

Caratteristiche riportate dai caregiver dei bambini con diagnosi di varianti patogene in KDM5C

Hayden A. M. Hatch¹ | Molly H. O'Neil² | Robert W. Marion³ |

Julie Secombe^{1,4} | Lisa H. Shulman²

¹Dominick P. Purpura Department of Neuroscience, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York, USA

²Rose F. Kennedy Children's Evaluation and Rehabilitation Center, The Children's Hospital at Montefiore, Bronx, New York, USA

³Division of Genetic Medicine, The Children's Hospital at Montefiore, Bronx, New York, USA

⁴Department of Genetics, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York, USA

Corrispondenza

Lisa H. Shulman, Rose F. Kennedy Children's Evaluation and Rehabilitation Center, The Children's Hospital at Montefiore, 1225 Morris Park Avenue, Bronx, NY 10461. Email: lshulman@montefiore.org

Julie Secombe, Dominick P. Purpura Department of Neuroscience, Albert Einstein College of Medicine, 1410 Pelham Parkway South, Bronx, NY 10461. Email: julie.secombe@einsteinmed.org

Astratto

Le varianti di perdita di funzione nel gene della lisina demetilasi 5C (KDM5C) rappresentano circa lo 0,7-2,8% dei casi di disabilità intellettiva (ID) legata all'X e comportano oneri significativi per i pazienti e i loro caregiver. Ad oggi, sono state segnalate 45 varianti uniche di KDM5C in individui con ID. Essendo una malattia rara, la sua eziologia e la sua storia naturale rimangono un'area di indagine attiva, con il trattamento limitato alla gestione dei sintomi. Precedenti studi hanno scoperto che i maschi presentano ID da moderata a grave con significative comorbidità sindromiche come epilessia, bassa statura e anomalie craniofacciali. Sebbene non siano così ben caratterizzate, è stato riportato che le femmine mostrano prevalentemente ID da lieve a moderata con circa la metà asintomatica. Qui presentiamo i dati segnalati dal caregiver per 37 individui non imparentati con varianti patogene in KDM5C; la più grande coorte segnalata fino ad oggi. Troviamo che fino al 70% delle donne affette sono state segnalate per mostrare caratteristiche sindromiche, tra cui disfunzione gastrointestinale e deficit uditivo. Inoltre, più della metà degli individui ha riportato una diagnosi di disturbo dello spettro autistico o descritto caratteristiche coerenti con questo spettro. I nostri dati forniscono quindi ulteriori prove dell'eterogeneità sessualmente dimorfica nella presentazione della malattia e suggeriscono che le varianti patogene in KDM5C possono essere più comuni di quanto precedentemente ipotizzato.

1. Introduzione

Colpendo circa il 2% della popolazione, i disturbi della disabilità intellettiva (ID) comprendono un insieme di condizioni eterogenee che influenzano la funzione cognitiva e il comportamento adattivo (Leonard & Wen, 2002; van Bokhoven, 2011). L'ID si presenta prima dei 18 anni ed è spesso accompagnata da ulteriori caratteristiche cliniche come dismorfismi facciali, bassa statura, epilessia e disturbo dello spettro autistico (ASD) (Ropers, 2010; Tzschach et al., 2006). Sebbene le cause di alcune forme di DI, come la sindrome dell'X fragile e la sindrome di Down, siano ben note, altre rimangono sfuggenti (Antonarakis et al., 2020; Ciaccio et al., 2017; Hagerman et al., 2017; Kazemi et al., al., 2016). A causa dei recenti progressi nei test genetici come il sequenziamento dell'intero esoma e dell'intero genoma, si stanno scoprendo varianti associate a forme più rare di ID. Tuttavia, nonostante i profondi oneri che molti di questi disturbi presentano, la patogenesi e la storia naturale di questi disturbi richiedono ulteriori indagini.

