

ACERCAMIENTO DIAGNÓSTICO Y ASESORAMIENTO GENÉTICO EN EL RETRASO MENTAL

**Resumen.** En el enfermo con retraso mental el diagnóstico correcto es un paso esencial para establecer un tratamiento adecuado. Los factores genéticos y medioambientales deben establecerse de forma independiente dentro del total de los factores etiológicos. Por este motivo, se debería recoger la información familiar de forma adecuada y detallando la historia de los períodos prenatal, parto y puerperio, así como llevar a cabo una cuidadosa exploración, que excluye otras malformaciones asociadas. Una cuestión relevante, cuando se trata de enfermos con retraso mental, es averiguar si la enfermedad tiene un origen genético o medioambiental. El objetivo principal de este estudio es la descripción de una metodología aplicable en consultorio genético de retrasados mentales incluyendo el diagnóstico, evaluación de riesgos y medidas psicológicas que deben considerarse cuando se informa a familiares con riesgo. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S1-6]

**Palabras clave.** Ambiente. Consejo genético. Diagnóstico. Etiología. Factores de riesgo. Humano. Retraso mental. Síndromes.

APROXIMAÇÃO DIAGNÓSTICA E ACESSORIA GENÉTICA NO ATRASO MENTAL

**Resumo.** O diagnóstico correcto de um doente atrasado mental é um passo essencial para estabelecer um tratamento adequado. Os efeitos de influências genéticas e ambientais devem ser estabelecidos de uma forma independente, dentro do total dos factores etiológicos. Por este motivo, é necessário registar uma informação familiar adequada, com uma história pré-, peri- e pós-natal pormenorizada, e efectuar um exame clínico completo para verificar outras malformações associadas. Uma das questões principais a serem resolvidas perante um doente atrasado mental é se a doença é de etiologia genética ou ambiental. A finalidade principal deste documento é descrever uma metodologia geral que se possa aplicar numa consulta genética de atraso mental, incluindo diagnóstico, avaliação dos riscos e medidas psicológicas a considerar no momento de se informarem membros de famílias em risco. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S1-6]

**Palavras chave.** Aconselhamento genético. Ambiente. Atraso mental. Diagnóstico. Etiologia. Factores de risco. Humano. Síndromas.

## Diagnóstico del síndrome X frágil

G. Glover, M.J. Bernabé, P. Carbonell

DIAGNOSIS OF FRAGILE X SYNDROME

**Summary.** The fragile X syndrome (FXS) is the main cause of hereditary mental retardation. Although a lower frequency has been demonstrated in latest population studies, FXS constitutes the most frequent cause of hereditary mental retardation. FXS was historically diagnosed, firstly, only in clinically affected patients, but it was not possible to detect carriers with no symptoms. Once the mechanisms that specifically induced X chromosomal fragility were beginning to be understood, it became possible to confirm clinically diagnosed patients and detect some of asymptomatic carriers. But, the discovery of FMRI gene has allowed us to reliably know the genetic status of anyone with respect to fragile X syndrome, independently of whether one belongs to a fragile X family. In this respect a combination of molecular and cytogenetic techniques may be used to detect expansions in the repeat region of the FMRI gene. Three classes of alleles are found, normal with 5-60 repeats, premutated with repeats between 60 and 200 copies and full mutated with expansion greater than 200 copies. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S6-9]

**Key words.** CGG repeat triplet. FMRI gene. Fragile Xq27.3 site. Fragile X syndrome. Karyotype. PCR. Southern blot.

### INTRODUCCIÓN

Aunque no es tan frecuente como inicialmente se pensaba, el síndrome X frágil representa la forma más común de retraso mental hereditario. Actualmente se tiene pleno conocimiento de que se trata de un trastorno genético dominante ligado al cromosoma X con una reducida penetrancia.

