G>A	p.Cys1315Tyr	esone 24	33	4	12
				107	**239**

Es. 22 Cardile (Campania)

CADASIL,DIAGNOSI: I SINTOMI

Emicrania. (75-77%; 20–40% E. con aura).Età media di esordio:30 anni.

✓Disturbi psichiatrici: 20-31% dei pz; depressione;apatia(40%).

✓Stroke/TIA ricorrenti: 60-85% dei pz.;età media di esordio: 49 anni (Range:20-70).

✓Deficit cognitivi progressivi fino a franca demenza di tipo sottocorticale,con/senza stroke(60%).Nel 10% dei casi deficit cognitivo è isolato

PARKINSONISMO

✓Crisi epilettiche. (5-10%).

✓Coma CADASIL

Assenza dei principali fattori di rischio vascolare (la presenza non esclude la diagnosi di CADASIL!).

… altre manifestazioni cliniche

- **PARKINSONISMO**

Stroke, 44(4):1147-9, 2013

Stroke
Journal of the American Heart Association

American Heart Association | American Stroke Association

Brief Report

Parkinsonism is a Late, Not Rare, Feature of CADASIL

A Study on Italian Patients Carrying the R1006C Mutation

Michele Ragno, MD; Alfonso Berbellini, MD; Gabriella Cacchiò, MD; Antonio Manca, MD; Fabio Di Marzio, MD; Luigi Pianese, MSC, PhD; Anna De Rosa, MD, PhD; Serena Silvestri, MSC; Maria Scarcella, MD; Giuseppe De Michele, MD

Abbiamo descritto 5 pazienti CADASIL con parkinsonismo con la stessa mutazione R1006C nell'esone 19 confrontandoli con 3 CADASIL senza parkinsonismo.

4M, 1F,età media: ± SD 63.0 ± 9.3 anni.

I 5 pz presentavano un parkinsonismo ad esordio tardivo ed insidioso, lentamente progressivo e non responsivo alla L-Dopa.

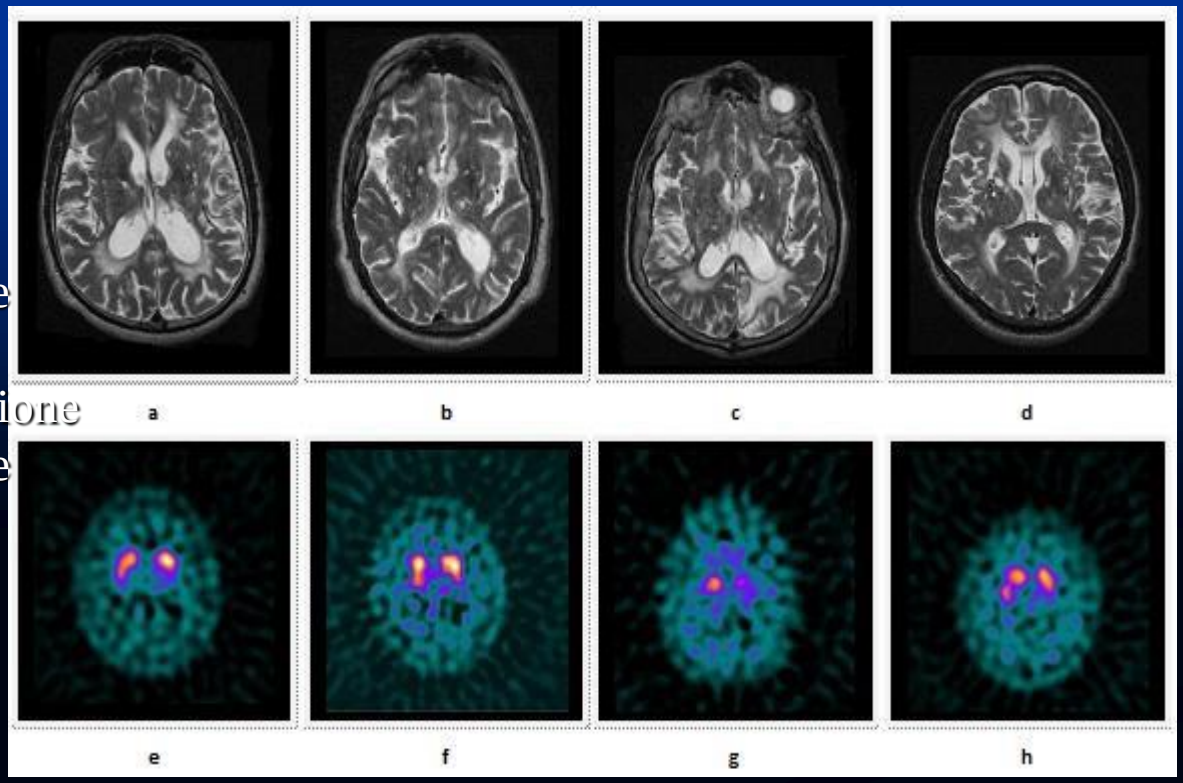
Età media di esordio delle manifestazioni cliniche del CADASIL:47.6 ± 14.3 anni.

Età media di esordio del parkinsonismo: 61.6 ± 8.7.

Clinical features of the patients

	Patients with parkinsonism					*Patients without parkinsonism*		
Case	*1*	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*
Sex/age	M/59	M/50	F/75	M/64	M/67	M/55	M/54	M/55
Age at onset CADASIL/PARK	30/58	45/49	59/72	39/63	65/66	52/NA	37/NA	54/NA
H-Y/UPDRS-III	mar-15	mar-16	mag-67	mar-19	mar-20	NA	NA	NA
RS/GDS	02-apr	02-mag	05-giu	02-mag	02-apr	01-feb	01-apr	01-mar
Akinesia	yes	yes	yes	yes	yes	no	no	no
Rigidity	yes	yes	yes	yes	yes	no	no	no
Tremor	no	no	no	no	no	no	no	no
Dysarthria	yes	yes	yes	yes	yes	yes	no	no
abnormal gait	yes	yes	yes	yes	yes	no	no	yes
postural instability	yes	yes	yes	yes	yes	no	no	no
asymmetry of parkinsonism	right	no	no	no	no	NA	NA	NA
cognitive impairment	moderate	moderate	severe	moderate	moderate	mild	moderate	mild
levodopa response	no	no	not tested	no	no	NA	NA	NA
Apraxia	yes	yes	not testable	yes	yes	yes	yes	yes
increased tendon reflexes	yes	yes	yes	yes	yes	yes	no	yes
Babinski sign	no	left	no	left	no	no	no	no
pseudo-bulbar signs	yes	yes	yes	yes	yes	no	no	no
urinary incontinence	yes	yes	yes	yes	yes	no	no	no

Non associazione tra dati RMN e DAT(no correlazione tra localizzazione delle lesioni e DAT), così come già segnalato da Benitez-Rivero et al in 106 pz con Parkinsonismo Vascolare.



[123I]-FP-CIT showing: slight reduction of left putamen uptake in Case 1 (e); bilateral low putaminal uptake in Case 2 (f); bilaterally reduced uptake in the caudate and putamen in Case 3 (g); moderate low uptake at the right caudate and bilaterally reduced putaminal uptake in Case 5 (h).

Scintigrafia miocardica con 123 MIGB: normale

CONCLUSIONI

Parkinsonismo nel CADASIL non è una manifestazione precoce,esordio insidioso,progressione lenta e può essere preceduto da una fase presintomatica(infatti era presente una denervazione nigrostriatale anche in 2 pz senza parkin sonismo).E' possibile che una estesa malattia dei piccoli vasi (CADASIL)possa danneggiare la sost. nera,il puta= men,il caudato e/o i circuiti gangli della base-talamo-corticali e che , dopo una protratta fase presintomatica, alcuni pz possano mostrare un parkinsonismo a lenta Progressione?

