



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

INÊS VALENTE BURGOS DE BARROS

DISTROFIA NEUROAXONAL INFANTIL: ESTADO DA ARTE

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

ÁREA CIENTÍFICA DE PEDIATRIA

Trabalho realizado sob a orientação de:
DOUTOR FILIPE MANUEL FARTO PALAVRA
DOUTORA JOANA CATARINA BARROSO AMARAL

FEVEREIRO/ 2023

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

DISTROFIA NEUROAXONAL INFANTIL: ESTADO DA ARTE

ARTIGO DE REVISÃO NARRATIVA

Inês Barros¹, Joana Amaral², Filipe Palavra^{1,2}

1. Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal
2. Centro de Desenvolvimento da Criança – Neuropediatria, Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

Contacto: inesvalentebarros@gmail.com

Trabalho final do 6º ano médico com vista a atribuição do grau de mestre no âmbito do ciclo de estudos do Mestrado Integrado em Medicina.

Orientador: Dr. Filipe Palavra, Médico Neuropediatra, Hospital Pediátrico, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra e Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, filipepalavra@gmail.com

Área científica: Pediatria

Índice

Lista de Abreviaturas	5
Lista de Figuras	5
Resumo	6
Abstract	7
1. Introdução	8
2. Metodologia	10
3. Distrofia Neuroaxonal Infantil	11
a. Classificação	11
b. Pressupostos genéticos	12
c. Fisiopatologia	13
d. Manifestações clínicas	14
4. Diagnóstico	17
5. Tratamento	21
a. Tratamento sintomático	21
b. Tratamento em investigação	22
I. Terapia de reposição enzimática	22
II. Terapia de substituição genética	22
III. Edição genética	23
IV. RT001	24
6. Conclusão e perspectivas futuras	25
7. Agradecimentos	26
8. Referências bibliográficas	27
9. Anexos	30

Lista de Abreviaturas

- BHE – Barreira Hematoencefálica
- BPAN – Neurodegeneração associada às proteínas hélice β
- DNAI – Distrofia Neuroaxonal Infantil
- DP – Distonia-parkinsonismo
- EEG – Eletroencefalograma
- EMG – Eletromiograma
- FDA - *Food and Drug Administration*
- iPLA2-VIa – Enzima fosfolipase A2 cálcio independente do grupo VI A
- LCR- Líquido cefalorraquídeo
- MPAN – Neurodegeneração associada às proteínas da membrana mitocondrial
- NBIA – Neurodegeneração com acumulação cerebral de ferro
- PARK 14 – Parkinsonismo de início precoce autossômico recessivo
- PKAN – Neurodegeneração associada à pantotenato cinase
- PLAN – Neurodegeneração associada ao PLA2G6
- RM – Ressonância Magnética
- SNC – Sistema Nervoso Central
- SNP – Sistema Nervoso Periférico

Lista de Figuras

- Figura 1 – Diagrama do método de pesquisa e obtenção de artigos.
- Figura 2 – Classificação das NBIA.
- Figura 3 – Biópsia de pele com visualização de corpos esferóides.
- Figura 4 – Desenvolvimento da DNAI e competências afetadas.
- Figura 5 – RM de paciente com 2 anos de idade.
- Figura 6 – Sinal dos “olhos de tigre” característico da PKAN.
- Figura 7 – Fluxograma para diagnóstico de DNAI.

RESUMO

Introdução: A Distrofia Neuroaxonal Infantil (DNAI), também conhecida como doença de Seitelberger, é uma doença neurodegenerativa rara, autossômica recessiva, associada a mutações do gene *PLA2G6* (22q.13.1), que codifica a fosfolipase A2 A (iPLA2-VIa). Esta enzima é necessária para a manutenção da homeostasia celular, pois a sua disfunção condiciona uma acumulação de ácidos gordos com modificação da membrana e estrutura celular. Esta alteração gera distrofia e dilatação axonal, com formação de corpos esferóides e acumulação de ferro, incluindo-se, desta forma, nas distrofias neurodegenerativas com acumulação cerebral de ferro (NBIA). É uma doença pautada pelo atraso de desenvolvimento e perda de competências anteriormente adquiridas. Os sintomas têm início entre os 6 meses e os 2 anos de idade, levando à morte antes dos 10 anos.

Objetivos: Com este trabalho pretende-se fazer uma revisão narrativa sobre os conhecimentos médicos existentes sobre DNAI, da epidemiologia ao prognóstico. Descrevem-se fisiopatologia, manifestações clínicas, diagnóstico e terapêutica sintomática abordando-se ainda a investigação existente na área.

Materiais e Métodos: Foi realizada uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados *Pubmed, Google Scholar, American Academy of Neurology e Good Clinical Practice Network*, desde o ano 2000 até dezembro do ano de 2022.

Desenvolvimento e Conclusões: A DNAI é uma doença rapidamente progressiva, com deterioração motora e cognitiva grave, apresentando as crianças por ela afetadas uma hipotonia marcada nos primeiros anos de doença, com progressão para espasticidade, arreflexia, alterações visuais, paralisia bulbar progressiva e demência. O diagnóstico de DNAI é feito através de exames imagiológicos, eletrofisiológicos, histopatológicos e, mais recentemente, com recurso a genética molecular. Não existe atualmente nenhum tratamento aprovado para a DNAI, sendo este sobretudo de suporte e prevenção de complicações. Contudo, estão em curso alguns estudos para avaliar o potencial terapêutico de alguns medicamentos e intervenções genéticas, eventualmente capazes de alterar a história natural desta doença.

Palavras-chave: Distrofia Neuroaxonal Infantil; *PLA2G6*; Doença de Seitelberger

ABSTRACT

Introduction: Infantile Neuroaxonal Dystrophy (INAD), also known as Seitelberger's disease, is a rare neurodegenerative disease, autosomal recessive, associated with mutations in the *PLA2G6* gene (22q.13.1), which encodes phospholipase A2 A (iPLA2-VIa). This enzyme is necessary for the maintenance of cellular homeostasis, as its disruption conditions an accumulation of fatty acids with modification of the cell membrane and structure. This alteration generates dystrophy and axonal dilation, with the formation of spheroid bodies and iron accumulation, thus being included in neurodegenerative dystrophies with cerebral iron accumulation (NBIA). It is a disease characterized by delayed development and loss of previously acquired skills. Symptoms begin between 6 months and 2 years of age, leading to death before 10.

Objectives: This work intends to perform a narrative review of existing medical knowledge about INAD, from epidemiology to prognosis. Pathophysiology, clinical manifestations, diagnosis and symptomatic therapy are described, also addressing existing research in the area.

Material and Methods: A literature search was conducted in the electronic databases *PubMed, Google Scholar, American Academy of Neurology* and *Good Clinical Practice Network* since 2000 until December 2022.

State of the art and Conclusions: INAD is a rapidly progressive disease, with severe motor and cognitive deterioration, with children affected by it presenting marked hypotonia in the first years of the disease, with progression to spasticity, areflexia, visual changes, progressive bulbar palsy and dementia. The diagnosis of INAD is made through imaging, electrophysiological, histopathological examinations and, more recently, using molecular genetics. There is currently no approved treatment for INAD, which is mainly supportive and oriented towards preventing complications. However, some studies are under way to evaluate the therapeutic potential of some drugs and genetic interventions, eventually capable of changing the natural history of this disease.

Keywords: Infantile Neuroaxonal Dystrophy; *PLA2G6*; Seitelberger's disease

1. INTRODUÇÃO:

A Distrofia Neuroaxonal Infantil (DNAI), também conhecida como doença de Seitelberger, é uma doença neurodegenerativa rara, autossômica recessiva, associada à presença de variantes patogénicas que envolvem o gene *PLA2G6* (22q13.1), responsável por codificar a fosfolipase A2 [1].

As distrofias neuroaxonais são um grupo clínico e geneticamente heterogéneo, onde se incluem doenças neurodegenerativas com características fisiopatológicas típicas. Uma destas características corresponde a dilatações axonais, denominadas esferóides que se localizam ao longo do sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP) [2,3]. Morfologicamente, identificam-se também zonas de acumulação de ferro a nível dos núcleos da base. Assim sendo, são patologias incluídas nas distrofias neurodegenerativas com acumulação cerebral de ferro (NBIA) [2].

As NBIA são um grupo de doenças onde se englobam 9 tipos de distrofias de transmissão genética, com heterogeneidade etiológica e fenotípica, que resultam de uma acumulação progressiva de ferro a nível dos gânglios da base, principalmente no globo pálido. Esse aumento de ferro intracerebral provoca atrofia cerebral e cerebelosa, alterando o funcionamento cerebral, conduzindo a distonia, espasticidade e alterações neurofisiológicas marcadas [1,4]. Os dois subtipos mais frequentes são a neurodegeneração associada a pantotenato cinase (PKAN) e a neurodegeneração associada ao *PLA2G6* (PLAN). A DNAI inclui-se nesta última [1].