En 1943 se dieron a conocer los primeros datos clínicos relacionados con el síndrome X frágil, al publicar Martin y Bell el pedigrí de una extensa familia con un defecto mental ligado al sexo. Estos autores describían el caso de 11 varones de una misma familia con un retraso mental ligado al cromosoma X entre los descendientes de tres hermanos (dos varones y una mujer) [1].

No era esa la primera referencia acerca del mayor número de varones afectados por un retraso mental ligado al sexo, pues ya antes se habían hecho observaciones a este respecto. En 1897,

Johnson había observado un aumento en el número de varones entre la población mentalmente retrasada [2]. En 1938, Penrose observó una tasa mayor de varones que de mujeres entre los individuos recluidos en una institución mental [3]. Sin embargo, no fue hasta 1969 cuando Leherke [4] estableció la relación entre un mayor número de varones retrasados con genes del cromosoma X.

Ese mismo año, Lubs publicó sus observaciones sobre una familia con cuatro hijos afectados por un retraso mental similar al descrito por Martin y Bell; en ellas se identificaba un cromosoma X marcador que estaba presente en los varones afectados y en cuatro mujeres de inteligencia normal, una de ellas madre de dos de los varones mencionados [5]. En aquel momento, el marcador se definió como un pequeño satélite separado del final del brazo largo del cromosoma X por una constricción del material genético, aunque no se estableció una relación entre el marcador genético y el retraso mental ligado al cromosoma X.

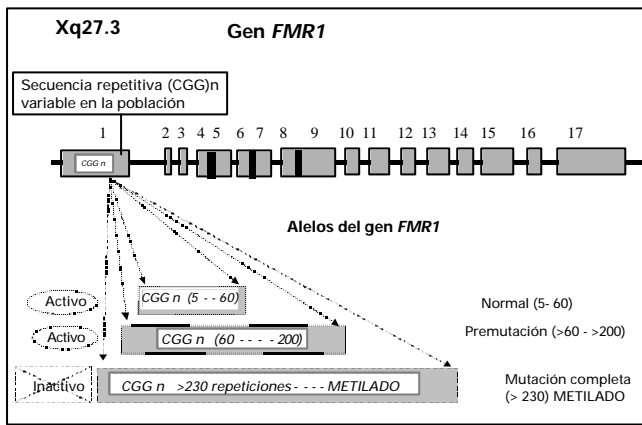
En 1973, Escalante y Frota-Pessoa publican el caso de otra familia con el mismo marcador cromosómico relacionado con retraso mental severo en algunos de los varones [6]; por desgracia, el trabajo escrito en portugués y publicado en Brasil no tuvo el impacto que merecía, hasta después de la publicación de otros dos trabajos que identificaban 250 varones y una mujer de 10 familias diferentes, afectados de retraso mental con el cromosoma X marcador [7,8]. Es entonces cuando se cuestiona el posible origen de este

Recibido: 07.09.01. Aceptado: 08.10.01.

Genética Molecular. Centro de Bioquímica y Genética Clínica. Laboratorios Pabellón General. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia, España.

Correspondencia: Dr. Guillermo Glover. Unidad Genética Molecular. Centro de Bioquímica y Genética Clínica. Laboratorios Pabellón General. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Ctra. de Murcia a Cartagena, s/n. E-30120 El Palmar, Murcia. E-mail guillermo.glover@carm.es

© 2001, REVISTADENEUROLOGÍA



**Figura.** Representación esquemática del gen *FMR1*, localizado en el cromosoma X (Xq27.3), con los 17 exones de que consta; se indica la zona de expansión de las repeticiones CGG, en la región no traducible del exón 1, y las tres clases de alelos de tamaño variable, con la correspondiente actividad genética en función de la metilación observada en el análisis genético de este gen.

cromosoma marcador que presentaban tantos individuos afectados por ese característico retraso mental.

