



EL SÍNDROME X FRÁGIL.

Montserrat Milà Recasens.

Servicio de Bioquímica i Genética Molecular. Hospital Clínic. Barcelona

El Síndrome X frágil

El Síndrome X Frágil (SFX) (SXF #MIM300624; ORPHA 908) es la causa más común de discapacidad intelectual familiar; es decir que se transmite de madres a hijos e hijas.

Se hereda como un trastorno mendeliano dominante ligado al cromosoma X, con una penetrancia reducida, 80 % para varones y 30 % para mujeres.

Desde el punto de vista clínico fue descrito por primera vez en el año 1943 por Martin y Bell, como un síndrome de discapacidad intelectual que afectaba a varios varones de una misma familia. Estos varones presentaban una discapacidad intelectual moderada o grave, cara alargada, orejas grandes, macroorquidismo, alteraciones del tejido conectivo y comportamiento hiperactivo.

La descripción inicial como síndrome X-frágil corresponde a Lubs, en 1969, que asoció al cuadro clínico la presencia de un cromosoma X marcador, el cromosoma X mostraba una fragilidad en su parte más distal de los brazos largos y de aquí el nombre del síndrome. No obstante este marcador tan solo aparecía en cultivos pobres en ácido fólico y en un tanto por ciento reducido de metafases.

No fue hasta el año 1991 cuando se identificó el gen responsable y la alteración molecular que lo causa. Es el primer síndrome descrito causado por una mutación dinámica: una expansión de un trinucleótido CGG localizado en la región 5' no codificante del primer exón del gen *FRM1* (Fragile Mental Retardation tipe1).

La incidencia del síndrome varía según poblaciones aunque a modo general la más aceptada es 1/4 000 varones y 1/6 000 mujeres. Según un cribado realizado en Cataluña por nuestro grupo con muestras de recién nacidos del año 1998, el síndrome mostró una incidencia de 1 cada 2 500 hombres y 1 cada 8 000 mujeres, mientras que 1 de cada 1 250 hombres es un portador y 1 de cada 411 mujeres una portadora. Se trata pues de una enfermedad de las consideradas como raras o minoritarias.

Clínica

El cuadro clínico es variable dependiendo de la edad y sexo.

En el niño varón prepuberal presenta de forma constante discapacidad intelectual moderada, apreciándose ya en el lactante por un retraso en las adquisiciones (sedestación, locución y deambulación) y alteraciones de conducta: falta de atención, hiperactividad, mordeduras en las manos, conducta autista, rechazo al tacto, timidez y evitación de la mirada, movimientos repetitivos especialmente de manos y ecolalia, estas alteraciones se van acentuando con la edad. Aunque la discapacidad intelectual suele ser moderada, no es infrecuente encontrar formas graves con coeficiente intelectual entre 35 - 55, así como trastornos psiquiátricos. En el varón postpuberal los rasgos físicos son más acusados, la discapacidad intelectual es más grave y el macroorquidismo está presente en el 80 % de los casos.

En niñas afectadas la clínica está más atenuada; presentan un retraso mental leve y los rasgos fenotípicos faltan o son mínimos (orejas grandes, hiperlaxitud articular, facies alargada), aunque se han descrito casos con clínica similar a la del varón; existe discapacidad intelectual en el 30 - 50 % de las mujeres y presentan problemas de aprendizaje, trastornos de conducta y de comunicación con timidez, ansiedad social, problemas de atención y de escolaridad (matemáticas).

El defecto molecular

El gen *FMR1* codifica para una proteína llamada FMRP (*Fragile X Mental retardation Protein*) cuya ausencia es la responsable del Síndrome X Frágil (SXF). El gen contiene 17 exones y genera diversos transcritos alternativos. La mutación recurrente causante del síndrome en el 98 % de los casos es una expansión del trinucleótido (CGG), que se localiza en la parte no traducida del primer exón del gen *FMR1*. En la población general el número de repeticiones CGG es polimórfico, variando de 6 a 44, siendo el alelo con 29 - 30 repeticiones el más frecuente. Los alelos en este rango de repeticiones se transmiten de forma mendeliana estable.

Los alelos entre 45 y 54 CGG se conocen como alelos intermedios (AI o "zona gris") y constituyen el intervalo entre alelos normales y premutados y pueden ser estables o inestables. El carácter estable o inestable en la transmisión de una generación a la siguiente se ha relacionado con la presencia de tripletes AGG que interrumpen la secuencia CGG y que generalmente se presentan cada 9 - 10 (CGG).

