



REVISIÓN

Aspectos clínicos, moleculares y farmacológicos en los trastornos asociados a gen 1 del retraso mental del X frágil



A. Pugin¹, V. Faundes^{*,1}, L. Santa María, B. Curotto, S. Aliaga, I. Salas, P. Soto, P. Bravo, M.I. Peña y M.A. Alliende

Laboratorio de Genética y Enfermedades Metabólicas, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, Santiago, Chile

Recibido el 7 de mayo de 2014; aceptado el 23 de octubre de 2014

Accesible en línea el 17 de diciembre de 2014

PALABRAS CLAVE

Discapacidad intelectual;
Proteína FMRP;
Trastornos del espectro autista;
Proteínas de unión al RNA;
Metilación del ADN

Resumen

Introducción: El síndrome X frágil (SXF) es la causa más frecuente de discapacidad intelectual hereditaria y se asocia a un amplio espectro de enfermedades en las distintas generaciones de una misma familia. En este trabajo se revisan las manifestaciones clínicas de los trastornos asociados al X frágil y el espectro de mutaciones en el gen 1 del retraso mental del X frágil (*FMR1*), la neurobiología de la proteína del retraso mental X frágil (*FMRP*) y una visión general de los potenciales blancos terapéuticos y el asesoramiento genético.

Desarrollo: Esta enfermedad es causada por una amplificación de las repeticiones CGG (> 200 repeticiones) en la región 5' no traducida del gen *FMR1*, que lleva al déficit o ausencia de la proteína *FMRP*. La *FMRP* es una proteína de unión al ARN que regula la traducción de varios genes que son importantes en la plasticidad sináptica y la maduración dendrítica. Se cree que expansiones de las repeticiones CGG en el rango de premutación (55-200 repeticiones) generan un aumento en los niveles de mRNA de *FMR1*, lo que produciría toxicidad neuronal. Esto se manifiesta en problemas del desarrollo tales como autismo y problemas de aprendizaje, así como en patologías neurodegenerativas como el síndrome de temblor/ataxia asociado al X frágil (FXTAS).

Conclusiones: Los avances en la identificación de las bases moleculares del SXF pueden servir como modelo para comprender las causas de las enfermedades neuropsiquiátricas y probablemente conducirán al desarrollo de tratamientos cada vez más específicos.

© 2014 Sociedad Española de Neurología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: vfaundes@inta.cl (V. Faundes).

¹ Estos autores contribuyeron de igual manera en el trabajo.

KEYWORDS

Intellectual disability;
Fragile X mental
retardation protein;
Autism spectrum
disorders;
Ribonucleic
acid-binding proteins;
Deoxyribonucleic acid
methylation

Clinical, molecular, and pharmacological aspects of *FMR1* related disorders**Abstract**

Background: Fragile x syndrome, the most common inherited cause of intellectual disability, is associated with a broad spectrum of disorders across different generations of a single family. This study reviews the clinical manifestations of fragile x-associated disorders as well as the spectrum of mutations of the fragile x mental retardation 1 gene (*FMR1*) and the neurobiology of the fragile x mental retardation protein (FMRP), and also provides an overview of the potential therapeutic targets and genetic counselling.

Development: This disorder is caused by expansion of the CGG repeat (> 200 repeats) in the 5' prime untranslated region of *FMR1*, resulting in a deficit or absence of FMRP. FMRP is an RNA-binding protein that regulates the translation of several genes that are important in synaptic plasticity and dendritic maturation. It is believed that CGG repeat expansions in the premutation range (55 to 200 repeats) elicit an increase in mRNA levels of *FMR1*, which may cause neuronal toxicity. These changes manifest clinically as developmental problems such as autism and learning disabilities as well as neurodegenerative diseases including fragile x-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS).

Conclusions: Advances in identifying the molecular basis of fragile x syndrome may help us understand the causes of neuropsychiatric disorders, and they will probably contribute to development of new and specific treatments.

© 2014 Sociedad Española de Neurología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Se estima que entre 1-3% de la población mundial presenta discapacidad intelectual (DI)¹, siendo el síndrome de X frágil (SXF) la causa más frecuente de DI hereditaria en varones² y la principal enfermedad monogénica asociada a autismo³. El SXF afecta a uno de cada 4.000 varones y a una de cada 8.000 mujeres², pero podría ser más frecuente si se consideran los trastornos de conducta y DI leves⁴. Casi la mitad de los casos de DI ligada al cromosoma X corresponden a SFX⁵.

El SXF presenta una herencia dominante ligada al cromosoma X, con penetrancia incompleta y forma parte de un grupo de enfermedades asociadas a mutaciones del gen 1 del retardo mental X frágil (*FMR1*), denominadas trastornos asociados al X frágil (TASXF), entre los cuales se encuentran el síndrome de temblor/ataxia asociado al X frágil (FXTAS) y el síndrome de insuficiencia ovárica primaria asociada al X frágil (FXPOI)⁶.

El SXF se caracteriza clínicamente por DI y rasgos físicos tales como orejas grandes y prominentes, hiperlaxitud de las articulaciones y pie plano⁷. En varones se describe estrabismo, facie alargada con mentón prominente, pectum excavatum, prolapso de la válvula mitral y macroorquidismo después de los 8 años^{8,9}. Sin embargo, un 30% de los casos no presentan los rasgos fenotípicos clásicos ni historia familiar de DI, manifestándose como retraso del lenguaje o trastorno de déficit atencional con/sin hiperactividad (TDAH), lo que dificulta y retrasa el diagnóstico⁷.

El compromiso cognitivo se manifiesta precozmente, con retraso del desarrollo psicomotor¹⁰, movimientos repetitivos, posturas inusuales, pobre contacto ocular y aislamiento social¹¹. En los niños que tienen rasgos autistas (30%), el compromiso cognitivo, el retraso del lenguaje y los

trastornos adaptativos son más severos¹². En algunos casos el retraso psicomotor puede ser leve o incluso ser inicialmente normal, manifestándose posteriormente como trastorno de aprendizaje¹³. El 85% de los hombres y un 25-30% de las mujeres tienen un coeficiente intelectual menor de 70; entre las mujeres se observa con mayor frecuencia una inteligencia normal o límite¹⁴. La mayoría de los pacientes logra desarrollar un lenguaje oral, conocimientos generales y destrezas en las actividades de la vida diaria^{15,16}.

Por otra parte, un 13-18% de los varones y un 4% de las mujeres presentan epilepsia, con convulsiones generalizadas o parciales complejas^{17,18}. La epilepsia es 3 veces más frecuente en pacientes con SXF que presentan rasgos autistas¹⁷.

Los pacientes manifiestan además importantes trastornos emocionales, suelen ser ansiosos, hiperactivos y en algunos casos son irritables, inflexibles y muestran agresividad^{19,20}. En las mujeres son más frecuentes los problemas emocionales, incluyendo depresión, ansiedad y retraimiento²¹.

Algunos pacientes pueden tener un fenotipo similar al síndrome de Prader Willi, con DI, obesidad, hiperfagia y retraso de la pubertad, que puede asociarse a autismo, pero no presentan hipogonadismo²².

Mutaciones en el gen 1 del retraso mental del X frágil (*FMR1*) y trastornos asociados

En más del 98% de los casos el SXF es causado por una *mutación completa (MC)*, que es producida por la amplificación del triplete citosina-guanina-guanina (CGG) (> 200 repeticiones) en la región 5' no traducida del gen *FMR1*, locus FRAXA ubicando en Xq27.3²³.

Los individuos sanos tienen entre 4-45 repeticiones CGG en esta región, lo cual permite la estabilidad durante la replicación del ADN. Amplificaciones de más de 50 repeticiones confieren inestabilidad a la región, pudiendo transformarse en una mutación completa en las siguientes generaciones²⁴.

La MC produce una hipermetilación de la isla de citosina-fosfato-guanina (CpG) ubicada en la región promotora del gen *FMR1*, lo que provoca un cambio conformacional de la cromatina, volviéndose más condensada. Dicha condensación produce la inhibición completa o casi total de la transcripción del gen, niveles escasos o nulos de su ácido ribonucleico mensajero (mRNA) y una reducción significativa de los niveles de su producto o su completa ausencia, la proteína del retardo mental X frágil (FMRP)^{25,26}. Sin embargo, también se ha visto últimamente que el silenciamiento del gen *FMR1* se produciría por su propio mRNA expandido a través de la hibridación entre las porciones complementarias de repeticiones CGG, formando un complejo RNA-DNA e impidiendo su expresión²⁷.

Con menor frecuencia, el SXF puede ocurrir por una mutación puntual, delección del gen *FMR1* o su promotor²⁸, o por una expansión menor de las repeticiones CGG (premutación [PM]) que es capaz de producir bajos niveles de FMRP y DI^{29,30}.