Al final de los años 70, se disponía en los laboratorios de citogenética de numerosos medios de cultivo diferentes, y resultaba que el cariotipo de algunos individuos afectados por ese tipo de retraso mental iba a depender del medio que se empleara para cultivar sus linfocitos. Así pues, dependiendo de la concentración de ciertos componentes presentes en el medio de cultivo, el cariotipo del individuo afectado podía presentar o no el cromosoma X marcador. El medio de cultivo tenía que ser deficiente en ácido fólico o timidina para que se expresara el sitio frágil en el cromosoma X de los ‘individuos X frágil’. Se comprueba entonces que, en condiciones adecuadas (estrés de timidina y ácido fólico), el cariotipo de los individuos afectados presentaba, en una proporción variable de metafases (2-50%), una discontinuidad en el extremo distal del brazo largo del cromosoma X.

En 1977, Sutherland definía un sitio frágil en el cromosoma X, en Xq27.3, dependiente del ácido fólico [9]. Todos esos hallazgos hacían que se considerara al síndrome X frágil en el cromosoma X, en Xq27.3, dependiente del ácido fólico [9]. Todos esos hallazgos hacían que se considerara al síndrome X frágil como un síndrome eminentemente citogenético, y por esa línea se enfocaba su estudio.

Muchas de las familias con retraso mental ligado al X se estudiaron con estas ‘nuevas técnicas’ y en muchas de ellas se confirmó el cromosoma X frágil. Casi el 50% de las familias con aparente retraso mental ligado al X, de causa desconocida, presentaban el cromosoma X frágil al aplicar esas novedosas técnicas citogenéticas. Asimismo, muchos de los individuos con retraso mental de etiología desconocida se identificaron con este marcador como ‘individuos X frágil’ al efectuar programas de detección citogenética [10].

Es evidente que en muchos varones el síndrome X frágil es un síndrome de retraso mental relacionado con algunos rasgos dismórficos, como orejas grandes y antevertidas, cara tosca y alargada, además de macroorquidismo, que suelen ponerse de manifiesto durante la adolescencia. Los problemas de conducta que pueden percibirse son la hiperactividad o un comportamiento de tipo autista, apreciable en los primeros años de la vida del niño. De esta forma, pueden observarse algunos de los síntomas del síndrome X frágil a una edad temprana.

Las mujeres también pueden verse afectadas, aunque el retraso mental no es tan evidente, ni presentan los rasgos dismór-

ficos descritos en los varones; no obstante, un tercio de las portadoras de la mutación completa presentan un déficit mental entre leve y moderado.

Los últimos estudios acerca de la prevalencia del síndrome estiman que está presente en todos los grupos étnicos estudiados y es de 1:4.500 en varones y de 1:9.000 en mujeres, aunque, debido a la inactivación al azar del cromosoma X, la alteración sólo será penetrante en la mitad de una parte de las mujeres portadoras.

En análisis de segregación realizados en ‘familias X frágil’ por parte de Sherman et al, en 1984, se observa que el síndrome X frágil presenta unos patrones de herencia que lo diferencian de otras alteraciones genéticas ligadas al cromosoma X [11]. Este hecho fue puesto de manifiesto en 1985 y resumíalo que se llegó a denominar como ‘la paradoja de Sherman’ [12] en los siguientes puntos:

1. No se podían predecir nuevas mutaciones y todas las madres de los niños afectados resultaban ser portadoras.
2. Un 20% de los varones que portaban la mutación no expresaban ningún síntoma.
3. Una elevada proporción de mujeres portadoras presentaba cierto tipo de déficit mental, mucho menor que en los varones.
4. El riesgo de X frágil en los descendientes dependía del sexo y del fenotipo del progenitor portador.

Así, las hijas de varones normales portadores, que no expresaban síntomas, raramente estaban mentalmente afectadas, mientras que las hijas de mujeres igualmente portadoras, sin manifestar síntomas, tenían un 30% de riesgo de tener el síndrome X frágil. Las mujeres portadoras afectadas mentalmente (con problemas cognitivos) presentaban mayor riesgo de tener descendencia con el X frágil, que las que eran mentalmente normales. El riesgo de tener un descendiente con X frágil aumentaba en cada generación (fenómeno conocido como ‘anticipación’).

