

Heterogeneidad clínica y molecular en los trastornos asociados con CDKL5

José J. Vázquez-Montante¹, Paola Márquez-Rojo², Berenice Saavedra-Milán²,
Cristina Hernández-Medrano¹ y Antonio Bravo-Oro^{2*}

¹Departamento de Genética Médica; ²Departamento de Neurología Pediátrica, División de Pediatría. Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, San Luis Potosí, México

Resumen

Introducción: El síndrome por deficiencia de CDKL5 es originado por variantes patogénicas en el gen CDKL5, con un espectro clínico variable que va desde pacientes con características del trastorno del espectro autista hasta epilepsia de inicio temprano y refractaria al tratamiento. Inicialmente fue considerado como una forma atípica de síndrome de Rett. **Casos clínicos:** Presentamos tres pacientes no relacionadas, evaluadas por retraso global del desarrollo y epilepsia refractaria. Los tres casos eran hemocigotos a una variante patógena de CDKL5. En una paciente se realizó panel de 306 genes asociados con epilepsia; en las otras dos se realizó microarreglo genómico comparativo. Las características clínicas y los hallazgos en el electroencefalograma y la resonancia magnética cerebral se han descrito clásicamente en el espectro de manifestaciones de este síndrome. **Conclusiones:** El síndrome por deficiencia de CDKL5 representa un reto para los médicos, ya que en muchos casos las manifestaciones clínicas y los estudios electroencefalográficos y de neuroimagen pueden ser inespecíficos. Debe sospecharse este síndrome ante la presencia de retraso global del desarrollo, fenotipo conductual autista y epilepsia, asociado o no con dismorfias. Dada la similitud entre diversas encefalopatías epilépticas, se deben solicitar paneles multigénicos que incluyan la secuenciación y el análisis de duplicación/delección en los que se contemple este gen y sus posibles diagnósticos diferenciales, aunque sin olvidar la utilidad de las técnicas genómicas en casos poco claros.

Palabras clave: CDKL5. Trastorno por deficiencia de CDKL5. Encefalopatía epiléptica temprana. Retraso global del neurodesarrollo. Epilepsia refractaria.

Clinical and molecular heterogeneity in CDKL5 disorders

Abstract

Background: CDKL5 deficiency syndrome is caused by pathogenic variants in the CDKL5 gene, with a variable clinical spectrum ranging from patients with characteristics of autism spectrum disorder to early-onset epilepsy refractory to treatment. Initially, until the gene was discovered, it was considered an atypical form of Rett syndrome. This study aimed to describe the clinical and molecular heterogeneity in CDKL5 disorders among three female patients with CDKL5 pathogenic variants.

Case reports: We reported three unrelated Mexican female patients evaluated for global developmental delay and epilepsy.

*Correspondencia:

Antonio Bravo Oro
E-mail: antonio.bravo@uaslp.mx

Fecha de recepción: 20-06-2022

Fecha de aceptación: 05-10-2022

DOI: 10.24875/BMHIM.22000100

Disponible en internet: 12-07-2023

Bol Med Hosp Infant Mex. 2023;80(Supl 1):47-52

www.bmhim.com

1665-1146/© 2022 Hospital Infantil de México Federico Gómez. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

All three cases were hemizygotes to a *CDKL5* pathogenic variant. In one patient, we performed a 306 gene panel associated with epilepsy. In the other two cases, a human genomic microarray was performed. We describe their clinical features electroencephalogram and brain magnetic resonance evaluations. **Conclusions:** *CDKL5* deficiency syndrome represents a challenge for clinicians since the clinical manifestations, electroencephalographic and neuroimaging studies can be non-specific. This syndrome should be suspected in the presence of global developmental delay, autistic behavioral phenotype and epilepsy, associated or not with dysmorphia. Given the similarity between various epileptic encephalopathies, multigene panels including sequencing and duplication/deletion analysis should be requested in which this gene and its possible differential diagnoses are considered, without forgetting the usefulness of genomic techniques in unclear cases.

Keywords: *CDKL5*. *CDKL5* deficiency disorder. Epileptic encephalopathy. Developmental delay. Drug resistant epilepsy.