A DNAI manifesta-se antes dos 3 anos de idade, e origina um atraso seguido de uma regressão do desenvolvimento psicomotor. Trata-se de uma doença rapidamente progressiva, com deterioração motora e cognitiva grave, apresentando as crianças afetadas uma hipotonia marcada nos primeiros anos de doença, com progressão para espasticidade, arreflexia, alterações visuais, paralisia bulbar progressiva e demência, resultando, frequentemente, em morte antes dos 10 anos [1]. O diagnóstico de DNAI resulta de uma conjugação de exames imagiológicos, eletrofisiológicos e histopatológicos, em contexto clínico adequado. Atualmente, com os avanços conseguidos na área da genética molecular, é mais fácil (e rápida) a confirmação diagnóstica desta entidade, quando há suspeita clínica. Este é um aspeto crucial para o desenho de ensaios clínicos, que visem o desenvolvimento de novos fármacos, capazes de intervir na história natural desta doença [1,3].

Até à data não existe nenhum fármaco formalmente aprovado para a DNAI, sendo o tratamento sobretudo de suporte, alívio sintomático e prevenção de complicações

secundárias. Contudo, estão em curso alguns estudos que avaliam o potencial terapêutico de medicamentos órfãos e terapias de natureza genética, eventualmente capazes de deter o avanço do processo degenerativo que acompanha a doença. Neste trabalho, faremos uma revisão narrativa sobre o estado da arte médica na DNAI, da epidemiologia ao prognóstico, passando pela fisiopatologia, manifestações clínicas, diagnóstico e terapêutica.

2. METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho foi seguida a metodologia estabelecida para a redação de uma revisão narrativa. Assim, foi feita uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados *PubMed* e *Google Scholar*, utilizando as palavras chave “Infantile Neuroaxonal Dystrophy”, “*PLA2G6*”, “Seitelberger's Disease”, “Group VI Phospholipases A2” e posterior pesquisa de “genetics”, “diagnosis”, “therapy”, “physiopathology”, “epidemiology”, “treatment”.

Foram excluídos todos os artigos publicados antes de 2000, resultando um total de 74 artigos. Após leitura, realizada entre os meses de setembro e dezembro de 2022, foi feita a exclusão de alguns artigos por não abordarem o tema do trabalho (título, resumo ou leitura completa). Foram ainda pesquisados novos ensaios na *American Academy of Neurology* e *Good Clinical Practice Network*. Após leitura integral dos artigos obtidos na *PubMed* e no *Google Scholar*, foram ainda considerados artigos citados nas suas referências bibliográficas, sempre que pudessem acrescentar informação relevante para o trabalho

Foram apenas incluídos artigos escritos em português, inglês e espanhol.

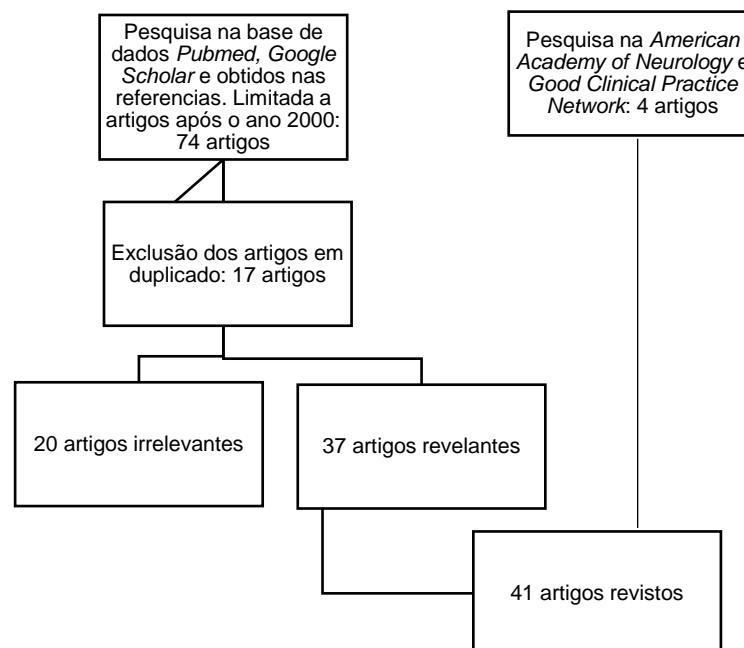


Figura 1 – Diagrama do método de pesquisa e obtenção de artigos.

3. DISTROFIA NEUROAXONAL INFANTIL

a. Classificação

A prevalência exata das NBIA é desconhecida, mas estima-se que seja cerca de 1: 1.000.000, sendo, por isso, consideradas doenças bastante raras [5,6]. Dentro das NBIA, os dois subtipos mais frequentes são: PKAN, representando cerca de metade dos casos descritos e PLAN. Os restantes subtipos, com menor prevalência são a MPAN e BPAN, com neurodegeneração associada às proteínas da membrana mitocondrial e às proteínas hélice β , respetivamente [7].

A DNAI é uma doença neurodegenerativa rara, de transmissão autossómica recessiva, que representa o maior subtipo de neurodegeneração associada ao gene *PLA2G6* (PLAN) [1]. As PLAN representam um grupo clinicamente heterogéneo composto pela DNAI, DNAI atípica, Distonia-parkinsonismo (DP) e Parkinsonismo de início precoce autossómico recessivo (PARK14) que, por sua vez, se incluem nas NBIA (Figura 2) [1,3,8].

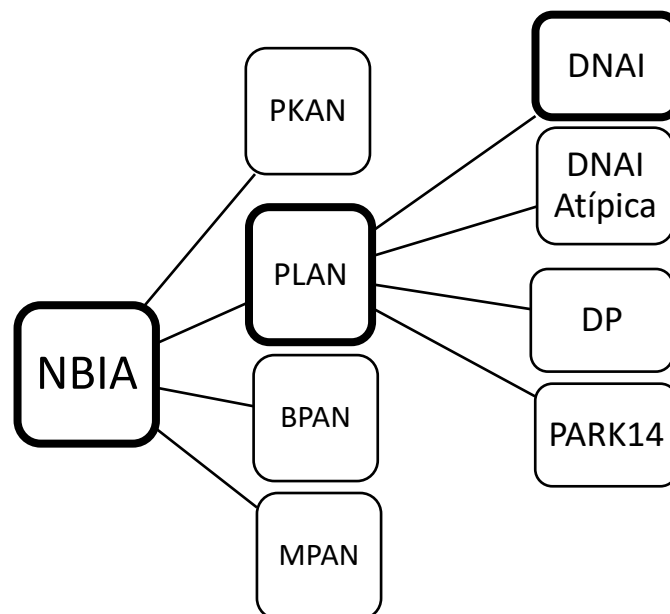


Figura 2 – Classificação das NBIA.

NBIA – Distrofias neurodegenerativas com acumulação cerebral de ferro; PKAN – Neurodegeneração associada a pantotenato cinase; PLAN – Neurodegeneração associada ao PLA2G6; BPAN – Neurodegeneração associada às proteínas hélice β ; MPAN – Neurodegeneração associada às proteínas da membrana mitocondrial; DNAI – Distrofia Neuroaxonal Infantil; DP – Distonia-parkinsonismo; PARK14 – Parkinsonismo de início precoce autossómico recessivo

A DNAI é a forma mais comum do grupo PLAN, cuja clínica se inicia antes dos 3 anos de idade e apresenta características fenotípicas homogêneas, em comparação com a DNAI atípica. Esta é mais rara e de diagnóstico desafiante, uma vez que as manifestações clínicas podem ser muito mais heterogêneas. Inicia-se mais tardiamente e a progressão é insidiosa, manifestando-se por ataxia, atraso da fala, sintomas extrapiramidais e deterioração neurológica global [4-6].

Todavia, ainda existem casos nos quais, apesar das alterações clínicas e radiológicas, não são observadas as alterações genéticas que se associam mais frequentemente ao diagnóstico, sendo a patologia assim denominada de DNAI idiopática [4,9].

b. Pressupostos genéticos

A primeira associação da DNAI com uma variante patogénica do gene *PLA2G6* foi feita em 2006, por Khateeb *et al.*: c.2070_2072delTGT localizada no exão 15. Essa alteração resulta numa deleção da valina na posição 691 da proteína codificada (p.Val691del) [5,10].

A DNAI apresenta uma transmissão autossômica recessiva significando que cada progenitor terá de ser portador da mutação, para a transmitir à descendência. Uma vez que o cromossoma sexual não é afetado, existe igual probabilidade entre sexos de herdar a variante em causa [11]. A maioria dos casos de DNAI estão associados a variantes em homozigotia ou heterozigotia composta no gene *PLA2G6*. Através da análise sequencial do gene, foram identificadas variantes *missense*, *nonsense* e inserções/deleções com correlação genotípica/fenotípica [4,6,10,12]. Variantes que levam à perda de função da proteína são geralmente associadas a formas mais graves e de início mais precoce de doença, ao passo que variantes em *missense* em heterozigotia têm uma apresentação menos agressiva, dado que permitem uma função residual da proteína e, por isso, levam a uma manifestação atípica da distrofia neuroaxonal [4,6,10,12].