Le varianti con perdita di funzione nel regolatore trascrizionale KDM5C (JARID1C/SMCX) sono associate a una forma ereditaria di ID legata all'X (XLID) nota come ID legata all'X di tipo Claes-Jensen (CJ-XLID/MRXSCJ; OMIM# 300534) (Claes et al., 2000; Jensen et al., 2005). KDM5C appartiene a una famiglia di regolatori trascrizionali noti per alterare la cromatina rimuovendo enzimaticamente i gruppi trimetilici dalla lisina 4 dell'istone 3 (H3K4me3) (Liefke et al., 2010; Liu et al., 2014; Secombe et al., 2007 ; van Oevelen et al., 2008). H3K4me3 è una modificazione istonica covalente che si trova ad alti livelli vicino ai siti di inizio della trascrizione ed è altamente correlata con l'accessibilità della cromatina e l'espressione genica attiva (Greer & Shi, 2012). Coerentemente con ciò, studi su organismi modello come topi e *Drosophila* hanno dimostrato che la perdita di geni ortologhi KDM5C provoca cambiamenti significativi nell'espressione genica nel tessuto cerebrale (Belalcazar et al., 2021; Hatch et al., 2021; Scandaglia et al. , 2017; Vallianatos et al., 2020; Vallianatos & Iwase, 2015; Zamurrad et al., 2018). Negli esseri umani, KDM5C è prevalentemente espresso nelle strutture cerebrali corticali e nel muscolo scheletrico (Jensen et al., 2005; Xu et al., 2008), suggerendo che svolge ruoli critici in entrambi i tessuti (Iwase et al., 2016; Mariani et al., 2016; Vallianatos & Iwase, 2015; Vallianatos et al., 2020). Sebbene i meccanismi esatti con cui le varianti patogene in KDM5C contribuiscono all'ID rimangono un'area di indagine attiva, è probabile che KDM5C regoli gli output trascrizionali per promuovere il corretto sviluppo neuronale e la funzione cognitiva.

Ad oggi, in letteratura sono state riportate 45 varianti patogene uniche di KDM5C, che rappresentano circa lo 0,7-2,8% di tutti i casi XLID (Carmignac et al., 2020; Gonçalves et al., 2014; Ropers & Hamel, 2005). Studi di associazione genomica e analisi genealogiche rivelano che i maschi emizigoti con varianti di perdita di funzione in KDM5C mostrano tassi più elevati di ID da moderata a grave rispetto alle femmine che generalmente mostrano ID da lieve a moderata (Carmignac et al., 2020). Inoltre, caratteristiche sindromiche comorbide come bassa statura, microcefalia, dismorfismi craniofacciali, epilessia e ASD si verificano più frequentemente e con maggiore gravità nei maschi rispetto alle femmine, con tutti i maschi segnalati fino ad oggi che presentano caratteristiche sindromiche (Carmignac et al., 2020 ; Gonçalves et al., 2014). È interessante notare che uno studio recente ha mostrato che solo il 52% delle femmine eterozigoti per le varianti patogene di KDM5C sono sintomatiche (Carmignac et al., 2020).

Qui presentiamo i dati segnalati dal caregiver per 37 individui con varianti KDM5C; la più grande coorte segnalata fino ad oggi. Poiché non tutti gli individui con varianti KDM5C hanno CJ-XLID, ci riferiamo a questa condizione come disturbo correlato a KDM5C (KDM5C-RD). I dati sono stati raccolti tramite un sondaggio approvato dall'IRB che è stato distribuito tramite un gruppo di supporto di Facebook agli operatori sanitari di bambini precedentemente diagnosticati con varianti patogene di KDM5C. Dei 37 individui con KDM5C-RD, 33 (89%) avevano ricevuto test genetici e una diagnosi molecolare che confermava una variante KDM5C. In particolare, il 35% dei bambini nel nostro studio erano femmine affette, fino al 70% delle quali presentava caratteristiche sindromiche come bassa statura e difficoltà gastrointestinali e uditive. Inoltre, più della metà degli individui ha riportato una diagnosi di ASD o caratteristiche coerenti con questo spettro, suggerendo un possibile legame tra la disfunzione del KDM5C e l'ASD. Sebbene i dati qui presentati siano riportati dai caregiver, forniscono ulteriori prove che questo disturbo potrebbe essere più

comune, con le femmine KDM5C-RD che presentano una maggiore frequenza di caratteristiche sindromiche rispetto a quanto riportato in precedenza. Forniamo inoltre dati che illustrano l'uso frequente di servizi educativi specializzati tra i bambini con KDM5C-RD, un parametro che è stato sottostimato in letteratura. Insieme, i risultati della nostra indagine forniscono ulteriori informazioni sulla presentazione apparentemente eterogenea e sessualmente dimorfica di KDM5C-RD e suggeriscono che sono necessarie ulteriori ricerche per comprendere meglio come le varianti patogene in KDM5C contribuiscono all'eziologia della malattia.