Introducción

El síndrome por deficiencia de *CDKL5* (CDD, *CDKL5* deficiency disorder) es originado por variantes patogénicas en el gen *CDKL5*. La incidencia es de 1/40,000-60,000 recién nacidos y el 90% se presenta en el sexo femenino ya que el síndrome es letal en la mayoría de los casos masculinos^{1,2}. Hanefeld describió los primeros casos, considerándolos una forma atípica de síndrome de Rett. Sin embargo, en el para, 2013, el CDD se estableció como una afección independiente^{3,4}.

Aunque el espectro clínico del CDD es variable, se caracteriza por epilepsia de inicio temprano y refractaria al tratamiento, retraso global del desarrollo y conductas autistas. Se han reportado dismorfias inespecíficas, trastornos del movimiento y del sueño y manifestaciones autonómicas y gastrointestinales^{5,6}.

Montini et al.⁷ identificaron el locus de *CDKL5* en Xp22; este gen codifica la proteína cinasa dependiente de ciclina 5 (*CDKL5*), miembro de una familia de proteínas con un dominio serina/treonina cinasa. El gen genera múltiples isoformas, todas ubicuas. La isoforma h*CDKL5*_1 se expresa mayormente en el cerebro y participa en procesos de proliferación celular, migración neural, crecimiento axonal, desarrollo y función sináptica^{7,8}.

Se han reportado más de 270 variantes patogénicas; de estas, las de sentido equivocado y sin sentido son las más frecuentes, seguidas de las deleciones, afectando la secuencia codificante para el sitio activo serina-treonina cinasa². No se ha identificado una correlación genotipo-fenotipo; sin embargo, otras correlaciones identificadas indican que la gravedad podría asociarse con la localización y el tipo de variante patogénica. Es decir, las formas más graves son aquellas localizadas en el dominio catalítico y las que originan una proteína sin actividad catalítica¹.

En este trabajo se describen la presentación clínica, los hallazgos moleculares y las anomalías electroencefalográficas de tres pacientes con CDD.

Casos clínicos

Se describen los casos de tres pacientes de sexo femenino, no relacionadas, en seguimiento en el Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, San Luis Potosí, México. Ninguna presentaba antecedentes heredofamiliares ni consanguinidad; endogamia negada. Los tres casos resultaron hemizigotos a una variante patogénica en *CDKL5*. Se contó con el consentimiento informado para, en un caso, realizar un análisis de secuencia y pruebas de deleción/duplicación de 306 genes asociados con epilepsia; en los otros dos se realizó un microarreglo genómico comparativo (aCGH). Los resultados se analizaron con los criterios del American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)⁹. Los hallazgos de la exploración física y paraclínicos se resumen en la [tabla 1](#).

Caso 1

Se abordó el caso de una paciente de sexo femenino, de 6 meses, tratada inicialmente por crisis convulsivas focales motoras durante el sueño que comenzaron a los 4 meses de vida. La paciente no había logrado sostén cefálico ni contacto visual ni sonrisa social. Valorada en nuestra institución por primera vez a los 6 meses, se identificaron alteraciones del ciclo sueño-vigilia y crisis convulsivas de difícil control. En la exploración física se encontró somatometría normal para la edad, pobre contacto visual e hipotonía generalizada. No se observaron malformaciones aparentes en la evaluación de dismorfología. El electroencefalograma (EEG) interictal se observó con ritmos de base desorganizados para la edad, sin actividad epiléptica. La resonancia magnética (RM) de cráneo resultó sin alteraciones.

Se inició tratamiento con levetiracetam (LEV), sin lograr el control de las crisis. Posteriormente, se indicó oxcarbazepina, que redujo las crisis a una semanal. Se indicó programa de estimulación temprana y la paciente

Tabla 1. Manifestaciones clínicas y hallazgos en los estudios moleculares en comparación con lo publicado en la literatura