Até à data, e segundo o *Human Gene Mutation Database*, foram descritas 238 variantes no gene. Contudo, são necessários mais estudos para encontrar a relação exata entre estas variantes e a deposição de ferro, que, por sua vez, leva a formação de esferóides [10,13,14].

c. Fisiopatologia

A DNAI resulta da presença de variantes patogénicas no gene *PLA2G6*. Este gene localiza-se no braço longo do cromossoma 22, no locus 22q12.3-q13.2 e é responsável por codificar a enzima fosfolipase A2 cálcio independente do grupo VI A (iPLA2-VIa), uma enzima necessária para a manutenção da homeostasia celular. A iPLA2-VIa apresenta sete repetições de anquirinas, um domínio lipase e um domínio de ligação da calmodulina [10,13,14]. A iPLA2-VIa, sendo uma enzima cálcio-independente, tem a capacidade de regularização e metabolização de ácidos gordos livres em fosfolípidos, necessários para a manutenção da membrana fosfolipídica dos axónios [1,13,15,16]. A fosfolipase A2 juntamente com a enzima trifosfato de citidina, regularizam os níveis de fosfatidilcolina, o principal componente da membrana celular. Uma variante patogénica do gene leva à perda de função da iPLA2-VIa, verificando-se acumulação de fosfatidilcolina e compromisso da função da membrana celular o que contribui para o aparecimento de alterações morfológicas que estão na base da DNAI, como os corpos esferóides [1,12,17].

A nível anatomopatológico, são observados corpos esferóides, maioritariamente no tronco cerebral, corno dorsal da medula espinhal, córtex cerebeloso, *globus* pálido e substância negra [2,4,5,10,12,18]. Os corpos esferóides são dilatações axonais, de aparência redonda ou oval, que contêm numerosas membranas tubulovesiculares, α -sinucleína, ubiquitina, vesículas sinápticas, mitocôndrias degeneradas e filamentos (Figura 3). Estes podem ser observados nos terminais pré-sinápticos do SNC e SNP (pele e conjuntiva), com recurso a microscopia eletrónica [1,2,8,12,14,19].

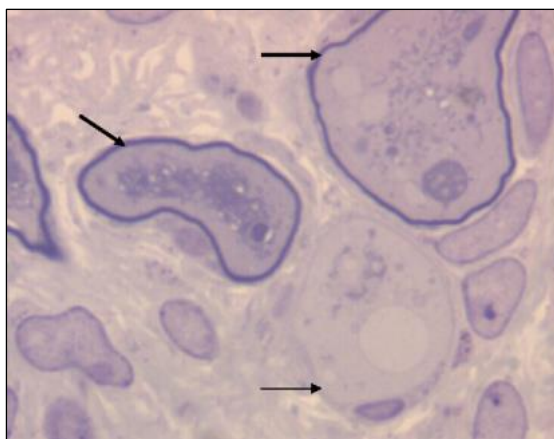


Figura 3 – Biópsia de pele, 1 μ m.

Observam-se 3 corpos esferóides (setas), um deles não mielinizado (seta mais fina). Imagem retirada de Carrilho et al. [14]

A presença de esferóides e de ubiquitina reforça a ideia de que as alterações proteicas e membranares estão na base da fisiopatologia da DNAI, uma vez que a proteína em déficit tem função regularizadora e a sua perda conduz a alterações membranares importantes [2,9,20]. Contudo, é de destacar que a presença de esferóides não faz por si só o diagnóstico da DNAI uma vez que estes podem ser encontrados noutras condições como PKAN, NBIA idiopática, doença de Menkes e doença de Wilson [2,4,5,10,12,18].

Uma variante patogénica no gene *PLA2G6*, ao induzir a perda do mecanismo compensatório independente de cálcio, leva a perda da homeostasia celular e, posteriormente, à acumulação de ácidos gordos, culminando na modificação da membrana e estrutura celular. Essa alteração gera distrofia e dilatação axonal, com formação de corpos esferóides e acumulação de ferro intracerebral [1,16,17]. Estudos recentes verificaram que variantes do gene *PLA2G6* provocam também degeneração mitocondrial, por falha da reparação da membrana fosfolipídica provocando alteração da sua morfologia, que resulta em alterações de permeabilidade da membrana celular, fluidez e troca de iões. Estas modificações provocam, por consequência, distúrbios mitocondriais incluindo disfunção da cadeia respiratória e redução de síntese de ATP. As alterações da membrana podem também condicionar alterações na autofagia [9,13,16,17,21,22]. A alta atividade metabólica e a forte exposição a stress oxidativo das células do SNC, particularmente em áreas como o cerebelo e os gânglios da base, tornam estas estruturas propensas a defeitos resultantes da falha na atividade da fosfolipase A2 [1]. Embora ainda não se saiba concretamente como a alteração da função enzimática leva à manifestação dos sintomas típicos da DNAI, os problemas do metabolismo dos fosfolípidos foram identificados tanto na DNAI como na PKAN, doenças de Parkinson e Alzheimer, condições clínicas que se encontram associadas a alterações no metabolismo do ferro cerebral [17].

Torna-se evidente que existe uma relação entre a disfunção da fosfolipase A2 e a neurodegeneração e patologias com acumulação de ferro. Esta relação poderá ajudar a definir possíveis estratégias de tratamento, no futuro.

d. Manifestações clínicas

A DNAI, foi descrita em 1952 por Seitelberger após observar duas irmãs com um atraso psicomotor no primeiro ano de vida associado a uma regressão de competências neurológicas que culminou nos falecimentos aos 4 e 6 anos de vida. Os primeiros critérios de diagnóstico foram estabelecidos por Aicardi e Castelein em 1979, após observação de vários casos com clínica coincidente com a doença de Seitelberger [2,23,24].

O diagnóstico da DNAI deve ser considerado na presença de uma criança com idade compreendida entre os 6 e os 24 meses, com desenvolvimento normal até então, que inicia regressão ou atraso do desenvolvimento, principalmente da área motora, hipotonia e fraqueza muscular. Um início de sintomatologia após os 3 anos é raro [3,14,15]. Contudo, a suspeita pode não se estabelecer por uma relação direta, devido à heterogeneidade fenotípica e à não existência de um sinal clínico patognomónico. Os sintomas podem variar de doente para doente e ser inespecíficos, tais como a existência de um padrão de marcha em pontas, nistagmo ou estrabismo, obstipação grave, ataxia e hipotonia [14,18]. O envolvimento das vias piramidais fará surgir uma hiperreflexia miotática, assim como um sinal de Babinski normalmente bilateral, salientando o envolvimento difuso que esta entidade clínica pode ter, no SNC [3,14,18]. Primariamente, costuma haver atingimento da motricidade grosseira, em particular do tónus axial, com perda de aquisições como gatinhar e capacidade de a criança se manter em ortostatismo e de caminhar, com ou sem apoio. De uma forma geral, entre os 11 e os 50 meses de idade, observa-se a inaptidão para ortostatismo sem apoio. A linguagem é a segunda competência a ser afetada, em média entre os 12 e os 54 meses de idade [1,8]. À medida que a doença progride, a criança perde a capacidade de gatinhar, de se sentar e mesmo de efetuar um controlo cefálico eficaz, progredindo para uma tetraplegia espástica, a médio prazo. [1,14,25]

A regressão motora, inicialmente com uma hipotonia importante, faz diagnóstico diferencial com miopatia ou atrofia muscular espinhal [1,14,25] Sinais de lesão do trato piramidal são frequentes. Alguns doentes podem apresentar diminuição ou até mesmo arreflexia miotática, o que reforça o compromisso da função do SNP, nesta doença (pois estes são já sinais de disfunção do segundo neurónio motor) [1,14,18,25]. Posteriormente, ocorre regressão na motricidade fina pelos 30 meses de idade, afetando movimentos que exigem maior precisão e destreza, como a preensão palmar ou capacidade para empilhar cubos [1,8].

Na literatura existem alguns casos descritos de doentes que apresentaram sintomatologia visual como manifestação mais precoce. A atrofia óptica poderá ocorrer 10 a 24 meses antes do início dos restantes sintomas precedendo nistagmo pendular ou estrabismo não paralítico, como primeira manifestação da doença. Com a evolução, podem surgir movimentos oculares não coordenados e perda de visão [1,14,25].

A progressão da doença (Figura 4) pode condicionar um atingimento bulbar, surgindo disfagia, disartria e disfonia, o que provoca engasgamentos frequentes com líquidos e mais tarde, incapacidade para deglutir alimentos sólidos. Esta deterioração da própria capacidade para alimentação necessita de intervenção precoce, recorrendo-se frequentemente à colocação de uma sonda nasogástrica ou a uma gastrostomia, por forma a serem supridas as

necessidades nutricionais do doente [1,8]. As funções nervosas superiores, nomeadamente de topografia fronto-temporal, como interação com os pais ou cuidadores e resposta a ordens verbais é descrita como uma das últimas competências a ser comprometida [1]. O envolvimento autonómico pode ser também observável pela manifestação de incontinência urinária e obstipação [1,8]. Alterações neuropsiquiátricas como labilidade emocional e défice de atenção também foram descritas [5,23].

Em estadio terminal os doentes tornam-se totalmente dependentes dos pais e cuidadores, pela sua cegueira, tetraplegia e demência. A morte ocorre antes dos 10 anos de idade, sendo normalmente devida a causas respiratórias secundárias à disfunção bulbar [1].