Las diferencias fenotípicas observadas entre mujeres con MC, y entre hombres y mujeres con MC, se explican por los distintos niveles de expresión de FMRP y por una inactivación no al azar del cromosoma X mutado. Las mujeres con inactivación preferencial del cromosoma X normal presentan mayor DI y niveles bajos de FMRP^{31,32}, presentando un fenotipo físico y neuropsiquiátrico similar al observado en varones, pero más leve.

Una amplificación del triplete CGG entre 55-200 repeticiones se denomina PM, condición que se asocia a inestabilidad replicativa, especialmente durante la

gametogénesis femenina. En la población general se presenta en una de 113-259 mujeres y en uno de 260-813 varones². La PM no afecta sustancialmente la expresión de la proteína FMRP, sin embargo, expansiones sobre 100 repeticiones CGG frecuentemente llevan a una MC y SXF en la próxima generación²⁹.

En portadores de PM se describe leve compromiso cognitivo y problemas de conducta, especialmente en varones³³. El compromiso clínico está relacionado con la toxicidad producida por los niveles elevados de mRNA del gen *FMR1*^{8,34}. La PM también se asocia a insuficiencia ovárica primaria (FXPOI, 20% de las mujeres portadoras), manifestándose con el cese de menstruaciones antes de los 40 años, y a síndrome de temblor/ataxia asociado a X frágil (FXTAS) en varones (40%) y mujeres (8-16%) en edad adulta^{35,36}. El FXTAS tiene criterios diagnósticos bien establecidos, y aunque se están cuestionando actualmente, son de gran utilidad para establecer un diagnóstico de definitivo, probable o posible de FXTAS³⁷ (tabla 1). Dado que un 2-4% de los hombres con ataxia cerebelar de inicio tardío (después de los 50 años) podrían ser portadores de una PM, se recomienda estudiar el número de repeticiones CGG en *FMR1* en todas las personas mayores de esta edad con este tipo de sintomatología^{38,39}. Hombres y mujeres portadoras de PM tienen además mayor frecuencia de enfermedades autoinmunes, incluyendo hipotiroidismo y fibromialgia³⁷.

La expansión de las repeticiones CGG es mitóticamente inestable favoreciéndose la heterogeneidad somática y la presencia de mutaciones en *mosaico*. Un individuo *mosaico para el tamaño del alelo* tiene alelos con MC y alelos con PM (12% de los pacientes afectados con SXF)^{5,30}. También es posible que ocurra un *mosaico de metilación*, término que se refiere a la presencia de alelos con MC hipermetilados y alelos desmetilados amplificados en el rango de PM y/o MC (6% de los pacientes). En los casos de mutación en mosaico

Tabla 1 Criterios diagnósticos y categorías diagnósticas de FXTAS^a

Criterios mayores	Criterios menores	
<i>Molecular</i>	<i>Radiológicos (a la RM)^b</i>	
55-200 repeticiones	Lesiones hiperintensas en secuencias T2 en sustancia blanca cerebral	
<i>Radiológicos (a la RM*)</i>	Atrofia generalizada moderada a severa	
Lesiones hiperintensas en secuencias T2 en sustancia blanca de pedúnculos cerebelosos medios	<i>Clínicos</i>	
<i>Clínicos</i>	Parkinsonismo	
Temblor de intención	Déficit moderado a severo de la memoria de corto plazo	
Marcha atáxica	Déficit de funciones ejecutivas	
<i>Neuropatológicos</i>		
Inclusiones FXTAS		
Categorías diagnósticas: requieren de la presencia del criterio molecular		
<i>Definitivo</i>	<i>Probable</i>	<i>Posible</i>
Presencia de un signo radiológico mayor más (i) un criterio clínico mayor o (ii) la presencia de inclusiones FXTAS	Presencia de (i) un criterio radiológico mayor y un criterio clínico menor o (ii) 2 criterios clínicos mayores	Presencia de un criterio radiológico menor y un criterio clínico mayor

^a Adaptada de Hagerman, Hagerman³⁷.

^b RM: resonancia magnética.

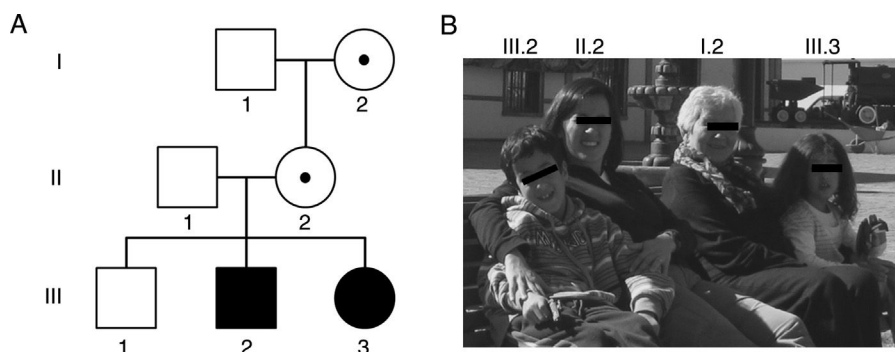


Figura 1 Familia y su genealogía con espectro de desórdenes relacionados con el SXF. A) En la genealogía, los individuos I.2 y II.2 presentan una premutación de 83 y 96 tripletes CGG y manifestaron insuficiencia ovárica prematura a los 35 y 36 años, respectivamente. Los individuos III.2 y III.3 son hermanos que presentan una mutación completa de 370 y 570 tripletes CGG, y fueron diagnosticados con SXF a los 5 y un año, respectivamente. B) Fotos de los integrantes de la familia descrita y su respectiva ubicación en la genealogía.

hay cantidades variables de FMRP y un mayor coeficiente intelectual^{14,30}.

Otro punto a destacar es que las repeticiones CGG pueden verse interrumpidas por tripletes AGG, cuya cantidad y posición son importantes en la estabilidad replicativa y por ende, en la posibilidad de expansión en la siguiente generación. De hecho, se ha establecido que el riesgo de expansión a MC en hijos de madres portadoras de una PM disminuye en un 60% si la madre presenta 2 interrupciones AGG dentro de una repetición total de entre 70-80 tripletes CGG, en comparación con aquellas madres que no tienen ninguna interrupción dentro del mismo rango⁴⁰.

Por último, expansiones entre 45-54 CGG corresponden a la *zona intermedia* o *zona gris* que intercala a alelos entre los rangos normales y PM. Las expansiones de la zona gris no están claramente asociadas a un fenotipo determinado, sin embargo, pueden llevar a una MC al cabo de 2 generaciones y las personas portadoras tendrían un riesgo levemente incrementado de presentar FXTAS y/o FXPOI^{37,41}. De esta manera, el amplio espectro clínico de las mutaciones del gen *FMR1* y los desórdenes asociados hacen que las familias presenten manifestaciones genotípicas y fenotípicas diversas a través de las generaciones^{42,43} (fig. 1 y tabla 2).

Neurobiología

Se ha visto en el último tiempo que el gen *FMR1* ejerce su función a través de 2 mecanismos: el más conocido está en relación con su producto proteico FMRP y el otro en relación con su otro producto, el RNA largo no codificante (lncRNA) *FMR4* o *FMR1-AS1*. Los lncRNA son genes que codifican RNA que participan en la regulación transcripcional o traduccional de otros genes, tanto de manera positiva como negativa^{44,45}. El promotor del gen *FMR1* codifica en la orientación antisentido el gen *FMR4*, el cual se superpone a la región de repeticiones CGG y la isla CpG. De la misma forma que *FMR1*, *FMR4* está silenciado en pacientes con MC y está sobreexpresado en pacientes portadores de PM⁴⁵ (fig. 2).

La proteína FMRP tiene un máximo de 631 aminoácidos y contiene 2 motivos de unión a RNA, señales de localización

nuclear y de exportación nuclear, y 2 zonas de interacción proteína-proteína⁴⁶. Los niveles de expresión de FMRP varían según el tejido y el tipo de célula de un mismo tejido. Por ejemplo, en el ser humano se expresa ampliamente en epitelios y en el sistema nervioso central. Dentro de este último, se expresa en troncoencéfalo, estructuras derivadas del prosencéfalo y cerebelo, aunque en mayor medida en neuronas que en la glía. Finalmente, en las neuronas la proteína se concentra en el pericarion, dendritas proximales y en las sinapsis⁴⁷.

