

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

Cerebral Autosomal Recessive Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (CARASIL): Caracterização do Espectro de Manifestações Clínicas e do Padrão de Transmissão Genética

Cerebral Autosomal Recessive Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (CARASIL): Description of the Spectrum of Clinical Features and the Genetic Pattern of Transmission

Gustavo C. Santo^{1,2*}, Ana Rita Silva², Orlando Galego³, Carolina Fernandes¹, Inês Gomes¹, Rita Machado¹, Inês Correia¹, Miguel Tábuas-Pereira¹, Carla C. Nunes¹, Inês Baldeiras^{2,4}, Maria R. Almeida²

1-Serviço de Neurologia / Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal.

2-Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

3-Serviço de Neurorradiologia / Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal.

4-Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra / Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra Coimbra, Portugal.

Resumo

Introdução: *Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy* (CARASIL) é uma doença rara decorrente de mutações bi-alélicas no gene *HTRA1*. A expressão fenotípica típica inclui o desenvolvimento de doença de pequenos vasos cerebral (DPV) em idade jovem e manifestações sistémicas, como alopecia e espondilose deformante. Contudo, foi recentemente descrita a associação de DPV de início tardio e mutações no mesmo gene em heterozigotia.

Propomo-nos analisar as características clínicas, neuropsicológicas, imagiológicas e genéticas em 3 casos clínicos que conjugam DPV e mutações do gene *HTRA1*.

Métodos: Descrição do fenótipo clínico, avaliação neuropsicológica, dados de imagem e análise genética do gene *HTRA1* em três doentes com DPV pertencentes a famílias aparentemente não relacionadas.

Resultados: São descritos os casos de 3 doentes com CARASIL. Dois deles, do sexo masculino, desenvolveram episódios neurológicos deficitários a partir da terceira década de vida. Nos antecedentes pessoais destacava-se a presença de alopecia e queixas de lombalgia crónica com início na adolescência e a história familiar era pautada pela existência de um elevado número de ascendentes, de origem materna e/ou paterna, com demência e/ou acidente vascular cerebral. O estudo genético revelou, em ambos, uma mutação em homozigotia no gene *HTRA1* (NM_002775.4: c.496C>T; NP_002766.1: p.Arg166Cys). A terceira doente desenvolveu um quadro progressivo de deterioração cognitiva a partir dos 60 anos. No seu passado não estavam presentes os tradicionais fatores de risco vascular, não havia história de dores cervicais ou lombares, nem apresentava alopecia. O estudo genético identificou a mesma mutação em heterozigotia.

Conclusão: Estes casos apoiam o conceito da existência de dois fenótipos distintos resultantes do efeito pleiotrópico desta mutação no gene *HTRA1* em homozigotia ou heterozigotia: início precoce, conjugando doença de pequenos vasos cerebrais e manifestações sistémicas (autossómico recessivo) e início tardio, com expressão clínica confinada aos pequenos vasos cerebrais (autossómico dominante).

Abstract

Introduction: *Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy* (CARASIL) is a very rare disease caused by biallelic muta-

Informações/Informations:

Artigo Original, publicado em Sinapse, Volume 19, Número 1-2, janeiro-março · abril-junho 2019. Versão eletrónica em www.sinapse.pt

Original Article, published in Sinapse, Volume 19, Number 1-2, january-march · april-june 2019. Electronic version in www.sinapse.pt

© Autor (es) (ou seu (s) empregador (es)) 2019.

Reutilização permitida de acordo com CC BY-NC. Nenhuma reutilização comercial.

© Author(s) (or their employer(s)) 2019. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use.

Palavras-chave:

Arteriopatia Cerebral Autossómica Dominante com Enfartes Subcorticais e Leucoencefalopatia; Leucoencefalopatia/ diagnóstico por imagem; Leucoencefalopatia/genética.

Keywords:

Cerebral Autosomal Recessive Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy; Leukoencephalopathies/ diagnostic imaging; Leukoencephalopathies/ genetics.

*Autor Correspondente/ Corresponding Author:

Gustavo C. Santo
Praceta Prof. Mota Pinto,
3000-075 Coimbra, Portugal
gustavo.mgtato@gmail.com

Recebido / Received: 2019-04-11

Aceite / Accepted: 2019-04-30

tions in the serine protease *HTRA1* gene. It is characterized by early onset small-vessel disease (SVD) leading to progressive neurological deterioration along with early baldness and spondylosis deformans. Nonetheless, emerging heterozygous mutations of *HTRA1* have been described as rare causes of SVD.

We aim to analyze the clinical, neuropsychological, imagiologic and genetic characteristics of 3 clinical cases that present SVD and mutations of *HTRA1* gene.

Methods: Description of the clinical phenotype, neuropsychological evaluation, imaging data and genetic analysis of the *HTRA1* gene of three patients with SVD from three unrelated families.

Results: Here we make an extended description of 3 patients with CARASIL. Case 1 and 2, both male, started with sudden neurological deficits during the third decade of life. Their personal history was unremarkable except for the presence of early baldness and back pain. Both had family history of dementia and/or stroke. The genetic testing disclosed a homozygous *HTRA1* mutation (NM_002775.4: c.496C>T; NP_002766.1: p.Arg166Cys) in both patients. The third patient started with cognitive decline after the age of 60. She had no vascular risk factors, baldness or history of cervical or lumbar pain. The molecular analysis revealed the same *HTRA1* mutation but in heterozygosity.

