



Fragiles-X: Welche Bedeutung hat der molekulargenetische Befund?

Andreas Tzschach



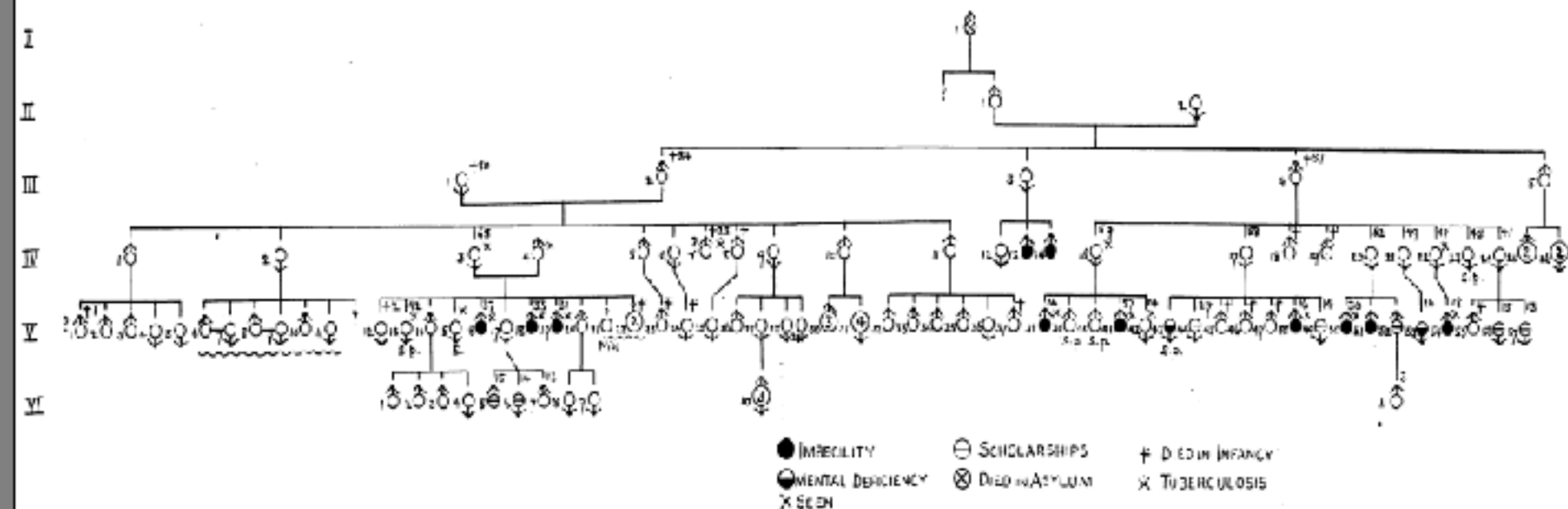
A PEDIGREE OF MENTAL DEFECT SHOWING SEX-LINKAGE

BY

J. PURDON MARTIN and JULIA BELL

(From the National Hospital, Queen Square, London)

(RECEIVED 7TH OCTOBER, 1943)



H. A. LUBS¹

Descriptive human cytogenetics is entering a new and important phase. The major trisomies and monosomies are well described but generally appear as isolated, unpredictable, and hence unpreventable events, except when a large translocation is known. New syndromes due to smaller cytogenetic changes continue to emerge. In addition, from 3% to 5% of the population had an identifiable chromosomal variant in the Edinburgh survey (Court Brown *et al.*, 1966), and the number and percentages of variants can be expected to increase as preparative techniques continue