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	CDKL5
Sexo	F	F	F	
Variante patogénica	c.528G > T (p.Trp176Cys)	arrXp22.13 (18,525,214-18,637,171)x1	arrXp22.33p11.22 (2,709,027-53,088,016)x1	
Edad	3 meses	3 meses	3 meses	98%
Semiología crisis convulsivas	Tónico/clónico (focal)	Espasmos epilépticos	Tónico/clónico (focal)	
FAE	OXC, CBL, TPM	TPM, VGB	AVP, CLN, TPM	
Microcefalia	-	-	+	20%
Retraso global del desarrollo	+	+	+	100%
Hipotonía	+	+	+	100%
Conductas autistas	+	+	+	80%
Trastornos gastrointestinales	-	-	-	70%
Trastornos del sueño	+ Sonambulismo	+ Sonambulismo	+ Sonambulismo Bruxismo	80%
Escoliosis	-	-	-	20%
Trastornos respiratorios	-	-	-	30%
Hipopigmentación	+	+	+	ND
Dismorfismo	-	-	+	5%

AVP: ácido valproico; CBL: clobazam; CLN: clonazepam; F: femenino; FAE: fármacos antiépilépticos; ND: no descrito; OXC: oxcarbazepina; TPM: topiramato; VGB: vigabatrina.

adquirió sostén cefálico, contacto visual y sonrisa social. A los 13 meses aumentaron las crisis y se inició tratamiento con topiramato (TPM) y clobazam (CLB), con lo que se lograron periodos libres de crisis (2 meses). La paciente logró rodar y tomar objetos.

Dado que la encefalopatía epiléptica se consideró el síntoma cardinal, se realizó el análisis de secuencia y delección/duplicación de 306 genes relacionados con epilepsia y se identificó la variante patogénica c.528G>T(p.Trp176Cys), previamente descrita.

Caso 2

Este caso se trató de una paciente de sexo femenino, de 2 años, que inició con espasmos infantiles a los 3 meses de edad. Se inició tratamiento con ácido valproico (AVP) y se logró un control parcial de las crisis. A los 2 años presentó crisis focales motoras asociadas con retraso global del desarrollo e insomnio. En la primera evaluación, aún bajo tratamiento con AVP y LEV, presentaba crisis convulsivas cinco o seis veces a la semana. En la exploración física, la somatometría fue

normal y no se detectaron dismorfias mayores. La paciente presentaba pobre contacto visual y estereotipias en las manos. Logró la sedestación de forma autónoma, pero con hipotonía generalizada. A los 6 años persistía con crisis focales, mioclonías del segmento superior y problemas de conducta. Se prescribió dieta cetogénica, pero no se observó mejoría. Se iniciaron TPM y vigabatrina (VGB), con lo que se alcanzaron periodos de 2-3 meses sin crisis. Actualmente, con 9 años, presenta mioclonías diarias. Logró la deambulación con ayuda, pero no ha desarrollado lenguaje expresivo. El EEG en sueño a los 4 años mostró ondas agudas y actividad lenta disfuncional en regiones temporales bilaterales y husos del sueño (Figura 1). No se encontraron alteraciones en la RM.

En este caso, la presentación clínica llevó a realizar el abordaje como retraso global del desarrollo y epilepsia. De acuerdo con las recomendaciones del ACMG, que considera los estudios genómicos como los de elección, se realizó un aCGH que reportó delección monoalélica de 112 kb, arr[GRCh37] Xp22.13(18,525,214_18,637,171) x1, la cual afecta a 12 exones de *CDKL5*.