Conclusion: These cases support the concept that there are two different phenotypes resulting from the pleiotropic effect of the *HTRA1* mutation in homozygous or heterozygous state: younger-onset SVD and systemic manifestations (autosomal recessive) and later age of onset with absence of the typical extraneurological features of CARASIL (autosomal dominant).

Introdução

A doença de pequenos vasos cerebral (DPV) é um grupo heterogéneo de distúrbios que se manifesta habitualmente sob a forma de eventos vasculares cerebrais recorrentes e um compromisso progressivo da cognição, do humor e da marcha. Embora a forma esporádica assuma uma maior prevalência, um número crescente de causas monogénicas, a maioria das quais autossómicas dominantes, têm vindo a ser reconhecidas. *Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy* (CARASIL) é uma doença muito rara resultante de mutações bi-alélicas no gene *HTRA1*, que expressa uma serina-protease.¹ Até ao momento, apenas 14 famílias estão descritas, a maioria de origem asiática, e a expressão fenotípica inclui o desenvolvimento de doença de pequenos vasos cerebral em idade jovem e manifestações sistémicas, como alopecia e espondilose deformante.² Contudo, foi recentemente descrita a associação de DPV de início tardio e mutações no mesmo gene em heterozigotia.³⁻⁶ Propomo-nos apresentar as características clínicas, neuropsicológicas e imagiológicas em 3 doentes de etnia cigana, de famílias aparentemente não relacionadas, que apresentam DPV

e mutações no gene *HTRA1* em homozigotia e heterozigotia.

Métodos

Revisão dos processos clínicos e reavaliação presencial dos doentes com DPV e mutações no gene *HTRA1* seguidos em consulta de risco vascular.

Os estudos de ressonância magnética (RM) encefálica foram realizados no mesmo equipamento (SIEMENS PRISMA, 3 Tesla, com antena de crânio de 32 canais). O protocolo de estudo clínico incluiu aquisição 3D-FLAIR no plano sagital, imagens axiais ponderadas em DP/T2 e T1, e uma sequência sensível aos artefactos de susceptibilidade (SWI em dois doentes e T2* no terceiro).

A análise genética consistiu na amplificação por PCR do exão 2 do gene *HTRA1* seguida de sequenciação directa através de um sequenciador automatizado CEQ 8000 (Beckman Coulter). A presença da mutação em cada caso, foi sempre confirmada por uma amplificação por PCR independente, seguida de sequenciação directa. O efeito patogénico da mutação missense encontrada foi avaliado usando 4 algoritmos, SIFT (<http://sift.jcvi.org>), Polyphen 2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), Mu-

tation taster (<http://www.mutationtaster.org/>) e CADD (<http://cadd.gs.washington.edu>). Foram ainda consultadas várias bases de dados populacionais: *dbSNP*, *Exome Aggregation Consortium* (ExAC) e Projecto dos 1000 Genomas para determinar a frequência desta mutação.

Para a caracterização neuropsicológica dos casos 1 e 2 foram avaliados os seguintes domínios de desempenho: funcionamento cognitivo global (MoCA, *Montreal Cognitive Assessment*),⁷ memória episódica verbal (FCRST, *Free and Cued Selective Reminding Test*, versão portuguesa Lemos *et al*, 2012), memória de trabalho (Memória de Dígitos, WMS-III; Weschler, 2008; Ordenação de meses, Leitão *et al*, 2011), funcionamento executivo (FAB, *Frontal Assessment Battery*),⁸ iniciativa verbal e linguagem (Fluência Verbal Semântica e Fonémica),⁹ velocidade de processamento (Código, WAIS-III, Weschler 2008), apatia (EA, Escala de Apatia),¹⁰ regulação emocional percebida (EDRE-SF, Escala de Dificuldades de Regulação Emocional), impulsividade percebida (BIS II, Escala de Impulsividade de Barratt; versão portuguesa Cruzet *et al*, 2012) e sintomatologia depressiva e ansiosa (EADH Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão).¹¹

Para a caracterização neuropsicológica do caso 3, os défices de compreensão observados, o facto de se tratar de uma doente analfabeta e ter, à data da avaliação, o diagnóstico estabelecido de demência, apenas permitiu avaliar o seu perfil de funcionamento neuropsicológico recorrendo aos seguintes instrumentos: MMSE (*Mini-Mental State Examination*) para avaliação do funcionamento cognitivo global; TF (Teste das Fotografias), para avaliação da capacidade de linguagem, iniciativa verbal e fluência, memória semântica e memória episódica a curto e longo prazo; EADH.¹¹

Resultados

Caso Clínico 1: Doente do sexo masculino de 34 anos, com o 9º ano de escolaridade e filho de pais consanguíneos. Foi admitido no serviço de urgência por episódio de enxaqueca com aura visual. Nos antecedentes pessoais destacava-se a ocorrência de dois episódios neurológicos deficitários transitórios (hemiparésia direita) cerca de 10 meses antes, e lombalgia persistente. A história familiar era marcada por eventos vasculares cerebrais recorrentes em vários indivíduos de ascendência paterna e no seu irmão mais novo (Fig. 1). No exame neurológico não eram

