

Espectro de manifestaciones asociadas a X Frágil: descripción clínica y molecular de *FMR1* en una familia Mexicana

Jara-Prado Aurelio¹, Rodríguez-Violante Mayela², Sánchez-García Danihui³, Dávila-Ortiz de Montellano David José¹

¹DEPARTAMENTO DE GENÉTICA, INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA, MANUEL VELASCO SUÁREZ.

²CLÍNICA DE MOVIMIENTOS ANORMALES, INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA, MANUEL VELASCO SUÁREZ.

³UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN.

Recibido 26-agosto-2018

Aceptado 3-diciembre-2018

Publicado diciembre-2018

Resumen

Introducción: el gen *FMR1* presenta una zona de tripletes CGG cuyo número es variable en la población. La mutación completa de *FMR1* resulta generalmente en la hipermetilación anormal del gen y la pérdida de su expresión se refleja clínicamente en el Síndrome de X frágil y los estados intermedios en el expandido CGG se han relacionado al Síndrome de Temblor / Ataxia relacionado a X Frágil y a la Falla Ovárica Prematura.

Casos Clínicos: se presentan 3 pacientes, pertenecientes a la misma familia en quienes se realizó la determinación del expandido CGG de *FMR1* y su estado de metilación, así como una descripción de los cuadros clínicos que presentaban.

Conclusión: en los pacientes con alteraciones en el expandido CGG de *FMR1* las manifestaciones clínicas parecen representar un espectro continuo que va desde alteraciones de comportamiento hasta el típico síndrome de X frágil, por lo que siempre deberá mantenerse un alto índice de sospecha en pacientes con alteraciones neuropsiquiátricas de etiología no definida.

Palabras clave: *FMR1*, *FMRP*, Síndrome de X Frágil, Síndrome de Temblor Ataxia, Discapacidad Intelectual ligada al X, expandido CGG, diagnóstico molecular.

Reporte de caso clínico

Correspondencia

David José Dávila Ortiz de Montellano. Departamento de Genética, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, Manuel Velasco Suárez, Insurgentes sur 3877, col. la Fama 14269, Alcaldía Tlalpan, Ciudad de México.

E-mail: djdodem@gmail.com

2018, Jara-Prado Aurelio, et al. este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Creative Commons Attribution License CC BY 4.0 International NC, que permite el uso, la distribución y la reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredite el autor original y la fuente.

Clinical case report

Spectrum of manifestations associated with FragileX: Clinical and molecular description of FMR1 in a Mexican family

Abstract

The FMR1 gene contains an expanded CGG trinucleotide repeats a microsatellite zone CGG whose repeats number is variable in the population. The complete FMR1 mutation usually results in abnormal hypermethylation of the gene and the loss of its expression, clinically reflected in the fragile X syn-drome. The intermediate CGG repeats have been related to the Fragile X-related Tremor / Ataxia Syn-drome and Premature Ovarian Failure. In this study we present 3 related patients: mother, daughter and son, in whom the determination of the expanded CGG of FMR1 and its methylation status was carried out, as well as a description of the clinical pictures are presented. We conclude that in patients with expanded FMR1, the clinical manifestations seem to represent a continuous spectrum ranging from behavioral alterations, movement disorders and neuropathy to typical fragile X syndrome. High index of suspicion should always be maintained in patients with complex neurological and neuropsychiatric manifestations of undefined etiology.

Key words: FMR1, FMRP, Fragile X syndrome, Tremor / Ataxia Syndrome associated with Fragile X, Intellectual Disability linked to the X chromosome, expanded CGG, molecular diagnosis.

Introducción

El gen *FMR1* se identificó en el año 1991 por clonación posicional en el locus FRAXA en el brazo largo del cromosoma X, (Xq27.3 OMIM * 309550)^{1,2}. Está compuesto por 17 exones y abarca aproximadamente 18 kilobases (kb) y su producto transcripcional es un mRNA de 3.9 kb con distintos sitios de splicing. Se ha sugerido que el pre-mRNA transcripcional del gen puede generar hasta 20 isoformas de mRNA transcripcionalmente activo³. La región 5' no codificante del gen *FMR1* presenta una zona de tripletes CGG cuyo número es variable en

la población. En la población normal esta variación oscila entre 6 y 55 repeticiones, siendo la media de 29-30 repeticiones⁴ aunque esta frecuencia puede variar dependiendo de la población analizada. En México, el alelo normal de *FMR1* más frecuente es de 32 repetidos CGG, seguido de 30 y 34 repetidos (con un rango de entre 16 y 40 repetidos)^{5,6}. Al respecto, las Guías Prácticas del Colegio Americano de Genética Médica, definen a los alelos de *FMR1* como normales cuando presentan hasta 40 repeticiones CGG, de 41 - 54 repetidos se

consideran en “zona gris” o alelos intermedios, la premutación se considera entre 55 y 199 repetidos, mientras que la mutación completa es considerada cuando se encuentran 200 o más repetidos⁷.