CADASIL

- Non è solo una malattia potenzialmente severa che coinvolge centinaia di famiglie nel mondo, ma è anche un potenziale "modello" per studiare la storia naturale e le conseguenze della malattia dei piccoli vasi cerebrali in generale.
- Per es. per studiare la più comune delle malattie dei piccoli vasi cerebrali legata all'età e all' ipertensione arteriosa o il PV.

CADASIL-MODELLO?

-Diagnosi precoce (anche in fase presintomatica)

-Sono pz con una patologia vascolare ben definita

-Età di esordio più precoce rispetto a altre patolo= gie degenerative età-correlate

-Pz con la stessa mutazione : potrebbe essere un "modello" più affidabile per un approccio sistema tico perchè si verrebbe a ridurre il n.ro di variabili.

PARKINSONISMO & CADASIL

Non Raro?

Relativamente frequente:Dichgans('02) descriveva la presenza di " basal ganglia symptoms" nel 19% (età 40 49),33%(età 50-59) e 48%(età 60-69) dei suoi 102 casi.

Neurol Sci
DOI 10.1007/s10072-016-2497-x

ORIGINAL ARTICLE

Parkinsonism in a pair of monozygotic CADASIL twins sharing the R1006C mutation: a transcranial sonography study

Michele Ragno[1] · Sandro Sanguigni[1] · Antonio Manca[2] · Luigi Pianese[3] · Cristina Paci[1] · Alfonso Berbellini[4] · Valeria Cozzolino[3] · Roberto Gobbato[1] · Silvio Peluso[5] · Giuseppe De Michele[5]

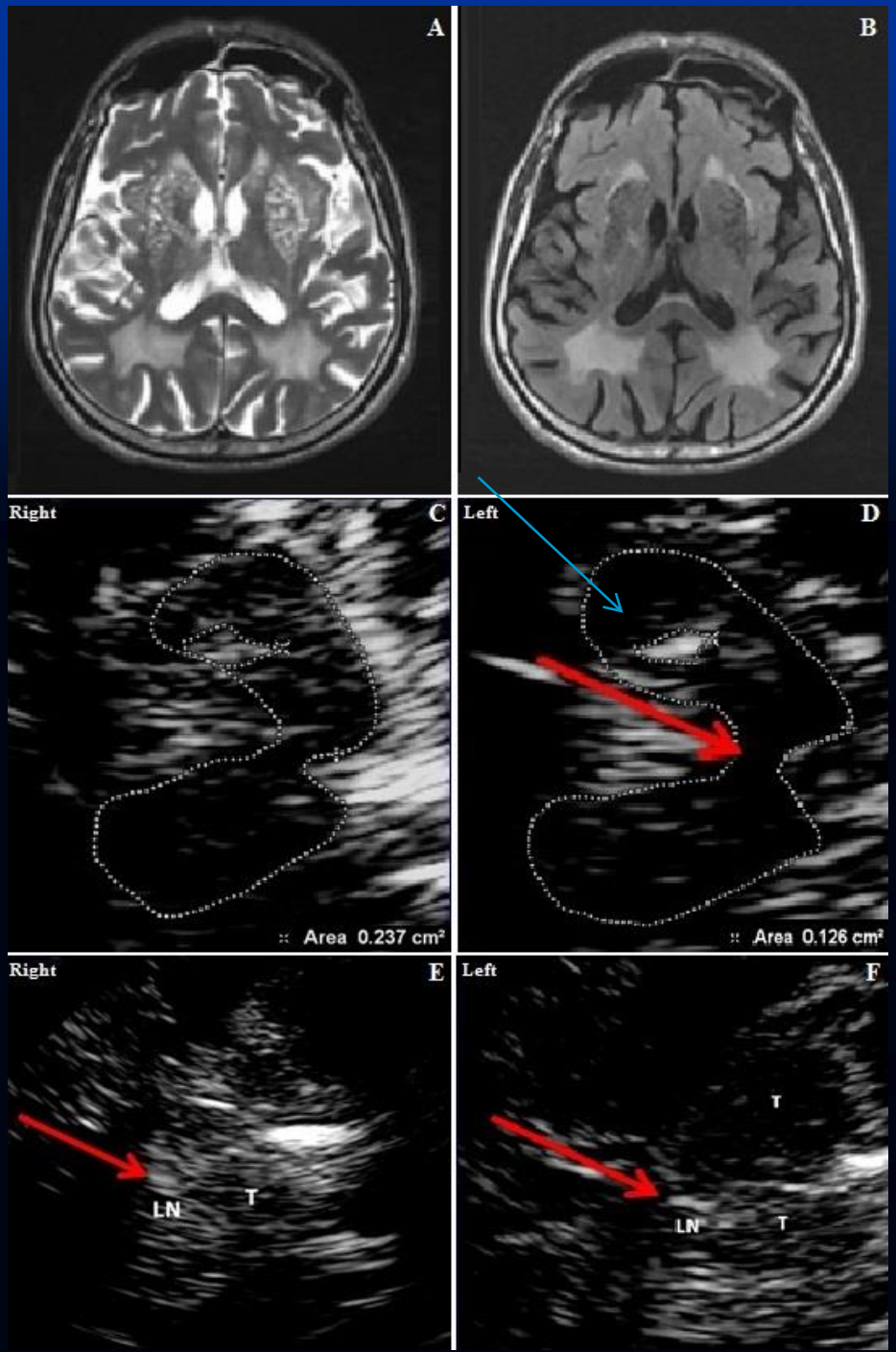
SONOGRAFIA TRANSCRANICA

- In entrambi i gemelli la sonografia transcranica evidenziava una diffusa iperecogenicità delle strutture sottocorticali :

1) della Sostanza Nera bil. in uno ed a dx nell'altro gemello;
2) dei n. lenticolari bil. con lieve incremento dell'ampiezza del III ventricolo in entrambi.

C.Gemello B. Iperecogenicità della SN a DX.(0,23 cm2)

Iperecogenicità bil. dei NL (frecce rosse).



SONOGRAFIA TRANSCRANICA

- Iperecogenicità asimmetrica della SN, senza iperecogenicità dei NL, è stata descritta come reperto sonografico caratteristico nel Parkinson
- Iperecogenicità della SN monol. o bil. era descritta solo nel 20% di pz con Parkinsonismo Vascolare (PV;Tsai, 2007) mentre il NL non era mai stato esaminato ed attualmente l'iperecogeni cità della SN non è considerata specifica del PV.

SONOGRAFIA TRANSCRANICA

- Il pattern sonografico nei nostri pz CADASIL:
- non è caratteristico per PD !
- E del PV ?
- Naturalmente sarebbe importante riprodurre gli stessi reperti in un maggior n.ro di pz CADASIL per testare il loro possibile significato ed ‚even= tualmente, per una dd tra CADASIL e/o PV dal PD e/o altri tipi di Parkinsonismi atipici.

PATOLOGIA MULTISISTEMICA?

Se la causa del danno parenchimale è un'angiopatia SISTEMICA non arteriosclerotica e non amiloidea che colpisce le arteriole e le piccole arterie…

non ci si può meravigliare che,nel corso della malattia, possano essere coinvolti anche altri organi (muscoli, reni,cuore,nervi periferici).