2. Metodi

L'obiettivo dello studio era esaminare il fenotipo clinico degli individui con KDM5C-RD, con particolare attenzione all'identificazione delle differenze segnalate dai caregiver nella presentazione della malattia tra maschi e femmine. I partecipanti sono stati reclutati attraverso un gruppo Facebook attivo per i caregiver di individui con varianti precedentemente diagnosticate in KDM5C (<https://www.facebook.com/groups/kdm5c>). Un messaggio è stato inviato a tutti i membri del gruppo Facebook invitandoli a partecipare, con una spiegazione dello studio e un collegamento web al questionario online.

Prima di iniziare il sondaggio, ai partecipanti è stato chiesto di compilare un modulo elettronico di consenso informato. Per essere idoneo, il partecipante doveva acconsentire a essere il caregiver di un individuo con una variante KDM5C precedentemente diagnosticata, come confermato tramite test genetici. Se l'intervistato era un caregiver a più di un individuo con questa condizione, è stato chiesto loro di completare il questionario per ogni bambino affetto. Il questionario per i caregiver consisteva di 33 domande a risposta multipla e a risposta aperta. Gli elementi raccolti erano dati demografici riportati dal caregiver, nonché diagnosi genetiche, mediche, di sviluppo e comportamentali. Sono stati raccolti anche i servizi terapeutici ricevuti dall'individuo per determinare la misura in cui KDM5C-RD ha influenzato i comportamenti adattivi. Le cartelle cliniche non sono state ottenute come parte di questo studio, in conformità con le linee guida IRB. Lo studio ha ricevuto l'approvazione dall'Albert Einstein College of Medicine Institutional Review Board il 14 febbraio 2020 (IRB2020-11134).

3. Risultati

Trentasette caregiver hanno risposto al questionario. L'età media delle madri al momento della compilazione del questionario era 40 (range 27-61 anni) e dei padri era 41 (range 25-70 anni) (Tabella 1). Dei 37 individui segnalati per avere KDM5C-RD, 33 (89%) avevano precedentemente ricevuto test genetici e una diagnosi molecolare che confermava una variante di KDM5C. I caregiver per il restante 11% degli individui non hanno completato questa domanda, ma avevano precedentemente acconsentito a essere un caregiver di un bambino con KDM5C-RD. Di tutti gli individui, 24 erano maschi (64,9%) e 13 erano femmine (35,1%). L'età media degli individui nel gruppo di studio al momento dell'indagine era di 8 anni (intervallo 3-27 anni) e l'età media alla diagnosi di KDM5C-RD era di 6 anni (intervallo 3 mesi-27 anni). Quattro individui con KDM5C-RD avevano un membro della famiglia a cui era stato diagnosticato anche KDM5C-RD o era noto per essere eterozigote per una variante di KDM5C.

Le diagnosi e le caratteristiche più comunemente riportate relative a muscoli, nervi o coordinazione (N = 27, 87,1%), così come alla vista (N = 23, 74,2%) e bassa statura/crescita ridotta (N = 22, 70,9%). Altre caratteristiche includevano ipertonìa, difficoltà a camminare/muoversi, tremori, difficoltà di equilibrio e sindrome del tunnel carpale. In nove bambini (29,0%) sono state riportate convulsioni, comunemente citate nella letteratura sul KDM5C. È stato riportato che quindici bambini (48,4%) presentavano fenotipi correlati al tratto gastrointestinale, che includevano costipazione e morbo di Crohn. Nove dei bambini (24%) hanno richiesto tonsillectomia e/o adenoidectomia e cinque (14%) hanno avuto miringotomia con posizionamento del tubo.

Tendenze non significative hanno suggerito che i maschi avevano maggiori probabilità rispetto alle femmine di avere problemi fisici (95,2 contro 70,0%), problemi alla vista (80,9 contro 60,0%), bassa statura (71,4 contro 70,0%) e convulsioni (33,3 contro 20%). Queste tendenze suggeriscono anche che le donne hanno maggiori probabilità di avere problemi di udito (30,0 contro 4,8%) e disturbi gastrointestinali (60,0 contro 42,9%).