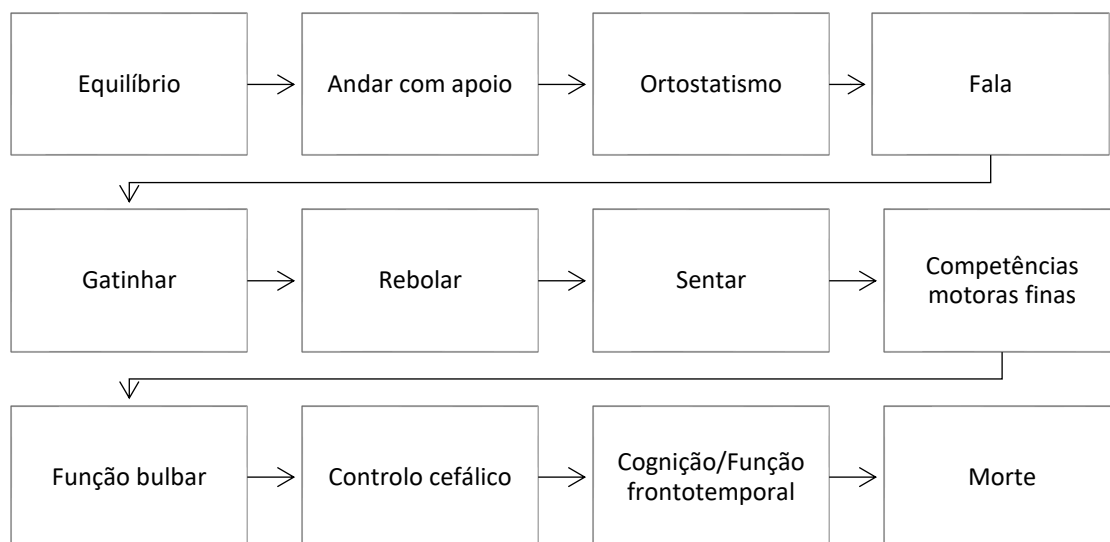


Figura 4 – Desenvolvimento da DNL e competências afetadas.

Casos com uma apresentação mais tardia na infância ou adolescência – Distrofia Neuroaxonal Juvenil – foram já também reportados, com crises epiléticas bilaterais, mioclonias, ataxia progressiva e demência. Formas pré-natais e de manifestação desde o nascimento também foram descritas [14].

Em 2020, Atwal *et. al*, apresentou uma tabela (em anexo) de avaliação clínica, incluindo 6 grandes categorias de aspetos relacionados com o desenvolvimento da criança, que permite a avaliação da gravidade e da progressão da doença em 10 minutos de consulta. Desta forma, é possível uma avaliação mais holística em comparação com outras escalas, como a *Hammersmith* ou a *Modified Ashworth*, avaliando assim diferentes funções, tais como: motricidade grosseira, motricidade fina, função bulbar, função ocular, função cognitiva e,

globalmente, o sistema nervoso autónomo. Esta tabela foi criada com o objetivo de avaliar as funções diárias do doente bem como a sua interação com o meio envolvente não devendo ser utilizada como forma de diagnóstico, mas como metodologia de quantificação do estado da doença e do respetivo impacto nas atividades de vida diária da criança com o diagnóstico. No seu conjunto, os tópicos questionados avaliam a capacidade de o doente realizar atividades do seu quotidiano, incluindo as que são extremamente necessárias para a sua sobrevivência e autonomia e avaliam a capacidade de interação com o meio envolvente e cuidadores. [8]

4. DIAGNÓSTICO

Antes de existir a disponibilidade do teste genético, o diagnóstico definitivo era feito com recurso à biópsia, frequentemente da pele e conjuntiva, que revelavam corpos esferóides neuroaxonais distribuídos a nível do SNC e SNP. Como referido anteriormente, os corpos esferóides são identificados através de microscopia eletrónica, com a presença de material de granulação e tubulovesicular, organelos citoplasmáticos degenerativos e dilatados, acumulação de glicogénio e mitocôndrias de maior tamanho [12]. Assim, a presença de corpos esferóides, quer em axónios mielinizados como não mielinizados, torna-se o achado anatomopatológico mais típico da DNAI. Porém, não é patognomónico, uma vez que também são observáveis noutras patologias [25].

Com a evolução das técnicas e dos estudos relativos a esta patologia, foi encontrada uma associação com o gene *PLA2G6*, conduzindo a que o diagnóstico definitivo pudesse ser feito através de testes moleculares, com identificação das variantes patogénicas que se foram documentando como causais. Assim, a biópsia passou a ser apenas realizada quando o estudo do gene *PLA2G6* não revelar qualquer variante patogénica, ou nos casos atípicos, recorrendo a tecido periférico, como pele ou conjuntiva, mas também mucosa retal ou nervo sural, que poderá ser importante na avaliação da evolução desta patologia [4,10,12]. Assim, o diagnóstico final é normalmente feito pela conjugação da clínica com o resultado do teste molecular.

As alterações a nível de exames neurofisiológicos são típicas da DNAI e permitem tanto o diagnóstico, quanto o seguimento desta patologia. No que diz respeito ao eletroencefalograma (EEG), inicialmente o traçado de base é lento, observando-se, posteriormente (em particular após os 2 anos de idade), um aumento da frequência de base, com ritmos rápidos de 16-22 Hz, tanto em sono como em vigília, que vão aumentando de

amplitude. Em alguns doentes, é visível atividade epileptiforme, focal ou difusa, com surtos de pontas difusas e ondas. Estas alterações, apesar de não específicas, são consideradas características clínicas da DNAI [2,14,21,18,25-27]. Uma minoria dos doentes pode apresentar crises epiléticas, de início focal ou bilateral [2,8,25].

Em relação ao eletromiograma (EMG), revela sinais de desinervação crônica, com velocidade de condução sensitiva e motora normal. As alterações são compatíveis com lesão do corno anterior da medula que, na presença de uma criança com marcada hipotonia, deve levantar logo a necessidade da realização de estudo complementar dirigido. É importante ter em consideração que um EMG normal não exclui o diagnóstico [2,15,18,21].

No que diz respeito aos Potenciais Evocados, os Auditivos e os Somatossensitivos vão sendo progressivamente piores com a evolução da doença. Os Potenciais Evocados Visuais geralmente obtêm resultados de baixa amplitude ou ausentes. Contudo, o eletrorretinograma e as velocidades de condução podem-se encontrar dentro dos parâmetros da normalidade [25]. Na fundoscopia, podem não ser observáveis alterações da retina, porém, ao exame com microscopia eletrônica, é observável a perda de neurónios da retina e atrofia individual das suas camadas [15,18,19,22].

A Ressonância Magnética (RM) é o exame onde são observados os sinais mais precoces da doença, sendo detetáveis antes dos 2 anos de idade, pelo que este exame de imagem representa um importante exame complementar de diagnóstico, na suspeita clínica de DNAI [6,14,19,25,28]. Desde idade precoce, pode ser reconhecida atrofia cerebelosa marcada e difusa, maioritariamente envolvendo a parte inferior do vérmis e detetável com hipersinal do córtex em imagens ponderadas em T2, resultante de gliose extensa (Figura 5) [6,10,14,18,25,28].

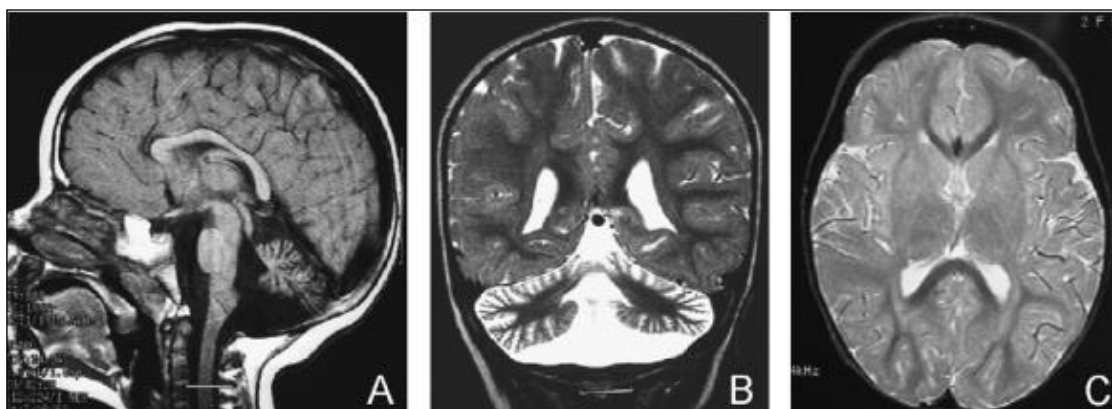


Figura 5 – RM de paciente com 2 anos de idade. É observável atrofia cerebelosa a envolver maioritariamente o vérmis e hipersinal no córtex cerebeloso.