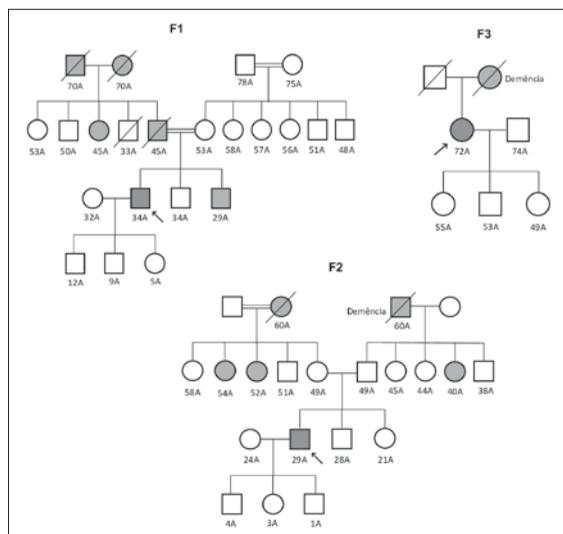


Figura 1. Heredograma das 3 famílias (F1, F2 e F3, relativas aos casos 1, 2 e 3, respetivamente). *

* Quadrado: masculino; círculo: feminino; linha preta diagonal: falecido; símbolo preenchido: AVC prévio presumivelmente associado a DPV; símbolo não preenchido: familiar clinicamente saudável; seta preta: caso-índice.

evidentes sinais deficitários, mas estavam presentes sinais piramidais bilaterais. Ao exame físico apenas se salientava a presença de alopecia de predomínio frontal. Na tomografia computadorizada (TC) cerebral observavam-se múltiplas hipodensidades na substância branca subcortical cerebral e cerebelosa, tendo sido internado para estudo complementar. O estudo analítico alargado, que incluiu o estudo de vasculites e fatores protrombóticos, foi positivo para anticorpos anti-nucleares, anti-SSA60(Ro60) e anti-xANCA (cujo significado patológico permanece incerto). O estudo do líquido cefalorraquídeo (LCR) revelou uma hiperproteíno-ráquia (63 mg/dL) e pleocitose mononuclear (12 células/mm³), com pesquisa de bandas oligoclonais negativa. A ressonância magnética (RM) cerebral (Fig. 2) demonstrava a presença de lesões hiperintensas nas sequências de TR longo envolvendo a substância branca periventricular supratentorial, com confluência lesional precoce, áreas de cavitação e atingimento secundário do corpo caloso. Existiam algumas lesões punctiformes nos núcleos da base e tálamos, e escassas microhemorragias subcorticais e protuberanciais. Destacava-se uma lesão ponto-peduncular arciforme à direita, compatível com *arc-sign* assimétrico. Os lobos temporais mantinham-se poupados, assim como a substância branca subcortical e fibras em U.

O estudo genético revelou a presença da mutação (NM_002775.4: c.496C>T; NP_002766.1: p.Arg166Cys) em homozigotia no gene *HTRA1* (Fig. 3), confirmando o diagnóstico clínico de CARASIL.

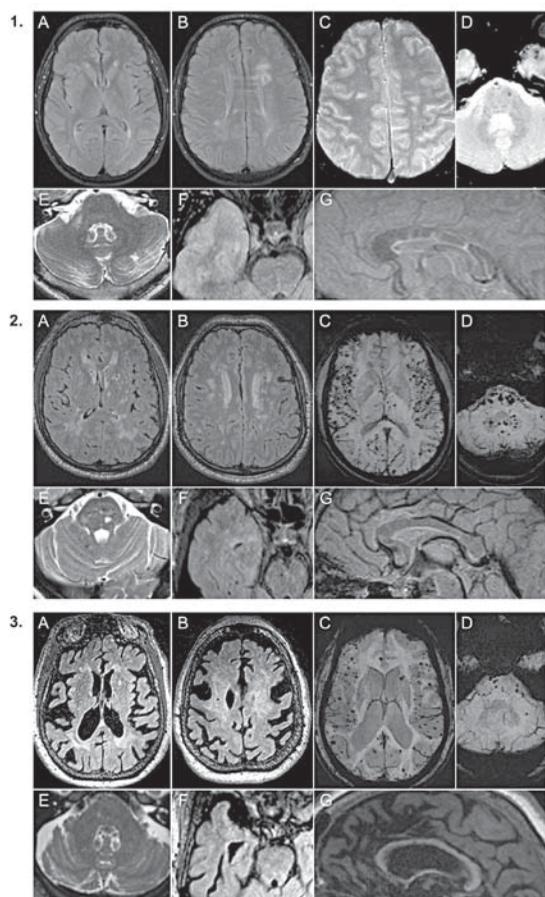


Figura 2. 2.1) Imagens de RM encefálica do caso clínico 1. A, B e F – planos axiais FLAIR; C e D – planos axiais T2*; E – plano axial T2; G – plano sagital FLAIR. 2.2) Imagens de RM cerebral do caso clínico 2. A, B e F – planos axiais FLAIR; C e D – planos axiais SWI; E – plano axial T2; G – plano sagital FLAIR. 2.3) Imagens de RM encefálica do caso clínico 3. A, B e F – planos axiais FLAIR; C e D – planos axiais SWI; E – plano axial T2; G – plano sagital T1.

