

**Artículo original****Paciente fraxa positivo con CI normal, alteraciones del lenguaje y aprendizaje**

\*Díaz García Mónica, García Sánchez Guillermina.

\*\*Mónica Díaz García. Maestra en Ciencias. Biología Celular

\*\*\*Guillermina García Sánchez. Médico Especialista en Genética

**Resumen**

Se presenta el caso de un paciente masculino de 12 años de edad con CI normal, alteraciones de lenguaje y aprendizaje. Conducta inquieta, de regular control, baja tolerancia a la frustración. Enviado para la realización del estudio de X-frágil (FRAXA).

Exploración física: asimetría facial por hipoplasia de hemicara izquierda, ojos simétricos. No hay ángulo frontonasal, base nasal estrecha, alas nasales hipoplásicas, filtrum desviado a la derecha. Cavidad oral inadecuada por selle labial, paladar óseo alto ojival, úvula central larga, movilidad velar adecuada, movilidad lingual lenta, prognatismo. Orejas grandes con lóbulos cuadrados, membranas timpánicas integras discretamente opacas bilateralmente. Macroorquidismo, pliegue transverso en ambas manos, pie plano bilateral. Lateralidad, zurdo de mano y pie. AHF. Tía materna con problemas de lenguaje. Antecedentes perinatales y postnatales sin alteraciones.

Las preparaciones cromosómicas para el estudio citogenético fueron realizadas mediante el cultivo de linfocitos utilizando tres métodos de inducción para FRAXA, se analizaron un total de 300 metafases. El resultado fue FRAXA positivo con una expresión citogenética del 8%.

Es importante realizar el estudio molecular para conocer el número de tripletas CGG que se amplificaron, determinar si se trata de una permutación o mutación, y conocer si se trata de un gen estable o inestable, ya que de esto depende su forma de segregación.

**Palabras clave:** FRAXA, X-frágil, alteraciones de lenguaje, semántica, herencia ligada al X, retraso mental, mutación dinámica, expresión citogenética, amplificación de CGG.

**Abstract**

We report on 12 years old patient, normal IQ, speech delay, learning disabilities and characteristics of behaviour: emotional liability, short lapses of attention and low tolerance to frustration, was referred for Fragile-X (FRAXA) testing.

No pathological prenatal and prenatal events were found. Heredity: aunt with delay speech. Physical features: normal hearing, midfacial hypoplasia, pseudosinofris, absence of nasofrontal angle, prognathism. Both ears were prominent with square lobes, tympanic membranes without abnormalities. The nares were broad and the alar cartilages hypoplastic, thin philtrum toward the right, obstructive hypertrophy of right turbinate, abnormal position of the teeth, the shape of the hard palate was oval and the position high, the uvula was deviated to the right. Macroorchidism, transverse fold palmar crease.

The chromosomal preparation of the cytogenetic study was performed cultivating lymphocytes using 3 methods for FRAXA induction, 300 metaphases was analyzed. The result were FRAXA positive with an expression of 8%.

Is very important to perform the molecular study to detect the number of CGG repeats and to determine if this case is either a premutation or a full mutation and know if it is a stable or unstable gene because is very important for the segregation.

**Keywords:** FRAXA, Fragile X, linguistic competence, semantics, X linked, mental retardation, dinamic mutation, cytogenetic expresión, CGG repeat lenght

\*Instituto de la Comunicación Humana / CNR.

\*\*Adscrita a la División de Investigación.

Instituto de la Comunicación Humana / CNR

\*\*\*Adscrita al Departamento de Genética.

Instituto de la Comunicación Humana / CNR.

## Introducción

El Síndrome de X-Frágil o FRAXA corresponde a un sitio frágil raro o heredable. Citogenéticamente se localiza en el cromosoma X en la banda q27.3 y generalmente se observa como una brecha de tamaño variable que implica una o ambas cromátidas y debe estar presente en por lo menos el 3% de las células analizadas y exactamente en la misma banda del cromosoma para poder ser considerado FRAXA <sup>1,2</sup>.

Molecularmente se sabe que es el resultado de un mecanismo de mutación conocido como "mutación dinámica", que resulta de la amplificación de tripletas CGG que normalmente existen en Xq27.3 en un número menor de 60 y cuando se expande a más de 200 copias se considera FRAXA <sup>3,4</sup>.