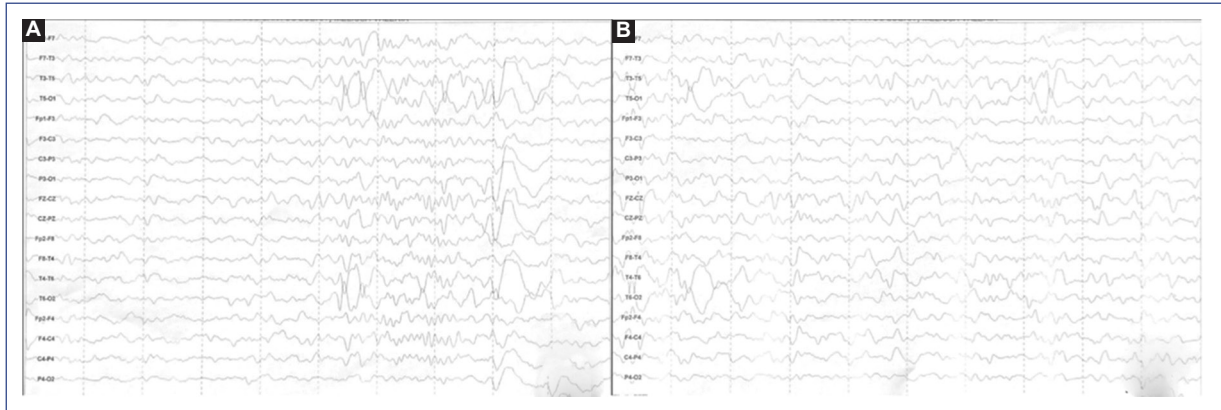


Figura 1. Electroencefalograma interictal durante el sueño fisiológico. **A:** ondas agudas bitemporales y husos del sueño fisiológicos. **B:** actividad lenta disfuncional en ambas regiones temporales.



Figura 2. Electroencefalograma interictal durante el sueño fisiológico. **A:** ritmos de base desorganizados para la edad con husos del sueño fisiológicos y ondas agudas en regiones frontotemporales derechas. **B:** estimulación luminosa intermitente con complejos punta onda lenta en regiones frontales derechas.

Caso 3

El último caso se trató de una paciente de sexo femenino, de 3 años, sin antecedentes perinatales ni neonatales de importancia. A los 3 meses de edad inició con crisis focales motoras y problemas para el mantenimiento del sueño, prescribiéndose AVP con mejoría parcial. A los 2 años presentó datos clínicos de retraso global del desarrollo, sin control de crisis convulsivas inició con Mioclonías. Por tanto, se indicó LEV en combinación con AVP. Debido a que no se logró el control con estos fármacos, por lo que se agregó clonazepam (CLN). En la primera evaluación, a los 2 años, se detectó microcefalia, orejas grandes, frente amplia, cejas rectas, ojos hundidos, labio superior prominente, hipopigmentación de la piel, pobre contacto visual, estereotipias en las manos, marcha con apoyo e hipotonía generalizada.

En el EEG interictal en sueño fisiológico, se observó actividad de fondo desorganizada para la edad con husos de sueño, anormal epiléptico por ondas agudas frontotemporales derechas y estímulo luminoso intermitente con puntas y ondas lentas generalizadas (Figura 2). No se encontraron alteraciones en la RM. En la última evaluación se detectaron crisis focales esporádicas y mioclonías diarias. La paciente se encuentra en tratamiento con AVP, TPM y CLN.

Dada la coexistencia de múltiples dismorfias, la presencia de retraso global del desarrollo y crisis convulsivas, al ser un cuadro inespecífico, pero compatible con un trastorno genómico, se decidió solicitar un aCGH como parte del abordaje diagnóstico. Los resultados revelaron una delección monoalélica de 50.4 Mb, arr[GRCh37] Xp22.33p11.22(2,709,027_53,088,016)x1, que afecta a 283 genes, incluyendo *CDKL5*.

Discusión

Las encefalopatías epilépticas infantiles tempranas representan un desafío diagnóstico, ya que comparten síntomas con otras condiciones, como convulsiones de inicio temprano y difícil control. Los estudios de EEG y de neuroimagen no son de utilidad en la mayoría de los casos para definir una patología concreta. Si en la exploración física se encontraran dismorfias, tampoco aportarían más información para ayudar al esclarecimiento del padecimiento. Debe sospecharse CDD en pacientes que inician con espasmos infantiles en los primeros meses de vida y en quienes se han descartado esclerosis tuberosa, errores innatos del metabolismo y malformaciones cerebrales; también en pacientes con retraso global del desarrollo o conductas autistas asociadas con epilepsia con o sin rasgos dismórficos^{2,6}.