Notas: 2.1) Assinalam-se lesões de carácter vascular na substância branca, predominantemente em localização periventricular supratentorial, algumas com cavitação (“lacunas”), mas poupando a substância branca subcortical (em particular as fibras em U) e os polos temporais. As lesões periventriculares atingem o corpo caloso. Notam-se também algumas microhemorragias subcortical e protuberanciais. Destaca-se a lesão ponto-peduncular direita, configurando um arc-sign assimétrico.

2.2) Destacam-se lesões extensas e confluentes em topografia periventricular, muitas com cavitação central. Existem também lesões lacunares núcleo-capsulares bilaterais e no tronco cerebral, bem como algumas lesões subcortical, mas poupando as fibras em U e os polos temporais. Existem inúmeras microhemorragias subcortical dispersas pelos hemisférios cerebrais, e também no tronco cerebral, núcleos dentados e tálamos.

2.3) À semelhança do caso clínico 2, identificam-se lesões periventriculares confluentes que poupam as fibras em U e os polos temporais, mas não o tronco cerebral nem os núcleos da base. Também se observam múltiplas microhemorragias dispersas por todo o encefalo, mas com predomínio subcortical cerebral. Esta doente apresenta ainda extensa atrofia cerebral de predomínio cortical, sensivelmente simétrica.

Relativamente ao funcionamento cognitivo global (MoCA), o desempenho do paciente foi considerado normal face a sua idade e escolaridade ($M=23$; $M=26,42 \pm 2,18$), ainda que situando-se 1,5 DP abaixo da média, evidencian-

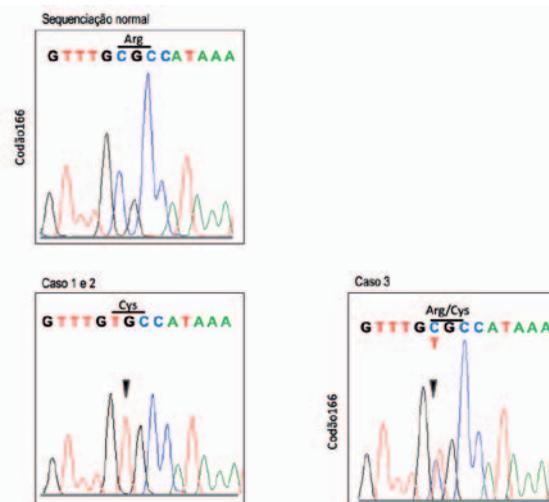


Figura 3. Eletroferograma parcial do exão 2 do gene HTRA1 de um indivíduo normal (Painel de cima) e dos Casos 1 e 2 (Painel em baixo à esquerda), homocigóticos para a mutação NM002775.4: c496C>T e do Caso 3 (Painel em baixo à direita), heterocigótico para a mesma mutação. A seta presente nos Painéis inferiores indica a substituição CGC>TGC no codão 166 do gene HTRA1 que resulta numa substituição da arginina pela cisteína NP002766.1: p.Arg166Cys.

do défices na memória a longo prazo (0/6, evocação diferida). Os mesmos défices mnésicos encontram-se relatados através do seu desempenho na prova específica de memória episódica (FCRST), ainda que circunscritos a défices na aprendizagem (1; $M=3,14$; $DP=1,74$) e percentagem de retenção (71,2%; $M=95,21$, $DP=12,46$), correspondendo a um perfil de deterioração amnésica referente à dificuldade em manter aquisições e beneficiar de pistas. Relativamente aos indicadores de velocidade de processamento, o paciente apresentava uma lentificação ligeira do processamento da informação (código=32; pontuação padronizada (PP)=6). A memória de trabalho encontrava-se comprometida, com um desempenho abaixo do intervalo médio para a memória de dígitos inversa (6, $PP=6$) e para a ordenação de meses (10, $M=14$, $DP=1,5$). Apresentava também um desempenho ligeiramente abaixo do intervalo médio para a fluência verbal fonémica (letra P=10; letra M=4, letra R=3; Total=17; $M=31,6$, $DP=11,1$), e sem défices para a fluência verbal semântica (animais=19; $M=18,3$; $DP=4,1$). Em termos da caracterização no desempenho executivo, apresentou um resultado normal na FAB (17; ponto de corte (PC)=15), apresentando apenas défices no planeamento (0/3, item programação).

Relativamente aos indicadores não cognitivos, o paciente revelou ausência de apatia percebida (11/40; $PC=20$), mas revelou a presença de dificuldades de

regulação emocional (65; PC=50), nomeadamente no que diz respeito às dificuldades de controlar o comportamento impulsivo quando experimenta emoções negativas, o que é corroborado pelo indicador de impulsividade, em que revelava igualmente a presença deste padrão de comportamento ($BIS-II = 88/120$. PC=70) nomeadamente no fator de “não-planeamento” e “autocontrolo”. Na avaliação de sintomas de ansiedade e depressão, o doente cotou fundamentalmente nos itens de avaliação da ansiedade ($EADH=11$, PC=11).