In termini di raggiungimento delle pietre miliari dello sviluppo, i caregiver hanno riferito che il 96,8% (N = 30) dei bambini con KDM5C-RD aveva una diagnosi di ritardo dello sviluppo e compromissione del linguaggio. Quattro caregiver hanno riferito che i loro figli non erano verbali e altri quattro hanno specificato che i loro figli avevano una diagnosi di aprassia. Gli intervistati hanno anche indicato tassi elevati di ID (N = 23, 74,2%), ritardo motorio fine (N = 27, 87,1%), ritardo motorio grossolano (N = 25, 80,7%) e disabilità di apprendimento (N = 21, 67,7%) tra i loro figli. Sebbene sia stato riportato che il ritardo dello sviluppo è abbastanza comune sia nei maschi (N = 20, 95,2%) che nelle femmine (N = 10, 100%), l'entità del ritardo era significativamente più grave nei maschi rispetto alle femmine (65 vs 20%, $p = .05$). I caregiver hanno riferito che i maschi avevano maggiori probabilità di avere una diagnosi formale di ID (80,9%) rispetto alle femmine (60%) e che l'ID era significativamente più probabile che fosse grave (57 vs 12%, $p = 0,05$). La compromissione del linguaggio era comune sia nei maschi (N = 20, 95,2%) che nelle femmine (N = 10, 100%), così come il ritardo motorio fine (90,5 vs 80,0%), il ritardo motorio lordo (85,7 vs 70,0%), e disabilità di apprendimento (66,7 contro 70,0%).

È stato anche riportato che gli individui KDM5C-RD hanno diagnosi emotive / comportamentali, con il disturbo da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) come condizione psichiatrica comorbida più comunemente riportata (N = 15, 55,6%). Questo era due volte più comune nei maschi rispetto alle femmine (66,7 contro 33,3%). I caregiver hanno anche riferito comportamento aggressivo (N = 11, 40,7%), disturbo d'ansia (N = 9, 33,3%), depressione/disturbi dell'umore (N = 8, 29,6%) e comportamento autoaggressivo (N = 8, 29,6%). Per i maschi, il 38,1% (N = 8) ha riportato una diagnosi di ASD rispetto a quella di una singola femmina (10%). Quasi tre quarti (73,3%) dei bambini sono stati trattati con farmaci per queste condizioni.

I caregiver hanno descritto una varietà di caratteristiche dismorfiche/differenze fisiche nei loro bambini con KDM5C-RD. Molti hanno menzionato un ampio ponte nasale/fronte, forma/dimensione della testa anormali (ad esempio, macrocefalia e microcefalia), occhi a mandorla, anomalie orodentali come palato alto e denti distanziati) e capelli spessi. C'erano

anche due maschi con anomalie urologiche (uno con ipospadia e un altro con testicoli ritenuti), cinque con anomalie del piede (es. Un bambino è stato segnalato per avere una diagnosi di difetto del setto interatriale).

La maggior parte dei caregiver ha riferito che i loro figli hanno ricevuto servizi di intervento precoce (EI) (N = 29, 93,6%), tra cui logopedia (N = 28, 93,3%), terapia fisica (N = 24, 80,0%) e terapia occupazionale (N = 21, 70,0%). Ventisei bambini (86,7%) hanno ricevuto servizi educativi speciali e 25 (86,2%) hanno avuto un piano educativo individualizzato (PEI) a scuola. C'era una tendenza non significativa che suggeriva che i maschi avevano maggiori probabilità di essere in aule autonome (N = 10, 55,6%) rispetto alle femmine (N = 2, 22,2%), con le femmine che tendevano a essere nelle classi ordinarie (33,3 contro 16,7%). La logopedia è stato il servizio più comune ricevuto a scuola (N = 24, 92,3%).