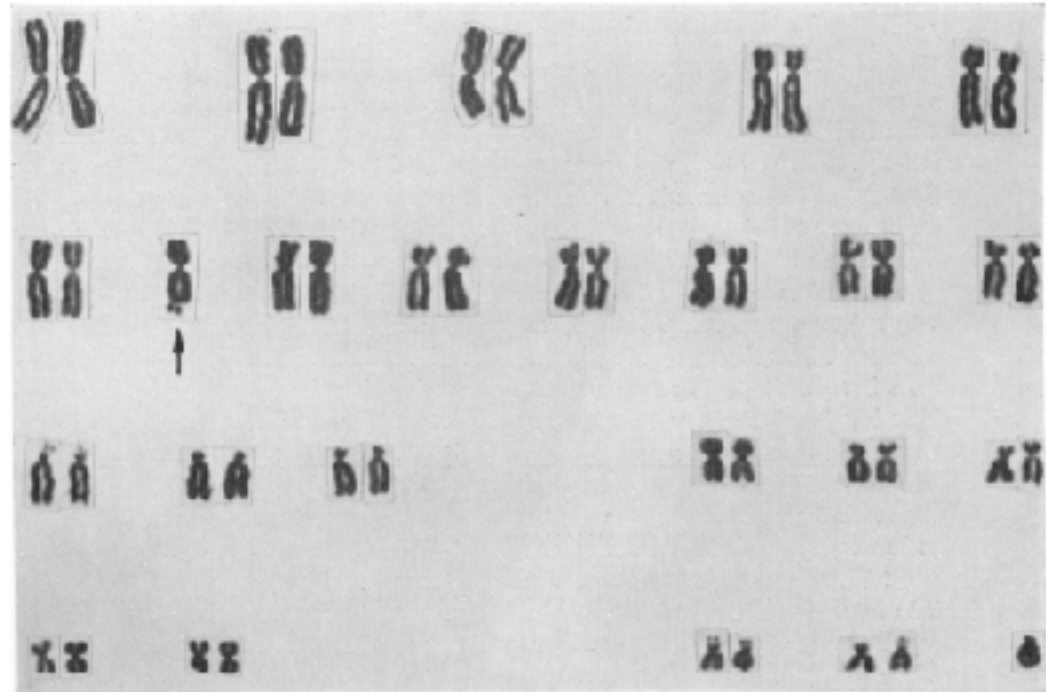
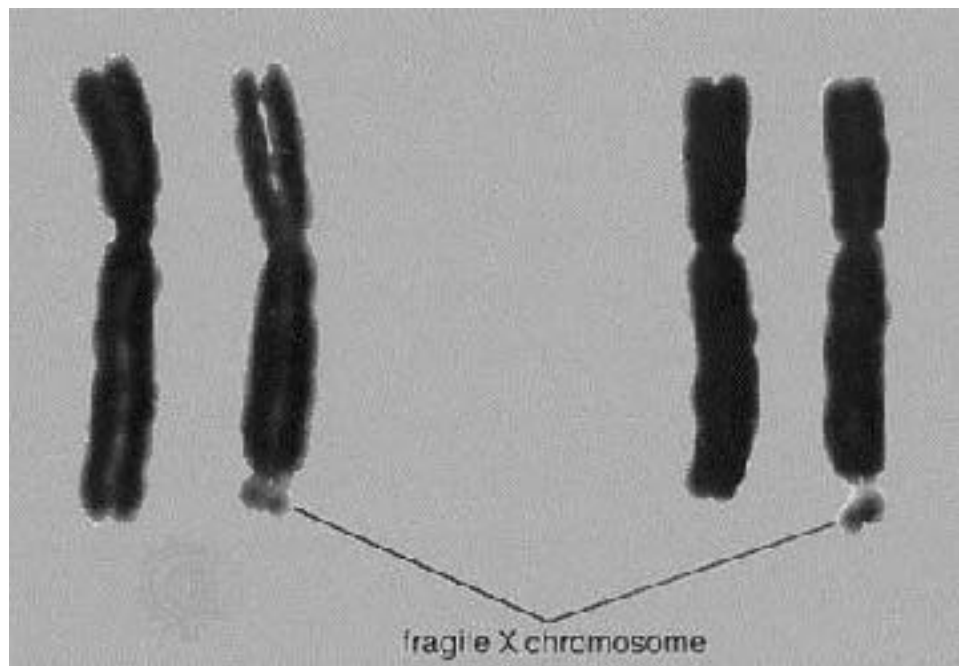


FIG. 3.—Karyotype from the proband showing the marked secondary constriction present in one-third of his cells. The resulting satellites are smaller in diameter than the chromatid but larger than any of the satellites on the acrocentric chromosomes.