Los alelos que contienen entre 55 y 200 repeticiones del triplete (CGG) se denominan premutados (PM). Los individuos portadores de estos alelos no manifiestan el SXF, pero pueden transmitirlo ya que son inestables al pasar de generación a generación y tienden a aumentar. El alelo menor para el que se ha descrito expansión a mutación completa en una sola generación es uno de 56 repeticiones (CGG).

Las expansiones de más de 200 repeticiones, constituyen la llamada mutación completa (MC) que causa el síndrome, debido a que el gen sufre una pérdida de función y por lo tanto hay una ausencia de la proteína FMRP. La inactivación del gen está causada por una hipermetilación de las repeticiones CGG y de la región promotora del gen (isala CpG). Las expansiones en el rango de la mutación completa inestables tanto en meiosis, como en mitosis.

El 1 – 2 % de los casos Síndrome X Frágil están causados por otro tipo de mutaciones como deleciones o mutaciones puntuales pero siempre que conlleven la pérdida de función del gen.

El diagnóstico exacto se realiza mediante un análisis molecular que determina el número exacto de CGG en el gen *FMR1*. Actualmente el estudio citogenético no se acepta como prueba diagnóstica.

La metodología más rápida y precisa es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con cebadores marcados con FAM (fluorocromo) y posterior análisis del producto en un analizador, este estudio permite determinar el número exacto de repeticiones CGG utilizando pequeñas cantidades de ADN. La limitación de esta técnica es que no detecta expansiones de más de 100 repeticiones y por lo tanto no detecta premutaciones grandes ni mutaciones completas, no da información acerca de la metilación y no permite distinguir entre una mujer homocigota (20 – 30 %) y una mujer con un alelo en el rango normal y otro en el rango de la premutación.

En varones, la ausencia de producto de PCR indica la presencia de un alelo expandido patológico. La realización de otra PCR denominada Triplet-PCR (TP-PCR) permite solucionar en parte estos problemas. A la PCR clásica se le añade otro cebador que hibrida en la región del triplete CGG y que detecta premutaciones y mutaciones completas así como cualquier expansión patológica proporcionando además información sobre las interrupciones AGG. Esta técnica permite también distinguir entre una mujer homocigota y una mujer heterocigota portadora de un alelo normal y uno expandido.

Si bien hasta hace poco el análisis por Southern Blot por doble digestión con enzimas sensibles a la metilación (*EcoRI* y *EagI*) es el método de elección para determinar grandes expansiones y el estado de metilación, actualmente con la aparición nuevos kits comerciales de diagnóstico en el mercado han simplificado mucho el trabajo, y ha hecho que se vaya sustituyendo. Estos kits combinan una PCR con una digestión que utiliza enzimas sensibles a la metilación y que permite obtener información acerca del estado de metilación de las repeticiones y de la isla CpG. La técnica de Southern es una técnica laboriosa que requiere varios días de trabajo, grandes cantidades de ADN y que da estimaciones imprecisas del número de repeticiones por lo que queda superado con la utilización de estos nuevos kits.

Estas técnicas pueden ser utilizadas con DNA obtenido de cualquier tejido: sangre, líquido amniótico, vellosidad corial etc. de manera que la elección de la técnica y estrategia diagnós-

tica ha de tener en cuenta en todo momento las características clínicas y familiares del paciente o la población a analizar. Se utilizan tanto para el diagnóstico prenatal como postnatal

Una vez que se ha encontrado un individuo portador de la expansión patológica, se requiere el estudio familiar "en cascada" para detectar a otros portadores de premutaciones o mutaciones completas. En estos casos la determinación precisa del tamaño de los alelos y la posición de las interrupciones AGG son importantes para poder determinar los riesgos de expansión en las portadoras. Por otro lado, conocer el estado de la metilación o determinar la presencia de mosaicismos es relevante para las correlaciones genotipo-fenotipo.

Por último, existen una las pruebas basadas en el estudio inmunohistoquímico con un anticuerpo monoclonal contra la proteína FMRP para la detección de su presencia. Estos estudios podrían ser útiles en estudios a gran escala de cribado de la población masculina, ya que los varones con mutación completa carecen o tienen escasa expresión de FMRP. También pueden ser de utilidad en casos dudosos de PM altas con fenotipo sugerente de Síndrome X Frágil .

La Proteína FMRP (*Fragile X Mental retardation Protein*)

La falta de la proteína que codifica este gen es la responsables de las manifestaciones clínicas que presentan los afectados.