4. Discussione

Descriviamo le diagnosi mediche riportate dai caregiver e le caratteristiche di 37 bambini con KDM5C-RD, la più grande coorte segnalata fino ad oggi. Sebbene singole varianti patogene di KDM5C siano state riportate in numerosi studi, pochi hanno descritto le conseguenze comportamentali, fisiche, cognitive e psicologiche di KDM5C-RD in un gruppo di individui non imparentati (Abidi et al., 2008; Carmignac et al., 2020; Jensen et al., 2005; Rujirabanjerd et al., 2010; Santos-Rebouças et al., 2011; Tzschach et al., 2006; Vallianatos et al., 2018). Poiché questo studio ha richiesto informazioni attraverso un gruppo di supporto di Facebook, è probabile che il nostro campione fosse parziale, in termini di composizione etnica, stato socio-economico e gravità della malattia. Dei 37 individui con KDM5C-RD, 33 (89%) avevano ricevuto test genetici che confermavano una variante di KDM5C, anche se va notato che non conosciamo la natura molecolare di questi cambiamenti genetici. Tuttavia, ci affidiamo ai dati genotipici e fenotipici riportati dal caregiver, rendendo possibile che i nostri dati possano differire da quelli contenuti nelle cartelle cliniche dei pazienti. Nonostante questi potenziali avvertimenti, data la bassa prevalenza di KDM5C-RD e l'espressività variabile delle varianti KDM5C che causano la malattia, il nostro studio fornisce una caratterizzazione aggiuntiva tanto necessaria della presentazione della malattia. Comprendere le diverse manifestazioni cliniche di KDM5C-RD potrebbe fornire preziose informazioni sull'eziologia e la progressione della malattia.

Come disturbo legato all'X, è stato dimostrato in letteratura che la KDM5C-RD colpisce i maschi con un tasso e una gravità maggiori rispetto alle femmine, con il 90% (62/69) dei maschi che mostra ID e/o ritardo dello sviluppo rispetto a 51 % (34/67) di femmine (Carmignac et al., 2020). Significativamente, tutti i maschi segnalati con varianti patogene di KDM5C hanno dimostrato di essere sintomatici con caratteristiche come anomalie craniofacciali, epilessia e bassa statura. Al contrario, solo il 52% delle donne ha dimostrato di essere sintomatico con caratteristiche cliniche simili, ma meno gravi (Carmignac et al., 2020). Si pensa che la differenza nella penetranza fenotipica e nell'espressività tra maschi e femmine sia attribuita alla capacità di KDM5C di sfuggire parzialmente all'inattivazione del cromosoma X (XCI) (Horvath et al., 2013; Li & Carrel, 2008). L'XCI è un processo che si verifica nelle femmine di mammifero mediante il quale uno dei due cromosomi X viene inattivato in modo casuale e silenziato trascrizionalmente durante lo sviluppo embrionale. Infatti, precedenti studi in vitro hanno dimostrato che KDM5C si trova all'interno di una regione non pseudoautosomica ed è in grado di sfuggire parzialmente all'XCI ad un livello di

espressione di circa il 40% rispetto a quello sull'X attivo (Li & Carrel, 2008). È stato dimostrato che questa fuga parziale è attribuita a proprietà specifiche della sequenza che sono intrinseche al locus KDM5C (Horvath et al., 2013; Li & Carrel, 2008). È attraverso questo meccanismo unico, accoppiato con l'inclinazione XCI, che si pensa che le varianti con perdita di funzione in KDM5C contribuiscano ai tratti fenotipici solitamente più lievi e variabili osservati nelle femmine.

Simile alla letteratura esistente, i dati dei caregiver qui riportati suggeriscono che le varianti patogene in KDM5C sono fortemente associate al ritardo dello sviluppo (riportato nel 96,8% dei bambini) e all'ID (riportato nel 74,2%), con i maschi emizigoti più gravemente colpiti intellettualmente rispetto alle femmine. Caratteristiche come bassa statura, epilessia e differenze craniofacciali che sono state riportate anche in letteratura sono state descritte in modo simile tra i caregiver di maschi e femmine in questo campione. Inoltre, l'elevato numero di bambini segnalati per aver richiesto tonsillectomia e adenoidectomia, nonché quelli che necessitano di miringotomia e posizionamento del tubo, suggerisce che sono necessarie ulteriori ricerche per determinare l'impatto delle varianti patogene di KDM5C sulla salute otorinolaringoiatrica. È anche degno di nota che c'era una tendenza non significativa verso le femmine che riferivano di avere più problemi di udito rispetto ai maschi ($p = 0,08$). A nostra conoscenza, questo non è stato precedentemente documentato in letteratura e merita ulteriori esplorazioni.