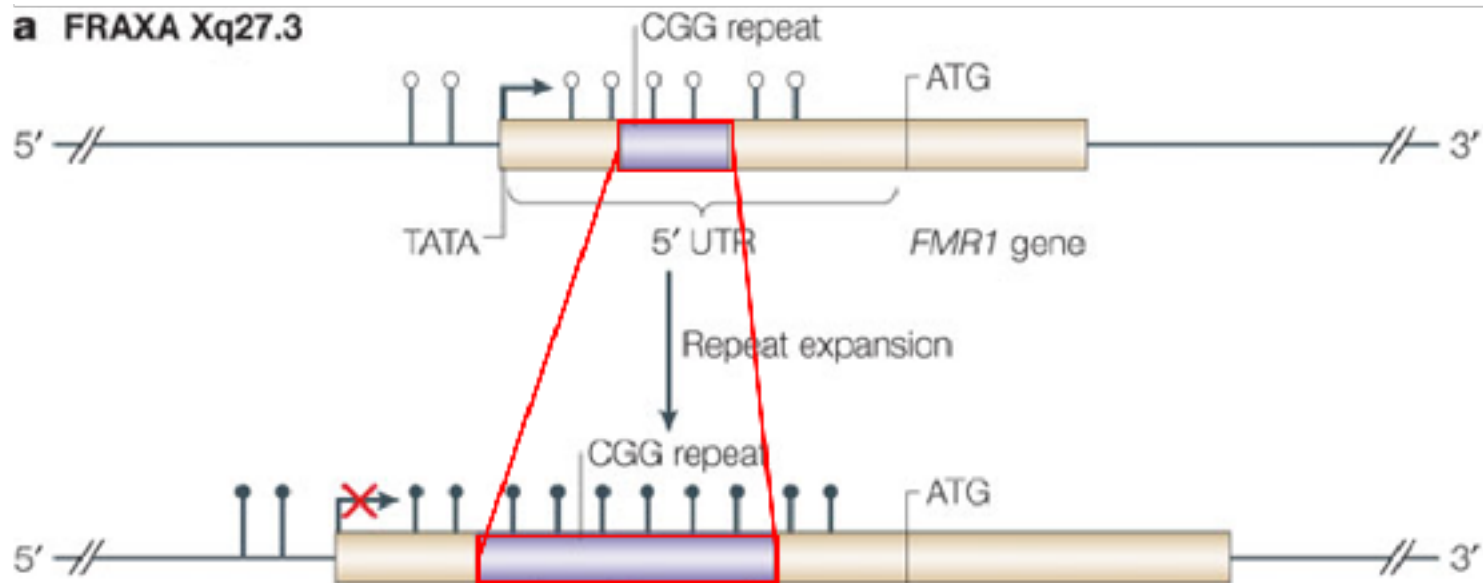
Molekulargenetik

1991:

Nachweis der Trinukleotid-Expansion im **FMR1-Gen**

FMR1

- **CGG-Repeat** in Exon 1 (nicht-translatierter Bereich) (mit AGG-Unterbrechungen)
- normal: 5-44 Repeats (häufig ca. 30)
- „dynamische“ Mutation