Neuroscience Letters, 506:116-120, 2012

Neuroscience Letters 506 (2012) 116–120

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Neuroscience Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neulet

Multi-organ investigation in 16 CADASIL families from central Italy sharing the same R1006C mutation

Michele Ragno[a], Luigi Pianese[b], Gabriella Cacchiò[a], Antonio Manca[c], Maria Scarcella[a], Serena Silvestri[b], Fabio Di Marzio[a], Anna Rita Caiazzo[a], Flavia Silvaggio[a], Giorgio Tasca[d], Massimiliano Mirabella[d,e], Luigi Trojano[f,*]

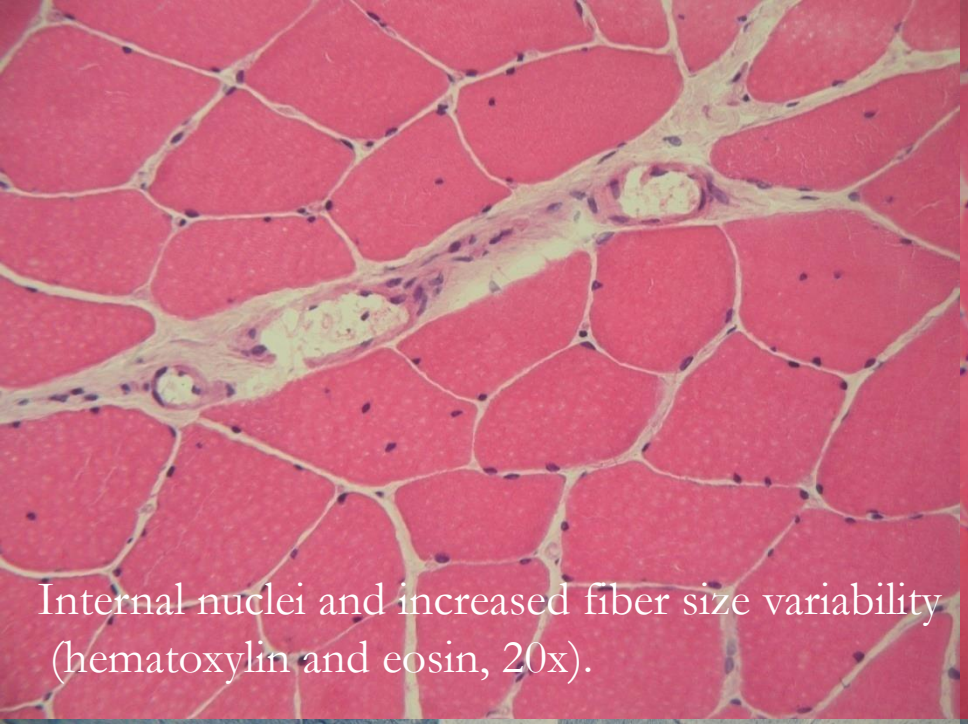
Subclinical myopathy

5 soggetti CADASIL con iperCKemia presentavano alla biopsia muscolare alte= zioni miopatiche subcliniche senza altera= zioni mitocondriali.
Nella norma livelli di distrofina, caveolina, alpha- e gamma sarcoglicano,alpha destro= glicano e merosina.
Non accumuli di desmina e miotilina (immunoistochimica).
Non alteration in NOS1 and NOS2 immunoreactivity was found.

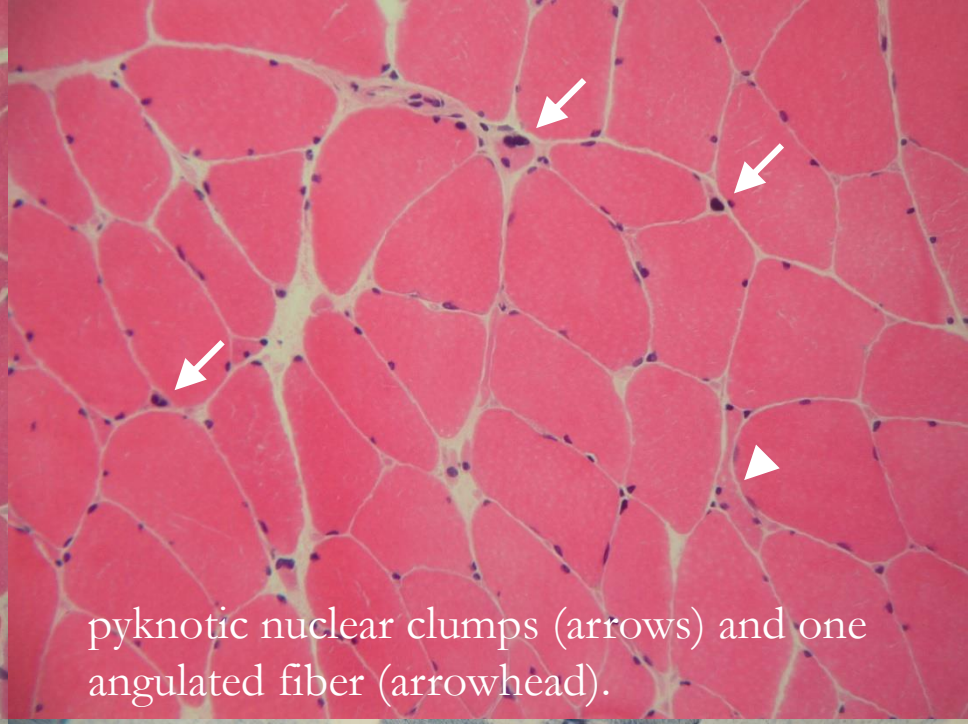
Neuroscience Letters 506 (2012) 116–120

"Multi-organ investigation in 16 CADASIL families from central Italy sharing the same R1006C Mutation".