Con respecto a la función de la FMRP, se han descrito diversas vías por la cuales regularía la expresión de otros genes y la sinapsis neuronal (fig. 3)⁴⁸. En condiciones normales, la FMRP es una proteína que se une a diversos mRNA⁴⁹, interactúa con el ribosoma 80S⁵⁰ y disminuye la actividad de la cinasa ribosomal S6K1⁴⁹, impidiendo de esta forma la traducción de diversas proteínas sinápticas como son la proteína precursora de amiloide (APP), la proteína tirosinofosfatasa enriquecida en el estriado (STEP), la proteína Arc y la metaloproteína 9 (MMP-9)^{48,51,52}. Dichas proteínas favorecen la internalización de receptores AMPA, la depresión a largo plazo (LTD) en el hipocampo y cerebelo, y a la remodelación tisular a nivel sináptico, mientras que a su vez disminuyen la potenciación a largo plazo (LTP) en el hipocampo, la corteza y las amígdalas^{48,49,51}. Además, la FMRP favorece la expresión de receptores GABA tipo A (GABAR-A) y de la descarboxilasa de ácido glutámico (GAD), la enzima limitante en la síntesis de GABA^{48,53}. Finalmente, todo esto se traduce en que la FMRP participa en la maduración de las espinas dendríticas y en la sinaptogénesis⁵⁴, en el transporte y regulación del transporte de proteínas en la dendrita⁵⁵, y actúa como un represor traduccional en la sinapsis, regulando los niveles de mRNA de proteínas involucradas en la estructura y función sináptica⁵⁶, jugando un rol clave en la formación de patrones regulados de mRNA a nivel subcelular y temporal durante el desarrollo⁵⁷.

La ausencia de FMRP lleva a diversas alteraciones en distintos sistemas de neurotransmisores. La principal y más estudiada es la desregulación de la vía del glutamato, particularmente a través de los receptores metabotrópicos (mGluR) y las proteínas río abajo de estos. Debido a la pérdida de la función reguladora de FMRP, se produce

Tabla 2 Tipos de mutaciones en *FMR1* y manifestaciones clínicas asociadas^a

Tipo de mutación	Número de repeticiones CGG	Estado de metilación de <i>FMR1</i>	Manifestaciones clínicas	
			Hombre	Mujer
Zona gris	45-54	No metilado	En riesgo de FXTAS	En riesgo de FXPOI y FXTAS
Premutación (PM)	55-200	No metilado	En riesgo de FXTAS	En riesgo de FXPOI y FXTAS
Mutación completa (MC)	> 200	Completamente metilado	100% con discapacidad intelectual (DI) y fenotipo físico clásico	~ 50% con DI y fenotipo físico clásico pero más leve, ~ 50% con intelecto normal
Mosaicismo del tamaño del alelo	Varía entre PM y MC en distintas líneas celulares	Parcial: desmetilado en células con PM, metilado en células con MC	~ 100% con DI aunque con mayor funcionamiento que en hombres con MC.	Altamente variable: desde intelecto normal a DI con fenotipo físico leve
Mosaicismo de metilación	> 200	Parcial: mezcla de líneas celulares metiladas y no metiladas	El fenotipo físico suele ser más sutil	
Mutación completa no metilada	> 200	No metilado	Con intelecto que varía entre DI leve a intelecto normal bajo, fenotipo físico leve	

^a Adaptada de GeneReviews³⁹.

una sobreexpresión de APP, STEP, Arc y MMP-9, que son los efectores finales de la vía de mGluR (fig. 3)^{48,51}. La sobreactivación de la vía glutamatérgica también se debe a la falta de contrarregulación por la vía de GABA debido a la subexpresión de receptores GABAR-A y la disminución en la síntesis de este neurotransmisor⁵³. Este sistema además inhibe la liberación de glutamato, por lo que la falta de FMRP lleva indirectamente a una mayor activación de los mGluR⁴⁸. Por otro lado, estos receptores glutamatérgicos también conducen a la inhibición de la adenilato ciclasa

(AC)⁵⁸ y una subsecuente disminución en la liberación de GABA. Por último, las vías endocanabinoide y de acetilcolina también participan en la mayor activación de la vía glutamatérgica al interactuar con las proteínas mTOR y ERK, las cuales son proteínas de transducción de señales río abajo de los mGluR, y que se ven activadas por los receptores canabinoide (CBR) y muscarínicos de acetilcolina (mAChR)^{48,59} (fig. 3). Todo esto lleva a una debilidad de las conexiones sinápticas⁶⁰⁻⁶³ y una mayor susceptibilidad a las convulsiones⁶⁴.

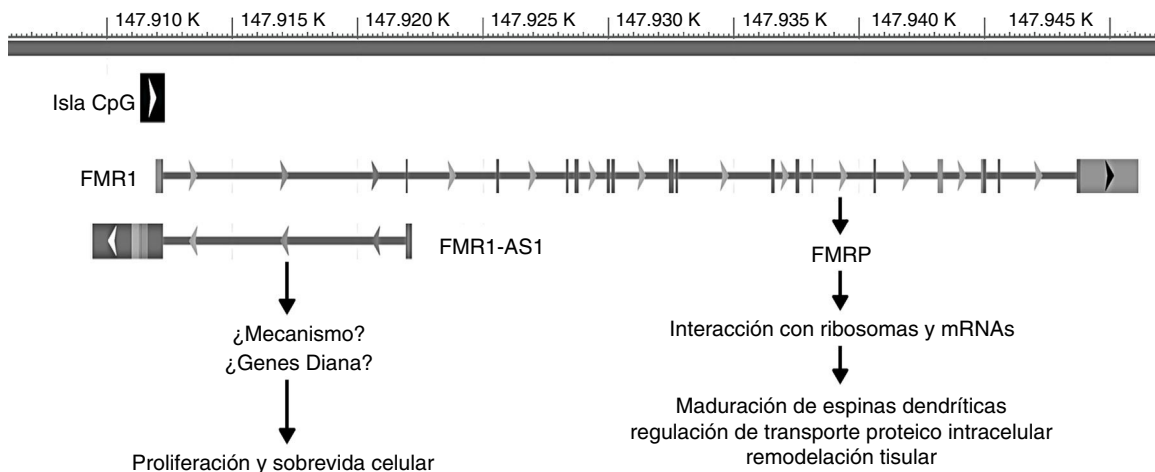


Figura 2 Ubicación genómica y rol de *FMR1* y *FMR1-AS1*. La barra gris representa la posición genómica (en kilobases [K]) de ambos genes en el cromosoma X desde el extremo p-terminal. La caja negra simboliza la isla CpG involucrada en el silenciamiento de ambos genes en la mutación completa. Las flechas ubicadas en esta isla así como en cada gen simbolizan la orientación de la transcripción. Las líneas verticales en *FMR1* representan los exones de este gen.

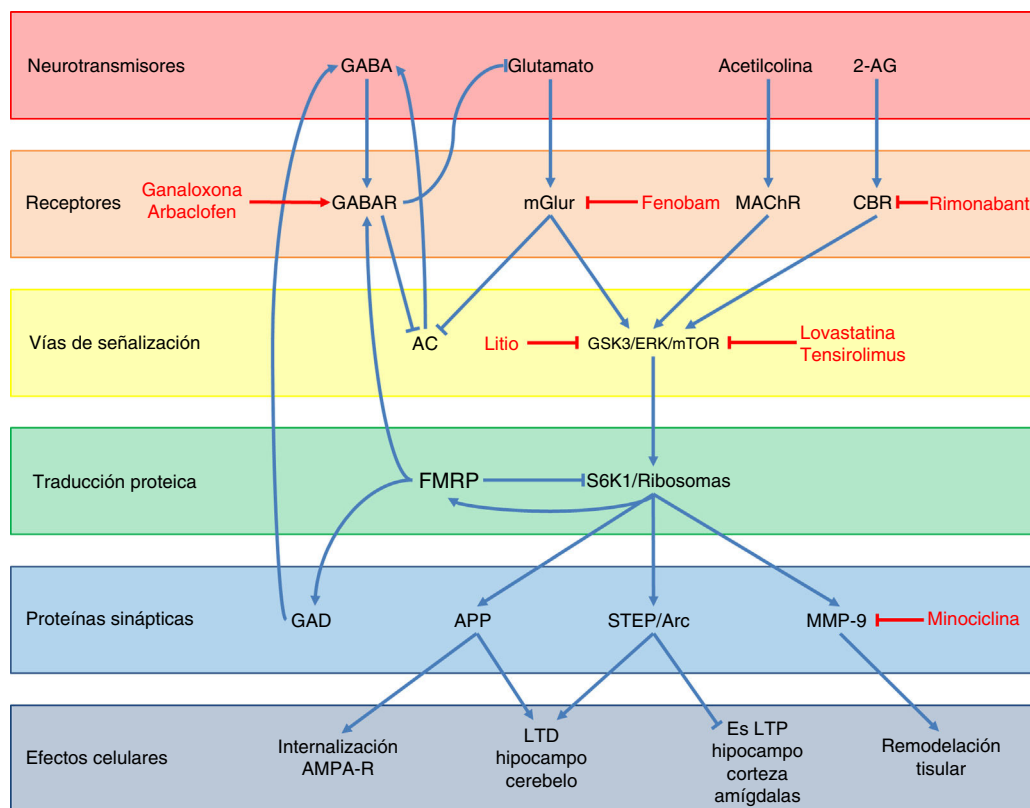


Figura 3 Esquema de la neurobiología de la FMRP y los distintos blancos terapéuticos y fármacos usados en el SXF, según los componentes celulares con los cuales interactúa FMRP. A nivel de receptores, ganaloxxona y arbaclofeno son agonistas de los receptores GABA-A y GABA-B, respectivamente; fenobam es un antagonista de los receptores mGluR5, mientras que rimonabant es un antagonista de los receptores endocannabinoides CB1R. Por otra parte, las dianas dentro de las vías de transducción de señales son GSK3, ERK y mTOR, los cuales son inhibidos por el litio, lovastatina y tensirolimus, respectivamente. Finalmente, minociclina inhibe la metaloproteína de matriz MMP-9.