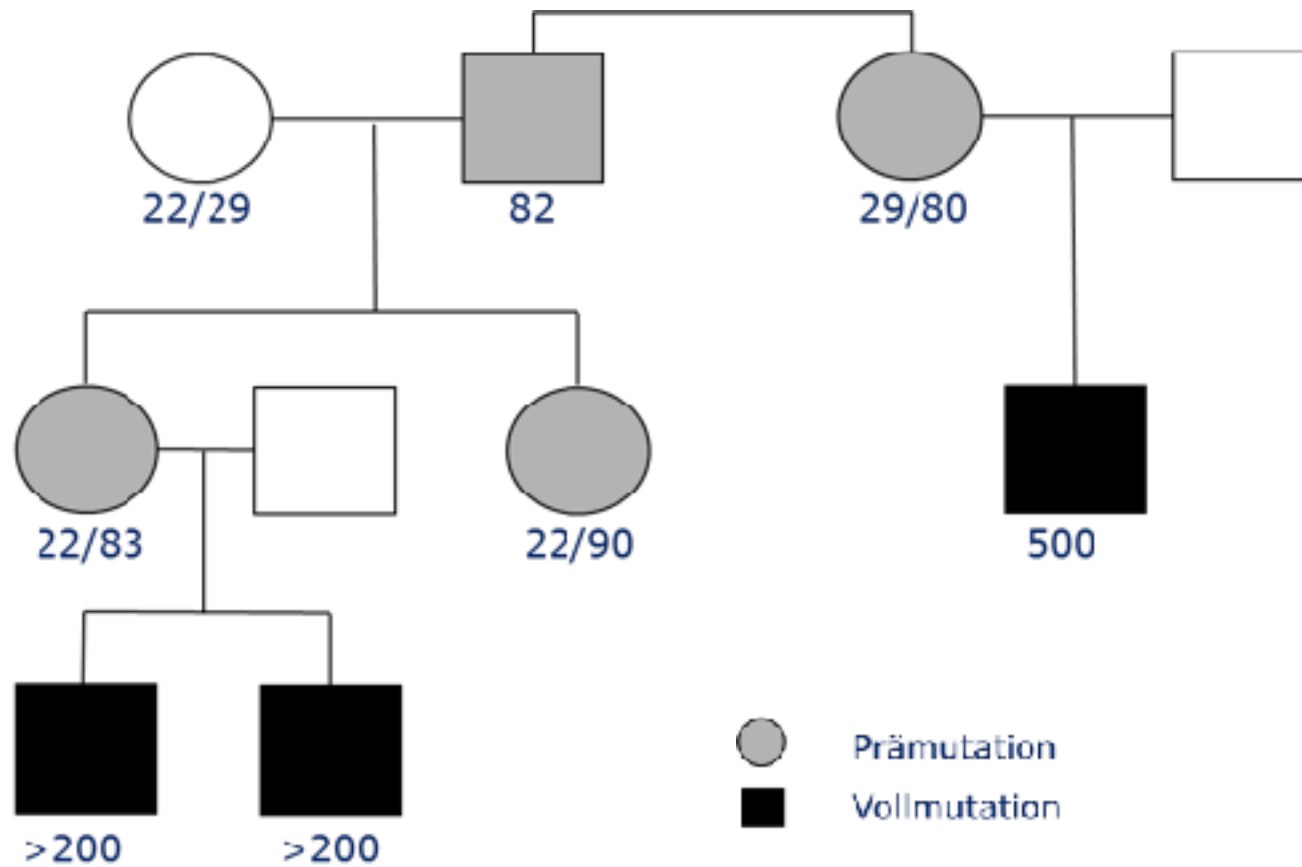


***FMR1*-Gen**

Anzahl der CGG-Repeats

Normalbereich	6 - 44	stabil
Prämutation	55 – 200	instabil bei mütterlicher Vererbung, keine Behinderung
Vollmutation	> 200	instabil, bei Knaben Behinderung, oft als Mosaik

Expansion der CGG-Repeats



Tab. 1 Genotyp-Phänotyp-Beziehungen

Genotyp*	Bezeichnung	Phänotyp
5 bis 49	Normalbereich	Normalpersonen
50 bis 58	Grauzone	Normalpersonen
59 bis 200	Prämutationsbereich	Normale männliche und weibliche Überträger des Fragilen-X Syndroms. Männliche und weibliche FXTAS-Patienten. Etwa 10 % aller Frauen mit primärer Ovarialinsuffizienz
ab 220	Vollmutationsbereich	Männliche und weibliche Patienten mit Fragilem-X Syndrom** Weibliche und männliche Überträger des Fragilen-X Syndroms***

*Tripletzahl

** Alle Männer und etwa 60 % aller Frauen mit *aberrant* methyliertem inaktiviertem *FMR1*-Gen

*** Alle Frauen mit voll expandiertem, aber nur auf dem inaktiven X-Chromosom methylierten *FMR1*-Gen (normale Methylierung). Etwa 10 % aller Frauen mit voll expandiertem und *aberrant* methyliertem *FMR1*-Gen (Methylierung auf dem aktiven X-Chromosom). Alle Männer mit voll expandiertem aber unmethyliertem *FMR1*-Gen

**Tab. 2 Risiko einer Vollmutation bei Kindern von Überträgerinnen
(Daten aus Nolin et al. 2003 [2])**

Länge des maternalen Repeats	Risiko (%)	Kinder mit Vollmutation/alle Kinder
59 – 69*	6	7/115
70 – 79	31	28/90
80 – 89	58	81/140
90 – 99	80	89/111
100 – 200	99	194/197

* Das kleinste prämutierte Allel, das zur Vollmutation expandierte, hatte 59 reine CCG-Wiederholungen.