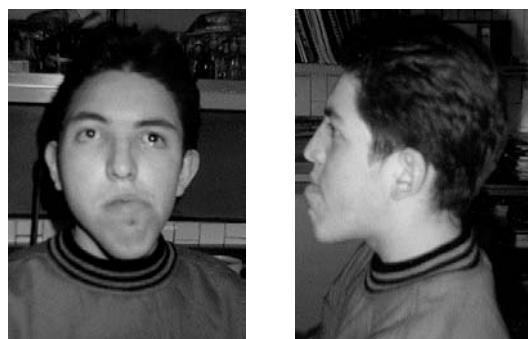
El síndrome de X-frágil se ha caracterizado como una forma de retardo mental familiar, su frecuencia es de 1 en 1200 varones y 1 en 2500 mujeres <sup>(5,6)</sup>. Los signos clínicos principales son retardo mental de moderado a grave, facies característica, cara alargada, orejas grandes en asa, macroorquidismo, alteraciones del lenguaje, problemas en el aprendizaje y conducta peculiar <sup>7,8</sup>.

La mayoría de los estudios de FRAXA han sido realizados en personas con retraso mental moderado a grave como rasgo clínico más común y no en individuos con coeficiente intelectual (CI) normal o limítrofe que cursen con alteraciones de lenguaje y aprendizaje.

Se presenta el caso de un paciente citogenéticamente FRAXA positivo con CI normal, trastornos de lenguaje y aprendizaje.

## Presentación del caso

Paciente masculino de 12 años de edad (Figura 1) asimetría facial por hipoplasia de hemicara izquierda, sensibilidad conservada, ojos simétricos oblicuos. No hay ángulo frontonasal, base nasal estrecha, alas nasales hipoplásicas, filtrum desviado a la derecha. Cavidad oral inadecuada por selle labial, desviación



**Figura 1. Asimetría facial por hipoplasia de hemicara izquierda, sensibilidad conservada, ojos simétricos oblicuos**

de mandíbula y maxilar superior hacia la derecha, oclusión dentaria clase II-III con mala posición, paladar óseo alto ojival, úvula central larga, movilidad velar adecuada, movilidad lingual lenta, prognatismo. Orejas grandes con lóbulos cuadrados, membranas timpánicas integras discretamente opacas bilateralmente. Macroorquidismo, pliegue transverso en ambas manos, pie plano bilateral. Lateralidad, zurdo de mano y pie. Conducta inquieta, de regular control, baja tolerancia a la frustración.

Alteraciones de lenguaje y aprendizaje.

AHF. Tía materna con problemas de lenguaje.

Antecedentes perinatales y postnatales sin alteraciones.

## Métodos

La determinación del CI se realizó mediante la prueba psicológica WISC-R <sup>9</sup>.

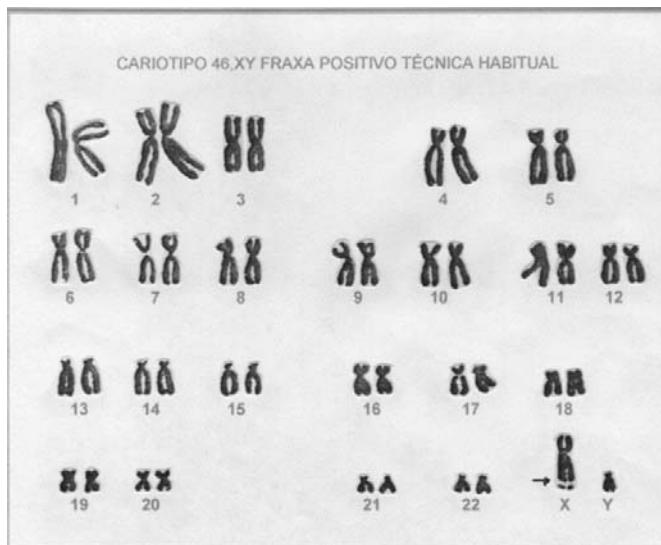
Las alteraciones del lenguaje fueron evaluadas a través de una prueba en donde se determina el aspecto fonológico, morfosintáctico, semántico, lecto-escritura y la articulación.

Las preparaciones cromosómicas fueron realizadas a partir de linfocitos de sangre periférica utilizando diferentes métodos de inducción para FRAXA según Verma <sup>10</sup> y modificadas en nuestro laboratorio de Genética.

Procedimiento para la realización del estudio citogenético. Se tomó una muestra sanguínea con una jeringa estéril y heparinizada. La sangre fue sembrada por triplicado en un medio de cultivo RPMI-1640 deficiente en ácido fólico e incubada a 37°C por 48 horas, la inducción del sitio frágil se llevó a cabo de la siguiente manera: a uno de los cultivos se le agregó FudR (fluorodesoxiuridina), al segundo AF (afidilcolina) y al tercero nada. Se incubaron los cultivos a 37 °C por 22.5 h, se les adicionó colchicina y se incubaron a 37°C por 1.5 hrs. Los cultivos se centrifugaron, se decantó el sobrenadante, se agregó solución hipotónica, resuspendiendo el botón celular en un vortex. Se dejó 30 min. a 37°C, se centrifugó, se decantó el sobrenadante. se agitó el botón agregando gota a gota 5 ml de fijador Carnoy, se dejó 30 min. a temperatura ambiente, se centrifugó, se decantó el sobrenadante, se agitó el botón agregando 5 ml de fijador, esto se repitió 10 veces hasta obtener un botón celular blanco. Se realizaron las preparaciones cromosómicas, Las laminillas fueron teñidas con Giemsa y observadas al microscopio. Se analizaron 100 metafases por método de inducción para un total de 300 metafases.