A – corte sagital, B – corte coronal, C – corte axial. Imagem retirada de Carrilho et al. [14]

Alterações envolvendo os núcleos da base, substância branca supratentorial e atrofia do corpo caloso e do quiasma óptico são achados frequentes [15,18,19,22]. Adicionalmente, evidência de atrofia cerebral e sinais de acumulação de ferro cerebral são visíveis em aproximadamente 50% dos casos [10,12,27]. Ocasionalmente, também podem ser observadas zonas de hipointensidade de sinal localizadas ao globo pálido e substância negra, resultado da acumulação de ferro intracerebral [28]. Devido a essa situação, por vezes, é necessário um diagnóstico diferencial com outras NBIA, destacando-se a PKAN, devido às suas características imagiológicas, muito semelhantes às supramencionadas [27,30].

A PKAN, é causada por uma variante patogénica no gene *PANK2* e tem como característica mais distintiva um padrão de acumulação de ferro cerebral, mais concretamente a nível dos gânglios da base, conhecido como sinal dos “olhos de tigre” (Figura 6). Na RM é observável uma combinação de sinal de alta intensidade no centro do globo pálido com baixa intensidade nas áreas circundantes. Este sinal está tipicamente ausente na DNAI, facilitando o processo de diagnóstico diferencial. [25,29,30].

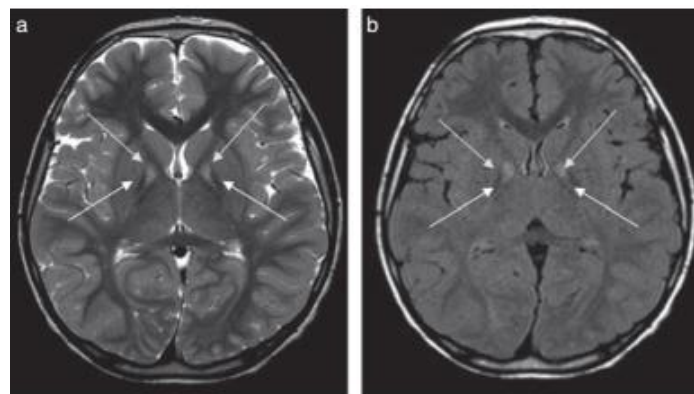


Figura 6 – Sinal dos “olhos de tigre” característico da PKAN [19].

Concluindo, na presença de uma criança com sintomas sugestivos, é importante a realização de uma RM e de um EEG. Se, em pelo menos um destes exames, for identificado um achado sugestivo de DNAI, deve ser realizada a pesquisa das variantes do gene *PLA2G6*. O resultado positivo confirma o diagnóstico e a família deve ser referenciada para aconselhamento genético e acompanhamento diferenciado. Na presença de um teste genético negativo, mas mantendo-se a suspeita do diagnóstico, deve-se recorrer a biópsia. Nesta última situação, e observando-se corpos esferóides deve procede-se a um estudo genético mais extenso, dado podermos estar na presença de uma variante ainda não

conhecida. Na ausência de corpos esferóides na biópsia, devem ser investigadas outras causas para a clínica (Figura 7) [14].

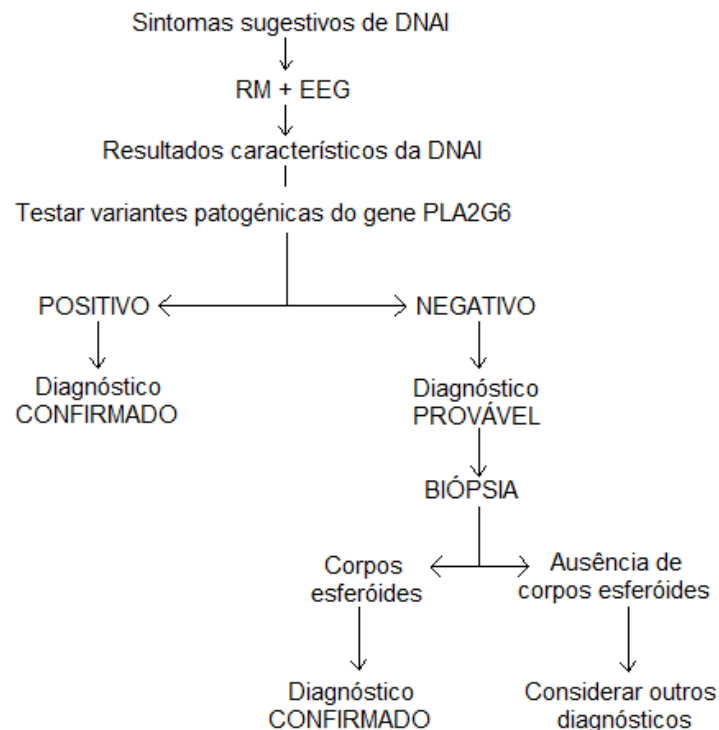


Figura 7 – Fluxograma para diagnóstico de DNAI

Na presença de um quadro clínico suspeito, mas sem identificação de qualquer variante patogênica envolvendo o gene *PLA2G6*, a determinação de α -N-acetilgalactosaminidase pode ser considerada. Em 1989, foi descrita pela primeira vez a doença de Schindler, uma variante rara da DNAI. Resulta de uma deficiência da proteína α -N-acetilgalactosaminidase, codificada por um gene localizado no locus 22q13.1-q13.2, que origina um quadro clínico semelhante ao da DNAI. O diagnóstico diferencial é possível através do doseamento da atividade enzimática, a nível plasmático [21,23,24,29].

Em casais com risco genético já conhecido, o acompanhamento pré-concepcional é importante e pode ser feito o diagnóstico pré-natal com recurso a amniocentese possibilitando um correto aconselhamento familiar [5,11,19].

5. TRATAMENTO

a. Tratamento sintomático

Atualmente, não existe um tratamento definitivo para a DNAI. Desta forma, o tratamento permanece de suporte, com vista ao controlo de sintomas e à promoção da qualidade de vida. Assim sendo, uma equipa multidisciplinar é crucial para o objetivo de otimização nutricional, prevenção de complicações cardio-respiratórias e vigilância ortopédica e fisiátrica.

O tratamento farmacológico é utilizado para controlo sintomático de manifestações como o refluxo gastro-esofágico, distonia/ espasticidade (Tri-hexifenidilo / baclofeno) [31], crises epiléticas, controlo de secreções e prevenção de pneumonia de aspiração devido à dismotilidade gastro-esofágica. A prevenção de contraturas pode ser feita com recurso a ortóteses, toxina botulínica e técnicas de fisioterapia [5,6,8,19,25,31]. Alguns casos, que realizaram estimulação cerebral bilateral profunda na distonia, evidenciaram melhoria clínica deste sintoma [32]. O acompanhamento psiquiátrico e o rastreio visual e auditivo também se revelam importantes [5,6,8,19,25].

Alguns estudos mostraram que a toma precoce de anti-inflamatórios pode ter um efeito protetor na redução da progressão da atrofia cerebelosa bem como a toma de ácido docosahexaenóico, devido à sua baixa toxicidade. Uma maior investigação está a ser feita no sentido de provar a sua eficácia na restauração da função mitocondrial, através da inibição da peroxidação lipídica com recurso também a vitamina E [7,33,34].

A utilização de agonistas dos recetores GLP-1, utilizados para o tratamento de diabetes mellitus tipo 2 está a ser estudada, quanto à eventual eficácia no tratamento da DNAI, uma vez que estes fármacos demonstraram capacidade de neuroprotecção num ensaio clínico direcionado à Doença de Parkinson. Adicionalmente, num estudo realizado em roedores com características semelhantes à DNAI, a administração semanal de semaglutide, revelou uma melhoria na locomoção, uma maior esperança de vida e redução da perda neuronal e neuroinflamação [35].

Apesar dos esforços, os resultados com as terapêuticas e fármacos utilizados permanecem insatisfatórios uma vez que não previnem a progressão da doença para uma sintomatologia grave e incapacitante, resultando em morte geralmente antes de cumprida a primeira década de vida.

b. Tratamento em investigação

Com recurso a modelos experimentais, utilizando roedores e drosófilas, estão a ser investigadas terapêuticas modificadoras de doença, que visam tentar prevenir a neurodegeneração, nomeadamente a suplementação com ácidos gordos polinsaturados, para reduzir a oxidação lipídica e a suplementação com desipramina, para reduzir a acumulação de ceramidas [36,37].

Estão a ser testadas outras técnicas que tentam promover a correção ou substituição do gene e enzimas alteradas na DNAI, com vista a modificar o fenótipo e desenvolver uma cura (potencialmente).

i. Terapia de reposição enzimática

A terapia de reposição enzimática é das mais promissoras para o tratamento da DNAI, pelo facto de se tratar de uma doença em que há um défice de atividade de uma enzima específica. Contudo, esta terapêutica apresenta questões biológicas que têm atrasado o seu desenvolvimento clínico. Em 2017, o único tratamento para a doença de Batten aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) era a transfusão diretamente para o líquido cefalorraquídeo (LCR) de tripeptidil-peptidase 1. Após análise do efeito desta terapêutica sobre a capacidade de locomoção dos doentes, foi possível verificar que este modo de administração permitia a obtenção de alguns resultados, sendo passível de se estender ao tratamento da DNAI. Contudo, levar a que a terapêutica de substituição atinja a mitocôndria é algo desafiante, que levanta muitas dúvidas e dificuldades, assim como o próprio transporte da enzima para o interior da célula, a sua difusão a partir do LCR e toda a segurança associada ao procedimento [3]. De facto, esta via de administração necessitaria da colocação de um catéter intraventricular e de infusões frequentes, com necessidade de anestesia, gerando preocupação por parte dos clínicos assistentes [3].

ii. Terapia de substituição genética

A terapia de substituição genética é um tratamento relativamente recente, com potencial para o tratamento de doenças monogénicas, com a DNAI. Tem como base a utilização de vetores que, contendo cópias funcionais do gene *PLA2G6*, neste caso, sejam capazes de serem introduzidos no genoma humano, a fim de o novo gene permitir a produção de uma enzima, colmatando o défice da sua atividade [3].