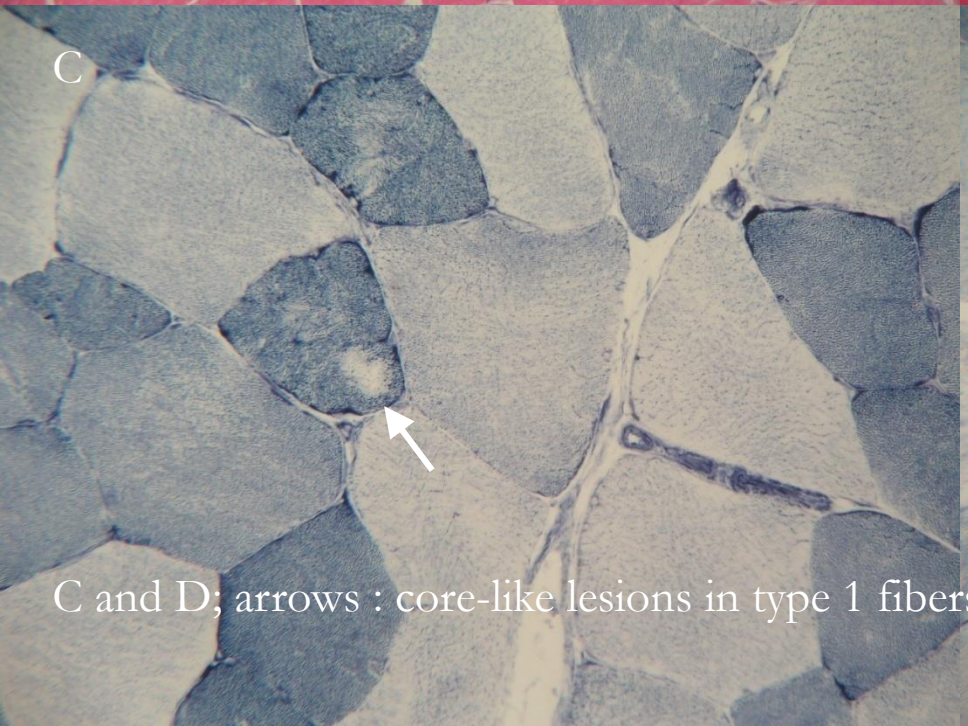
Michele Ragno et al



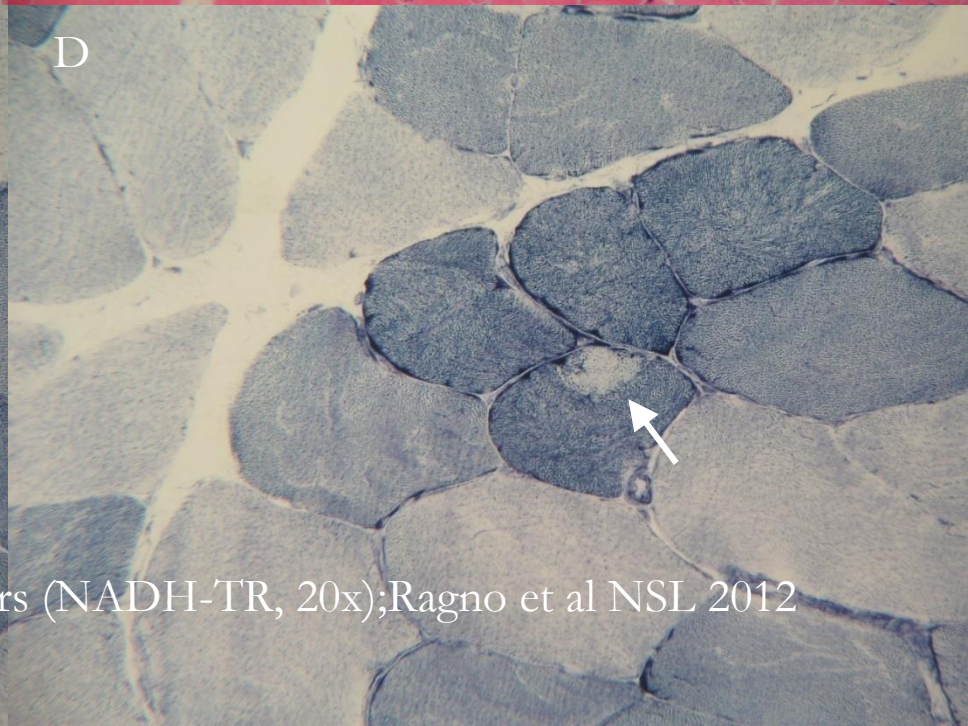
Internal nuclei and increased fiber size variability (hematoxylin and eosin, 20x).



pyknotic nuclear clumps (arrows) and one angulated fiber (arrowhead).



C



D

C and D; arrows : core-like lesions in type 1 fibers (NADH-TR, 20x);Ragno et al NSL 2012

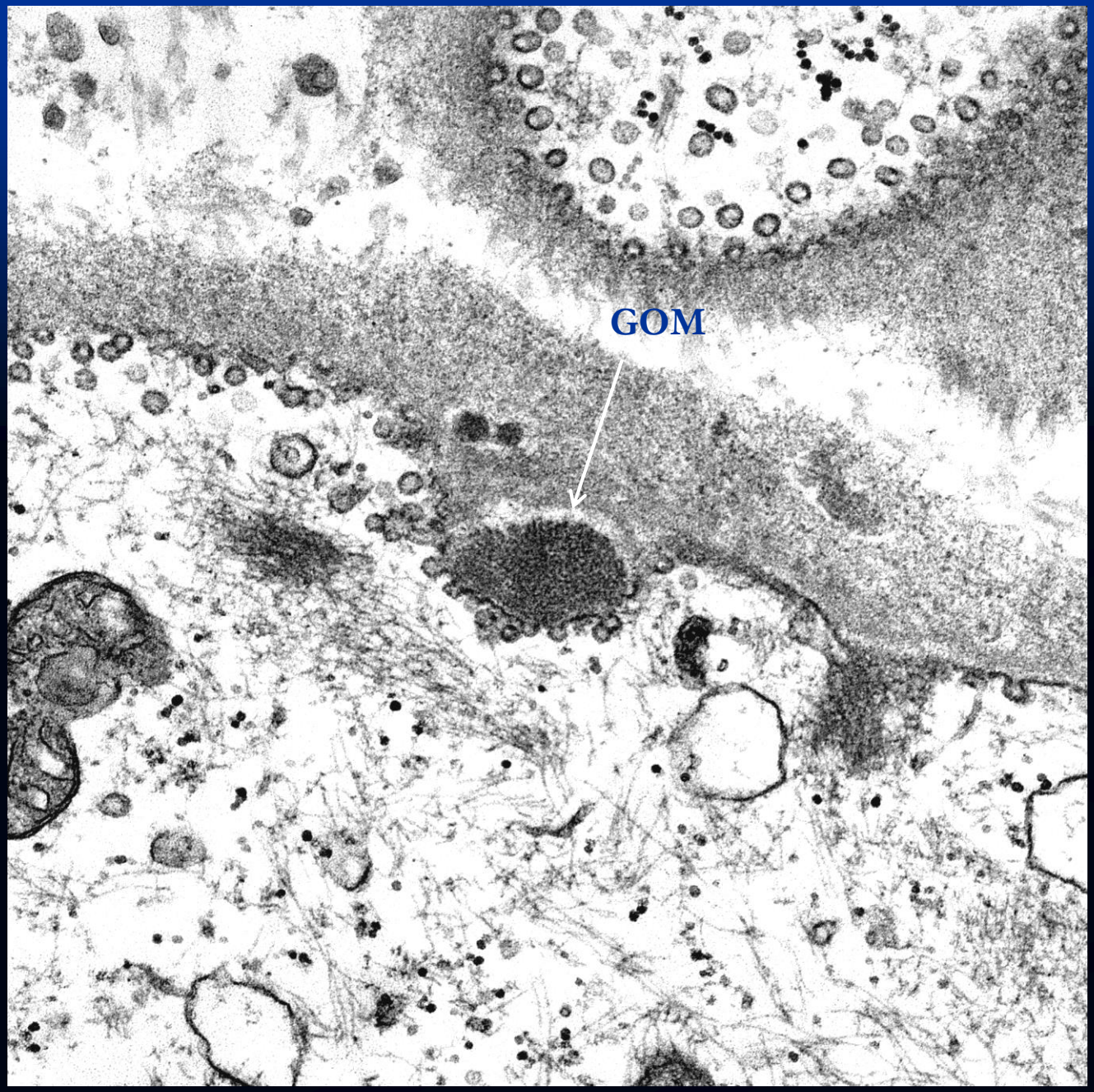
Histology and Histopathology, 27:1307-14, 2012

Renal involvement in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL): report of a case with a six-year follow-up

Michele Ragno[1], Luigi Trojano[2], Luigi Pianese[3], Maria Virginia Boni[4], Serena Silvestri[3], Vladimiro Mambelli[5], Teresa Lorenzi[6], Marina Scarpelli[7] and Manrico Morroni[6]

[1]Division of Neurology, Mazzoni Hospital, Ascoli Piceno, Italy, [2]Department of Psychology, Second University of Naples, Italy, [3]Molecular Medicine Laboratory, Mazzoni Hospital, Ascoli Piceno, Italy, [4]Division of Nephrology, Mazzoni Hospital, Ascoli Piceno, Italy, [5]Division of Pathological Anatomy, Mazzoni Hospital, Ascoli Piceno, Italy, [6]Department of Experimental and Clinical Medicine, Section of Anatomy, Università Politecnica delle Marche and Electron Microscopy Unit, School of Medicine, United Hospital, Ancona, Italy and [7]Section of Pathological Anatomy, Università Politecnica delle Marche, School of Medicine, United Hospital, Ancona, Italy

KIDNEY



PLOS ONE, 8 (6):e65482, 2013

OPEN ACCESS Freely available online

PLOS | ONE

Role of Electron Microscopy in the Diagnosis of Cadasil Syndrome: A Study of 32 Patients