En el rango de PM, el gen *FMR1* se transcribe de manera eficiente y la expresión de FMRP es casi normal, pero a expensas de una pobre traducción del mRNA que se ve compensada por mayores niveles (entre 5-8 veces) de mRNA^{14,34}. De esta forma, se produce una acumulación de inclusiones ubiquitina positiva en los núcleos de las neuronas y glías del SNC⁶⁵ que contienen mRNA de *FMR1* expandido y proteínas con motivos de unión a RNA que son secuestradas, afectando su función y produciendo neurodegeneración⁶⁶. El número y tamaño de las inclusiones aumentan con la edad en paralelo con la progresión de la enfermedad en humanos⁶⁷. Además, hay disfunción mitocondrial en fibroblastos y el tejido cerebral de portadores de PM, con incremento del estrés oxidativo y disminución de la traducción de proteínas mitocondriales⁶⁸.

Finalmente, aún no está muy claro el rol de *FMR1-AS1* en la patogénesis del SXF. Khalil et al.⁶⁹ demostraron que el silenciamiento parcial de este lncRNA producía alteraciones en el ciclo celular y apoptosis, sin influir en la expresión de *FMR1* y viceversa, sugiriendo un mecanismo independiente de este último gen. De esta forma, quedan aún muchos interrogantes en relación con la función de *FMR1* y *FMR1-AS1* (fig. 2). A pesar de esto, parece relevante resumir que el SXF se debería a una falta de expresión de ambos genes, mientras que los trastornos asociados a la PM se deberían a una sobreexpresión de mRNA tanto de

FMR1 como de *FMR1-AS1*, lo que llevaría a degeneración celular.

Confirmación del diagnóstico

Los exámenes para el estudio de mutaciones del gen *FMR1* son sensibles y específicos, tanto para el diagnóstico de pacientes clínicamente afectados, como para portadores asintomáticos. Estos se realizan a partir de una muestra de sangre de la cual se extrae el ADN, y en un análisis directo del gen se determina el número de repeticiones CGG y el estado de metilación del locus^{70,71}.

Actualmente existen diversos métodos moleculares para el análisis de las mutaciones en el locus FRAXA: 1. Los métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son en general técnicas rápidas, simples y de bajo costo especialmente si se aplican solo en hombres, pero que también permiten determinar el tamaño exacto de los alelos que se encuentran en los rangos de normalidad, zona gris, PM y alelos con MC incluso en mujeres^{72,73} los que, sin embargo, deben ser confirmados por Southern Blot⁷⁰. 2. El estudio por Southern Blot permite el análisis directo del locus FRAXA y del gen *FMR1*, determinando además del tamaño de la expansión, el estado de metilación del gen y permite inferir

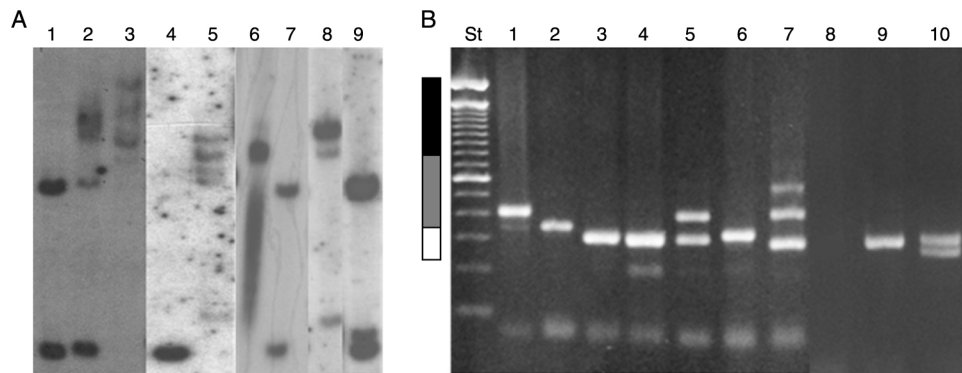


Figura 4 Resultados moleculares en el diagnóstico de desórdenes de *FMR1*. A) Resultados obtenidos por Southern Blot. Carriles 1 y 7: mujer normal; carril 2: mujer MC; carril 9: mujer PM; carril 4: hombre normal; carril 3: hombre MC; carriles 5 y 8: hombres mosaico PM/MC; carril 6: hombre MC parcialmente desmetilado. B) Resultados obtenidos en el diagnóstico por PCR. Carriles 1 y 2: hombres con PM; carriles 3, 6 y 9 hombres normales; carril 4: mujer normal (homocigoto, confirmado por SB); carril 5: mujer PM; carril 7: mujer mosaico PM/MC; carril 8: hombre con MC; carril 10: mujer normal (heterocigota). St: estándar de peso molecular 100 pb (invitrogen). Barra blanca: rango normal menor a 55 repeticiones CGG; barra gris: rango de PM entre 55-200 repeticiones CGG, y barra negra: MC mayor a 200 repeticiones CGG.

a partir de este dato los niveles de expresión de la proteína. Estas técnicas están disponibles en Chile, pero actualmente sus costos no son cubiertos por las instituciones aseguradoras de salud^{71,74} (fig. 4). 3. Recientemente se han implementado metodologías basadas en PCR cuantitativo de tiempo real y denaturación sensible a metilación (MS-QMA) que permiten determinar el estado de metilación de otros sitios CpG dentro del gen *FMR1* y que se correlacionan con el nivel de expresión de FMRP y el nivel cognitivo de los pacientes estudiados⁷⁵.

Tratamiento del síndrome x frágil (SXF)

Manejo no farmacológico

Se ha demostrado en modelos de ratones SXF que la exposición a un ambiente enriquecido puede mejorar la conducta, incluyendo materiales de nidificación, ejercicio físico y juguetes de diferentes texturas y colores⁷⁶. Los pacientes con SXF parecen beneficiarse con terapia fonoaudiológica y ocupacional⁷⁷. En general, es posible conseguir importantes logros en el manejo del comportamiento, trastornos conductuales y síntomas autistas de los niños X frágil, a partir de la implementación de técnicas específicas tanto en las instituciones educativas como en el ambiente familiar³¹.

Manejo farmacológico

El tratamiento de los pacientes con SXF se puede categorizar en aquellos que van dirigidos a controlar los síntomas neuropsiquiátricos presentes y en aquellos que actúan sobre la base fisiopatológica de esta enfermedad.

Tratamiento de las manifestaciones clínicas

El manejo es básicamente de los síntomas y los trastornos prevalentes en SXF como son el TDAH, la ansiedad, los trastornos de conducta y las convulsiones. Los medicamentos

más ampliamente usados son los psicoestimulantes para el manejo de la atención y la hiperactividad, los inhibidores de la recaptación de la serotonina para reducir la agresividad asociada a la ansiedad y los antipsicóticos atípicos para el manejo de la irritabilidad^{78,79}. En niños menores de 5 años, se prefieren los agonistas alfa adrenérgicos como la clonidina y la guanfacina para el manejo del TDAH⁷⁹. El uso de L-acetilcarnitina ha mostrado disminuir los síntomas de esta patología en estudios piloto controlados⁸⁰. Ensayos realizados con sertralina en grupos pequeños de pacientes mostraron reducción de la ansiedad⁸¹ y un estudio realizado en 15 pacientes con aripiprazol mostró mejoría significativa de la irritabilidad⁷⁸. Sin embargo, faltan ensayos clínicos aleatorizados doble ciego y con un mayor número de pacientes para validar definitivamente estas terapias.