Caso Clínico 2: Doente do sexo masculino de 30 anos, que completou o 9º ano de escolaridade, mas apenas 6 no ensino recorrente (o restante em ensino profissional). Foi acompanhado em consulta de doenças desmielinizantes desde 2012 na sequência de um episódio de diplopia binocular decorrente de uma oftalmoplegia internuclear esquerda. Na história médica prévia destacava-se etilismo moderado, lombalgias intensas e alopecia (Fig. 4) desde a adolescência. Não apresentava queixas compatíveis com enxaqueca. Nos antecedentes familiares salientava-se a presença de consanguinidade nos avós maternos e história de acidente vascular cerebral (AVC) e demência em ascendentes do lado materno e paterno.



Figura 4. A) Alopecia presente no caso 2; B) Tomografia Computadorizada (TC) lombar com alterações plurissegmentares do tipo espondilose deformante e sinais de degenerescência discal em todos os níveis observados.

Naquela altura foi submetido a estudo exaustivo que excluiu a existência de fatores pro-trombóticos e pro-coagulantes. O estudo do LCR revelou a presença de hiperproteínoorraquia (111 mg/dL) e pleocitose mononuclear (9 células/mm³), com ausência de bandas oligoclonais. Foi estabelecido o diagnóstico provisório de esclerose múltipla surto-remissão. Manteve-se assintomático nos anos subsequentes, sob terapêutica imunomoduladora. Na sequência da identificação, em consulta de rotina, de sinais piramidais e de tronco cere-

bral previamente inexistentes (sinal de Barré esquerdo, hiperreflexia, nistagmo na levoversão) efetuou-se nova RM cerebral (Fig. 2) que revelou a presença de lesões hiperintensas nas sequências de TR longo envolvendo a substância branca periventricular supratentorial, com confluência lesional precoce, áreas de cavitação e atingimento secundário do corpo caloso. Existiam algumas lesões punctiformes nos núcleos da base e tálamos, e escassas microhemorragias subcorticais e protuberanciais. Destacava-se uma lesão ponto-peduncular arciforme à direita, compatível com *arc-sign* assimétrico. Os lobos temporais mantinham-se poupados, assim como a substância branca subcortical e fibras em U.

Perante a evolução clínico-imagiológica atípica para doença desmielinizante – sugerindo, por oposição, a presença de uma DPV – optou-se por reequacionar o diagnóstico inicial. O estudo genético solicitado revelou a mutação (NM_002775.4: c.496C>T; NP_002766.1: p.Arg166Cys) em homozigotia no gene *HTRA1*, confirmando o diagnóstico de CARASIL. O estudo imagiológico da coluna lombar mostrou alterações plurissegmentares do tipo espondilose deformante (Fig. 4).

O seu funcionamento cognitivo global (MoCA) encontrava-se 1 DP abaixo da média ($total=24$; $M=26,42 \pm 2,18$), situando-se os seus défices apenas em itens do domínio da atenção (embora a prova de rastreio não tenha sensibilidade suficiente para aferir estes domínios específicos). Embora os défices mnésicos não tenham sido evidentes em termos de rastreio global, o seu desempenho na prova de memória episódica (FCRST), evidenciava défices em todos os scores avaliados, com exceção do total de evocação imediata que apresentava um desempenho limítrofe ($E_{imediate}=35$, PC=35). Revelava, assim, défices na aprendizagem (I ; $M=3,14$; $DP=1,74$), défices significativos na percentagem de retenção (58,6; $M=95,21$, $DP=12,46$) e compromisso da evocação diferida ($IDiferida=9$; PC=12), apresentando um perfil generalizado de défices de memória. A este dado acrescenta-se uma lentificação acentuada do processamento da informação (código=27; PC=4) para a sua idade. Os índices na memória de trabalho foram igualmente deficitários, com um desempenho superior a 2 DP abaixo da média na prova de memória de dígitos inversa ($total=5$, PP=5) e na ordenação de meses ($total=8$, $M=14$; $DP=1,5$). O doente não apresentava défices em termos da iniciativa verbal e linguagem, verificado num desempenho médio na fluência verbal

fonémica (*letra P=11; letra M=7, letra R=7; Total=24; M=31,6, DP=11,1*) e semântica (*animais=15; M=18,3; DP=4,1*). Do ponto de vista do comportamento frontal, observou-se um resultado abaixo do ponto de corte na FAB (*13; PC=15*), apresentando défices marcados no controlo inibitório.