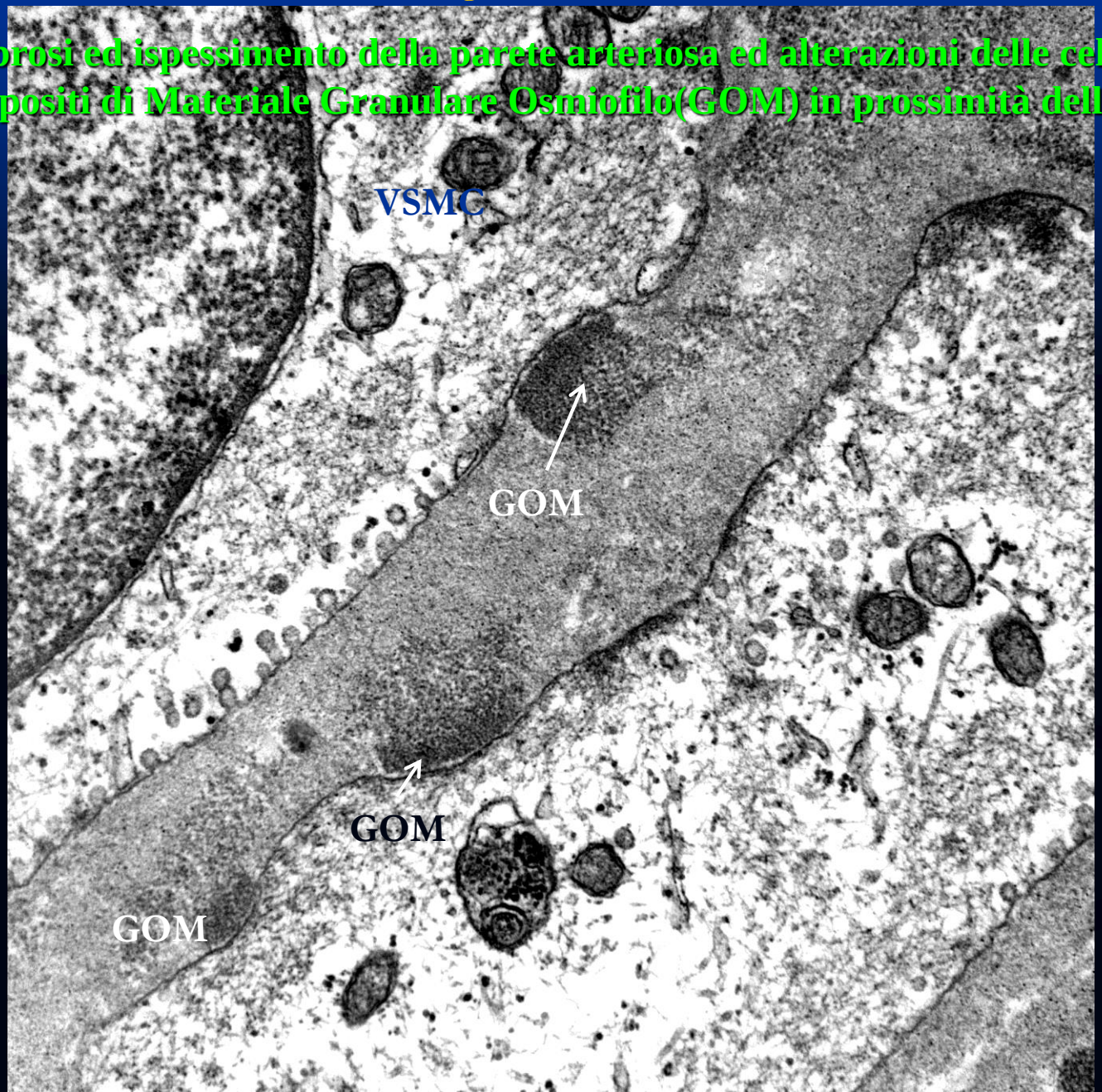
Manrico Morroni[1,2*], Daniela Marzioni[1*], Michele Ragno[3], Paolo Di Bella[4], Elisabetta Cartechini[5], Luigi Pianese[6], Teresa Lorenzi[1], Mario Castellucci[1], Marina Scarpelli[7]

Verificare specificità-sensibilità dello studio bioptico -M.E.-nella diagnosi di CADASIL

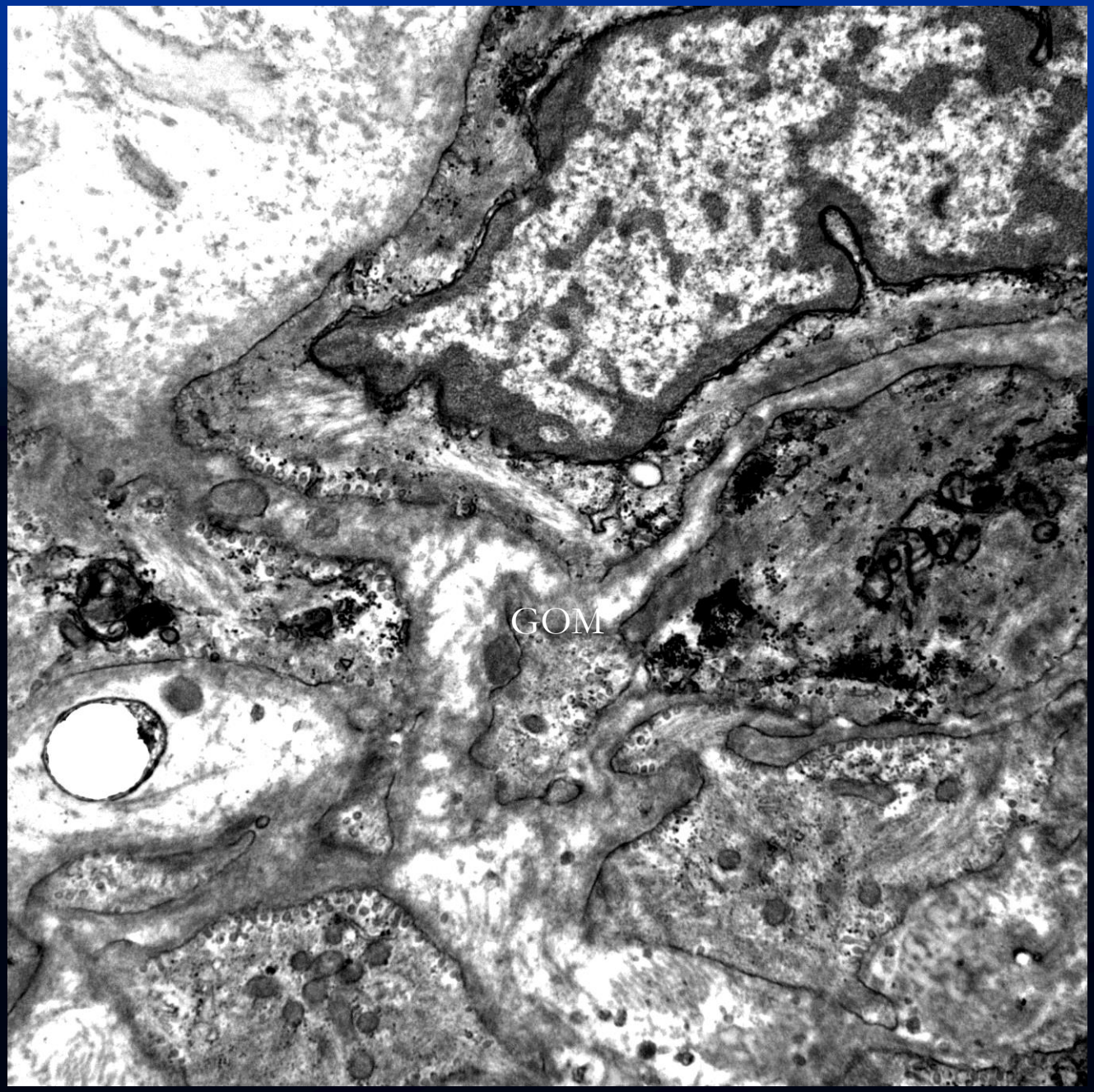
PLoS One.**Role of electron microscopy in the diagnosis of CADASIL syndrome: a study of 32 patients.**Morroni M, Marzioni D, Ragno M et al.