Aunque no se dispone de ella, ni se conoce exactamente su función, si se sabe que se trata de un factor de transcripción que se une al mRNA. Como todas las proteínas es sintetizada en el citoplasma, pero parte de ella vuelve al núcleo. Se expresa ubicuamente y durante toda la vida postnatal. Tiene un papel fundamental en la sinapsis y en el normal desarrollo de las dendritas.

También se sabe que se une aproximadamente al 4 % de todos los RNAs, regulando la síntesis proteica. Su pérdida implica un exceso basal de la traducción, y aproximadamente un tercio de todos los RNAs que codifican para proteínas pre y postsinápticas son dianas de FMRP.

Este papel como factor de transcripción explicaría la complejidad fenotípica del síndrome y la expresividad variable que muestra.

Tratamiento

Actualmente no existe un tratamiento curativo para el síndrome. La pauta a seguir se basa en paliar los problemas: cardíacos, esqueléticos, oculares, otitis de repetición, frecuentes en la edad infantil, convulsiones y, de forma especial, los problemas psicológicos con medidas psicopedagógicas y farmacológicas adecuadas.

A pesar de no tener un tratamiento, existen muchas posibilidades de mejorar el rendimiento intelectual de estos pacientes, que se beneficiarán con una terapia sensorial, clases de apoyo

o educación especializada, instaurada lo más precoz posible, todo ello dentro de una terapia multidisciplinar en la que intervienen varios especialistas. También es posible un tratamiento farmacológico para su hiperactividad, y en su caso, prevenir las crisis epilépticas.

En estos momentos hay varios ensayos clínicos para medicamentos, pero todavía no se ha podido confirmar ninguno.

Consejo genético

Se trata de una alteración genética que se hereda de forma dominante ligada al cromosoma X con penetrancia reducida (80 % para varones y 30 % para mujeres). En la población general podemos encontrar hombres y mujeres "normales", premutados o con mutación completa.

Es importante destacar que no existen casos esporádicos, de forma que siempre que hay un niño afectado, la madre es una portadora obligada con un 50 % de tener otro hijo afectado en un próximo embarazo.

Los individuos pertenecientes a familias SFX que no presentan expansión, no tienen riesgo en su descendencia para esta patología por lo que a ellos respecta.

El varón ya sea portador de una premutación como de una mutación completa transmite la premutación a todas sus hijas, por lo que todas ellas serán portadoras de la premutación. El tamaño de esta premutación no será exactamente el mismo que el del padre, pudiendo aumentar o disminuir ligeramente. Por otra parte también se ha visto que un varón portador nunca transmite la mutación completa.

El varón con mutación completa transmite la expansión a todas sus hijas pero ésta siempre está reducida al rango de la premutación. Así, un varón SFX, en caso de reproducirse, nunca tendrá hijas afectadas, todas ellas serán portadoras de la premutación y los hijos al heredar el cromosoma Y no tendrán nunca relación con el SFX.

Las mujeres portadoras transmiten el alelo expandido a un 50 % de su descendencia, tanto a sus hijos como a sus hijas. A diferencia de los varones portadores, las mujeres tienden a aumentar el tamaño de las expansiones en el paso de una generación a la siguiente, por lo que las mutaciones completas únicamente se heredan por vía materna. El riesgo de una mujer portadora de una premutación a transmitir una mutación completa depende del tamaño de la premutación. De esta manera, cuanto más grande es la premutación, más inestable y mayor es la probabilidad de pasar a mutación completa. De hecho se sabe que a partir de 90 - 100 repeticiones CGG siempre que se transmite el gen mutado hay una expansión a mutación completa en la siguiente generación.

Las mujeres con mutación completa transmitirán este alelo mutado al 50 % de su descendencia (hijos e hijas), por lo que su descendencia tiene un riesgo del 50 % de estar afectada de SFX.

Las opciones reproductivas para una mujer portadora (premutación o mutación completa) son las siguientes: No tener descendencia, adopción, donación de gametos (óvulos o espermatozoides), diagnóstico prenatal, diagnóstico preimplantacional o diagnóstico preconcepcional.