El final de la década de los 80 estuvo marcado por la aparición de numerosas publicaciones en las que un elevado número de sondas genómicas se ponían al servicio del diagnóstico molecular del síndrome X frágil, si bien este diagnóstico por ligamiento no estaba exento de problemas y dificultades debidas, fundamentalmente, a la recombinación genética entre los distintos marcadores y la enfermedad.

Desde que en 1991 Verker et al identificaron el gen responsable, se sabe que el síndrome X frágil es causado en la mayoría de los casos por expansiones de una secuencia repetida [(CGG)*n*] incluida en la zona no traducida de la región promotora (exón 1) del gen *FMR1* y que es variable en la población [13].

El síndrome X frágil es una enfermedad genética ligada al cromosoma X con un único gen implicado, que se localiza en Xq27.3 y se conoce como *FMR1* (*Fragile X Mental Retardation*). Este gen *FMR1* tiene 17 exones y codifica una proteína de unión a ácido ribonucleico.

El conocimiento actual de la estructura molecular del gen *FMR1*, responsable del síndrome X frágil, permite ofrecer una explicación razonable y contundente a todas las especulaciones vertidas sobre los fenómenos observados en los primeros momentos del estudio del síndrome X frágil (Figura).

Entre 5 y 55-60 copias de esta secuencia repetida (CGG)*n* se pueden encontrar en el gen *FMR1* de la población normal. Expansiones del triplete CGG entre 60 y 200 repeticiones se consideran una ‘premutación’ y pueden presentarla individuos normales, tanto varones como mujeres, mientras que expansiones por encima de las 200 repeticiones van a constituir la ‘mutación completa’.

Podría decirse que la secuencia genética relacionada con el

síndrome X frágil puede presentarse de tres formas o estados: normal, premutado y mutación completa, dependiendo del número de repeticiones CGG que contenga; además, se especula con una cuarta categoría denominada intermedia o 'zona gris', para los alelos que tienen entre 45 y 60 repeticiones CGG.

La manera de pasar de una forma a otra depende de la estabilidad o inestabilidad que presente el fragmento CGG en la segregación de padres a hijos. Así, un fragmento estable será aquel que no aumenta su tamaño al pasar a la generación filial. Por la misma razón, un fragmento inestable será el que varía su número de repeticiones CGG en la transmisión de padres a hijos.

La presencia de interrupciones AGG dentro de la secuencia repetida de CGG confiere estabilidad al alelo normal, ya que se ha visto que secuencias puras CGG tienen tendencia a no transmitirse estables, a pesar de ser de tamaño normal. Así pues, los alelos más estables serán aquellos que presenten interrupciones AGG cada 9-10 repeticiones CGG.

Podemos encontrar alelos inestables entre los normales y los premutados con una clara tendencia a incrementar el número de repeticiones al pasar a la generación siguiente. Expansiones del fragmento CGG por encima de las 200 repeticiones van acompañadas de la metilación de la isla CpG adyacente, lo que inhibe la expresión del gen *FMRI*. La ausencia de producto del gen *FMRI* se considera la causa del síndrome del X frágil, como lo han puesto de manifiesto casos de X frágil con deleciones y mutaciones puntuales en la secuencia codificante del gen *FMRI*.

Como el *FMRI* está ligado al X, los varones presentan una expresión más severa del fenotipo asociado cuando se comparan con las mujeres.

El estudio de la metilación de esta región del gen *FMRI* resulta imprescindible para determinar el tamaño de la expansión en los casos de mutación completa y en el diagnóstico prenatal del síndrome. Si se van a utilizar sondas genómicas con enzimas de restricción sensibles a la metilación, se debe tener en cuenta cuándo se establece la metilación en el corion para programar la biopsia.

Poder determinar el cromosoma X inactivado por metilación es particularmente útil en el diagnóstico prenatal de fetos femeninos, puesto que hay evidencias de casos de mujeres afectadas con el cromosoma X normal inactivado por metilación [14].