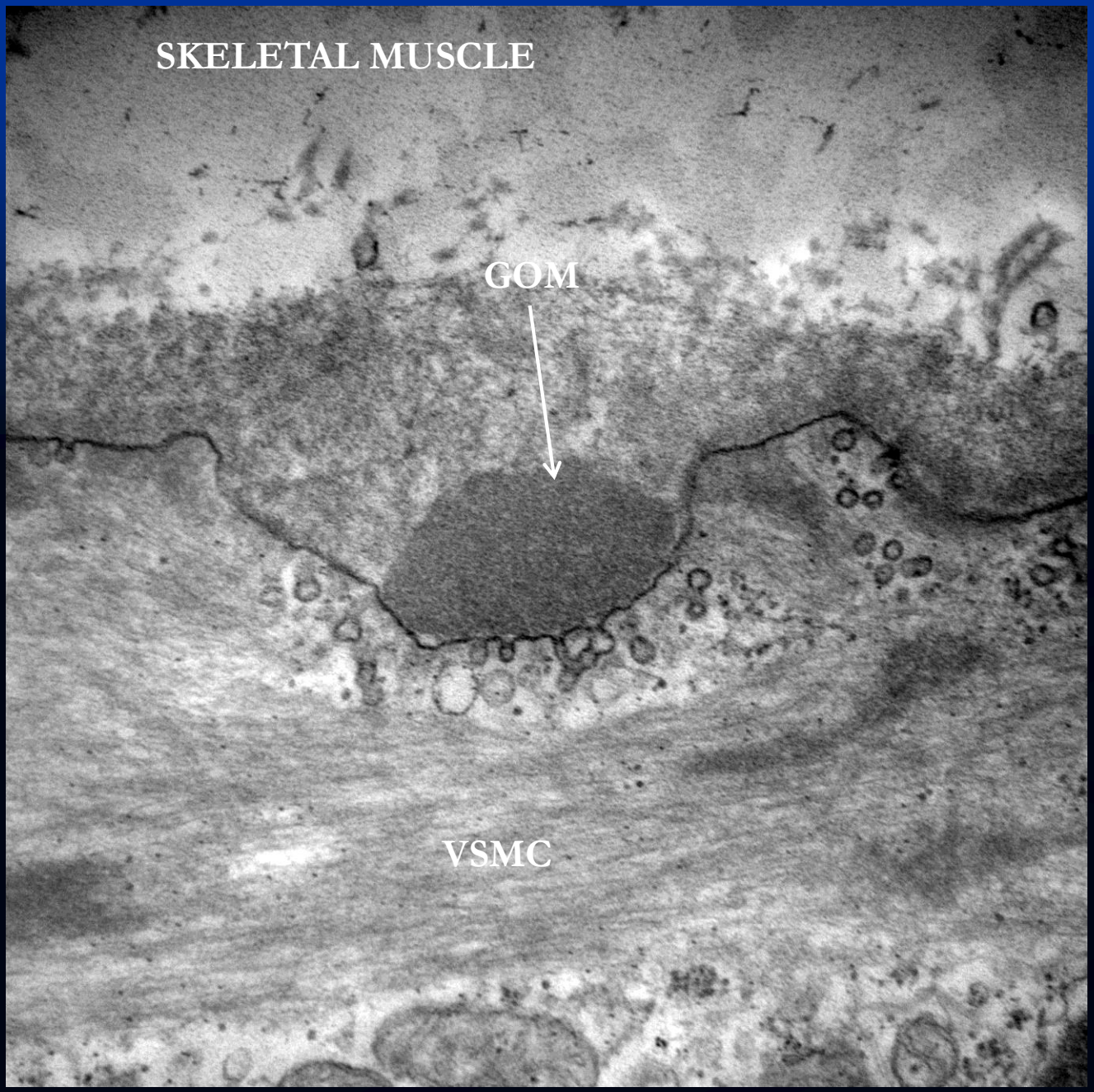
M.O:Fibrosi ed ispessimento della parete arteriosa ed alterazioni delle cell. Musc. lisce.
M.E.:depositi di Materiale Granulare Osmiofilo(GOM) in prossimità delle CML.

SKIN



Pericardium




SKELETAL MUSCLE
GOM
VSMC

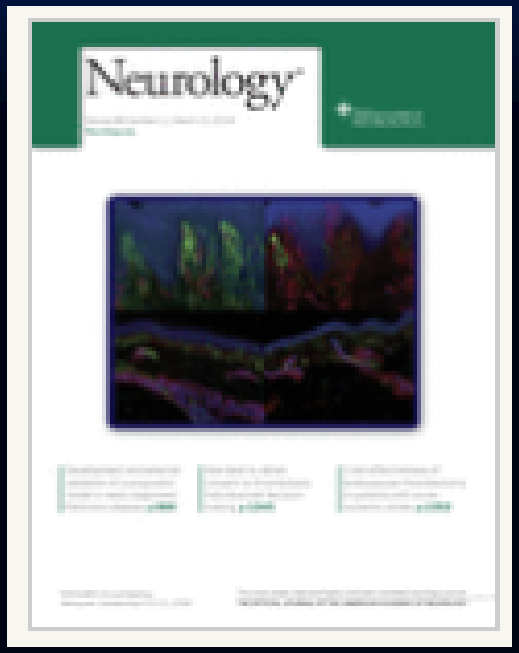
CADASIL

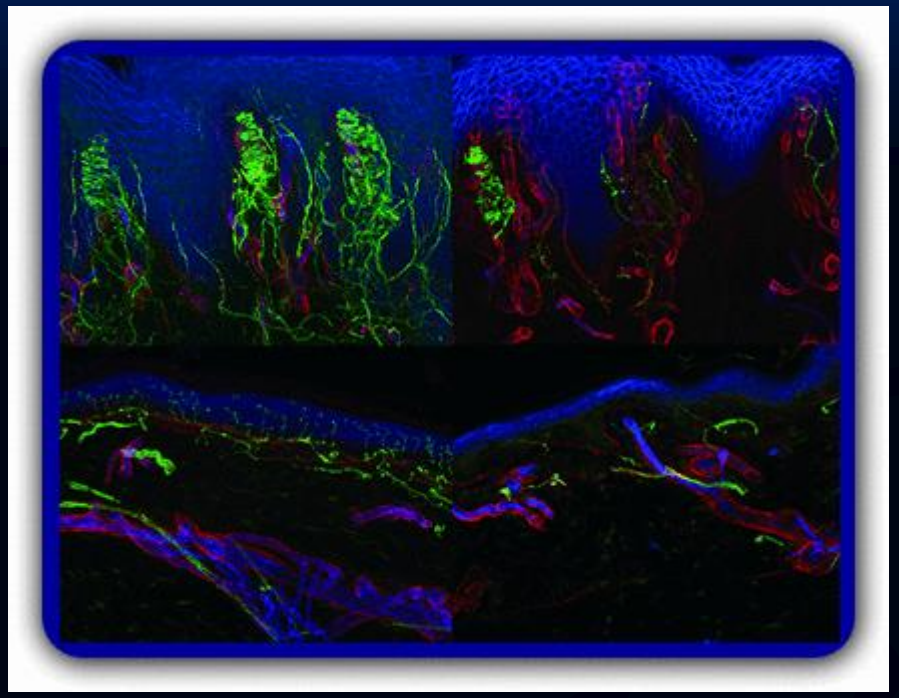
- **SISTEMA NERVOSO PERIFERICO ?**
- CUORE?

Neurology. 2016 Mar 15;86(11):1039-44.

Cutaneous sensory and autonomic denervation in CADASIL.

Nolano M[1], Provitera V[2], Donadio V[2], Caporaso G[2], Stancanelli A[2], Califano F[2], Pianese L[2], Liguori R[2], Santoro L[2], Ragno M[2]





Cover image: Confocal images showing cutaneous sensory denervation and vascular abnormalities in a patient with CADASIL (upper and lower right) compared to a control (upper and lower left).

CADASIL e PNP ?

- 3 studi con reperti contrastanti.
- 1: PNP in 3/43 CADASIL(2 pz diabetici).
- 2: PNP in 7/11 CADASIL (elettrofisiologia e neuro= patologia).
- 3 : studio in ME evidenziava un quadro di degenerazio ne assonale,di ipo ed iper mielinizzazione,anormalità vascolari in 7/7 pz
- TECNICHE PIU' SENSIBILI possono evidenziare un sottostante processo patologico?