Con respecto a las convulsiones, en la actualidad se prefiere el uso de carbamazepina o ácido valproico por sus escasos efectos adversos en estos pacientes y el buen control de las crisis epilépticas^{17,82}. Tanto lamotrigina como levetiracetam han mostrado efectos aditivos potentes en aquellos pacientes de difícil control, presentando además la ventaja de producir mínimos efectos cognitivos⁷⁹. Finalmente, se recomienda evitar el uso de fenitoína, fenobarbital o gabapentina, ya sea por sus efectos adversos o por la exacerbación de los problemas de conducta⁷⁹.

Tratamientos experimentales basados en la fisiopatología del síndrome x frágil (SXF)

Con los avances en el entendimiento de la neurobiología del SXF se han ido aplicando y desarrollando diversos fármacos que van a actuar en las vías de neurotransmisores involucradas en la patología. Al igual que en los mecanismos fisiopatológicos descritos en la figura 3, podemos agrupar estas terapias farmacológicas experimentales en aquellas que actúan a nivel de los receptores de neurotransmisores involucrados, en las proteínas de señalización intracelular río abajo de estos o en las proteínas sinápticas efectoras.

Dentro del primer grupo se encuentran los agonistas de los receptores GABA y distintos antagonistas de la vía

glutamatérgica, con el fin de compensar su sobreactivación producida por el déficit de FMRP⁴⁸ (fig. 3). Es así como el tratamiento con anticonvulsivantes agonistas de receptores GABA-A, como ganaxolona, pueden controlar las convulsiones y la ansiedad en SXF⁸³, aunque también pueden aumentar la somnolencia^{84,85}. El baclofen, agonista de receptores GABA-B, demostró ser eficaz en el tratamiento de la hiperactividad y las crisis convulsivas en ratones knockout (KO) de *FMR1*⁸⁶. En humanos, arbaclofen, un isómero de baclofen más potente en regular receptores GABA-B, disminuyó las conductas irritativas y mejoró la interacción social^{87,88}, pero faltan estudios para evaluar su toxicidad y efecto a largo plazo. Por otro lado, estudios realizados con fenobam, un antagonista de receptor de glutamato (mGluR5), mostraron normalización en el fenotipo conductual y en las anomalías dendríticas del hipocampo en ratones KO de *FMR1*⁴⁸. Un ensayo preliminar, realizado en 12 pacientes adultos con SXF tratados con una dosis única de este fármaco, evidenció mejorías en la interacción social y la hiperactividad, pero presentaron leve sedación y aumento de las conductas ansiosas⁸⁹. Actualmente se encuentran en curso ensayos clínicos con otros antagonistas de mGluR5⁹⁰. Con respecto a la vía endocanabinoide, se está probando en animales rimonabant, un antagonista del receptor canabinoide CB1 que impide la interacción con su ligando natural 2-araquidonoilglicerol (2-AG)⁴⁸. El tratamiento agudo con este fármaco en ratones KO de *FMR1* corrigió total o parcialmente la memoria de reconocimiento de objetos y la susceptibilidad a convulsiones audiogénicas, mientras que el tratamiento crónico mejoró la densidad de espinas dendríticas y disminuyó la señalización por mTOR en el hipocampo⁵⁹.

Considerando las proteínas involucradas en la señalización intracelular río abajo de los receptores mGluR, se están analizando diversos fármacos que las inhiben⁴⁸ (fig. 3). El litio, un inhibidor de la cinasa tipo 3 de la glicógeno sintasa (GSK3) y que está sobreactivada en ratones KO de *FMR1*⁴⁸, en general es bien tolerado y en un ensayo piloto con 15 pacientes demostró mejorar significativamente el comportamiento, las conductas adaptativas y la memoria verbal en jóvenes con SXF⁹¹. Por otra parte, lovastatina y tensirolimus, inhibidores de ERK y mTOR respectivamente, disminuyeron la síntesis de las proteínas involucradas en la LTD, los déficit de memoria y la susceptibilidad a convulsiones audiogénicas en ratones KO de *FMR1*⁴⁸.

Por último y con respecto a las proteínas sinápticas efectoras, también se están llevando a cabo estudios con inhibidores⁴⁸. En ratones, la actividad inhibitoria de MMP-9 de minociclina mejoró significativamente su desempeño intelectual y disminuyó las conductas ansiosas a través de la maduración de las espinas dendríticas en el hipocampo⁹². En un estudio inicial en niños tratados con minociclina, la droga fue bien tolerada y habría disminuido la irritabilidad, los movimientos estereotipados, la hiperactividad y el lenguaje inapropiado⁹³, pero está pendiente la realización de ensayos controlados.

Hasta la fecha no hay revisiones sistemáticas de los distintos tratamientos farmacológicos planteados debido al bajo número de pacientes, la corta duración de los tratamientos y la dificultad de sistematizar las escalas de evaluación. Las estrategias terapéuticas actuales han demostrado impacto en los síntomas, pero no mejoran el perfil cognitivo de los

pacientes. En general, son los tratamientos combinados, farmacológicos y no farmacológicos los que han reportado mayores beneficios⁹⁴.

Tratamiento de insuficiencia ovárica primaria relacionada al gen 1 del retardo mental del x frágil (FXPOI) y síndrome de temblor/ataxia asociado al X frágil (FXTAS)

Manejo de la insuficiencia ovárica primaria relacionada al gen 1 del retardo mental del X frágil (FXPOI)

Las mujeres con PM y FXPOI pueden presentar síntomas asociados a la menopausia, además del efecto psicológico de la pérdida prematura de su capacidad reproductiva. Aun cuando no existe un tratamiento específico, es importante considerar los beneficios de la psicoterapia⁹⁵. Por otro lado, es importante destacar que la presencia de FXPOI no elimina la posibilidad de embarazos subsecuentes, por lo que las mujeres afectadas deberían ser derivadas a ginecología para evaluar sus posibilidades reproductivas. Además, debido a los bajos niveles séricos de estradiol y las consecuencias multisistémicas de esto, también deben ser evaluadas por endocrinología para considerar el uso de terapia de reemplazo hormonal³⁹.

Manejo del síndrome de temblor/ataxia asociado al x frágil (FXTAS)

El tratamiento farmacológico de los trastornos psiquiátricos asociados a PM es inespecífico y se basa en las intervenciones psicofarmacológicas convencionales. Para el tratamiento de los trastornos del ánimo, los medicamentos más utilizados son los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina⁹⁵.

No hay un manejo específico para los trastornos del movimiento en FXTAS, pero algunos medicamentos pueden contribuir a disminuir la sintomatología. Para el temblor de intención, el propranolol y la primidona son los fármacos más utilizados. Algunos estudios demostraron mejoría con toxina botulínica, levetiracetam, clonazepam, clozapina, nadolol y nimodipino⁴³. Para el tratamiento de la ataxia, además de la terapia física, algunos pacientes han mostrado mejoría con amantadina o buspirona⁹⁶. El uso de antipsicóticos debe efectuarse con precaución, debido a la posibilidad de aumentar los trastornos del movimiento. La quetiapina se asocia a menor riesgo de efectos secundarios extrapiramidales^{43,95}.

Aunque no existe una recomendación formal por alguna asociación, las personas adultas portadoras de PM deberían controlarse al menos anualmente los niveles séricos de la hormona estimulante del tiroides, tiroxina libre y triyodotironina, de manera de pesquisar y tratar precozmente el hipotiroidismo⁹⁷.

Hasta el momento existe escasa evidencia para recomendar algún fármaco para el manejo de la demencia en FXTAS. Sin embargo, recientemente se mostró que el tratamiento con memantina durante un año mejoró significativamente

Tabla 3 Riesgo de transmitir la mutación a la descendencia

Progenitor	Tipo de mutación	Riesgo de hijo hombre afectado	Riesgo de hija mujer afectada
Hombre	Premutación	0%	100% premutación
Mujer	Premutación	50% mutación completa o premutación*	50% mutación completa o premutación*
Hombre	Mutación completa	0%	100% mutación completa
Mujer	Mutación completa	50% mutación completa	50% mutación completa

* El riesgo de que una premutación se amplifique a mutación completa dependerá del tamaño de la premutación.

la memoria verbal en pacientes con FXTAS⁹⁸, lo cual entrega bases para nuevos ensayos clínicos con este medicamento.

Por último, hasta la fecha no se han descrito estudios experimentales con RNA de interferencia que contrarresten los niveles elevados de mRNA de *FMR1* presentes en pacientes con la PM. Sin embargo, es un blanco terapéutico a estudiar tomando en cuenta la experiencia con este tipo de oligonucleótidos en la distrofia miotónica tipo 1³⁷.