Labortests zur Bestimmung der Repeat-Anzahl

- Southern Blot
- PCR

Southern blot

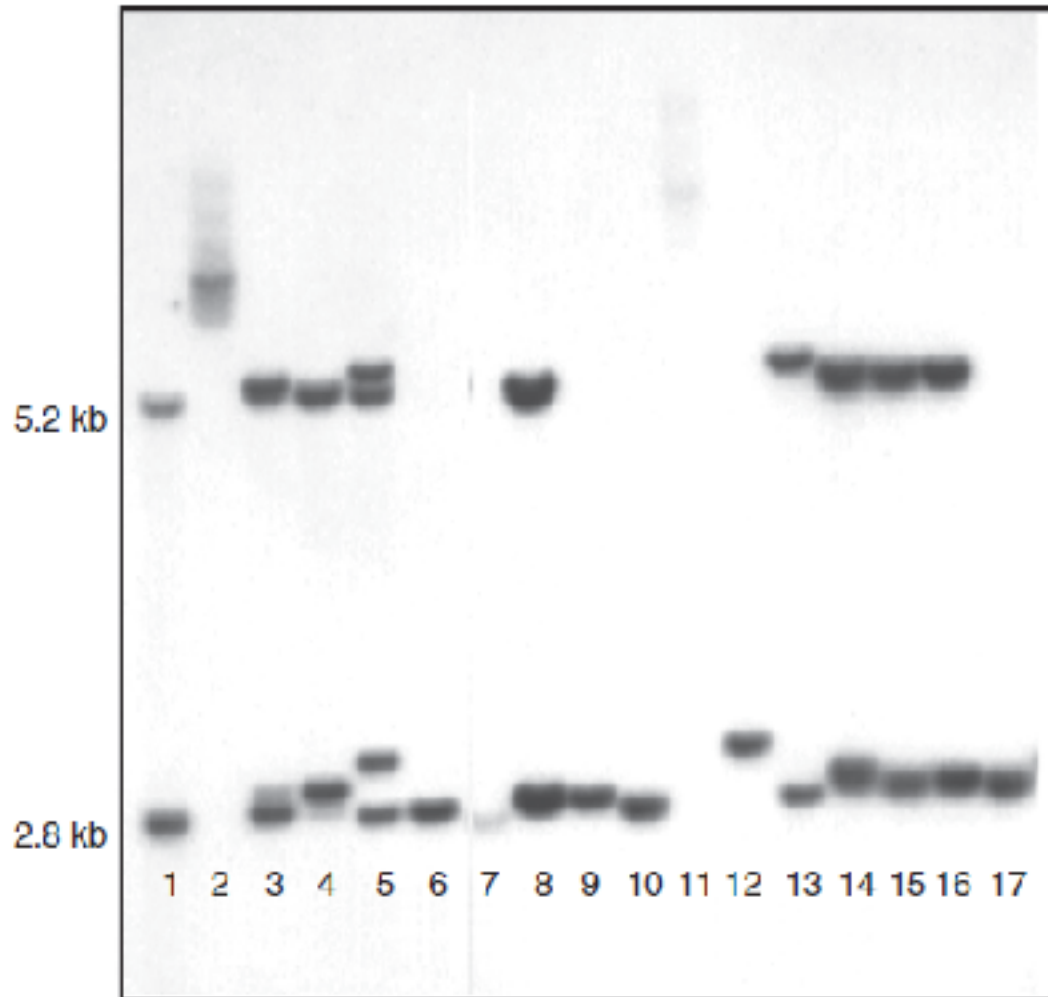


Figure 1 Southern blot using *Eco*RI and *Eag*I digestion, probed with StB12.3, using extended electrophoresis to illustrate several subtle specimen types. 1: Normal female; 2: full-mutation male, note the combination of a predominant band with a diffuse smear; 3: female with 28 and 52 repeats, with the smaller allele predominantly active; 4: female with 26 and 52 repeats, with the larger allele predominantly active; 5: female with 18 and ~80 repeats, with equal X-inactivation; 6: normal male; 7: normal male, underloaded and smiling due to DNA degradation (the apparent line between lanes 6 and 7 is a photographic artifact); 8: normal female; 9: normal male; 10: normal male; 11: affected male, underloaded and very diffuse; 12: premutation male; 13: female with 20 and 70 repeats, with the smaller allele virtually exclusively active (the only evidence of abnormality is the slow migration of the "5.2 kb" band); 14: female with 27 and 42 repeats, with the larger allele somewhat more active; 15-17: unremarkable normal females and male. Figure provided by Genetics & IVF Institute. Reprinted from ref. 101.