## Resultados

El paciente en la valoración psicológica presentó un CI global de 85, CI verbal de 92 y un CI



**Figura 2**

ejecutivo de 83. Se diagnosticó lenguaje con alteraciones de patogenia afásica, las alteraciones del habla encontradas fueron parafasias, perseveración, ecolalia, y jergafasia, en la lecto-escritura presentó fallas en la separación de palabras, disortografías, omitió acentos, mal uso de las mayúsculas falla en el cierre y en la separación de palabras por lo que se diagnosticó retardo lectográfico afásico con componente gnosico/praxico.

En el estudio citogenético se observó FRAXA positivo (Figura 2) con un rango de expresión citogenética variable, dependiendo del medio de inducción. (Tabla I ).

El mejor medio de inducción para FRAXA fue al que se le agregó fluorodesoxiuridina. En el caso de la afidilcolina no se observó inducción de FRAXA por que es un medio específico para sitios frágiles comunes.

## Discusión

El síndrome de X-frágil fué descrito por primera vez por Martín y Bell<sup>11</sup> en varones con retraso mental y ciertas alteraciones fenotípicas. Posteriormente Lubs<sup>12</sup> reportó una familia con retraso mental y un marcador citogenético presente en los hombres afectados. Este marcador era una constrictión o "gap" en el brazo largo del cromosoma X, la expresión de este marcador dependía del medio de cultivo utilizado<sup>13</sup>. La constrictión en el cromosoma X marcador le daba una apariencia lábil, por lo que se le dio el nombre de sitio frágil<sup>1,14</sup> actualmente se le denomina FRAXA (FRA sitio frágil, X por el cromosoma donde se ubica y A por que fué el primero observado en el X).

El paciente fenotípicamente presentó características asociadas al síndrome, su CI se encuentra en el rango de lo normal, en el quinto

taller internacional sobre X frágil Fisch<sup>15</sup> presentó datos sobre cambios longitudinales en el CI de varones FRAXA, exponiendo que no todos los hombres muestran una disminución en el CI y que esto puede estar asociado a las diferentes mutaciones en el sitio frágil. En lenguaje, su manera inapropiada de hablar, la perseveración, la ecolalia, la jergafasia, son trastornos que ya han sido reportados en otras investigaciones<sup>16,17,18</sup> se han postulado dos hipótesis acerca del por que, estas alteraciones del lenguaje se encuentran asociadas a FRAXA pero no han sido comprobadas<sup>19</sup>. Por otra parte Sudhatle<sup>15</sup> reportó que en los niños con FRAXA existen mas errores semánticos que en un niño normal y que esto parece estar relacionado con un elevado bloqueo de palabras asociadas (inhibición), problemas en el procesamiento mental para encontrar la palabra apropiada y un alto nivel de ansiedad y que también interfiere con aspectos pragmáticos del habla.

Citogenéticamente se observó el sitio frágil en el cromosoma X y con la técnica de bandas G se comprobó que se localizaba en la banda q27.3. El nivel de la expresión citogenética de FRAXA fué bajo, pero entra dentro del intervalo de confianza (debe ser mínimo 3- 6%) reportado en la literatura para poder ser diagnosticado como tal. Los niveles de expresión citogenética de FRAXA fueron diferentes con respecto al modo de inducción, lo cual coincide con la literatura<sup>20,21,22</sup>. Se observó una mayor frecuencia en el nivel de expresión de FRAXA utilizando FudR<sup>23</sup> lo que indica que con este método se obtienen mejores resultados. Es importante hacer notar que es necesario el empleo de dos técnicas diferentes para que la expresión de FRAXA sea más confiable, ya que los niveles de expresión baja darán lugar a falsos negativos.

Es importante corroborar el resultado del estudio citogenético con biología molecular, para la cuantificación de tripletas CGG repetidas, por que de ello depende poder determinar si se trata de una premutación o una mutación, si la amplificación de tripletas es estable o inestable ya que de esto depende la transmisión del gen de una generación a otra. Estos datos son importantes para poder proporcionar un diagnóstico certero y el asesoramiento genético adecuado.

## Conclusiones

Los problemas de lenguaje y aprendizaje tienen una alta incidencia en la población mexicana infantil y no presentan un fenotipo característico y en la mayoría de los casos se desconoce su etiología, puede tratarse de un FRAXA.