En la actualidad, el término síndrome X frágil se utiliza para referirse al síndrome causado por la expansión del triple CGG y

otras lesiones en el gen *FMRI* del locus FRAXA. Sin embargo, hay un pequeño número de familias que citogenéticamente tienen un cromosoma X frágil, pero que tienen la expansión en otra secuencia repetida CGG del vecino locus FRAXE, el cual también tiene repeticiones inestables CGG [15,16].

## CONCLUSIONES

Por todo lo expuesto, se puede ver claramente que la mutación X frágil es una mutación dinámica que puede presentarse en una familia sin previo aviso.

Las razones para someter a los pacientes a estudio genético son a veces difusas, pues se incluyen desde individuos que presentan los rasgos típicos con o sin retraso mental profundo, hasta casos con ligeras dificultades de aprendizaje, así como retraso en el desarrollo, problemas de comportamiento con hiperactividad u otros problemas de conducta.

Es una rutina establecida en muchos centros de genética realizar el estudio X frágil en casos con algún tipo de retraso o problema de conducta—incluso cuando no se solicita específicamente—, ante la posibilidad de anticiparse a la aparición del síndrome en otros miembros de una familia determinada.

El estudio genético del síndrome del X frágil se realiza por la combinación de diversas técnicas, que van desde la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la secuencia a analizar, hasta la hibridación molecular con sondas genómicas que determinan la existencia de una expansión patológica [17].

En cada caso se tendrá que aplicar la combinación de técnicas necesarias para poder llegar a un resultado concluyente [18].

Si bien es cierto que muchos casos pueden ser suficientemente bien diagnosticados por medio de algunos de los kits comerciales disponibles en la actualidad para la prognosis específica del síndrome del X frágil, no es menos cierto que para el diagnóstico de este síndrome en todas sus vertientes, el laboratorio de diagnóstico tiene que disponer de la batería de técnicas necesarias, citogenéticas y moleculares, tanto de PCR como de hibridación molecular con sondas genómicas específicas del gen *FMRI*.

Estos estudios genéticos que sirven para diagnosticar este síndrome en pacientes, tanto afectados como asintomáticos, pueden aplicarse prenatalmente en gestaciones de mujeres portadoras que lo soliciten.

## BIBLIOGRAFÍA

- Martin JP, Bell J. A pedigree of mental defect showing sex-linkage. *J Neurol Psychiatr* 1943; 6: 154.
- Johnson GE. Contribution to the psychology and pedagogy of feeble-minded children. *J Psychoasthenics* 1897; 2: 26.
- Penrose LS. A clinical and genetic study of 1280 cases of mental defect. HM Stationery Office: London; 1938.
- Lehrke RG. X-linked mental retardation and verbal disability. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1974; 10: 1.
- Lubs HA. A marker X chromosome. *Am J Hum Genet* 1969; 21: 231.
- Escalante JA, Frota-Pessoa O. Retardamento mental. In Escalante JA, Frota-Pessoa O, eds. Retardamento mental. San Paulo: Sarvier; 1973. p. 300.
- Giraud F, Ayme S, Mattei JF, Mattei MG. Constitutional chromosomal breakage. *Hum Genet* 1976; 34: 125.
- Harvey J, Judge C, Wiener S. Familial X-linked mental retardation with an X chromosome abnormality. *J Med Genet* 1977; 14: 46.
- Sutherland GR. Fragile sites on human chromosomes. Demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium. *Science* 1977; 265: 197.
- Gabarrón J, López I, Glover G, Carbonell P. Fragile X screening program in a Spanish region. *Am J Med Genet* 1992; 43: 333-8.
- Sherman SL, Morton NE, Jacobs PA, Turner G. The marker (X) syndrome. A cytogenetic and genetic analysis. *Ann Hum Genet* 1984; 48: 21.
- Sherman SL, Jacobs PA, Morton NE, Froster-Iskenius U, Howard Peebles PN, Nielsen KB, et al. Further segregation analysis of the fragile X syndrome with special reference to transmitting males. *Hum Genet* 1985; 69: 289.
- Verker AJ, Pierreti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, et al. Identification of a gene (*FMRI*) containing a CGG repeat coincident with a break-point cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 1991; 65: 905.
- Kruyer H, Milà M, Glover G, Carbonell P, Ballesta F, Estivill X. Fragile X syndrome and the (CGG)<sub>n</sub> mutation. Two families with discordant MZ twins. *Am J Med Genet* 1994; 54: 437-42.
- Mulley JC, Yu S, Loesch DZ, Hay DA, Donnelly A, Gedeon AK, et al. FRAXE and mental retardation. *J Med Genet* 1995; 32: 162-9.
- Carbonell P, López I, Gabarrón J, Bernabe MJ, Lucas JM, Guitart M, et al. FRAXE mutation analysis in three Spanish families. *Am J Med Genet* 1996; 64: 434-40.
- Milà M, Kruyer H, Glover G, Sánchez A, Carbonell P, Castellvi-Bell S, et al. Molecular analysis of the (CGG)<sub>n</sub> expansion in the *FMRI* gene in 59 Spanish fragile X syndrome families. *Hum Genet* 1994; 94: 395.
- Milà Recasens M, Sánchez Díaz A, Glover López G, Castelvi Bel S, Carbonell Meseguer P, Kruyer H, et al. A genetic and molecular study of 85 families affected with the fragile X syndrome. *An Esp Pediatr* 1996; 44: 250.

