

GEN FMR1, SÍNDROME X-FRÁGIL (FXS) Y ENFERMEDADES ASOCIADAS (FXPOI, FXTAS), ESTUDIO GENÉTICO-MOLECULAR

Elaborado en Noviembre de 2021 por TM Gloria Mella
Revisado TM Ligia Valdivia y Aprobado por Dra. Marcela Lagos

- Código del Examen** : 2642
- Nombres del Examen** : Estudio Genético-Molecular del gen *FMR1* (Síndrome X-Frágil y enfermedades asociadas)
Síndrome X-Frágil (FXS)
Insuficiencia ovárica primaria asociada a X-Frágil (FXPOI)
Síndrome tremor ataxia asociada a X-Frágil (FXTAS)
- Laboratorios de Procesamiento** :
- | Laboratorio | Días de Procesamiento | Plazo de Entrega de Resultados |
|--|-----------------------|--------------------------------|
| Laboratorio CMSJ
Biología Molecular | Lunes a Viernes | 20 días hábiles |
- Preparación del Paciente** : No requiere preparación.
- Muestra Requerida** : ■ Sangre completa
Recolectar 1 tubo tapa lila con EDTA
Volumen mínimo total de sangre: 3 mL
- NOTA:** Se requiere envío de copia de la orden médica
- Estabilidad de la Muestra** ¹ :
- | Muestra | T° Ambiente
(20 - 25 °C) | Refrigerada
(2 - 8 °C) | Congelada
(-20°C) |
|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------|
| Sangre Total con EDTA | 3 días | 1 mes | No aplica |
- Condiciones de Envío al Laboratorio** :
- *Dentro de Santiago y en el día
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SI/ Congelada NO
 - *Desde fuera de Santiago
Sangre Total con EDTA: Ambiente SI/ Refrigerada SÍ/ Congelada NO
 - *Sólo si el tiempo de traslado cumple con la estabilidad de la muestra.
- Método Utilizado**^{4,6,7} :
- Análisis en ADN genómico de la región 5' no traducida del gen *FMR1*, donde se encuentran las repeticiones CGG cuyo número se establece por PCR fluorescente y por TP-PCR por TP-PCR (triplet-primed-PCR).
 - PCR fluorescente:** Se amplifica la región 5' no traducida del gen *FMR1*, con partidores que flanquean las repeticiones CGG, seguidas por Electroforesis capilar (EC) para determinar el número de repeticiones de los tripletes CGG. Esta metodología permite identificar alelos de hasta 130 repeticiones CGG, por lo que se podrá identificar alelos normales y con premutación hasta aproximadamente 130 repeticiones. No detecta las mutaciones completas (>200 repeticiones CGG) y en mujeres con premutación o mutación completa la determinación es técnicamente compleja.
 - TP-PCR por Amplidex® FMR1-PCR, Asuragen:**
El método consiste en realizar inicialmente una PCR con 3 partidores, uno de ellos complementario a la región de repeticiones CGG (TP-PCR), seguido de

un análisis de fragmentos mediante electroforesis capilar (EC). Los electroferogramas obtenidos se analizan para identificar los peaks de productos específicos, el tamaño en pares de bases de estos peaks se convierte en número de repeticiones CGG. Hasta aproximadamente 200 repeticiones CGG se detectan dentro del rango lineal del instrumento. Los productos de PCR del gen *FMR1* que superan las 200 repeticiones CGG se identifican en la categoría de >200 CGG. Además de proporcionar información sobre el tamaño, los productos de la TP-PCR pueden indicar características cualitativas, como la cigosidad y la presencia de interrupciones AGG.

- Intervalos de Referencia** ³ : Alelos Normales : 5- 44 repeticiones CGG
- Valor Crítico** : No aplica.
- Parámetros de Desempeño** ³ : Más del 99% de los pacientes con Síndrome de X-Frágil presentan mutaciones por amplificación tripletes analizada por este método.
- Información Clínica** ^{2,3,5,7} : El Síndrome X-frágil es la causa hereditaria más frecuente de discapacidad intelectual después de la trisomía 21, y es causado por expansión de tripletes CGG en el gen *FMR1* (sitio FRAXA). En individuos afectados, la expansión es > 200 repeticiones CGG (mutación completa) y el gen está completamente metilado (inactivo), por lo que no hay expresión de la proteína FMRP. Las mujeres y varones portadores presentan entre 55 y 200 repeticiones CGG (premutación) y el gen *FMR1* no está metilado. Las mujeres portadoras de premutación no tienen retardo mental, pero el 20% desarrollará falla ovárica prematura (FXPOI). Aproximadamente el 40% de los hombres portadores sufrirán de Síndrome Tremor ataxia (FXTAS) después de los 50 años. Excepcionalmente se han encontrado deleciones del gen *FMR1* (<1%).
- Indicaciones:**
Este estudio se realiza frente a sospecha de Síndrome de X-frágil por un cuadro de discapacidad intelectual inespecífico, como también en el estudio mujeres portadoras.

Interpretación de resultados:

c.-129CGG[...] (... repeticiones CGG)

Estado de la expansión	N° Repeticiones CGG	Interpretación
Normal	5-44	Resultado no evidencia expansión de triplete CGG.
Intermedio o Zona gris	45-54	De 45 hasta 54 repeticiones son consideradas normales aunque la estabilidad de ellas no ha sido aun claramente establecida en los estudios genéticos. Se recomienda asesoramiento genético.

Premutación	55-200	Hombres: Resultado indica un aumento en el riesgo de desarrollar Síndrome de Tremor/Ataxia. Se recomienda asesoramiento genético. Mujeres: Resultado indica un aumento en el riesgo de presentar Síndrome de Tremor/Ataxia e Insuficiencia ovárica prematura (FXTAS). Se recomienda asesoramiento genético.
Mutación completa	>200	Resultado confirma el diagnóstico de Síndrome de X-frágil. Se recomienda asesoramiento genético.

En pacientes con **mosaicismo**, se presentan patrones inusuales que se especificarán en el informe de resultado.

Factores Interferentes:

Sangre tomada con Heparina inhibe la PCR.

Referencias

1. Richardson A. *et al* (2006) Blood storage at 4 °C. Factors involved in DNA yield and quality. *J. Lab. Clin. Med.* 147 (6): 290-294.
2. Hagerman P. *et al* (2007) Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome - an older face of the fragile X gene. *Nature Cl. P. Neurology* 3(2): 107-112.
3. Monaghan et al. (2013) AMCG Standards and guidelines for fragile X testing: a revision to the disease-specific supplements to the Standards and Guidelines for Clinical Genetics laboratories of the American College of Medical Genetics and genomics. *Genet in Med.* 15: 575-586.
4. Basehore M. *et al* (2014) Molecular analysis of fragile X Syndrome. *Current Protocols in Human Genetics.* Unit 9.5: 9.5.1 - 9.5.19.
5. Nolin S. *et al* (2003) Expansion of the fragile X CGG repeat in females with Premutation or Intermediate alleles. *Am. J. Hum. Genet.* 72: 454-464.
6. Filipovic-Sadic S. et al(2010) A novel FMR1 PCR Method for the routine detection of low abundance expanded alleles and Full mutation in Fragile X Syndrome. *Clin Chem* 56:399-408 (2010)
7. Chen L. et al (2010) An information-Rich CGG Repeat Primed PCR that detects the full range of Fragile X Expanded alleles and minimizes the need for Southern Blot Analysis. *J Mol Diagn* 2010, 12:589-600.