El análisis citogenético es una herramienta utilizada desde 1992 para detectar FRAXA, pero, en

**Tabla 1****Expresión citogenética por métodos de inducción**

RPMI-1640 número de células	Fluorodesoxiuridina número de células	Afidilcolina número de células	Total de células	% de expresión de FRAXA
2	14	0	16	8%

la actualidad su uso ya no es él optimo por la falta de sensibilidad para detectar portadores. Sin embargo en nuestro país se sigue utilizando para identificar afectados. Es importante poder realizar estudios moleculares específicos a los familiares del afectado con FRAXA para detectar a los hombres trasmisores normales y mujeres portadoras que transmiten el gen alterado a sus hijos varones y hacen portadoras obligadas a sus hijas.

**REFERENCIAS**

- 1.Chudley AE, Hagerman RJ.Fragile X-syndrome. J Pediat 1987; 110: 821-831.
2. Vuollarie LE, Webb GC, Leversha M. Fragile X testing in a diagnostic cytogenetics laboratory. J Med Genet 1989; 26: 439-442.
- 3.Yu S, Mulley J, Loesch D, Turner G, Donnelly A, Gedeon A, Hillen D, Kremer E, Lynch M, Pritchard M. Fragile X syndrome: Unique genetics of the heritable unstable elements. Am J Hum Genet 1992; 50: 968.
4. Heitz D, Devys D, Imbert G, Kretz C, Mandel JL. Inheritance of the fragile X syndrome: Size of the fragile premutation is a major determinant of the transition to full mutation. J Med Genet 1992; 29:794.
- 5.Hagerman RJ, Cronister A. Fragile X syndrome: Diagnosis, Treatment and Research.. Baltimore Johns Hopkins University Press; 1996.
6. Warren ST, Nelson DL. Advances in molecular analysis of fragile X syndrome. Jama. 1994; 271: 536-542.
7. Hagerman RJ, Staley LW, O'Conner R, Lungebeel K, Nelson D, McLean SD, Taylor A. Learning-disabled males with fragile X CGG expansion in the upper premutation size range. Pediatrics. 1996; 97: 122-126.
8. Sudhalter V, Scarborough HS, Cohen IL. Syntactic delay and pragmatic deviance in the language of fragile X males. Am J Med Genet. 1991; 38: 493-497.
9. Luria AR. Higher cortical functions in man. New York Basic Books, 1980.
10. Verma RS, Babu A. Human chromosomes. Manual of basic techniques. USA Pergamon Press, 116-124. 1989.
11. Matin JP, Bell J. A pedigree of mental defect showing sex linkage. J Neurol Neurosurg Psychiatr. 1943; 6: 154.
12. Lubs HA. A marker X chromosome. Am J Hum Genet. 1969; 21: 213.
13. Sutherland GR. Fragile sites on human chromosomes: Demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium. Science. 1977; 197: 265-266.
14. Warren TS, Sherman SL. The fragile X syndrome. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly W, Valle D., The metabolic & molecular bases of inherited disease. International edition, Eighth edition, Vol I, 1257-1289. 2001.
15. Mandel JL, Hagerman R, Froster U, Brown T, Jenkins EC, Jacobs P, Turner G, Lubs H, Neri G. Fifth international workshop on the fragile X and X-linked Mental retardation. Am J Med Gent. 1992; 43:5 27.
16. Paul r, Cohen DJ, Breg WR, Watson M, Herman S. Fragile X-syndrome: Its relation to speech and language disorders. J Speech Hear Disord. 1984; 49: 328-332.
17. Sudhalter V, Scarborough HS, Cohen IL. Syntactic delay and pragmatic deviance in the language of fragile X males. Am J Med Genet. 1991; 38: 493-497.
18. Wolf-Schein EG, Sudhalter V, Cohen IL, Fisch GS, Hanson D, Pfadt A, Hagerman R, Jenkins EC, Brown WT. Speech-language and the fragile X syndrome: Initial findings. ASHA. 1987; July, 35-38.
19. Sudhalter V, Maranion M, Brooks P. Expressive semantic deficit in the productive language of males with X syndrome. Am J Med Genet. 1992; 43: 65-71.
20. Butler MG, Mangrum T, Gupta R, Singh DN. A 15-item checklist for screening mental retarded males for the fragile X syndrome. Clin Genet. 1991; 39: 347354.
21. Mattei MG, Mattie JF, Vidal I, Giraud F. Expression in lymphocyte and fibroblast culture of the fragile X chromosome: A new technical approach. Hum Genet. 1981; 59: 166-169.
22. Barbi G, Steinbach P. Increase in the incidence of the fragile site Xq27 in prometaphases. Hun Genet 1982 61; 82.
23. Glover TW: FudR induction of the X chromosome fragile site: Evidence for the mechanism of folic acid and thymidine inhibition. Am J Hum Genet. 1981; 33: 234-242.