PCR

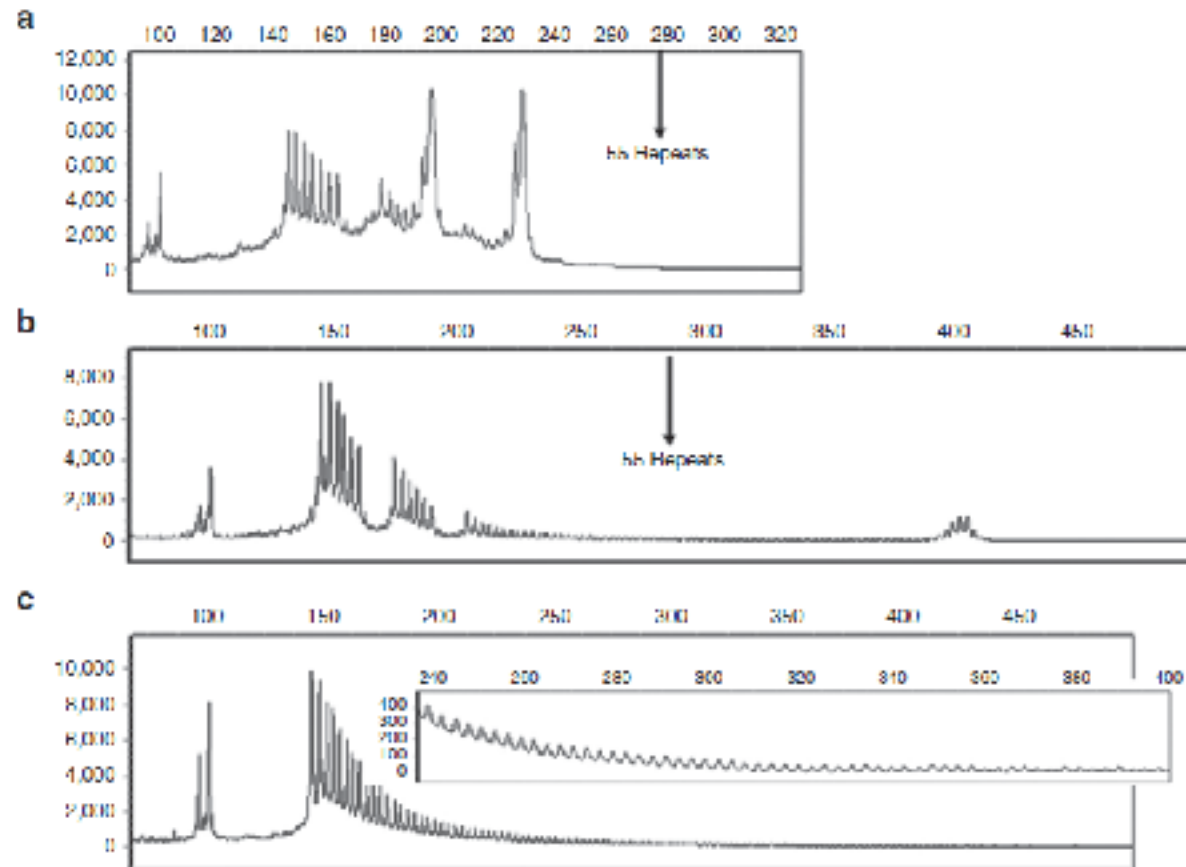


Figure 2 TRP PCR using a two-primer system. (a) Female with 20 and 31 CGG repeats. (b) Male with 103 CGG repeats. (c) Male with size mosaicism from ~140 to 800 CGG repeats (inset: reduced y-axis to better visualize baseline). TRP PCR, triplet repeat primed PCR.

Methylierung

Repeat-Verlängerung führt zu **Hyper-Methylierung** und damit Blockierung des Gens

Testung

- Southern blot mit methylierungssensitiven Restriktionsenzymen
- PCR nach Bisulfitbehandlung

Klinische Ausprägung im weiblichen Geschlecht

Vollmutation (>200 Repeats)

- Spektrum reicht von unauffällig bis zum Vollbild der Erkrankung (wie bei Knaben)
- abhängig von **Methylierungs-Status** und **X-Inaktivierung**