O gene *PLA2G6* apresenta um tamanho de cerca de 70kb, com a cadeia de transcrição mais longa tendo apenas 3.3kb, sendo possível a sua introdução num vetor viral. Contudo, a simples introdução do vetor no organismo é insuficiente para este atravessar a barreira hematoencefálica (BHE). Para ultrapassar este entrave, encontra-se em estudo a utilização de uma técnica anteriormente investigada para a doença de Sanfilippo (Mucopolissacaridose tipo IIIA), onde se obtiveram resultados promissores. Com recurso a modelos de roedores, estão a ser estudados vetores passíveis de adaptação à espécie humana, com a capacidade de produção periférica da proteína necessária no SNC e posterior transporte através da BHE, graças a um processo denominado transcitose. Alternativamente, a administração endovenosa de um vetor viral recombinante baseado no AAV9 (“*adeno associated virus 9*”), pode ter como alvo direto o SNC, uma vez que é capaz de atravessar a BHE. Apesar do gene ser pequeno e facilmente colocado num vetor viral, é difícil prever as complicações relativas à regulação genética do *PLA2G6*. Complicações na regulação tornam-se incontrolláveis, especificamente se não for possível determinar com exatidão o tecido alvo [3]. Deste modo, apesar dos avanços, existe ainda um caminho a percorrer, para que se possa disponibilizar uma terapêutica deste tipo, na doença humana.

iii. Edição genética

A edição de genes é uma estratégia terapêutica capaz de reformular mutações através da substituição do gene mutado ou adição do gene em falta e, desta forma, corrigir doenças genéticas. Nos últimos anos, surgiram várias técnicas de edição que recorrem, por norma, a nucleases com capacidade para clivar sequências específicas do genoma, para ser possível a inserção de uma nova sequência de DNA ou a correção de uma sequência pré-existente. Das meganucleases existentes, destacam-se as nucleases dedos de zinco, as nucleases efectoras semelhantes a ativadores da transcrição e o sistema de repetições palindrômicas agrupadas e regularmente interespaçadas (CRISPR/Cas 9), estando esta última na base de resultados satisfatórios de estudos pré-clínicos em doenças como distrofia muscular de Duchenne [3]. Contudo, apesar de promissora, é uma tecnologia que apresenta dificuldades na seleção do local alvo e na gestão da zona de clivagem. Como tal, necessita de uma maior investigação e de processos de otimização que ainda não permitem que se considere num horizonte temporal de curto prazo [3,38,39].

iv. RT001

O RT001 é um ácido gordo poliinsaturado bideuterado que representa uma nova classe de fármacos com ação direta na estabilidade mitocondrial e da membrana celular, uma vez que protege os lípidos do stress oxidativo. Devido ao seu potencial, o seu uso no tratamento da DNAI encontra-se em estudo, já tendo sido verificada a sua eficácia em alguns casos concretos [40].

Nos estudos já concluídos, descreveram-se duas crianças, de 34 e 6 meses, que, após 1 mês de utilização, não apresentavam evolução da sintomatologia. Contudo, apesar desta estabilidade, as crianças não conseguiram reaprender as capacidades anteriormente adquiridas e perdidas devido à doença. De destacar a melhoria nas funções bulbares, com um reforço da capacidade de deglutição, uma maior interatividade e menor espasticidade dos membros [40].

Num estudo clínico publicado em maio de 2022, com 19 doentes tratados com RT001, comparados com 36 doentes-controlo, observou-se uma melhoria estatisticamente significativa na sobrevivência em crianças tratadas com o RT001 [41], o que permitiu criar alguma expectativa em relação ao potencial terapêutico desta molécula. Aguarda-se a prossecução dos estudos, com um maior número de ensaios clínicos e de doentes expostos.

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

A DNAI é uma doença pediátrica rara, associada a um fenótipo avassalador e a um diagnóstico desafiante, que torna de extrema importância o seu conhecimento e investigação. O atraso do desenvolvimento, sendo um marcador precoce da patologia neurodegenerativa, deve ser um *redflag* para o despiste desta entidade, quando observado em idades precoces. Uma história clínica com registo das etapas do desenvolvimento e um exame objetivo detalhado são essenciais, uma vez que podem revelar pistas cruciais para uma investigação mais dirigida.

Assim, na presença de uma criança com idade inferior a 3 anos, que apresente uma rápida e precoce regressão motora e cognitiva, associada a hipotonia e/ou atrofia cerebelosa isolada, deve ser descartada a hipótese de DNAI, através da realização de exames complementares de diagnóstico, como RM e/ou EEG. Apesar das dificuldades, é importante que o diagnóstico seja feito o mais precocemente possível, de forma permitir que o doente tenha um tratamento e acompanhamento médico célere, de forma a promover a melhor qualidade de vida possível. A realização de testes moleculares é a base atual para o diagnóstico e o eventual rastreio pré-natal deverá ser utilizado em famílias com risco genético associado, de forma a permitir um melhor acompanhamento.

Atualmente, apesar dos esforços, só é possível oferecer tratamento sintomático e paliativo. Contudo, com o aumento do conhecimento relativo a esta patologia, foi possível identificar um maior número de variantes patogénicas, novos sinais e sintomas, assim como diferentes tipos de alvos terapêuticos. Novos fármacos estão a ser estudados, existindo técnicas genéticas e ensaios farmacológicos com resultados que se perspetivam promissores.

7. AGRADECIMENTOS

Ao Doutor Filipe Palavra e à Doutora Joana Amaral pela disponibilidade em orientar este trabalho, bem como pelo valioso contributo científico que sempre deram.

Aos meus pais, por serem o meu melhor colo. Por me permitirem voar e me apoiarem em todos os meus sonhos.

Ao meu irmão, por ser um exemplo para mim, tanto na vida pessoal como profissional.

Ao Ângelo, que me acompanha desde cedo nesta caminhada. Por todo o amor e apoio incondicional. Por me mostrar sempre o lado leve e simples das coisas.

Às minhas amigas. Às que estão na minha vida desde que sonhava com Medicina e às que conquistaram Medicina comigo. Obrigada por não me terem largado a mão.

À minha Vovó Quina, a minha grande inspiração e que mostrou a Valente que quero ser.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Altuame FD, Foskett G, Atwal PS, Endemann S, Midei M, Milner P, et al. The natural history of infantile neuroaxonal dystrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 2020 May 1;15(1):109
2. Nardocci N. Axonal dystrophies. In: *Handbook of Clinical Neurology.* Elsevier B.V.; 2013. p. 1919-1924.
3. Babin PL, Rao SNR, Chacko A, Alvina FB, Panwala A, Panwala L, et al. Infantile Neuroaxonal Dystrophy: Diagnosis and Possible Treatments. *Front Genet.* 2018;9:597
4. Gregory A, Westaway SK, Holm IE, Kotzbauer DPT, Hogarth P, Sonek S, et al. Neurodegeneration associated with genetic defects in phospholipase A2. *Neurology.* 2008;71(18):1402-1409.
5. Pinto F, Pina C, Rodrigues MC, Carrilho I, Saraiva J, Mendes MJ, et al. Prenatal Diagnosis of Infantile Neuroaxonal Dystrophy Case Report. *Arqui Med.* 2010;24(3):89-90.
6. Agarwal P, Goswami JN. Siblings with Infantile Neuroaxonal Dystrophy. *Journal of Pediatric Neurology.* 2021;19(2):109–12.
7. Hogarth P. Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation: Diagnosis and Management. *J Mov Disord.* 2015;8(1):1-13.
8. Atwal PS, Midei M, Adams D, Fay A, Heerinckx F, Milner P. The infantile neuroaxonal dystrophy rating scale (INAD-RS). *Orphanet J Rare Dis.* 2020 Jul 29;15(1):195.
9. Meyer E, Kurian MA, Hayflick SJ. Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation: Genetic Diversity and Pathophysiological Mechanisms. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2015;16:257–279.
10. Veerapandiyam, A., Chaudhari, A., Aravindhan, A., & Hayes-Rosen, C. (2017). Novel Mutation in PLA2G6 Gene in a Patient with Infantile Neuroaxonal Dystrophy. *Journal of Pediatric Neurology,* 15(2), 73–75.
11. Hao Y, Chen D, Zhang G, Zhang Z, Liu X, Zhou P, Wei, et al. Successful clinical application of pre-implantation genetic diagnosis for infantile neuroaxonal dystrophy. *Exp Ther Med.* 2020;19(2):956-964.
12. Grazia I, Claudio G, Giovanna C, Maria CD, Roberta Z, Valentina P, et al. A new PLA2G6 mutation in a family with infantile neuroaxonal dystrophy. *J Neurol Sci.* 2017;381:209-212.
13. Wan Y, Jiang Y, Xie Z, Ling C, Du K, Li R, et al. Novel PLA2G6 Pathogenic Variants in Chinese Patients With PLA2G6-Associated Neurodegeneration. *Front Neurol.* 2022;13:922528.
14. Carrilho I, Santos M, Guimarães A, Teixeira J, Chorão R, Martins M, et al. Infantile neuroaxonal dystrophy: What's most important for the diagnosis? *Eur J Paediatr Neurol.* 2008;12(6):491-500.
15. Wu Y, Jiang Y, Gao Z, Wang J, Yuan Y, Xiong H, et al. Clinical study and PLA2G6 mutation screening analysis in Chinese patients with infantile neuroaxonal dystrophy. *Eur J Neurol.* 2009;16(2):240-245.
16. Hanna Al-Shaikh R, Milanowski LM, Holla VV, Kurihara K, Yadav R, Kamble N, et al. PLA2G6-associated neurodegeneration in four different populations-case series and literature review. *Parkinsonism Relat Disord.* 2022;101:66-74..
17. Kurian MA, Morgan NV, MacPherson L, Foster K, Peake D, Gupta R, et al. Phenotypic spectrum of neurodegeneration associated with mutations in the PLA2G6 gene (PLAN). *Neurology.* 2008;70(18):1623-1629.
18. Gordon N. Infantile neuroaxonal dystrophy (Seitelberger's disease). *Dev Med Child Neurol.* 2002;44(12):849-851
19. Kurian MA, McNeill A, Lin JP, Maher ER. Childhood disorders of neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA). *Dev Med Child Neurol.* 2011;53(5):394-404.