La mutación completa de *FMR1* resulta generalmente en la hipermetilación anormal de la región CpG del promotor del gen⁸ e inhibe su expresión como consecuencia de su metilación anormal⁹. Así, la ausencia de la proteína de *FMR1* (FMRP por sus siglas en inglés) es responsable del síndrome X frágil (FXS por sus siglas en inglés; OMIM #300624), un trastorno del neurodesarrollo que ocasiona discapacidad intelectual severa de etiología hereditaria ligada al cromosoma X y con fenómeno de anticipación, la cuál es la segunda causa genética (después del síndrome de Down) y la causa más frecuente de discapacidad intelectual hereditaria en varones⁴.

Se ha observado que el FXS es ocasionado por niveles de FMRP deficientes o ausentes debidos al silenciamiento de *FMR1*: la metilación del tracto de CGG, inducida por la mutación, aparentemente inhibe su función, la cual se cree es el transporte dendrítico de mRNAs, la regulación de la traducción y la plasticidad sináptica¹⁰.

Aunque se considera que los niveles de mRNA de *FMR1* y FMRP son normales en el intervalo de premutación y por tanto no causan alteraciones¹⁰, se ha demostrado que los niveles de mRNA de *FMR1* en diversos tejidos son dos a ocho veces superiores a lo normal, a pesar de un nivel normal o ligeramente bajo de FMRP¹¹, por lo que se plantea que el exceso de mRNA *FMR1* en los portadores de premutación ejerce un efecto de ganancia de función tóxica, lo que conduce a la desregulación de varias proteínas, incluyendo Lamina A/C y varias proteínas de choque térmico o respuesta al estrés¹⁰.

En 2001 el Dr. Randi Hagerman informó sobre fenotipos patológicos, motores y cognitivos en sujetos portadores de premutación en *FMR1*, como son el síndrome de insuficiencia ovárica

primaria asociada a X frágil (FXPOI) y el síndrome de Temblor / Ataxia asociado a X frágil (FXTAS), que en conjunto se denominan Trastornos Asociados a X Frágil (FXAD)¹², generando criterios diagnósticos específicos para estas entidades¹³. Sin embargo, al momento, existe evidencia de que los fenotipos asociados a alteraciones en el expandido CGG de *FMR1* pueden ser más extensos, incluyendo una gran gama de manifestaciones, por lo que se ha llegado a acuñar el término de “Espectro de alteraciones en X frágil”¹⁴ llegando a considerarse como diagnóstico diferencial en diversas entidades neurológicas.

Actualmente se propone que la presencia de manifestaciones neurológicas en sujetos portadores de alelos largos de *FMR1* (en rango de zona gris o premutación) puede ser más diversa a lo antes reportado, incluyendo fenotipos que se sobrepone con alteraciones psiquiátricas, alteraciones de comportamiento, neurodesarrollo y neuropatías, entre otros^{10,14-15}.

En la población general, la premutación en *FMR1* se observa en aproximadamente 1/250 mujeres y 1/800 varones, mientras que la mutación completa es mucho menos frecuente (1/2500-4000), estos datos varían de acuerdo a la población estudiada; por ejemplo, en España, la prevalencia estimada de portadores de la premutación es de 1/130 varones y 1/250 mujeres⁹ mientras que en México es desconocida, sin embargo; se han observado diferencias entre la longitud de los alelos normales en población mestiza y e indígena⁶.