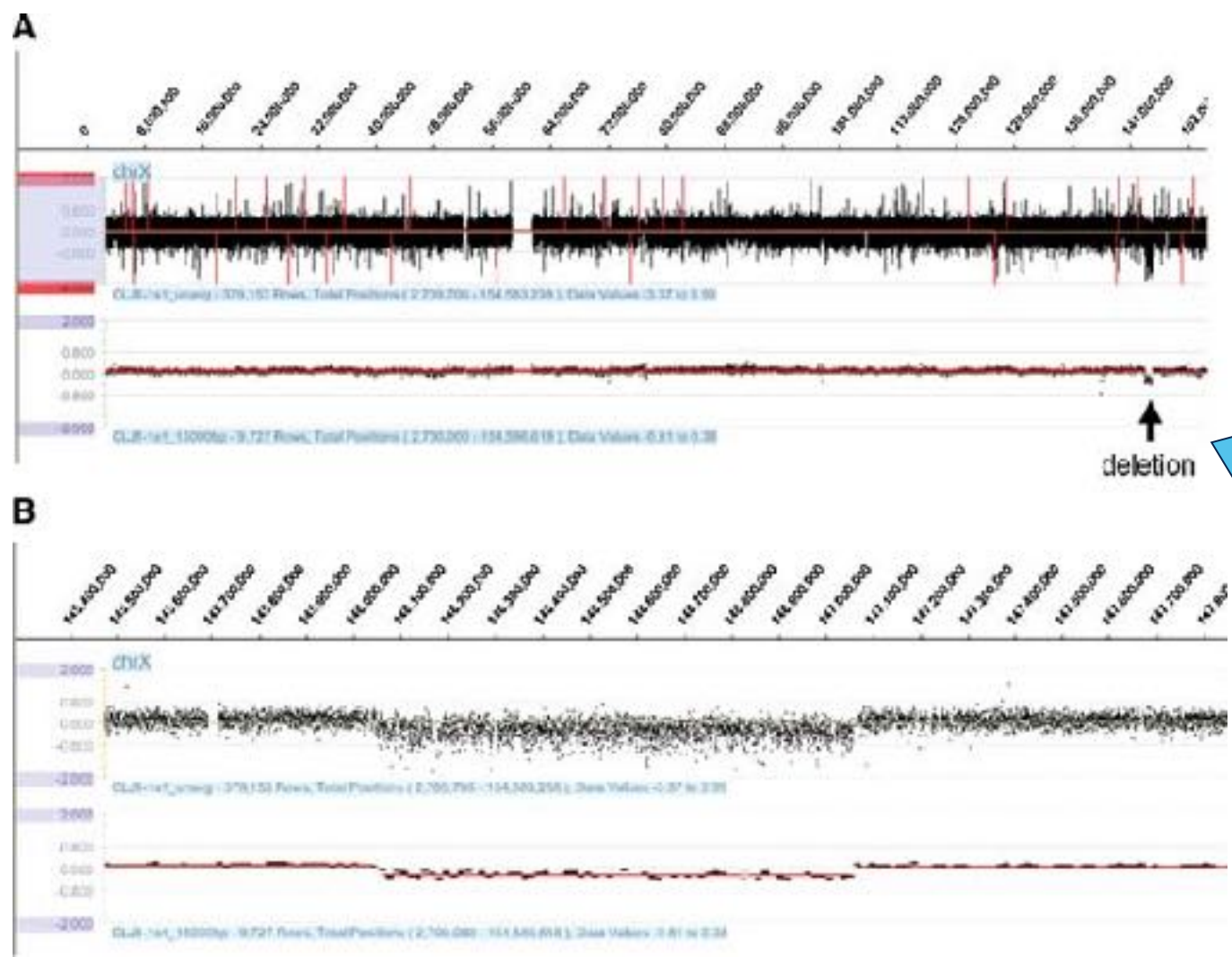
Prämutationen

(55-200 Repeats)

- Prämatüre Ovarialinsuffizienz (ca. 20%)
- Fragiles-X assoziiertes Tremor/Ataxie Syndrom (FXTAS, überwiegend bei Männern)

Pathomechanismus: RNA-Toxizität

Selten: Punktmutationen und Deletionen von *FMR1*

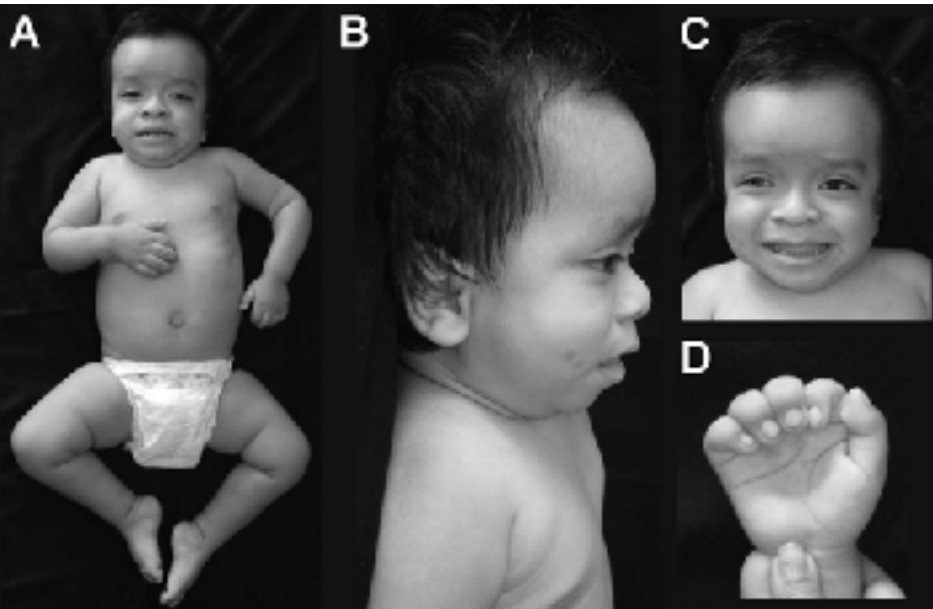


NimbleGen ChrX-array , deletion of *FMR1*

Coffee et al. AJMG, 2008

Buruss et al (2012) J Child Neurol. 2012 Jun;27(6):786-90.

Severe Hunter Syndrome (Mucopolysaccharidosis II) Phenotype Secondary to Large Deletion in the X Chromosome Encompassing **IDS**, **FMR1**, and **AFF2 (FMR2)**



Grønskov et al (2011): Eur J Hum Genet. 2011 Apr;19(4):489-91.

A nonsense mutation in *FMR1* causing fragile X syndrome

a



b



c.80C>A; p.Ser27*

FMR1-Sequenzierung aufgrund des klinischen Bildes!

Funktion des FMR1-Genproduktes

- mRNA-Bindung und Translationshemmung
- bei FraX Überproduktion von Proteinen
- Überreaktion auf Stimulierung eines **metabotropen Glutamaterezeptors (mGluR5)**

à **Therapieansatz:** Hemmung dieses Rezeptors

Prognose

Finnische FraX-Kohorte:

Sterbealter und Todesursache

Table 5. Ages and causes of death of 10 deceased fragile X males

Age at death (years)	Cause of death	Comorbidity
32	Adenocarcinoma of the axilla	Autism, epilepsy
34	Pancreatitis, thromboembolism	Overweight (159 kg)
39	Cardiac death	Mitral valve prolapse
41	Cardiac death	Mitral valve prolapse
48	Burn from smoking	
60	Hip bone fracture, pneumonia	
63	Thromboembolism and abscess	
65	Status epilepticus	Epilepsy, overweight
71	Presumably malignant growth in the abdomen	
77	Unknown	