20. Shinzawa K, Sumi H, Ikawa M, Matsuoka Y, Okabe M, Sakoda S, et al. Neuroaxonal dystrophy caused by group VIA phospholipase A2 deficiency in mice: A model of human neurodegenerative disease. *J Neurosci*. 2008; 28(9):2212-2220.
21. Iodice A, Spagnoli C, Salerno GG, Frattini D, Bertani G, Bergonzini P, et al. Infantile neuroaxonal dystrophy and PLA2G6-associated neurodegeneration: An update for the diagnosis. *Brain Dev*. 2017;39(2):93-100.
22. Offringa-Hup A. INAD and Duchenne muscular dystrophy, two ends of the iPLA2 β spectrum. *Med Hypotheses*. 2020;137:109589.
23. La AA, Chabas DA, Blanco-Barca O, Eirís-Puñal J, Peña-Gutián J, Fernández-Bustillo JM, et al. Hipotonía mixta, regresión neurológica y atrofia cerebelosa: manifestaciones sugestivas de distrofia neuroaxonal infantil. *Rev Neurol*. 2003;37:25-28.
24. Rodríguez-Costa T, Cabello A, Recuero-Fernández E, Casas-Fernández C, Puche-Mira A, Domingo-Jiménez R, et al. Distrofia neuroaxonal infantil. Presentación de dos nuevos casos y revisión de los últimos diez años de la literatura. *Rev Neurol*. 2001;33:443-447.
25. Orphanet, *Infantile Neuroaxonal Dystrophy*. [document on the internet], Nardocci, 2004. Available from: <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-INAD.pdf>
26. Gitiaux C, Kaminska A, Boddaert N, Barcia G, Guéden S, The-Tich, SN, et al. PLA2G6-associated neurodegeneration: Lessons from neurophysiological findings. *Eur J Paediatr Neurol*. 2018;22(5):854-861.
27. Guo YP, Tang BS, Guo JF. PLA2G6-Associated Neurodegeneration (PLAN): Review of Clinical Phenotypes and Genotypes. *Front Neurol*. 2018;9:1100.
28. Bernardi B, Pini A, Santucci M, Cenacchi C, Garavaglia B, Uccino V, et al. MRI Findings in Patients with Clinical Onset Consistent with Infantile Neuroaxonal Dystrophy (INAD), Literature Review, Clinical and MRI Follow-up. *Neuroradiol J*. 2011;24(2):202-214.
29. Khateeb S, Flusser H, Ofir R, Shelef I, Narkis G, Vardi G, et al. PLA2G6 Mutation Underlies Infantile Neuroaxonal Dystrophy. *Am J Hum Genet*. 2006;79(5):942-948.
30. Biancheri R, Rossi A, Alpigiani G, Filocamo M, Gandolfo C, Lorini R, et al. Cerebellar atrophy without cerebellar cortex hyperintensity in infantile neuroaxonal dystrophy (INAD) due to PLA2G6 mutation. *Eur J Paediatr Neurol*. 2007;11(3):175-177.
31. Zorzi G, Nardocci N. Therapeutic Advances in Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation. *Int Rev Neurobiol*. 2013;110:153-164.
32. Timmermann L, Pauls KAM, Wieland K, Jech R, Kurlermann G, Sharma N, et al. Dystonia in neurodegeneration with brain iron accumulation: Outcome of bilateral pallidal stimulation. *Brain*. 2010; 133(Pt3):701-712.
33. Hinarejos I, Machuca-Arellano C, Sancho P, Espinós C. Mitochondrial dysfunction, oxidative stress and neuroinflammation in neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA). *Antioxidants (Basel)*. 2020;9(10):1020.
34. Villalón-García I, Álvarez-Córdoba M, Povea-Cabello S, Talaverón-Rey M, Villanueva-Paz M, Luzón-Hidalgo R, et al. Vitamin E prevents lipid peroxidation and iron accumulation in PLA2G6-Associated Neurodegeneration. *Neurobiol Dis*. 2022;165:105649.
35. Poupon-Bejuit L, Hughes MP, Liu W, Geard A, Faour-Slika N, Whaler S, et al. A GLP1 receptor agonist diabetes drug ameliorates neurodegeneration in a mouse model of infantile neurometabolic disease. *Sci Rep*. 2022;12(1):13825.
36. Adams D, Dastgir J, Molinari R, Heerinckx F. Case Report: Expanded Access Treatment of an Infantile Neuroaxonal Dystrophy Patient with a Novel Stabilized Polyunsaturated Fatty Acid Drug (P3.327). *Neurology*. 2018;90 (15 Supplement).

37. Good Clinical Practice Network. Desipramine in Infantile Neuroaxonal Dystrophy (INAD). [document on the internet], Duke University; 2020. Available from: <https://ichgcp.net/clinical-trials-registry/NCT0372699638>.

38. Doetschman T, Georgieva T. Gene Editing with CRISPR/Cas9 RNADirected Nuclease. *Circ Res.* 2017;120(5):876-894.

39. LaFontaine JS, Fathe K, Smyth HDC. Delivery and therapeutic applications of gene editing technologies ZFNs, TALENs, and CRISPR/Cas9. *Int J Pharm.* 2015;494(1):180-194.

40. Adams D, Midei M, Dastgir J, Flora C, Molinari RJ, Heerinckx F, et al. Treatment of infantile neuroaxonal dystrophy with RT001: A di-deuterated ethyl ester of linoleic acid: Report of two cases. *JIMD Rep.* 2020;54(1):54-60.

41. Fay A, Adams D, Atwal P, Heerinckx F, Midei M, Milner P. Phase 2/3 Clinical Trial Results: Safety and Efficacy Results of RT001, a site-specific (C11) di-deutero synthetic homologue of linoleic acid, in Infantile Neuroaxonal Dystrophy (S39.007). *Neurology.* 2022;98(18 Supplement).