Le caratteristiche psicologiche associate a KDM5C-RD erano anche abbastanza notevoli con ADHD, ASD, ansia, umore e comportamenti autolesionistici in comorbidità segnalati con una tale regolarità che quasi tre quarti dei bambini erano stati trattati con farmaci psicotropi. Di particolare rilievo, una diagnosi di ASD è stata riportata in quasi un terzo dei bambini ($N = 9$, 29%). Gli esperti clinici che hanno esaminato i risultati del questionario hanno osservato che per alcuni bambini non precedentemente diagnosticati con ASD, la descrizione dei sintomi comportamentali del caregiver suggeriva che tale diagnosi potesse essere giustificata.

Come con la maggior parte dei disturbi ID, le caratteristiche cliniche di KDM5C-RD sono riconosciute durante la prima infanzia e durano per tutta la vita, portando a sfide significative per i pazienti e i loro caregiver. Le indagini che utilizzano i dati riportati dai caregiver sono quindi inestimabili nella valutazione degli oneri unici che derivano da KDM5C-RD, molti dei quali sono sottostimati in letteratura. Abbiamo quindi studiato la necessità di servizi EI, PEI, educazione speciale e altre sistemazioni educative tra i bambini con KDM5C-RD. Sorprendentemente, è stato segnalato che quasi tutti i bambini utilizzano i servizi di EI (93,55%), IEP (86,21%), l'istruzione speciale (86,67%), o altri servizi offerti attraverso le loro scuole (100%). Questi risultati dimostrano l'importanza di questi servizi, mettendo in evidenza la pressione finanziaria che alcune famiglie possono sperimentare mentre si prendono cura di un bambino con KDM5C-RD.

È stato dimostrato che KDM5C è ampiamente espresso in più tessuti di mammiferi, suggerendo che svolge la sua funzione attraverso meccanismi distinti a seconda del contesto di sviluppo (Xu et al., 2008). In effetti, mostriamo qui che i bambini con varianti patogene indipendenti in KDM5C mostrano uno spettro diversificato di manifestazioni cliniche che interessano più sistemi di organi. KDM5C, insieme ai suoi paraloghi KDM5A, KDM5B e KDM5D, sono ben noti nel contesto dell'espressione genica e della modificazione dell'istone.

Mentre gli studi su topi, ratti e mosche si sono in gran parte concentrati sul ruolo di KDM5C nella regolazione dell'espressione dei geni necessari per lo sviluppo neuronale e la funzione cognitiva, meno si sa del suo ruolo in altri tessuti (Drelon et al., 2018, 2019; Iwase et al., 2007; Iwase et al., 2016; Scandaglia et al., 2017; Vallianatos et al., 2020; Zamurrad et al., 2018). L'eterogeneità delle caratteristiche riportate nel nostro studio suggerisce che KDM5C può funzionare pleiotropicamente per regolare i programmi genetici critici per diversi comportamenti adattivi.

Poiché i test genetici sono raccomandati e disponibili più di routine nel contesto della valutazione eziologica dei ritardi dello sviluppo e dell'autismo, e poiché la capacità dei test genetici di rilevare anomalie più piccole è diventata una realtà, possiamo probabilmente aspettarci che KDM5C-RD possa diventare un più diagnosi comune. Sono garantite ulteriori ricerche che riempiano i dettagli delle esigenze cliniche, mediche, di sviluppo, comportamentali ed educative di questa popolazione. In particolare, sono necessarie ulteriori ricerche per chiarire l'intero fenotipo clinico nelle femmine eterozigoti. Il lavoro futuro da parte nostra e di altri includerà quindi la convalida delle singole varianti di KDM5C attraverso il sequenziamento dell'intero esoma/genoma e l'analisi di microarray di metilazione (Schenkel et al., 2018). Anche l'indagine sul tipo di eredità (sporadica o ereditaria) si rivelerebbe utile e potrebbe essere effettuata tramite la raccolta di campioni dei genitori. I dati qui presentati sono quindi fondamentali per indirizzare la ricerca futura sui sistemi di organi colpiti e rappresentano un'aggiunta sostanziale al numero di individui affetti riportati in letteratura.