Em relação com os défices frontais acima evidenciados, verificaram-se, quanto aos indicadores comportamentais e emocionais, dificuldades acentuadas na regulação emocional (*EDRE-SF=75; PC=50*) relativamente ao comportamento impulsivo na presença de emoções negativas, e presença de impulsividade marcada (*BIS-11=100/120*), quer nos fatores “motor” e “não motor” (autocontrolo, resistência à frustração, não planeamento). Contudo, o doente não revela a presença de apatia (*9/40; PC=20*), nem de sintomas depressivos ou ansiosos percebidos (*EADH=9, PC=11*)

Caso Clínico 3: Doente de 72 anos, analfabeta, que apresentava um quadro de declínio cognitivo progressivo com cerca de 10 anos de evolução. Durante este período teve um acompanhamento médico irregular. Não obstante, foi possível apurar que terá desenvolvido, 6 anos antes, um quadro súbito de hemiparesia esquerda, da qual terá recuperado, enquadrável numa síndrome lacunar motor direito. Atualmente apenas realiza marcha com apoio de terceira pessoa e apresenta-se funcionalmente dependente na maioria das atividades diárias. Não são reportadas queixas prévias de enxaqueca, dores cervicais ou lombares e a doente não apresentava alopecia. Nos antecedentes pessoais não há registo de

fatores de risco vascular modificáveis mas existe uma história familiar de demência (mãe).

O estudo neuroimagiológico com RM cerebral (Fig. 2) revelou lesões hiperintensas confluentes na substância branca supratentorial periventricular e nos centros semi-ovais, focalmente cavitadas. As fibras em U e os polos temporais estavam poupados, mas observavam-se lacunas nos núcleos da base, tálamos e protuberância, bem como múltiplos espaços perivasculares alargados núcleo-capsulares bilaterais configurando *status cribrosum*. O padrão leucoencefalopático era acompanhado de atrofia cerebral difusa de predomínio cortical e múltiplas microhemorragias encefálicas dispersas, com distribuição preferencialmente subcortical cerebral mas também presentes no tronco cerebral e cerebelo.

Face à ausência de quaisquer fatores de risco vascular que explicassem a exuberância da expressão clínica e imagiológica nesta doente e à eventual presença de história familiar para doença semelhante, optou-se por solicitar o estudo genético. Este revelou a presença da mutação (NM_002775.4: c.496C>T; NP_002766.1: p.Arg166Cys) no gene *HTRA1* em heterozigotia.

O desempenho cognitivo global da doente correspondeu a uma deterioração cognitiva moderada a grave (*MMSE=11, M=24,2, DP=2,14*), com desorientação temporal e espacial e défices atencionais associados a perseveração do discurso. No aprofundamento deste desempenho, verificaram-se dificuldades na nomeação (*3/6 nomeação TF*), comprometimento na iniciativa verbal (fluência verbal no TF: *nomes mulheres=1; nomes ho-*

Tabela 1. Resumo das principais características neuro-imagiológicas dos doentes

Doente	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Idade à realização da RM-CE (anos)	34	29	72
Lesões hiperintensas	Periventriculares	+	++
	Fibras em U e lobos temporais	0	0
	Núcleos da base	+	++
	Tálamos	+	++
	Corpo caloso	+	0
	Protuberância	+	++
	Núcleos dentados	0	+
Cavitações / Lacunas	+	++	+
Status cribrosum	0	+	++
Microhemorragias encefálicas	+	+++	++
Atrofia cerebral	0	0	++
Arc-sign	+/-	0	0

mens=2; M total=18; DP=3,23) e ausência de retenção da informação, sem beneficiar de pistas semânticas (0/6).

A esta deterioração cognitiva acrescentava-se, no domínio não-cognitivo, a presença de sintomatologia depressiva percebida (*EADH*=14, *PC*=11), sem a presença de sintomas depressivos.

A Tabela 1 resume as principais alterações observadas na RM encefálica efetuada nos 2 doentes homocigóticos e na doente heterocigótica para a mutação acima referida.

Discussão

CARASIL foi inicialmente descrito no Japão,¹ tendo o acrónimo sido selado por Bowler e Hachinski,¹² tendo por base um padrão de transmissão autossómico recessivo e as semelhanças clínico-imagiológicas com CADASIL (*cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy*). A doença resulta de uma mutação bi-alélica no gene *HTRA1* que codifica uma serina-protease cuja função não é totalmente conhecida mas que parece mediar a sinalização celular e a degradação proteica, tendo um papel relevante na integridade vascular, desenvolvimento esquelético e osteogénese.¹³ Esta proteína HtrA parece igualmente inibir a sinalização da família de TGF- β , que são fatores de crescimento multifuncionais que controlam a proliferação, a diferenciação celular e a angiogénese.¹⁴ Os raros estudos necrópsicos revelam um compromisso marcado dos pequenos vasos cerebrais, sob a forma de espessamento da íntima, fragmentação da lâmina elástica interna, perda de células musculares lisas e fibrose da adventícia.¹⁵ Estão ausentes aspetos diferenciadores, como o material granular osmofílico, típico do CADASIL. Contudo, a túnica média parece expressar TGF- β de forma exuberante, sugerindo que a mutação no gene *HTRA1* poderá resultar numa falência em reprimir a sinalização/produção desta citocina.¹⁵