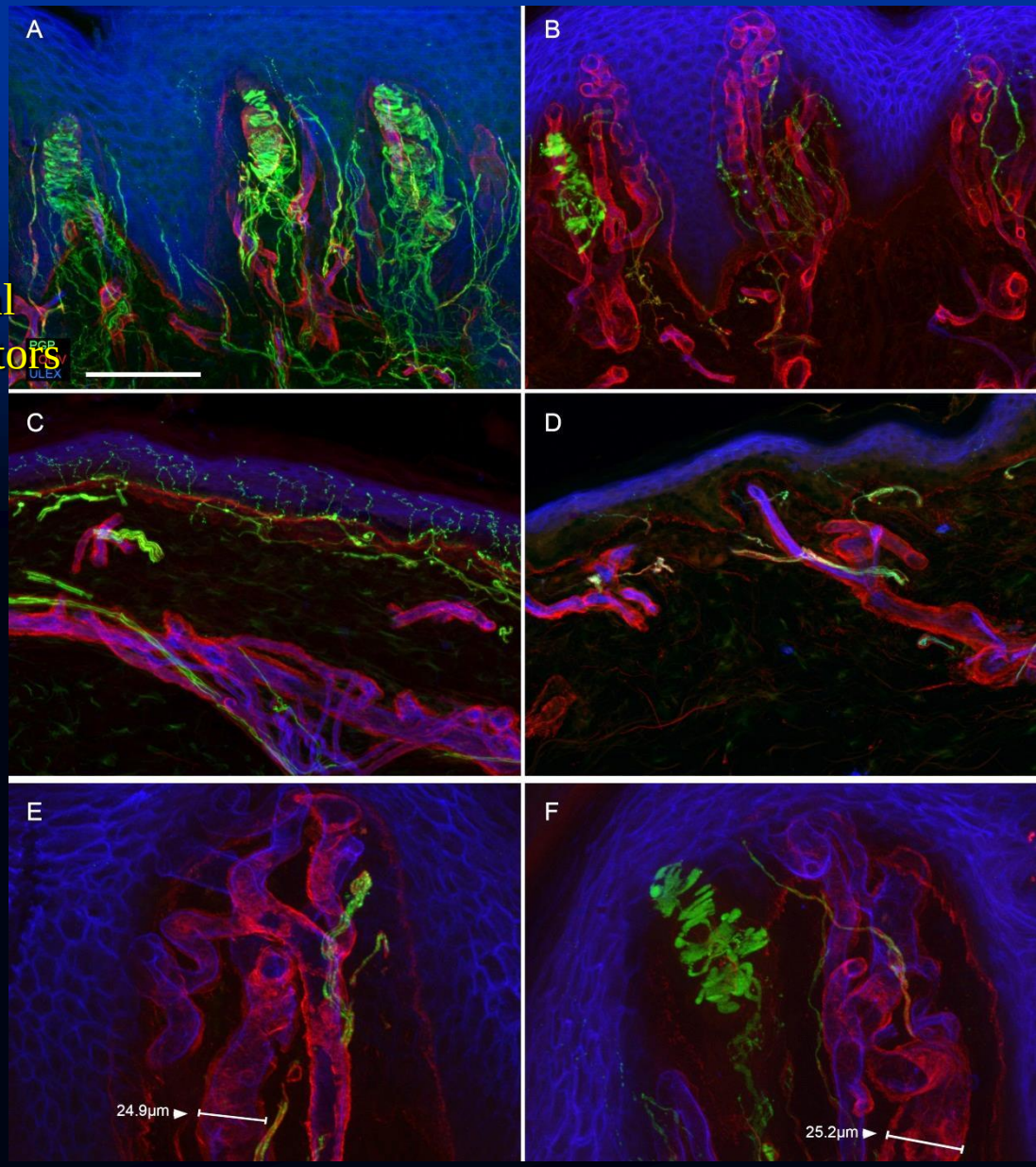
CADASIL-PNP

- Mediante biopsia cutanea abbiamo studiato i vasi e le fibre nervose sensitive ed autonomiche cutanee in 14 pazienti con CADASIL
- Abbiamo riscontrato una severa riduzione di ff nervose sudomotorie,vasomotorie e pilomotorie ed una severa alterazione del letto vascolare.

Cutaneous sensory **denervation** and vascular abnormalities in a **CADASIL patient (B, D, E and F)** compared to a **control (A and C).**
Loss of Meissner corpuscles and structural abnormalities of surviving mechanoreceptors **(B compared to A).**

Severe loss of intraepidermal nerve fibers is evident in glabrous **(B compared to A)** as well as in hairy **(D compared to C)** skin.

The vessel network appears complex and dermal capillaries abnormally dilated **(E and F).**

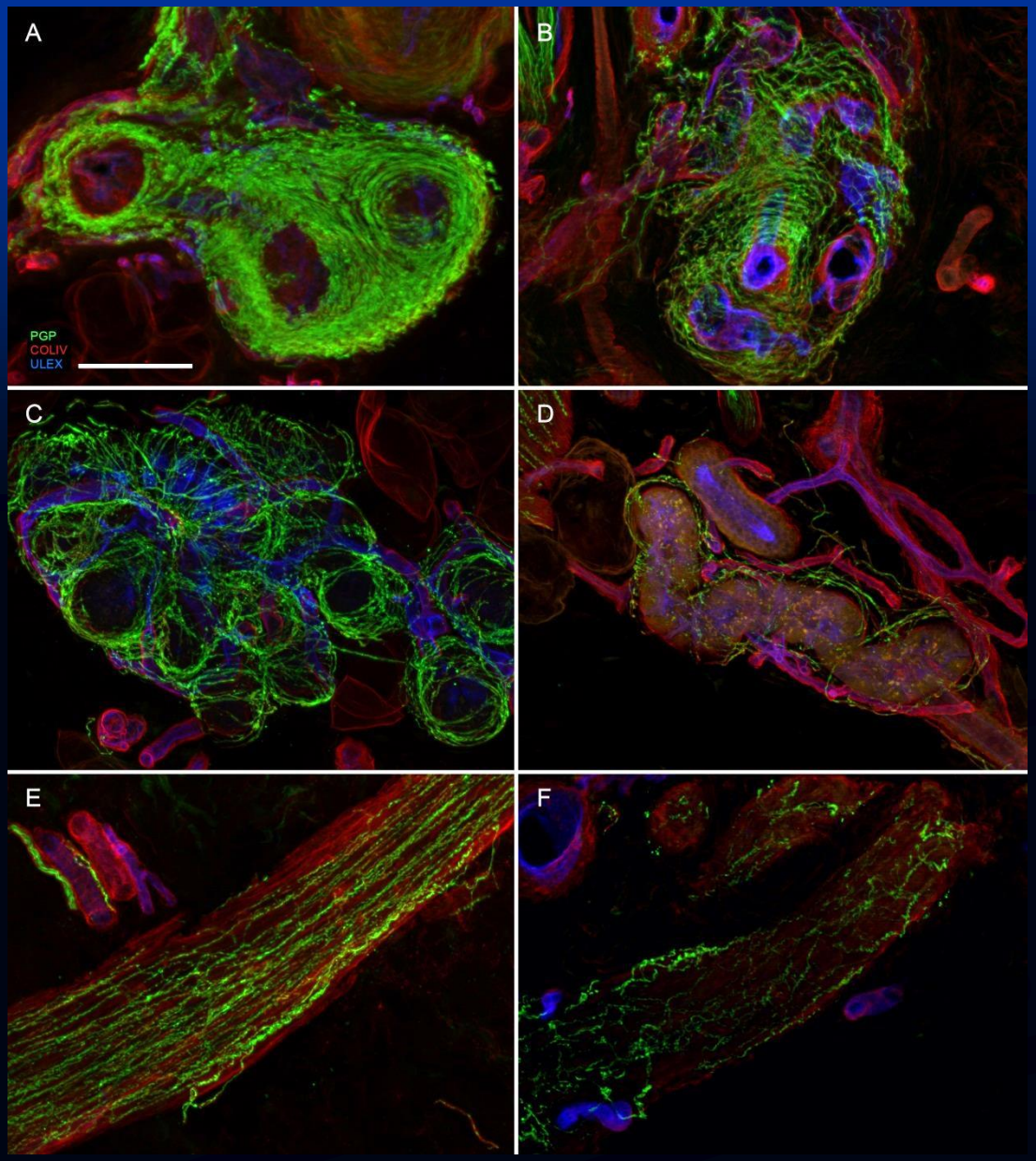


Nerves are in green, basement membrane and vessels in red.