Las principales manifestaciones del CDD incluyen epilepsia de inicio temprano y refractaria, retraso global del desarrollo e hipotonía. La epilepsia es el síntoma más temprano y predominante; el 16% de los casos debutan con espasmos infantiles. En estas pacientes, la edad de inicio fue tan temprana como los 3 meses de edad. Solo el caso 2 debutó con espasmos infantiles; las otras dos, con crisis focales motoras. El tipo de convulsiones varía y la mayoría presentan múltiples crisis diarias. En algunas pacientes se observa un periodo libre de convulsiones (luna de miel). La epilepsia es grave y los fármacos antiepilépticos (FAE) deben individualizarse dependiendo del tipo de crisis convulsiva; aproximadamente en el 30% de los casos se necesitan combinaciones de FAE^{2,5,6}. En los casos que aquí se han reportado los tipos de convulsiones fueron variables y las pacientes recibían más de dos FAE. Se registraron periodos libres de convulsiones de entre 1 semana y 2 meses, asociados con cambios en la formulación o la dosificación de los FAE.

Todas las pacientes presentaron un fenotipo similar con conductas autistas, retraso global del desarrollo y trastornos del sueño. Solo en el caso 3 se encontraron dismorfias inespecíficas y el antecedente de regresión neurológica, reportado en el 20% de los casos en la literatura. En el 80% de los casos se describen conductas autistas (alteraciones visuales corticales, estereotipias, trastornos del lenguaje) y trastornos del sueño, síntomas observados en las tres pacientes. Aunque la microcefalia adquirida se ha reportado en el 44% de los casos, solamente se observó en el caso 3^{2,5,6}.

En las pacientes con CDD no existen alteraciones características en el EEG y se pueden observar tres etapas sucesivas en el patrón electroclínico. El estadio

I o epilepsia temprana inicia entre la semana 1 y 10 de vida, con EEG interictales normales y presencia de puntas y ondas agudas durante las crisis. El estadio II comienza entre los 6 meses y 3 años, con alteración neurológica importante con hipotonía y discapacidad intelectual. En estos casos, en los EEG interictales se pueden observar grafoelementos de sueño como los husos, pero los ritmos de base son lentos en rango theta y actividad epileptogénica tipo puntas. El estadio III, denominado multifocal progresiva y epilepsia mioclónica, se presenta entre los 2.5 y los 11 años. Se reporta epilepsia refractaria, EEG interictales con ondas delta y puntas/polipuntas en regiones temporales y occipitales¹⁰. En cuanto a los hallazgos en el EEG, las pacientes aquí descritas se encontraban en estadio temprano.

El tratamiento del CDD es sintomático y enfocado a mejorar la calidad de vida. Los FAE más utilizados son AVP, lamotrigina, CBL, VGB, zonisamida y felbamato. Se ha reportado el uso de cannabidiol y dieta cetogénica, con resultados poco concluyentes. En los casos refractarios se ha utilizado estimulador vagal y callosotomía, logrando una reducción de las crisis. Los esfuerzos actuales se han enfocado en el desarrollo de terapia diana con bases genéticas, biológicas y metabólicas^{1,5,6}.

En cuanto a los hallazgos moleculares, en el caso 1 se identificó la variante patogénica c.528G>T (p.Trp-176Cys). Este es un cambio en sentido equivocado. Dado que el triptófano es no polar y la cisteína es de naturaleza polar, se espera una alteración en la conformación de la proteína. Por otro lado, el triptófano es un aminoácido ampliamente conservado entre las especies y no se ha encontrado la frecuencia alélica de esta variante en las bases de datos de población sin patologías. Los predictores *in silico* arrojan los siguientes resultados: PolyPhen-2, probablemente patogénica y MutationTaster, patogénica; es importante mencionar que la relevancia de la localización de esta variante en el dominio catalítico le confiere su patogenicidad, ya que estos cambios impactan de manera directa en la actividad catalítica de la proteína. Una manifestación clínica poco frecuente fue la neuroregresión, mientras que la epilepsia refractaria fue el criterio para estudiarla. En los casos 2 y 3, los criterios para solicitar un aCGH fueron la asociación de epilepsia refractaria y retraso global del desarrollo. En el caso 2 se reportó una deleción de 112 kb que afecta a 12 de los 23 exones, prediciendo una falta total de proteína funcional. En el caso 3 se detectó una deleción que afectó a 228 genes, incluido *CDKL5*. En este caso, las características dismórficas fueron más evidentes. Se esperaba encontrar características clínicas adicionales asociadas

con la haploinsuficiencia de algunos de los genes, pero no fue así.