As manifestações clínicas associadas a mutações no gene *HTRA1* em homocigotia distinguem-se pela presença de um fenótipo típico caracterizado por alopecia precoce, herniação discal, espondilose associada a dor lombar crónica e deterioração neurológica progressiva com início cerca da terceira década, em linha com o observado nos casos 1 e 2. Nestes dois doentes, a análise molecular do gene *HTRA1* revelou a presença da mutação c.496 C>T; p.Arg166Cys em homocigotia no exão 2 deste gene, previamente descrita em dois doen-

tes homocigóticos de etnia cigana residentes no Algarve¹⁶. A análise *in silico*, usando 4 algoritmos diferentes, *Polyphen-2*, *SIFT*, *Mutation Taster* e *CADD* sugeriu tratar-se de uma mutação patogénica. Também observámos que esta mutação não está descrita em bases de dados populacionais dbSNP, ExAC e 1000G. A análise molecular do caso 3, revelou a presença desta mesma mutação, mas em heterocigotia. Curiosamente, foram descritos recentemente na Grécia⁵ e em Itália,⁶ casos semelhantes de doentes portadores desta mutação em heterocigotia. Nestes indivíduos, a doença caracteriza-se pelo seu início tardio (manifesta-se habitualmente 20 a 30 anos após a apresentação em homocigóticos) e pela ausência da expressão fenotípica extra-neurológica característica. Esta descrição é concordante com a apresentação clínica do caso 3, uma vez que as manifestações clínicas e imagiológicas são semelhantes às descritas nestes dois estudos. Importa ainda assinalar que uma outra mutação em heterocigotia no mesmo resíduo (c.497G>T, p.Arg166Leu) foi reportada como patogénica em doentes com DPV de início tardio através da demonstração *in vitro* da ausência de atividade desta serina-protease.³

A RM encefálica expôs nos 3 doentes a presença de lesões hiperintensas em TR longo periventriculares confluentes que poupam as fibras em U e os polos temporais (este último em oposição ao observado no CADASIL), mas não o tronco cerebral ou os núcleos da base. Assinala-se o envolvimento pontico e a presença invariável de microhemorragias (embora em quantidade e localização diversa) e cavitações/lacunas. O *status cribrosum*, considerado típico,³ estava presente de forma mais expressiva na doente heterocigótica e ausente no caso 1. De igual modo, o característico *arc sign*,¹⁴ que se presume resultar do envolvimento dos feixes ponto-cerebelosos, apenas foi observado de forma unilateral no caso 1.

Não obstante uma caracterização individual dos casos 1 e 2, podemos agrupar algumas características neuropsicológicas presentes nestes casos de CARASIL alinhadas com o padrão encontrado noutros estudos. O comprometimento mnésico ligeiro, nos dois casos, aparece como estando mais associado ao CARASIL do que ao CADASIL ou outras DPV, pelo menos tendo em conta o seu início mais precoce.¹⁷ A deterioração no desempenho da memória de trabalho é também caracterizadora desta doença, associados a dificuldade na monitorização de respostas, encontrando-se parcialmente

relacionada com o comprometimento frontal, também relativamente presente nestes dois casos. A lentificação do processamento está extensamente documentado na literatura em associação com a DPV, sendo um padrão neuropsicológico comum no CADASIL¹⁸ e também presente nos casos de CARASIL aqui descritos.

Algumas conclusões mais interessantes retiradas da caracterização destes casos referem-se ao padrão clínico de alterações de humor. Nos casos aqui descritos, destaca-se a presença de alterações específicas na regulação emocional, nomeadamente as que dizem respeito à adoção de comportamentos impulsivos, acrescida de sintomatologia ansiosa, resultando em instabilidade emocional marcada. Uma caracterização mais detalhada destes padrões de comportamento emocional é relevante para compreender que tipo de resposta, em termos farmacológicos e de suporte familiar, deve ser fornecida a estes doentes, dada a sobrecarga e incapacidade funcional crescente que estes sintomas, aliados à deterioração cognitiva, representam. A presença de demência no caso 3 comprometeu uma avaliação mais detalhada do perfil cognitivo desta doente. Contudo, a presença de sintomatologia depressiva vem ao encontro da descrição prévia de alterações de humor em doentes com mutação do gene *HTRA-1* em heterozigotia.¹³

Em síntese, o aspeto mais relevante que a descrição destes casos apoia é o aparente papel deletério desta mutação em heterozigotia no gene *HTRA1* por um lado, e a expressão fenotípica distinta da observada em doentes com idêntica mutação em homozigotia.

Conclusão

Parecem existir dois fenótipos distintos associados a diferentes padrões de transmissão genética no gene *HTRA1*: autossómico recessivo (de início precoce, conjugando doença de pequenos vasos cerebrais e manifestações extra-neurológicas) e autossómico dominante (de início tardio, com expressão clínica confinada aos pequenos vasos cerebrais). Assim, o estudo molecular do gene *HTRA1* deve ser considerado no estudo de DPV familiar de início tardio e sem envolvimento sistémico. ■

Responsabilidades Éticas

Conflitos de Interesse: Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho

Fontes de Financiamento: Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo

Confidencialidade dos Dados: Os autores declaram ter seguido os protocolos da sua instituição acerca da publicação dos dados de doentes.

Proveniência e revisão por pares: Não comissionado; revisão externa por pares.