Marked cutaneous autonomic denervation in a CADASIL patient compared to a control. The loss is evident in arteriovenous anastomoses **(B compared to A),**

Sweat glands **(D compared to C)**

Arrector pili muscles **(F compared to E).**



CADASIL-POLINEUROPATIA

- La biopsia cutanea ci ha consentito di evidenzia re una severa denervazione cutanea nei nostri pz CADASIL con associate alterazioni vascolari
- Conseguenza dell'alterazione vascolare respon= sabile della patologia multi-organo nei pz CADASIL ?

CADASIL

- SISTEMA NERVOSO PERIFERICO ?
- **CUORE?**

CADASIL e Patologia cardiaca ?

- L'interessamento della micro-macrocircolazione coronarica nel CADASIL è dibattuto.
- Nel 2003 Lesnick-Oberstein ,studiando 15 famiglie CADASIL olandesi, evidenziava una più alta percen tuale (24.4%) di IMA nei soggetti con mutazione nel NOTCH3 rispetto ai non mutati ed alla popola zione generale.
- Età media :39.6 anni---2-3 anni prima di stroke o deficit cognitivo.

CADASIL e Patologia cardiaca ?

L'esame patologico del tessuto cardiaco di 1 pz evi= denziava le tipiche alterazioni del CADASIL a carico del microcircolo coronarico:GOM e degenerazione delle CML(no stenosi).

C.Le alterazioni del microcircolo coronarico determi= nano una ridotta reattività vascolare ed una diminuita riserva vasodilatatoria(l'abilità ad incrementare il flusso coronarico in condizioni di necessità)con mag= giore suscettibilità ad eventi ischemici ed ad IMA.

CADASIL e Patologia cardiaca ?

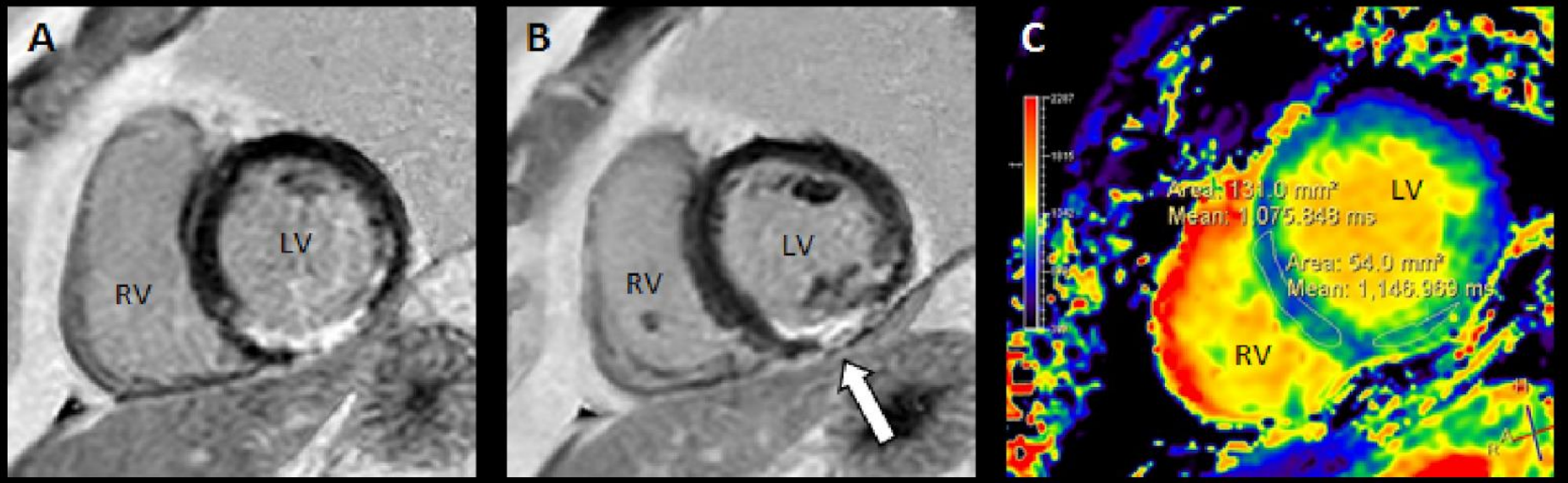
- Ma nel 2006 Cumurciuc non confermava (ma solo con ECG) una malattia coronarica nei pz CADASIL francesi……MA
- Se l'aterosclerosi coronarica rappresenta la principa le causa di ischemia miocardica, il 10-30% dei pz con angina presenta coronarie angiograficamente indenni: in questi pz i sintomi possono essere dovuti ad una disfunzione del microcircolo coronarico(disfunzione microvascolare coronarica)

CADASIL e Patologia cardiaca ?

- DOMANDA:
- Considerando i dati anatomopatologici nei pz affetti da CADASIL
- I pz CADASIL possono avere un elevato rischio di precoce malattia cardiaca ischemica a causa di una disfunzione del microcircolo coronarico ?

CADASIL e Patologia cardiaca ?

- All'età di 39 anni IMA ant.(ramo discendente ant. della coronaria sn.;trattato con rivascolariz= zazione mediante angioplastica coronarica). Iperteso,fumatore,dislipidemico.
- A 42 anni emorragia cerebrale. A 49 anni visita neurologica per controllo.Diagnosi di CADASIL
- All'età di 49 anni esegue RMN Cardiaca.



Post-contrast cross-sectional mid ventricular short axis view: **A**. LGE with transmural extent

- 75% in the inferior wall and between 25 and 50% in inferoseptal and inferolateral wall
- indicating an infarcted area; **B**. LGE of inferior wall with a central zone of MVO (*arrow*).
- **C** Native T1 mapping showing increased T1 values in the infarcted area compared to
- remote myocardium.

LGE: late gadolinium enhancement; MVO: microvascular obstruction.

Efficacia della precedente rivascolarizzazione (angioplastica)
La presenza di un IMA inf. «occulto» (tessuto fibroso sostitutivo,Ae B))con evidenza di ostruzione microvascolare (B) e di fibrosi interstiziale diffusa(C) espressione di una disfun= Zione del microcircolo coronarico .

CADASIL e Patologia cardiaca ?

- La malattia cardiaca ischemica è una delle mani= festazioni vascolari(precoce ?)del CADASIL ?
- I pz CADASIL sono ad aumentato rischio di malattia cardiaca ischemica ?
- RMN cardiaca (comprensiva di RMN da stress farmacologico).

Patologia Multiorgano.

CONCLUSIONE.

-Approccio multisistemico al pz CADASIL!

CADASIL: VARIABILITA' FENOTIPICA

- La posizione della mutazione è (potrebbe essere)
- il fattore più importante (dopo l'età) nel determinare la variabiltà e la severità della malattia ?
- più importante dei fattori di rischio vascolare e dei geni modifi= catori (es.APOE ε2)?,che cmq sono players determinanti(insieme ad altri da identificare)la variabilità (anche intrafamiliare) del CADASIL ?

CONSIDERARE CADASIL COME MALATTIA MULTIORGANO

E' possibile che il coinvolgimento multiorgano può condizio= nare il decorso clinico,la prognosi e la scelta di eventuali e di= verse opzioni terapeutiche.

GRAZIE PER L’ATTENZIONE