Los casos incluidos en este reporte son un claro ejemplo de las recomendaciones actuales para el diagnóstico molecular de las encefalopatías epilépticas. Se sugiere como estudio de elección un panel mutagénico por medio de secuenciación de nueva generación, con el cual, gracias a modificaciones en el análisis bioinformático, es posible realizar la secuencia de nucleótidos, así como valorar pérdidas y ganancias de material genético. El caso 2 evidencia lo mencionado: en algunos pacientes, usar técnicas geonómicas puede ser efectivo más poco rentable, ya que la deleción de material genético tiende a estar localizada en un solo gen. Por último, en el caso 3 se encontró una deleción de 283 genes asociada con un fenotipo inespecífico que manifiesta la utilidad de los estudios genéticos, aunque no como de primera línea, pero sí en aquellos casos en que se reporte una pérdida total de secuencia codificante o en los que no se pueda identificar la cantidad de material genético.

Una limitación de este trabajo es que la serie de casos presentada es pequeña, pero sirve para establecer la importancia del trabajo multidisciplinario para el abordaje de las encefalopatías epilépticas tempranas. El gen *CDKL5* debe incluirse en los paneles genéticos solicitados durante el estudio de pacientes con estas manifestaciones sin diagnóstico de certeza. Dada la variabilidad de variantes patogénicas de *CDKL5*, el diagnóstico molecular debe detectar variantes de un solo nucleótido y en el número de copias, como se muestra en este trabajo. Aunque existe una variabilidad de resultados moleculares, las pacientes comparten las manifestaciones clínicas más frecuentes asociadas con CDD, como epilepsia refractaria, retraso global del desarrollo y conductas autistas.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Financiamiento

No se recibió financiamiento externo.

Referencias

1. Fichou Y, Nectoux J, Bahi-Buisson N, Chelly J, Biennu T. An isoform of the severe encephalopathy-related *CDKL5* gene, including a novel exon with extremely high sequence conservation, is specifically expressed in brain. *J Hum Genet.* 2011;56:52-7.
2. Olson HE, Demarest ST, Pestana-Knight EM, Swanson LC, Iqbal S, Lal D, et al. Cyclin-dependent kinase-like 5 (*CDKL5*) deficiency disorder: clinical review. *Pediatr Neurol.* 2019;97:18-25.
3. Kalscheuer VM, Tao J, Donnelly A, Hollway G, Schwinger E, Kübart S, et al. Disruption of the serine/threonine kinase 9 gene causes severe X-linked infantile spasms and mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2003;72:1401-11.
4. Fehr S, Wilson M, Downs J, Williams S, Murgia A, Sartori S, et al. The *CDKL5* disorder is an independent clinical entity associated with early-onset encephalopathy. *Eur J Hum Genet.* 2013;21:266-73.
5. Jakimiec M, Paprocka J, Śmigiel R. *CDKL5* deficiency disorder — a complex epileptic encephalopathy. *Brain Sci.* 2020;10:107.
6. Leonard H, Downs J, Benke TA, Swanson L, Olson H, Demarest S. *CDKL5* deficiency disorder: clinical features, diagnosis, and management. *Lancet Neurol.* 2022;21:563-76.
7. Montini E, Andolfi G, Caruso A, Buchner G, Walpole SM, Mariani M, et al. Identification and characterization of a novel serine-threonine kinase gene from the Xp22 region. *Genomics.* 1998;51:427-33.
8. Katayama S, Sueyoshi N, Inazu T, Kameshita I. Cyclin-dependent kinase-like 5 (*CDKL5*): possible cellular signalling targets and involvement in *CDKL5* deficiency disorder. *Neural Plast.* 2020;2020:6970190.
9. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17:405-24.
10. Bahi-Buisson N, Kaminska A, Boddaert N, Rio M, Afenjar A, Gérard M, et al. The three stages of epilepsy in patients with *CDKL5* mutations. *Epilepsia.* 2008;49:1027-37.