Asesoramiento genético

Cuando se sospecha que un individuo puede padecer de SXF, es muy relevante explicar a la familia las implicaciones que el estudio molecular puede tener, no solo para el paciente, sino para el resto de los miembros, y la importancia de derivarlo a un genetista clínico⁴². El genetista recopilará los antecedentes de la familia y facilitará el acceso a estudio de los familiares, informándoles a tiempo del riesgo que conlleva ser portador de una mutación y contribuir en el proceso de planificación familiar^{42,99}.

El riesgo de transmitir la mutación a la descendencia depende del género y del número de repeticiones. Los hombres premutados transmiten la PM a todas sus hijas y a ninguno de sus hijos. Las mujeres portadoras de PM tienen un riesgo de un 50% de transmitir el alelo alterado en el rango de PM o MC a cualquiera de sus hijos. Las mujeres con MC tienen un riesgo de un 50% de que sus hijos(as) hereden la MC. En el caso de los hombres con MC, sus hijos no heredan la mutación y sus hijas pueden heredar la MC o una PM por contracción de la expansión⁹⁹ (tabla 3).

Todos los familiares en riesgo de portar una PM o MC deben ser evaluados para detectar problemas neurológicos, emocionales y endocrinos. Las familias pueden ser invitadas a participar en asociaciones de apoyo, especialmente de las agrupaciones de padres que se han ido creando en cada país. Por otro lado, es necesario contar con datos de la población hispánica y latinoamericana con respecto al número de interrupciones AGG en mujeres portadoras de PM y cómo estas han incidido en la probabilidad de expansión

en la descendencia, ya que esta es una recomendación de las nuevas guías clínicas españolas de diagnóstico y manejo de los TASXF con base en la evidencia que se ha obtenido de población estadounidense^{40,100}.

Existen estudios de pesquisa poblacional de SXF, incluyendo diagnóstico prenatal, detección en poblaciones con compromiso neurológico y tamizaje neonatal¹⁰¹. Aunque aún existen controversias, el diagnóstico precoz a través de la pesquisa neonatal permitiría una intervención temprana, el asesoramiento a la familia y la toma de decisiones informadas de los padres¹⁰². Esto disminuiría posiblemente la aparición de nuevos casos, en la medida que el diagnóstico se realice antes del nacimiento de un segundo hijo afectado (fig. 1).

Conclusiones

El SXF se asocia a un amplio espectro de manifestaciones clínicas, que van desde el fenotipo clásico de la MC a las manifestaciones neurológicas y síntomas neuropsiquiátricos de la PM³⁷. Esta gama de presentaciones y su alta frecuencia en la población hacen que la mayoría de los médicos tengan la posibilidad de encontrarse en su práctica clínica con pacientes afectados por SXF. El estudio molecular del gen *FMR1* debe ser considerado dentro del estudio de pacientes con retraso del desarrollo sicomotor, DI, autismo, mujeres con menopausia precoz, adultos con marcha atáxica o temblor de intención, parkinsonismos, neuropatía periférica, demencia y trastorno ansioso o depresión, y especialmente si hay antecedentes familiares de DI y/o autismo^{99,103}.

Los síntomas psiquiátricos de los pacientes premutados pueden ser una manifestación primaria del estado de PM, por lo que no se deben atribuir exclusivamente al estrés de la crianza de un niño discapacitado, aun cuando dicho estrés siempre está presente³⁹.

Los exámenes moleculares disponibles y el asesoramiento genético de la familia, incluyendo la confección de una genealogía ampliada, son esenciales para establecer quiénes están en riesgo de tener mutaciones en *FMR1*, de manera de determinar su pronóstico y riesgo individual de transmitir la enfermedad a la descendencia⁹⁹.

Los avances en la identificación de las bases moleculares del SXF pueden servir como modelo para comprender las causas de las enfermedades neuropsiquiátricas, para aclarar los mecanismos involucrados en los síntomas neurológicos y psiquiátricos que presentan otras enfermedades genéticas, y probablemente conducirán al desarrollo de tratamientos cada vez más específicos⁴⁸.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Leonard H, Wen X. The epidemiology of mental retardation: Challenges and opportunities in the new millennium. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2002;8:117–34.

2. Hagerman PJ. The fragile X prevalence paradox. *J Med Genet.* 2008;45:498–9.
3. Hagerman RJ, Rivera SM, Hagerman PJ. The fragile X family of disorders: A model for autism and targeted treatments. *Curr Pediatr Rev.* 2008;4:40–52.
4. Crawford DC, Meadows KL, Newman JL, Taft LF, Scott E, Leslie M, et al. Prevalence of the fragile X syndrome in African-Americans. *Am J Med Genet.* 2002;110:226–33.
5. Rousseau F, Rouillard P, Morel ML, Khandjian EW, Morgan K. Prevalence of carriers of premutation-size alleles of the FMR1 gene and implications for the population genetics of the fragile X syndrome. *Am J Hum Genet.* 1995;57:1006–18.
6. Rooms L, Kooy RF. Advances in understanding fragile X syndrome and related disorders. *Curr Opin Pediatr.* 2011;23:601–6.
7. Hagerman RJ. Physical and behavioral phenotype. En: Hagerman RJ, Hagerman PJ, editores. *Fragile X syndrome: Diagnosis, treatment and research.* 3. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 2002. p. 3–109.
8. Hagerman RJ. Medical follow-up and pharmacotherapy. En: Hagerman RJ, Hagerman PJ, editores. *Fragile X Syndrome: Diagnosis, Treatment and Research.* 3. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 2002. p. 287–338.
9. Lachiewicz AM, Dawson DV. Do young boys with fragile X syndrome have macroorchidism? *Pediatrics.* 1994;93:992–5.
10. Lewis P, Abbeduto L, Murphy M, Richmond E, Giles N, Bruno L, et al. Cognitive, language and social-cognitive skills of individuals with fragile X syndrome with and without autism. *J Intellect Disabil Res.* 2006;50:532–45.
11. Kaufmann WE, Cortell R, Kau AS, Bukelis I, Tierney E, Gray RM, et al. Autism spectrum disorder in fragile X syndrome: Communication, social interaction, and specific behaviors. *Am J Med Genet.* 2004;129A:225–34.
12. Rogers SJ, Wehner EA, Hagerman RJ. The behavioral phenotype in fragile X: Symptoms of autism in very young children with fragile X syndrome, idiopathic autism, and other developmental disorders. *J Dev Behav Pediatr.* 2001;22:409–17.
13. Skinner M, Hooper S, Hatton DD, Roberts J, Mirrett P, Schaaf J, et al. Mapping nonverbal IQ in young boys with fragile X syndrome. *Am J Med Genet A.* 2005;132:25–32.
14. Loesch DZ, Huggins RM, Hagerman RJ. Phenotypic variation and FMRP levels in fragile X. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2004;10:31–41.
15. Roberts JE, Schaaf JM, Skinner M, Wheeler A, Hooper S, Hatton DD, et al. Academic skills of boys with fragile X syndrome: Profiles and predictors. *Am J Ment Retard.* 2005;110:107–20.
16. Reiss AL, Hall SS. Fragile X syndrome: Assessment and treatment implications. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am.* 2007;16:663–75.
17. Berry-Kravis E, Raspa M, Loggin-Hester L, Bishop E, Holiday D, Bailey DB. Seizure in fragile X syndrome: Characteristics and comorbid diagnoses. *Am J Intellect Dev Disabil.* 2010 Nov;115:461–72.
18. Garcia-Nonell C, Ratera ER, Harris S, Hessler D, Ono MY, Tartaglia N, et al. Secondary medical diagnosis in fragile X syndrome with and without autism spectrum disorder. *Am J Med Genet A.* 2008;146A:1911–6.
19. Budimirovic DB, Bukelis I, Cox C, Gray RM, Tierney E, Kaufmann WE. Autism spectrum disorder in Fragile X syndrome: Differential contribution of adaptive socialization and social withdrawal. *Am J Med Genet A.* 2006;140A:1814–26.
20. Bailey DB Jr, Raspa M, Olmsted M, Holliday DB. Co-occurring conditions associated with FMR1 gene variations: Findings from a national parent survey. *Am J Med Genet A.* 2008;146A:2060–9.
21. Symons FJ, Byiers BJ, Raspa M, Bishop E, Bailey DB. Self-injurious behavior and fragile x syndrome: Findings from the national fragile x survey. *Am J Intellect Dev Disabil.* 2010;115:473–81.
22. Norwicki S, Tassone F, Ono MY, Ferranti J, Croquette MF, Goodlin-Jones B, et al. The Prader-Willi phenotype of fragile X syndrome. *J Dev Behav Pediatr.* 2007;28:133–8.
23. Peprah E. Fragile X syndrome: The FMR1 CGG repeat distribution among world populations. *Ann Hum Genet.* 2012;76:178–91.
24. Oberlé I, Rosseau F, Heitz D, Kretz C, Devys D, Hanauer A, et al. Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science.* 1991;252:1097–102.
25. De Rubeis S, Fernández E, Buzzi A, di Marino D, Bagni C. Molecular and cellular aspects of mental retardation in the Fragile X syndrome: From gene mutation/s to spine dysmorphogenesis. *Adv Exp Med Biol.* 2012;970:517–51.
26. Tassone F, Hagerman PJ. Expression of the FMR1 gene. *Cytogenet Genome Res.* 2003;100:124–8.
27. Colak D, Zaninovic N, Cohen MS, Rosenwaks Z, Yang WY, Gerhardt J, et al. Promoter-bound trinucleotide repeat mRNA drives epigenetic silencing in fragile X syndrome. *Science.* 2014;343:1002–5.
28. De Boule K, Verkerk AJ, Reyniers E, Vits L, Hendrickx J, van Roy F, et al. A point mutation in the FMR-1 gene associated with fragile X mental retardation. *Nat Genet.* 1993;3:31–5.
29. Tassone F, Hagerman RJ, Taylor AK, Mills JB, Harris SW, Gane LW, et al. Clinical involvement and protein expression in individuals with the FMR1 premutation. *Am J Med Genet.* 2000;91:144–52.
30. Santa María L, Pugin A, Alliende M, Aliaga S, Curotto B, Aravena T, et al. FXTAS in an unmethylated mosaic male with fragile X syndrome from Chile. *Clin Genet.* 2014;86:378–82.
31. Dyer-Friedman J, Glaser B, Hessler D, Johnston C, Huffman LC, Taylor A, et al. Genetic and environmental influences on the cognitive outcomes of children with fragile X syndrome. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2002;41:237–44.
32. De Vries BB, Wiegers AM, Smits AP, Mohkamsing S, Duivenvoorden HJ, Fryns JP, et al. Mental status of females with an FMR1 gene full mutation. *Am J Hum Genet.* 1996;58:1025–32.
33. Moore CJ, Daly EM, Schmitz N, Tassone F, Tysoe C, Hagerman RJ, et al. A neuropsychological investigation of male premutation carriers of fragile X syndrome. *Neuropsychologia.* 2004;42:1934–47.
34. Tassone F, Hagerman RJ, Taylor AK, Gane LW, Godfrey TE, Hagerman PJ. Elevated levels of FMR1 mRNA in carrier males: A new mechanism of involvement in the fragile-X syndrome. *Am J Hum Genet.* 2000;66:6–15.
35. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey MA, Hall DA, Levine RA, Brunberg JA, et al. Penetrance of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in a premutation carrier population. *JAMA.* 2004;291:460–9.
36. Rodriguez-Revenga L, Pagonabarraga J, Gómez-Anson B, López-Moureló O, Madrigal I, Xunclà M, et al. Motor and mental dysfunction in mother-daughter transmitted FXTAS. *Neurology.* 2010;75:1370–6.
37. Hagerman R, Hagerman P. Advances in clinical and molecular understanding of the FMR1 premutation and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Lancet Neurol.* 2013;12:786–98.
38. Brussino A, Gellera C, Saluto A, Mariotti C, Arduino C, Castellotti B, et al. FMR1 gene premutation is a frequent genetic cause of late-onset sporadic cerebellar ataxia. *Neurology.* 2005;64:145–7.
39. GeneReviews [Internet]. Seattle: University of Washington; 1993-2014. FMR1-Related disorders; 2012 Abril 26 [citado 6 Oct 2014]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1384/>.