**DIAGNÓSTICO DEL SÍNDROME X FRÁGIL**

**Resumen.** El síndrome X frágil (SXF) constituye la mayor causa de retraso mental hereditario. Hasta fechas recientes se han diagnosticado síndromes X frágil sólo en pacientes con afectación clínica, sin que haya sido posible detectar los portadores asintomáticos. Una vez resueltos los problemas de la inducción específica de la fragilidad cromosómica, fue posible confirmar el diagnóstico clínico de los pacientes así como detectar portadores asintomáticos. Pero el descubrimiento del gen FMRI ha llevado al conocimiento, de manera fidedigna, del estado genético de cualquier individuo respecto al síndrome X frágil, independientemente de que pertenezca a una familia de afectados o no. A este respecto se puede utilizar una combinación de técnicas moleculares y citogenéticas para detectar expansiones en la región repetitiva del gen FMRI. Se encuentran tres clases de alelos: normal con 5-60 repeticiones premutado con 60-200 repeticiones CGG, y mutaciones completas con expansiones mayores de 200 repeticiones. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S6-9]

**Palabras clave.** Cariotipo. Gen FMRI. PCR. Repetición del triplete CGG. Síndrome X frágil. Sitio Xq27.3. Southern blot.

**DIAGNÓSTICO DA SÍNDROMA X FRÁGIL**

**Resumo.** A síndrome X frágil (SXF) constitui a principal causa de atraso mental hereditário. Historicamente, a síndrome do X frágil (SXF) foi diagnosticada primeiro em doentes sintomáticos apenas, não sendo possível diagnosticar portadores assintomáticos. Depois de resolvido o problema de induzir especificamente a fragilidade cromossômica, também foi possível confirmar doentes diagnosticados clinicamente e detectar alguns dos portadores assintomáticos. Ma a descoberta do gene FMRI permitiu conhecer, com confiança, o status genético de qualquer um respeito à síndrome do X frágil, independentemente de pertencer ou não a uma família portadora de X frágil. A este respeito, deve ser utilizada a combinação de técnicas moleculares e citogenéticas para detectar a expansão na região de repetição do gene FMRI. Foram encontradas três classes de alelos: normais com 5-60 repetições, pré-mutados com repetições entre 60 e 200 repetições CGG e completamente mutados com uma expansão superior às 200 repetições. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S6-9]

**Palavras chave.** Cariotipo. Gene FMRI. PCR. Síndrome X frágil. Repetição do triplete CGG. Sítio frágil Xq27.3. Southern blot.