Presentación de los casos clínicos

A continuación, se describen tres individuos pertenecientes a la misma familia (*Figura 1*) que acudieron a la consulta al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”, en la Ciudad de México, y fueron atendidos en la clínica de Movimientos Anormales y el Departamento de Genética guardando apego a la

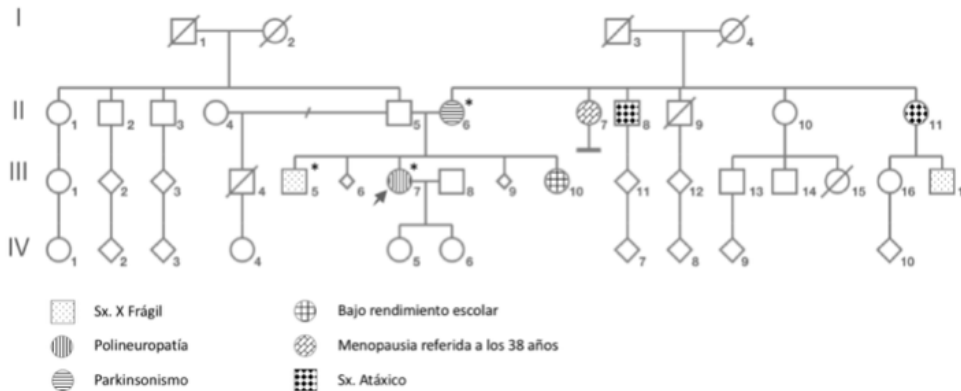
legislación local vigente, así como a la declaración de Helsinki.

Para establecer el diagnóstico de certeza en los casos analizados, previo consentimiento informado y aprobación por los comités de Investigación y Bioética locales, se extrajo DNA leucocitario a partir de sangre periférica por métodos estandarizados. En los tres casos se determinó la longitud del expandido CGG de *FMR1* con el Kit comercial *AmplideX® PCR/CE FMR1* y su nivel de metilación con

el Kit comercial *AmplideX® mPCR FMR1 (Asuragen®)* respectivamente, de acuerdo a lo descrito por la literatura y recomendaciones del proveedor^{16,17} empleando los instrumentos *MultiGene™ OptiMax Thermal Cycler (LabNet®, USA)* y *Applied Biosystems® 3130 Genetic Analyzer*¹⁸.

Las características clínicas y hallazgos en imagen por resonancia magnética de encéfalo (MRI) de los pacientes presentados se muestran en la *Tabla 1*.

Figura 1. Genealogía



Los pacientes referidos en el presente reporte son II6, III5 y III7 quien fue el caso índice

Tabla 1. Características clínicas y hallazgos en resonancia magnética de encéfalo (MRI)

Sujeto	Edad	Clínica	MRI
II6	65 años	Temblo de intención en hemicuerpo derecho; temblor de reposo en lengua marcha sin brazo; bradicinecia; bradilalia, rigidez oromandibular. Hipoacusia mixta leve. Menopausia 41 años.	Normal
III5	35 años	Discapacidad intelectual, facies alargada con pabellones auriculares prominentes, macrorquidismo, movimientos coreoatetósicos.	Atrofia generalizada
III7	40 años	Bajo rendimiento escolar (CI límite inferior); Facies alargada, hipotonía generalizada con inestabilidad a la marcha, Neuropatía sensitiva para vía propioceptiva de predominio derecho. Biopsia muscular con cambios miopáticos inespecíficos.	Normal

La MRI en T2 Flair realizada en II6 y III7 se encontró sin alteraciones y en III5 se observó atrofia generalizada, sin embargo, en los tres casos el pedúnculo cerebeloso medio se encontró sin alteraciones (*Figura 2*).

El estudio molecular mostró que el paciente II6 era portador de un alelo de *FMR1* normal (32 repetidos CGG con un porcentaje de metilación del 42%) y un alelo en rango de premutación (87 repetidos CGG con un porcentaje de metilación del 78%). El paciente III5 presentó un único alelo en rango de mutación (>200 repetidos CGG y 100% de metilación), mientras que el paciente III7 presentó un alelo normal (32 repetidos CGG con 12% de metilación) y un alelo en rango de mutación completa (>200 repetidos CGG con solo 47% de metilación) (*Figura 3*).

Figura 2. Hallazgos por MRI Flair T2. A) Paciente masculino de 70 años de edad con diagnóstico clínico y molecular de FXTAS. Flecha: se observa hiperintensidad de pedúnculo cerebeloso medio (signo MPC) típico de FXTAS. B) paciente II6; C) paciente III5 D) paciente III7, en los tres pacientes presentados no se observa el signo MPC