Ethical Disclosures

Conflicts of Interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Financing Support: This work has not received any contribution, grant or scholarship

Confidentiality of Data: The authors declare that they have followed the protocols of their work center on the publication of data from patients.

Protection of Human and Animal Subjects: The authors declare that the procedures followed were in accordance with the regulations of the relevant clinical research ethics committee and with those of the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki).

Provenance and Peer Review: Not commissioned; externally peer reviewed.

Referências

- Nozaki H, Nishizawa M, Onodera O. Features of cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Stroke*. 2014;45:3447-53. doi:10.1161/STROKEAHA.114.004236
- Fukutake T, Hirayama K. Familial young-adult-onset arteriosclerotic leukoencephalopathy with alopecia and lumbago without arterial hypertension. *Eur Neurol*. 1995;35:69-79.
- Verdura E, Hervé D, Scharrer E, Amador Mdel M, Guyant-Maréchal L, Philippi A, et al. Heterozygous HTRA1 mutations are associated with autosomal dominant cerebral small vessel disease. *Brain*. 2015;138:2347-58. doi:10.1093/brain/awv155
- Di Donato I, Bianchi S, Gallus GN, Cerase A, Taglia I, Pescini F, et al. Heterozygous mutations of HTRA1 gene in patients with familial cerebral small vessel disease. *CNS Neurosci Ther*. 2017;23:759-65. doi:10.1111/cns.12722
- Bougea A, Velonakis G, Spantideas N, Anagnostou E, Paraskevas G, Kapaki E, et al. The first Greek case of heterozygous cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: An atypical clinic-radiological presentation. *Neuroradiol J*. 2017;30:583-5. doi:10.1177/1971400917700168
- Favaretto S, Margoni M, Salviati L, Pianese L, Manara R, Baracchini C. A new Italian family with HTRA1 mutation associated with autosomal-dominant variant of CARASIL: Are we pointing towards a disease spectrum? *J Neurol Sci*. 2019;396:108-11. doi:10.1016/j.jns.2018.11.008
- Freitas S, Simões MR, Alves L, Santana I. Montreal Cognitive Assessment (MoCA): Normative study for the Portuguese population. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2011;33:989-96. doi:10.1080/13803395.2011.589374
- Lima CF, Meireles LP, Fonseca R, Castro SL, Garrett C. The Frontal Assessment Battery (FAB) in Parkinson's disease and correlations with formal measures of executive functioning. *J Neurol*. 2008;255:1756-61. doi:10.1007/s00415-008-0024-6
- Cavaco S, Gonçalves A, Pinto C, Almeida E, Gomes F, Moreira I, et al. Semantic fluency and phonemic fluency: Regression-based norms for the portuguese population. *Arch Clin Neuropsychol*. 2013;28:262-71. doi:10.1093/arclin/act001
- Caeiro L, Silva T, Ferro JM, Pais-Ribeiro J, Figueira ML. Propriedades Métricas Da Versão Portuguesa Da Escala De Avaliação De Apatia. *Psicol Saúde Doenças*. 2014;13. doi:10.15309/12psd130209
- Pais-Ribeiro J, Silva I, Ferreira T, Martins A, Meneses R, Baltar M. Validation study of a Portuguese version of the

- Hospital Anxiety and Depression Scale. *Psychol Heal Med*. 2007;12:225-37. doi:10.1080/13548500500524088
12. Bowler JV, Hachinski V. Progress in the genetics of cerebrovascular disease: Inherited subcortical arteriopathies. *Stroke*. 1994;25:1696-8. doi:10.1161/01.STR.25.8.1696
 13. Ibrahimi M, Nozaki H, Lee A, Onodera O, Reichwein R, Wicklund M, et al. A CARASIL patient from Americas with novel mutation and atypical features: Case presentation and literature review. *Cerebrovasc Dis*. 2017;44:135-40. doi:10.1159/000477358
 14. Nozaki H, Sekine Y, Fukutake T, Nishimoto Y, Shimoe Y, Shirata A, et al. Characteristic features and progression of abnormalities on MRI for CARASIL. *Neurology*. 2015;85:459-63. doi:10.1212/wnl.0000000000001803
 15. Ito J, Nozaki H, Toyoshima Y, Abe T, Sato A, Hashidate H, et al. Histopathologic features of an autopsied patient with cerebral small vessel disease and a heterozygous HTRA1 mutation. *Neuropathology*. 2018;38:428-32. doi:10.1111/neup.12473
 16. Menezes Cordeiro I, Nzwalo H, Sá F, Ferreira RB, Alonso I, Afonso L, et al. Shifting the CARASIL Paradigm. *Stroke*. 2015;46:1110-2. doi:10.1161/strokeaha.114.006735
 17. Tikka S, Baumann M, Siitonen M, Pasanen P, Pöyhönen M, Myllykangas L, et al. CADASIL and CARASIL. *Brain Pathol*. 2014;24:525-544. doi:10.1111/bpa.12181
 18. André C. CADASIL: pathogenesis, clinical and radiological findings and treatment. *Arq Neuropsiquiatr*. 2010;68:287-99. doi:10.1590/S0004-282X2010000200026