40. Yrigollen CM, Durbin-Johnson B, Gane L, Nelson DL, Hagerman R, Hagerman PJ, et al. AGG interruptions within the maternal *FMR1* gene reduce the risk of offspring with fragile X syndrome. *Genet Med*. 2012;14:729–36.
41. Maddalena A, Richards CS, McGinniss MJ, Brothman A, Desnick RJ, Grier RE, et al. Technical standards and guidelines for fragile X: The first of a series of disease-specific supplements to the Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories of the American College of Medical Genetics. Quality Assurance Subcommittee of the Laboratory Practice Committee. *Genet Med*. 2001;3:200–5.
42. McConkie-Rosell A, Abrams L, Finucane B, Cronister A, Gane LW, Coffey SM, et al. Recommendations from multi-disciplinary focus groups on cascade testing and genetic counseling for fragile X-associated disorders. *J Genet Couns*. 2007;16:593–606.
43. Hagerman RJ, Hall DA, Coffey S, Leehey M, Bourgeois J, Gould J, et al. Treatment of fragile X-associated tremor ataxia syndrome (FXTAS) and related neurological problems. *Clin Interv Aging*. 2008;3:251–62.
44. Peschansky VJ, Wahlestedt C. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation. *Epigenetics*. 2014;9:3–12.
45. Van Devondervoort II, Gordebeke PM, Khoshab N, Tiesinga PH, Buitelaar JK, Kozicz T, et al. Long non-coding RNAs in neurodevelopmental disorders. *Front Mol Neurosci*. 2013;6:53.
46. Siomi H, Siomi MC, Nussbaum RL, Dreyfuss G. The protein product of the fragile X gene, *FMR1*, has characteristics of an RNA binding protein. *Cell*. 1993;74:291–8.
47. Beebe K, Wang Y, Kulesza R. Distribution of fragile X mental retardation protein in the human auditory brainstem. *Neuroscience*. 2014;273:79–91.
48. Braat S, Kooy RF. Fragile X syndrome neurobiology translates into rational therapy. *Drug Discov Today*. 2014;19:510–9.
49. Maurin T, Zongaro S, Bardoni B. Fragile X Syndrome From molecular pathology to therapy. *Neurosci Biobehav Rev*. En prensa.
50. Chen E, Sharma MR, Shi X, Agrawal RK, Joseph S. Fragile X Mental Retardation Protein Regulates Translation by Binding Directly to the Ribosome. *Mol Cell*. 2014;54:407–17.
51. Berry-Kravis E. Mechanism-based treatments in neurodevelopmental disorders: Fragile X syndrome. *Pediatr Neurol*. 2014;50:297–302.
52. Janusz A, Milek J, Perycz M, Pacini L, Bagni C, Kaczmarek L, et al. The Fragile X mental retardation protein regulates matrix metalloproteinase 9 mRNA at synapses. *J Neurosci*. 2013;33:18234–41.
53. Gatto CL, Pereira D, Broadie K. GABAergic circuit dysfunction in the *Drosophila* Fragile X syndrome model. *Neurobiol Dis*. 2014;65:142–59.
54. Willemsen R, Oostra BA, Bassell GJ, Dichtenberg J. The fragile X syndrome: From molecular genetics to neurobiology. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2004;10:60–7.
55. Dichtenberg JB, Swanger SA, Antar LN, Singer RH, Bassell GJ. A direct role for FMRP in activity-dependent dendritic mRNA transport links filopodial-spine morphogenesis to fragile X syndrome. *Dev Cell*. 2008;14:926–39.
56. Zalfa F, Giorgi M, Primerano B, Moro A, di Penta A, Reis S, et al. The fragile X syndrome protein FMRP associates with BC1 RNA and regulates the translation of specific mRNAs at synapses. *Cell*. 2003;112:317–27.
57. De Rubeis S, Bagni C. Fragile X mental retardation protein control of neuronal mRNA metabolism: Insights into mRNA stability. *Mol Cell Neurosci*. 2010;43:43–50.
58. Tang ZQ, Liu YW, Shi W, Dinh EH, Hamlet WR, Curry RJ, et al. Activation of synaptic group II metabotropic glutamate receptors induces long-term depression at GABAergic synapses in CNS neurons. *Neurosci*. 2013;33:15964–77.
59. Busquets-García A, Gomis-González M, Guegan T, Agustín-Pavón C, Pastor A, Mato S, et al. Targeting the endocannabinoid system in the treatment of fragile X syndrome. *Nat Med*. 2013;19:603–7.
60. Bassell GJ, Warren ST. Fragile X syndrome: Loss of local mRNA regulation alters synaptic development and function. *Neuron*. 2008;60:201–14.
61. Bear MF, Huber KM, Warren ST. The mGluR theory of fragile X mental retardation. *Trends Neurosci*. 2004;27:370–7.
62. Irwin SA, Galvez R, Greenough WT. Dendritic spine structural anomalies in fragile-X mental retardation syndrome. *Cereb Cortex*. 2000;10:1038–44.
63. Bilousova T, Rusakov DA, Ethell DW, Ethell IM. MMP-7 disrupts dendritic spines in hippocampal neurons through NMDA receptor activation. *J Neurochem*. 2006;97:44–56.
64. D’Hulst C, Kooy RF. The GABAA receptor: A novel target for treatment of fragile X? *Trends Neurosci*. 2007;30:425–31.
65. Duan R, Sharma S, Xia Q, Garber K, Jin P. Towards Understanding RNA-Mediated Neurological Disorders. *J Genet Genomics*. 2014;41:473–84.
66. Sofola OA, Jin P, Qin Y, Duan R, Liu H, de Haro M, et al. RNA-binding proteins hnRNP A2/B1 and CUGBP1 suppress fragile X CGG pre-mutation repeat-induced neurodegeneration in a *Drosophila* model of FXTAS. *Neuron*. 2007;55:565–71.
67. Galloway JN, Nelson DL. Evidence for RNA-mediated toxicity in the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Future Neurol*. 2009;1:785.
68. Ross-Inta C, Omanska-Klusek A, Wong S, Barrow C, Garcia-Arocena D, Iwahashi C, et al. Mitochondrial dysfunction in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *J Biol Chem*. 2010;285:545–52.
69. Khalil AM, Faghihi MA, Modarresi F, Brothers SP, Wahlestedt C. A novel RNA transcript with antiapoptotic function is silenced in fragile X syndrome. *PLoS One*. 2008;3:e1486.
70. Tassone F, Pan R, Amiri K, Taylor AK, Hagerman PJ. A rapid polymerase chain reaction-based screening method for identification of all expanded alleles of the fragile X (*FMR1*) gene in newborn and high-risk populations. *J Mol Diagn*. 2008;10:43–9.
71. Allende MA, Urzúa B, Valiente A, Cortés F, Curotto B, Rojas C. Direct molecular analysis of *FMR1* gene mutation in patients with fragile Xq syndrome and their families. *Rev Med Chil*. 1998;126:1435–46.
72. Saluto A, Brussino A, Tassone F, Arduino C, Cagnoli C, Pappi P, et al. An enhanced polymerase chain reaction assay to detect pre- and full mutation alleles of the fragile X mental retardation 1 gene. *J Mol Diagn*. 2005;7:605–12.
73. Filipovic-Sadic S, Sah S, Chen L, Krosting J, Sekinger E, Zhang W, et al. A novel *FMR1* PCR method for the routine detection of low abundance expanded alleles and full mutations in fragile X syndrome. *Clin Chem*. 2010;56:399–408.
74. Allende MA, Aravena T, Valiente A, Curotto B, Santa María L, Cortés F. Clinical screening and *FMR1* gene mutation analysis in male patients with Fragile X syndrome. *Rev Chil Pediatr*. 2006;77:34–42.
75. Inaba Y, Schwartz CE, Bui QM, Li X, Skinner C, Field M, et al. Early Detection of Fragile X Syndrome: Applications of a Novel Approach for Improved Quantitative Methylation Analysis in Venous Blood and Newborn Blood Spots. *Clin Chem*. 2014;60:963–73.
76. Restivo L, Ferrari F, Passino E, Sqobio C, Bock J, Oostra BA, et al. Enriched environment promotes behavioral and morphological recovery in a mouse model for the fragile X syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102:11557–62.
77. Berry-Kravis E, Potanos K. Psychopharmacology in fragile X syndrome: Present and future. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2004;10:42–8.
78. Erickson CA, Stigler KA, Posey DJ, McDougle CJ. Aripiprazole in autism spectrum disorders and fragile X syndrome. *Neurotherapeutics*. 2010;7:258–63.