Patologías asociadas a la Premutación del gen FMR1

Durante muchos años se pensó que los portadores de la premutación no presentaban ninguna manifestación clínica, tan solo el riesgo de transmitir la enfermedad a sus descendientes. En el año 1999 se empezó a asociar un riesgo mayor a presentar fallo ovárico prematuro a las mujeres portadoras de la premutación insuficiencia ovárica prematura asociada a la premutación del gen *FMR1* (FXPOI), en el año 2000 una enfermedad neurodegenerativa de aparición tardía fue asociada a los portadores/portadoras de la premutación Síndrome de Temblor- Ataxia asociado a la premutación del gen *FMR1* (FXTAS) y finalmente y durante los años siguientes 2007-2009 se han ido describiendo una serie de fenotipos asociados a la premutación.

Actualmente se acepta que las manifestaciones clínicas diferentes al Síndrome X Frágil y asociadas a la premutación del gen *FMR1* constituyen formas alélicas al SFX completamente diferentes.

Mientras que el SFX se produce por una pérdida de función del gen *FMR1*, las patologías asociadas a la premutación se producen por una ganancia de función del mRNA. Se sabe que los portadores presentan niveles elevados de mRNA (entre 2 y 8 veces) y niveles ligeramente disminuidos de FMRP.

Las alteraciones asociadas a la premutación del gen *FMR1* aceptadas actualmente y basadas en estudios científicos son: Problemas emocionales y psicológicos, insuficiencia ovárica prematura (FXPOI) (MIM#311360) y Síndrome de temblor ataxia FXTAS (MIM#300623).

INSUFICIENCIA OVÁRICA PRIMARIA (FXPOI) (MIM#311360)

Actualmente sabemos que los portadores de la premutación tienen un riesgo incrementado al de la población general a desarrollar un fallo ovárico prematuro, insuficiencia ovárica prematura ligada a la premutación del gen *FMR1* (FXPOI) (en caso de las mujeres) y un nuevo síndrome de ataxia de aparición tardía denominado FXTAS (Fragile X Tremor Ataxia Syndrome). Ambas condiciones no tienen nada que ver con el espectro fenotípico de Síndrome X Frágil (SFX) y únicamente están asociados a la premutación lo cual implica que nunca serán diagnosticados en un individuo con una mutación completa.

FXPOI: fenómeno por el que se desarrolla una amenorrea con deficiencia de las hormonas sexuales y elevados niveles de gonadotropinas en suero antes de los 40 años. Un 1 % de la población general desarrolla menopausia precoz, fallo ovárico prematuro (FOP) mientras que su incidencia dentro de las portadoras de la premutación en *FMR1* es del 20 %. No todas las

permutadas manifiestan FOP y no está claro si esto es debido a una expresividad variable o a una reducida penetrancia. Varios estudios han demostrado que no existen evidencias que permitan correlacionar la edad de aparición del FXPOI con el número de repeticiones o el ratio de inactivación del cromosoma X portador de la expansión. El porqué algunas portadoras de la premutación desarrollan FXPOI y otras no, se desconoce. Lo único que se sabe es que pequeños cambios en la expresión de la proteína FMRP afectan a la función ovárica.

Por todo ello, el consejo genético en una mujer portadora debe incluir un apartado donde se trate el tema de la fertilidad y de las opciones reproductivas. Es necesario informar de que se aconseja tener hijos antes de los 35 años ya que la menopausia puede avanzarse entre 4 y 6 años. También deben ser informadas de que existen ovulaciones esporádicas por lo que si no desean descendencia deben tomar medidas anticonceptivas. El riesgo a presentar FXPOI está relacionado con el número de repeticiones CGG, de manera que el mayor riesgo lo tienen aquellas mujeres entre 65-90 repeticiones, el motivo aún se desconoce.

Actualmente la premutación está considerada la causa genética más común de fallo ovárico prematuro (~20 veces).

SÍNDROME DE TEMBLOR-ATAXIA ASOCIADO AL SFX (FXTAS MIM#300623; ORPHA 93256)

FXTAS: alteración neurológica multisistémica de temblor y ataxia como signos principales, que puede aparecer en los individuos (varones y mujeres) portadores de la premutación a partir de los 50 años de vida. La prevalencia de FXTAS entre varones de 50 años es de aproximadamente 1 cada 3 000, lo cual sitúa este síndrome como una de las causas monogénicas más frecuentes de temblor y ataxia entre la población general adulta. Por otra parte, se estima que 1/3 de los portadores de la premutación en las familias de SXF desarrollarán un FXTAS. Molecularmente, FXTAS se asocia a un aumento de mRNA de *FMR1*. A este aumento de mRNA en las células se le atribuye un efecto tóxico que puede dar lugar a la formación de inclusiones intranucleares en el cerebro. De hecho, los estudios anatomopatológicos realizados en cerebros de pacientes con FXTAS demostraron la presencia de eosinófilos e inclusiones dentro del núcleo de neuronas y astrocitos.