9. ANEXOS

1. Tabela de avaliação clínica INAD-RS (*Atwal et al. [8]*).

1. Gross Motor Skills	Consider aids of two small blocks, a small handheld bell, small spoon stuffed animal or other bright toy to test visual tracking
1. Hold head upright against gravity while sitting <ul style="list-style-type: none">• Child cannot hold head erect for at least 3 s without support (Score = 0)• Child holds head erect for at least 3 s without support (Score = 1)• Child holds head erect and steady for at least 15 s without support (Score = 2)	• Typically performed on exam table
2. Roll over <ul style="list-style-type: none">• Child does not roll front to back or back to front (Score = 0)• Child rolls front to back or back to front, but not both (Score = 1)• Child rolls front to back and back to front (Score = 2)	• Typically performed on exam table
3. Sit with support <ul style="list-style-type: none">• Child cannot sit with support (Score = 0)• Child tenses muscles in an effort to maintain sitting position (Score = 1)• Child sits with slight support for at least 30 s (Score = 2)	• Typically performed on exam table
4. Sit without support <ul style="list-style-type: none">• Child cannot sit without support (Score = 0)• Child sits without support for at least 5 s (Score = 1)• Child sits without proper support for at least 30 s (Score = 2)	• Typically performed on exam table
5. Stand aided <ul style="list-style-type: none">• Child cannot stand aided (Score = 0)• Child can stand aided (Score = 1)• Child raises self to a standing position, using a chair or other convenient object for support	
6. Stand unaided <ul style="list-style-type: none">a. Child cannot stand unaided (Score = 0)b. Child can stand alone for at least 3 s after you release his or her hands (Score = 1)c. Child comes to a standing position without using any support (Score = 2)	
7. Does head lag with dynamic change of position? <ul style="list-style-type: none">a. Child cannot hold head when raised from supine to sitting by pulling on the arms (Score = 0)b. Child has head lag when raised from supine to sitting by pulling on the arms (Score = 1)c. Child has no head lag when raised from supine to sitting by pulling on the arms (Score = 2)	• Have child lie on table
8. Peripheral limb function: Hand <ul style="list-style-type: none">a. Child has no hand grip and/or contractures (Score = 0)b. Child shows finger grip (pincer) (Score = 1)c. Child holds object in hand (Score = 2)	• Give child block or small toy
9. Peripheral limb function: Feet <ul style="list-style-type: none">a. Child has contractures of both feet (Score = 0)b. Child has pes equinus or pes cavus without contracture (Score = 1)c. Child has no foot deformity (Score = 2)	
10. Crawling <ul style="list-style-type: none">a. Child cannot crawl (Score = 0)b. Child moves from lying prone to being up on hands and knees (Score = 1)c. Child makes forward progress of at least 5 ft by crawling on hands and knees (Score = 2)	
11. Walk aided <ul style="list-style-type: none">a. Child cannot walk with support (Score = 0)b. Child walks with support by a person and initiates multiple steps (Score = 1)c. Child walks independently while using or holding onto support (Score = 2)	
12. Walk unaided <ul style="list-style-type: none">a. Child cannot walk without support (Score = 0)b. Child takes at least 3 steps without support, even if gait is stiff-	

Item name and score definitions

Comments, instructions

- legged and wobbly (Score = 1)
 c. Child takes at least 5 steps independently, displaying coordination and balance (Score = 2)

2. Fine Motor Skills

- | | |
|---|--|
| <p>1) Reaches for objects</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not reach for an object (Score = 0) • Child extends one or both arms forward to reach object, but does not touch object (Score = 1) • Child extends one or both arms forward to reach object and touches object with any part of either hand (Score = 2) <p>2) Grasps small objects</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child cannot pick up block (Score = 0) • Child picks up block using one or both hands (Score = 1) • Child uses pad of his or her thumb and any fingertip to grasp block (Score = 2) <p>3) Picks up food or spoon</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child cannot pick up food pellet or spoon (Score = 0) • Child grasps food pellet or spoon, but does not bring it to his/her mouth (Score = 1) • Child grasps food pellet or spoon and brings it to his/her mouth (Score = 2) <p>4) Rings bell</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not reach for bell (Score = 0) • Child extends one or both arms forward to reach bell and touches bell with any part of either hand (Score = 1) • Child picks up bell and attempts to ring bell (Score = 2) <p>5) Transfer objects</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not grasp ring when handed (Score = 0) • Child uses at least one hand to grasp ring for at least 2 s (Score = 1) • Child grasps ring and transfers from hand to hand (Score = 2) <p>6) Place one block on another</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not attempt to place one block on another (Score = 0) • Child attempts to place one block on another, but is unsuccessful (Score = 1) • Child is successful to place one block on another (Score = 2) | <ul style="list-style-type: none"> • Ensure object is light (e.g. light-weight block, light-weight bell)
 • Use plastic spoon, put in child's hand and see if brings to mouth |
| 3. Bulbar Function | |
| <p>1) Swallows saliva</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child drools most of the time, requiring bib or several shirt changes per day (Score = 0) • Child drools occasionally (does not require a bib or a shirt change) (Score = 1) • Child does not drool (Score = 2) <p>2) Swallows pureed food</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child cannot eat pureed food (Score = 0) • Child can occasionally eat pureed food (Score = 1) • Child can eat pureed food with no problem (Score = 2) <p>3) Swallows solid food (including soft foods)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child cannot eat solid food (Score = 0) • Child can occasionally eat solid food (Score = 1) • Child can eat solid food with no problem (Score = 2) <p>4) Bite strength</p> <ul style="list-style-type: none"> • Absent (Score = 0) • Weak (Score = 1) • Strong (Score = 2) <p>5) Nourishes liquids by syringe or tube feeding</p> <ul style="list-style-type: none"> • Syringe feeding or tube feeding only (Score = 0) • Syringe feeding or tube feeding most of the time or occasional (Score = 1) • No syringe or tube feeding (Score = 2) <p>6) Tube feeding</p> | <ul style="list-style-type: none"> • History based
 • History based
 • History based
 • Can place gloved hand in mouth to assess bite strength • Alternatively can be history based by asking parents / caregivers |

Item name and score definitions	Comments, instructions
<ul style="list-style-type: none"> • Permanent (Score = 0) • Occasional (Score = 1) • Never (Score = 2) <p>7) Upper Airway</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tracheotomy or CPAP support (Score = 0) • Child has sleep apnea (Score = 1) • Child has normal sleep respiration (score = 2) 	
4. Ocular	
<p>1. Nystagmus</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child has nystagmus most of the time (Score = 0) • Child has occasional nystagmus (Score = 1) • Child has no nystagmus (Score = 2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Observe at rest, some have constant nystagmus, some only brief when shifting gaze
<p>2. Strabismus^a</p> <ul style="list-style-type: none"> • Severe (Score = 0) • Moderate (Score = 1) • Mild/No Strabismus (Score = 2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Severe Strabismus: Constant exotropia • Moderate Strabismus: Exotropia > 50% of the exam before dissociation, or Exotropia < 50% of the exam before dissociation • Mild Strabismus: No exotropia unless dissociated, recovers in > 5 s; no exotropia unless dissociated, recovers in 1–5 s; or no exotropia unless dissociated, recovers in < 1 s (phoria)
<p>3. Tracks human face</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not track human face (score = 0) • Child fixes gaze on a person for at least 2 s (score = 1) • Child turns head to follow a person through the room (score = 2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Asses if they track face from around 1 ft. away
<p>4. Tracks object</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not track an object (score = 0) • Child's eyes follow an object that is moved horizontally or vertically (Score = 1) • Child's eyes follow an object that is moved in a circular motion (Score = 2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Use small toy
<p>5. Optic atrophy/temporal pallor</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child has severe optic atrophy/temporal pallor (Score = 0) • Child has moderate optic atrophy/temporal pallor (Score = 1) • Child has mild or no optic atrophy/temporal pallor (Score = 2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Either by way of indirect fundoscopy or slit-lamp exam by pediatric ophthalmologist
5. Temporo-frontal	
<p>1) Interacts with parents or examiner</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not interact with parent or examiner (Score = 0) • Child clearly responds to the person's voice (Score = 1) • Child actively participates in at least one play routine (Score = 2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Helpful to have parents elicit emotional response to parental voice or movement
<p>2) Responds to verbal commands</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not respond to verbal commands (Score = 0) • Child stops reaching for objects in response to "no," but does not respond in an appropriate manner to other requests (Score = 1) • Child responds in an appropriate manner to at least one spoken request more complex than "no" (does not need to complete task) (Score = 2) 	
<p>3) Repeats simple sounds</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not repeat simple sounds (Score = 0) • Child repeats a single vocalization only (Score = 1) • Child repeats two different, distinct vocalizations (Score = 2) 	
<p>4) Smiles</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not smile nor vocalize mood (Score = 0) • Child expresses at least one mood (Score = 1) • Child's mood or focus can change in response to speaker's attention (Score = 2) 	
<p>5) What is the child's affect?</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sad, distressed or crying a lot (Score = 0) • Neutral affect (Score = 1) • Happy, ebullient, or cooperative (Score = 2) 	
<p>6) Speaks individual words</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not speak individual words (Score = 0) • Child imitates at least one word, even if imitation consists of vowels 	

Item name and score definitions	Comments, instructions
<ul style="list-style-type: none"> only (Score = 1) • Child uses at least one word to make wants known (Score = 2) <p>7) Puts words together</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not use words (Score = 0) • Child uses at least one word to make wants known (Score = 1) • Child produces at least one utterance that includes two or more words (Score = 2) <p>8) Point to objects in a book</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child does not attempt to point to an object in a book (Score = 0) • Child points to object in a book, but does not identify object that was named (Score = 1) • Child points to object in a book that was named (Score = 2) 	
<p>6. Autonomic Nervous System</p>	
<p>1) Constipation</p> <ul style="list-style-type: none"> • Child has fewer than 2 bowel movements per week and is dependent on a laxative (Score = 0) • Child has 2 or more bowel movements per week and is dependent on a laxative (Score = 1) • Child has 2 or more bowel movements per week without a laxative (Score = 2) 	<ul style="list-style-type: none"> • History based
<p>2) Urinary</p> <ul style="list-style-type: none"> • Indwelling catheter or dependent upon catheterization (Score = 0) • Catheterization no more than once per day (Score = 1) • No catheterization required (Score = 2) 	<ul style="list-style-type: none"> • History based