79. Hagerman RJ, Berry-Kravis E, Kaufmann WE, Ono MY, Tartaglia N, Lachiewicz A, et al. Advances in the treatment of fragile X syndrome. *Pediatrics*. 2009;123:378–90.
80. Torrioli MG, Vernacotola S, Peruzzi L, Tabolacci E, Mila M, Miltneri R, et al. A double-blind, parallel, multicenter comparison of L-acetylcarnitine with placebo on the attention deficit hyperactivity disorder in fragile X syndrome boys. *Am J Med Genet A*. 2008;146:803–12.
81. Cordeiro L, Ballinger E, Hagerman R, Hessel D. Clinical assessment of DSM-IV anxiety disorders in fragile X syndrome: Prevalence and characterization. *J Neurodev Disord*. 2011;3:57–67.
82. Berry-Kravis E. Epilepsy in fragile X syndrome. *Dev Med Child Neurol*. 2002;44:724–8.
83. Heulens I, D'Hulst C, van Dam D, de Deyn PP, Kooy RF. Pharmacological treatment of fragile X syndrome with GABAergic drugs in a knockout mouse model. *Behav Brain Res*. 2012;229:244–9.
84. Nohria V, Giller E. Ganaxolone. *Neurotherapeutics*. 2007;4:102–5.
85. Levenga J, de Vrij FM, Oostra BA, Willemsen R. Potential therapeutic interventions for fragile X syndrome. *Trends Mol Med*. 2010;16:516–27.
86. Pacey LK, Heximer SP, Hampson DR. Increased GABA (B) receptor mediated signaling reduces the susceptibility of fragile X knockout mice to audiogenic seizures. *Mol Pharmacol*. 2009;76:18–24.
87. Hagerman R, Hoem G, Hagerman P. Fragile X and autism: Intertwined at the molecular level leading to targeted treatments. *Mol Autism*. 2010;1:12–25.
88. Berry-Kravis EM, Hessel D, Rathmell B, Zarevics P, Cherubini M, Walton-Bowen K, et al. Effects of STX209 (arbaclofen) on neurobehavioral function in children and adults with fragile X syndrome: A randomized, controlled, phase 2 trial. *Sci Transl Med*. 2012;4:152ra127.
89. Berry-Kravis E, Hessel D, Coffey S, Hervey C, Schneider A, Yuhas J, et al. A pilot open label, single dose trial of fenobam in adults with fragile X syndrome. *J Med Genet*. 2009;46:266–71.
90. Lindemann L, Jaeschke G, Michalon A, Vieira E, Honer M, Spooen W, et al. CTEP: A novel, potent, long-acting, and orally bioavailable metabotropic glutamate receptor 5 inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;339:474–86.
91. Berry-Kravis E, Sumis A, Hervey C, Nelson M, Porges SW, Weng IJ, et al. Open-label treatment trial of lithium to target the underlying defect in fragile X syndrome. *J Dev Behav Pediatr*. 2008;29:293–302.
92. Bilousova TV, Dansie L, Ngo M, Aye J, Charles JR, Ethell DW, et al. Minocycline promotes dendritic spine maturation and improves behavioural performance in the fragile X mouse model. *J Med Genet*. 2009;46:94–102.
93. Paribello C, Tao L, Folino A, Berry-Kravis E, Tranfaglia M, Ethell IM, et al. Open-label add-on treatment trial of minocycline in fragile X syndrome. *BMC Neurol*. 2010;10:91–100.
94. Hall SS. Treatments for fragile X syndrome: A closer look at the data. *Dev Disabil Res Rev*. 2009;15:353–60.
95. 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 Psychiatry*. 2009;70:852–62.
96. Hall DA, Berry-Kravis E, Hagerman RJ, Hagerman PJ, Rice CD, Leehey MA. Symptomatic treatment in the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Mov Disord*. 2006;21:1741–4.
97. Hunsaker MR, Greco CM, Spath MA, Smits AP, Navarro CS, Tassone F, et al. Widespread non-central nervous system organ pathology in fragile X premutation carriers with fragile X-associated tremor/ataxia syndrome and CGG knock-in mice. *Acta Neuropathol*. 2011;122:467–79.
98. Yang JC, Niu YQ, Simon C, Seritan AL, Chen L, Schneider A, et al. Memantine Effects on Verbal Memory in Fragile X-associated Tremor/Ataxia Syndrome (FXTAS): a Double-Blind Brain Potential Study. *Neuropsychopharmacology*. 2014;39:2760–8.
99. McConkie-Rosell A, Finucane BM, Cronister AC, Abrams L, Bennett RL, Pettersen BJ. Genetic counseling for fragile X syndrome: Updated recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns*. 2005;14:249–70.
100. Milá 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;142:219–25.
101. Pessó R, Berkenstadt M, Cuckle H, Gak E, Peleq L, Frydman M, et al. Screening for fragile X syndrome in women of reproductive age. *Prenat Diagn*. 2000;20:611–4.
102. Tassone F. Newborn screening for fragile X syndrome. *JAMA Neurol*. 2014;71:355–9.
103. Chonchaiya W, Schneider A, Hagerman RJ. Fragile X: A family of disorders. *Adv Pediatr*. 2009;56:165–86.