El síndrome comienza con un temblor de intención y de forma progresiva y gradual van apareciendo otras manifestaciones como la ataxia, problemas de memoria, pérdida de función ejecutiva, demencia, impotencia, hipertensión, incontinencia, signos parkinsonianos, ansiedad, irritabilidad, cambios de humor, cognitivos....no todos los pacientes presentan las mismas manifestaciones, algunos de ellos pueden mantenerse toda la vida tan solo con el temblor como única manifestación.

El diagnóstico se hace en base a unos criterios clínicos y radiológicos y por supuesto la presencia de la premutación.

La penetrancia del síndrome depende de la edad, el sexo y el número de repeticiones. A más edad, sexo varón y número de repeticiones más elevado mayor riesgo a presentar la enfermedad.

En general se habla de una penetrancia del 30 % en hombres y 16 % en mujeres.

Por ahora no hay tratamiento aunque se dan tratamientos paliativos. Las terapias ocupacionales, físicas y psicológicas son beneficiosas.

Por otra parte el ambiente y el background genético tienen influencia sobre la penetrancia.

INDICACIONES DE SOLICITUD DE UN ESTUDIO MOLECULAR DEL GEN *FMR1*

Discapacidad intelectual y Autismo

Insuficiencia ovárica primaria debida a Premutación del gen *FMR1* (FXPOI)

Temblores y ataxia de aparición tardía (FXTAS)

Estudio familiar de individuos a riesgo diagnóstico familiar "en cascada",

Mujer embarazada portadora de PM o mutación completa que lo requiera

Donante de gametos

| (CGG) _n | ISLA CpG | FMRP | ESTATUS | FENOTIPO |
|--------------------|---------------|----------|----------------------|---|
| 6-54 | NO METILADA | Positivo | Normal | Normal |
| 55-200 | NO METILADA | Positivo | Premutación | FXPOI/FXTAS/otros Penetrancia reducida |
| > 200 | HIPERMETILADA | Negativo | Mutación Completa | Afectado varón 50 % Afectado Mujer |

Tabla 1 Variación del número CGG en el gen *FRM1*

SFX síndrome X frágil FXPOI: Insuficiencia Ovárica Prematura, FXTAS: Síndrome de Temblores-Ataxia.

BIBLIOGRAFÍA

Milà M, Madrigal I, Kulisevsky J, Pagonabarraga J, Gómez B, Sánchez A, Rodríguez-Revenga L. Fragile X tremor ataxia syndrome (FXTAS): a new kind of spinocerebellar ataxia associated to fragile X syndrome premutation carriers]. *Med Clin (Barc)*. 2009 Jul 18;133(7):252-4.

Milà M, Ramos F, Tejada MI; Grupo AEGH/CIBERER Clinical guideline of gene FMR1-associated diseases: fragile X syndrome, primary ovarian insufficiency and tremor-ataxia syndrome]. *Med Clin (Barc)*. 2014 Mar 4;142(5):219-25.

Rodríguez-Revenga L, Madrigal I, Alegret M, Santos M, Milà M. Evidence of depressive symptoms in fragile-X syndrome premutated females. *Psychiatr Genet*. 2008 Aug;18(4):153-5.

Rodríguez-Revenga L, Madrigal I, Badenas C, Xunclà M, Jiménez L, Milà M. Menopause. Premature ovarian failure and fragile X female premutation carriers: no evidence for a skewed X-chromosome inactivation pattern. 2009 Sep-Oct;16(5):944-9.

Rodríguez-Revenga L, Madrigal I, Pagonabarraga J, Xunclà M, Badenas C, Kulisevsky J, Gomez B, Milà M. Penetrance of FMR1 premutation associated pathologies in fragile X syndrome families. *Eur J Hum Genet*. 2009 Oct;17(10):1359-62 doi: 10.1038/ejhg.2009.51. Epub 2009 Apr 15.

Rodríguez-Revenga L, Pagonabarraga J, Gómez-Anson B, López-Mourelo O, Madrigal I, Xunclà M, Kulisevsky J, Milà M. Motor and mental dysfunction in mother-daughter transmitted FXTAS. *Neurology*. 2010 Oct 12;75(15):1370-6.

EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

M. Rodríguez (*presidente*), D. Balsells, R. Deulofeu, M. Gassó, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, MC. Villà

ISSN 1887-6463 – Enero 2015 (recibido para publicación Junio 2014).