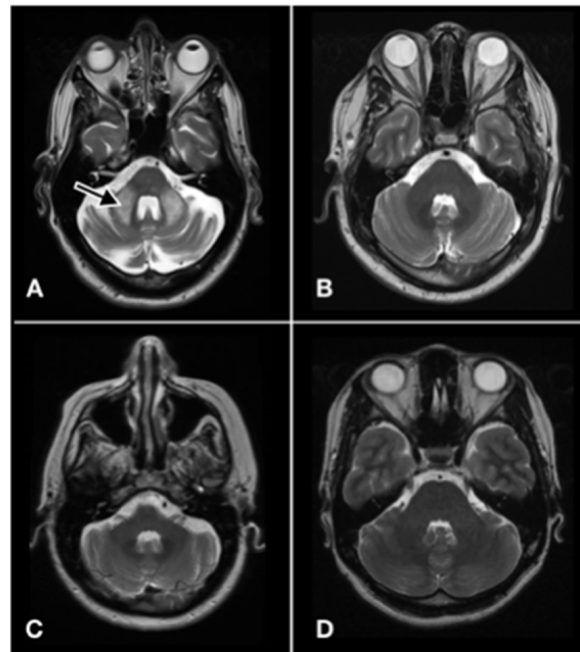


Figura 3. Hallazgos moleculares de *FMR1* (PCR/CE; mPCR); PCR/CE: Reacción en cadena de la polimerasa con triple cebador; mPCR: Reacción en cadena de polimerasa sensible a metilación; NZ: Longitud normal; GZ: Zona gris; PM: Pre Mutación; FM: Mutación Completa

Sujeto	Resultado molecular	NZ	GZ	PM	FM		
II6	Alelo 1: 32 repetidos 42% de metilación Alelo 2: 87 repetidos 78% de metilación						PCR/CE
							mPCR
III5	Alelo: >200 repetidos 100% de metilación						PCR/CE
							mPCR
III7	Alelo 1: 32 repetidos 12% de metilación Alelo 2: >200 repetidos 47% de metilación						PCR/CE
							mPCR

Las diferencias observadas entre las longitudes de los alelos en los tres pacientes, así como sus diferentes grados de metilación, deben condicionar distintos niveles de transcripción del mRNA de *FMR1* y diferentes grados de expresión de FMRP en los pacientes II6 y III7 que condicionan las evidentes diferencias fenotípicas; de la misma forma, la mutación con metilación completa en el paciente III5 debe condicionar una deficiencia completa de FMRP, lo que explica su cuadro clínico típico de FXS.

Discusión

Al comparar los hallazgos fenotípicos en los tres pacientes, así como su correlación genotípica, es claro que, en las alteraciones del expandido CGG de FMRP, más que condicionar fenotipos distintos entre sí, existe un espectro continuo desde portadores de premutación sanos hasta pacientes con FXS, incluyendo fenotipos

caracterizados por neuropatía, alteraciones de movimientos, alteraciones psiquiátricas y cognitivas, así como los clásicamente descritos (FXTAS típico y FXPOI)¹⁹.

De esta manera, en pacientes con alteraciones neuropsiquiátricas, con o sin antecedentes familiares o hallazgos por MRI que orienten a alteraciones en *FMR1*, debe mantenerse una alta sospecha como diagnóstico diferencial.

Agradecimientos

Se agradecen las facilidades prestadas por el Departamento de Genética y a la Clínica de Movimientos Anormales del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía y a la Universidad Nacional Autónoma de México así como el apoyo económico prestado por CONACyT (2015-2-261271) para la realización del presente reporte."

Bibliografía

1. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 1991; 31;65(5):905-14. PubMed PMID: 1710175. Epub 1991/05/31.
2. Capelli LP, Goncalves MR, Kok F, Leite CC, Nitrini R, Barbosa ER, et al. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: intrafamilial variability and the size of the FMR1 premutation CGG repeat. *Movement disorders : official J Mov Disorder Soc* 2007; 30;22(6):866-70. PubMed PMID: 17290448.
3. Eichler EE, Richards S, Gibbs RA, Nelson DL. Fine structure of the human FMR1 gene. *Hum Mol Genet* 1994; 3(4):684-5. PubMed PMID: 8069329. Epub 1994/04/01.
4. Capelli LP, Goncalves MR, Leite CC, Barbosa ER, Nitrini R, Vianna-Morgante AM. The fragile x-associated tremor and ataxia syndrome (FXTAS). *Arquivos de neuro-psiquiatria* 2010; 68(5):791-8. PubMed PMID: 21049196.
5. Gonzalez-del Angel A, Vidal S, Saldana Y, del Castillo V, Angel Alcantara M, Macias M, et al. Molecular diagnosis of the fragile X and FRAXE syndromes in patients with mental retardation of unknown cause in Mexico. *Annales de genetique* 2000; 43(1):29-34. PubMed PMID: 10818218.
6. Barros-Nunez P, Rosales-Reynoso MA, Sandoval L, Romero-Espinoza P, Troyo-Sanroman R, Ibarra B. Genetic variation of the FMR1 gene among four Mexican populations: Mestizo, Huichol, Purepecha, and Tarahumara. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council* 2008; 20(3):259-63. PubMed PMID: 18172867.
7. Hall DA, O'Keefe J A. Fragile x-associated tremor ataxia syndrome: the expanding clinical picture, pathophysiology, epidemiology, and update on treatment. *Tremor and other hyperkinetic movements* 2012; 2:http://tremorjournal.org/article/view/56. PubMed PMID: 23439567. Pubmed Central PMCID: 3570061.
8. Bell MV, Hirst MC, Nakahori Y, MacKinnon RN, Roche A, Flint TJ, et al. Physical mapping across the fragile X: hypermethylation and clinical expression of the fragile X syndrome. *Cell* 1991; 22, 64(4):861-6. PubMed PMID:

1997211. Epub 1991/02/22.
9. Hagerman R, Hagerman P. Advances in clinical and molecular understanding of the FMR1 premutation and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Lancet Neurol* 2013; 12(8):786-98. PubMed PMID: 23867198. Pubmed Central PMCID: 3922535.
 10. Bourgeois JA, Coffey SM, Rivera SM, Hessel D, Gane LW, Tassone F, et al. A review of fragile X premutation disorders: expanding the psychiatric perspective. *J clin psyc* 2009;70(6):852-62. PubMed PMID: 19422761. Pubmed Central PMCID: PMC2705685. Epub 2009/05/09.
 11. Lieb-Lundell CC. Three Faces of Fragile X. *Phys Ther*. 2016; 96(11):1782-90. PubMed PMID: 27340198. Epub 2016/11/03.
 12. Hagerman RJ, Leehey M, Heinrichs W, Tassone F, Wilson R, Hills J, et al. Intention tremor, parkinsonism, and generalized brain atrophy in male carriers of fragile X. *Neurol* 2001; 10;57(1):127-30. PubMed PMID: 11445641.
 13. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey M, Grigsby J, Zhang L, Brunberg JA, et al. Fragile X premutation tremor/ataxia syndrome: molecular, clinical, and neuroimaging correlates. *Ame J hum genetics* 2003; 72(4):869-78. PubMed PMID: 12638084. Pubmed Central PMCID: 1180350.
 14. Lozano R, Rosero CA, Hagerman RJ. Fragile X spectrum disorders. *Intractable Rare Dis Res* 2014; 3(4):134-46. PubMed PMID: 25606363. Pubmed Central PMCID: PMC4298643. Epub 2015/01/22.
 15. Frait A, Vittal P, Szewka A, Bernard B, Berry-Kravis E, Hall DA. New observations in the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) phenotype. *Front Genet* 2014; 5:365. PubMed PMID: 25368631. Pubmed Central PMCID: PMC4201107. Epub 2014/11/05.
 16. Seneca S, Lissens W, Endels K, Caljon B, Bonduelle M, Keymolen K, et al. Reliable and sensitive detection of fragile X (expanded) alleles in clinical prenatal DNA samples with a fast turnaround time. *J Mol Diag* 2012; 14(6):560-8. PubMed PMID: 22921311. Epub 2012/08/28.
 17. Grasso M, Boon EM, Filipovic-Sadic S, van Bunderen PA, Gennaro E, Cao R, et al. A novel methylation PCR that offers standardized determination of FMR1 methylation and CGG repeat length without southern blot analysis. *J Mol Diag* 2014 ;16(1):23-31. PubMed PMID: 24177047. Pubmed Central PMCID: PMC3873488. Epub 2013/11/02.
 18. Rzonca SO, Gos M, Szopa D, Sielska-Rotblum D, Landowska A, Szpecht-Potocka A, et al. Towards a Better Molecular Diagnosis of FMR1-Related Disorders-A Multiyear Experience from a Reference Lab. *Genes* 2016 02;7(9). PubMed PMID: 27598204. Pubmed Central PMCID: PMC5042390. Epub 2016/09/07.
 19. Botta-Orfila T, Tartaglia GG, Michalon A. Molecular Pathophysiology of Fragile X-Associated Tremor/Ataxia Syndrome and Perspectives for Drug Development. *Cerebellum* 2016;15(5):599-610. PubMed PMID: 27277287. Epub 2016/06/10.

Artículo sin conflicto de interés

© Archivos de Neurociencias