Weitere Ursachen für geistige Behinderung

- FraX ist häufigste X-chromosomale Ursache für MR
- über 100 weitere X-chr. Krankheitsgene
- zahlreiche autosomale ID-Gene
- Chromosomenstörungen

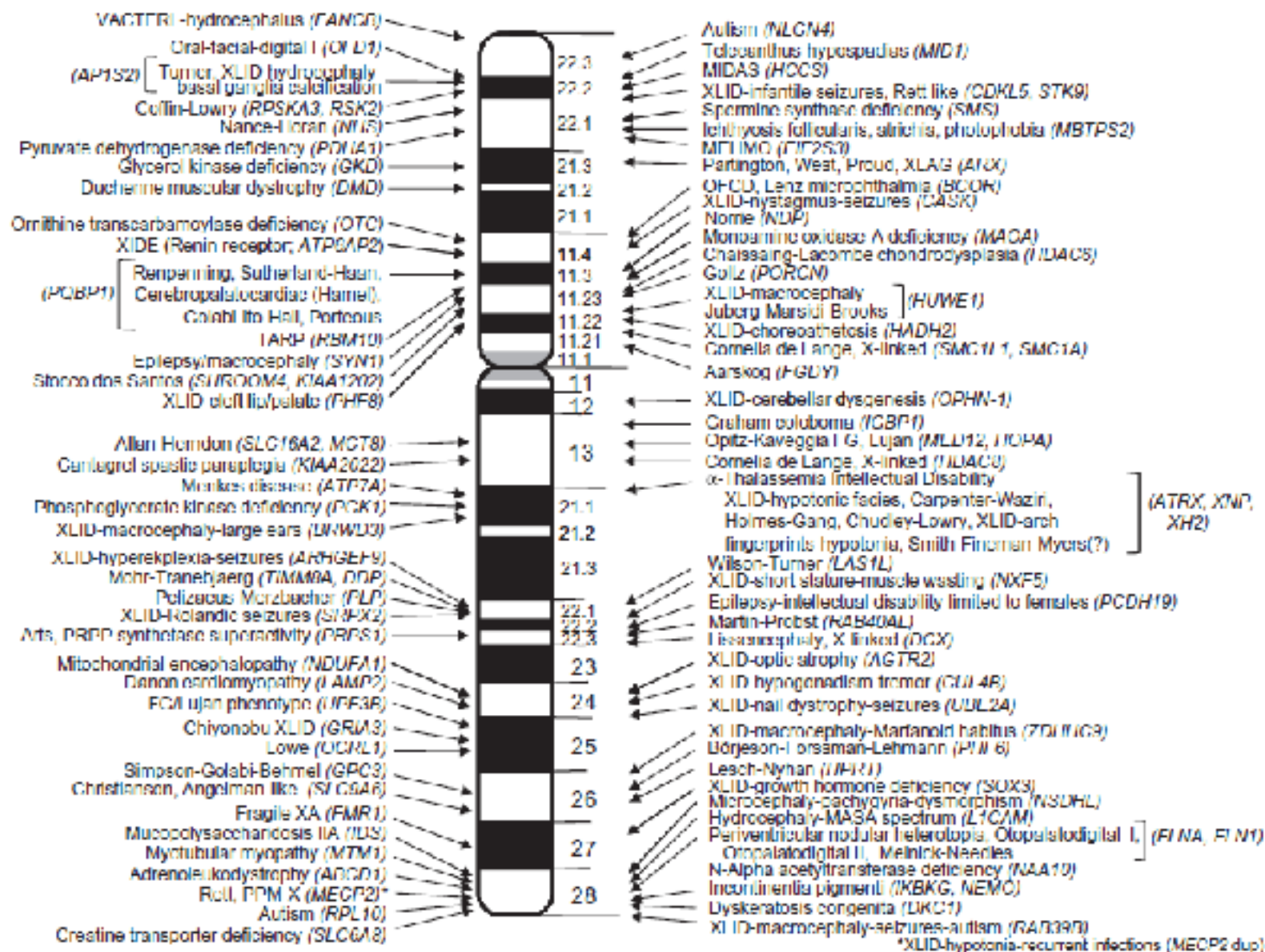


Figure 1. Genes with Identified Mutations that Cause Syndromal XLID with Chromosomal Band Location

Zusammenfassung

Molekulargenetische Testung ist wichtig für

- Diagnosesicherung
- Wiederholungsrisiko
- erlaubt aber nur eingeschränkte Aussagen zum Schweregrad der Erkrankung

Vielen Dank!

