

Revisiones

Síndrome del cromosoma X frágil. Revisión del problema

R. PALENCIA, J. J. TELLERÍA

Departamento de Pediatría. Facultad de Medicina. Valladolid.

I. INTRODUCCIÓN

La observación clínica de familias con casos de retraso mental que predominaba en varones, sirvió de pista para describir una nueva anomalía hereditaria ligada al cromosoma X. El síndrome X frágil fue descrito en 1943⁽¹⁾. Las aportaciones de Lubs⁽²⁾ y otros autores^(3,4) permitieron reunir una serie de datos que, junto a los de otros⁽⁵⁾, condujeron a definir el denominado síndrome del cromosoma X frágil. Esta situación constituye la causa más frecuente de retraso mental familiar y la segunda causa genética más frecuente de retraso mental después del síndrome de Down^(6,7). En nuestro medio, el síndrome del cromosoma X frágil afecta al 3,7% de los varones con retraso mental⁽⁸⁾.

Entre las más de 70 entidades que cursan con retraso mental de causa genética y ligadas al cromosoma X⁽⁹⁾, el síndrome del cromosoma X frágil es el más importante⁽¹⁰⁾, con una presentación de 1/1.000-1.200 varones y una mujer cada 2.500 (30% de las mujeres transmisoras)^(11,12,13). La frecuencia de portador puede llegar a ser de uno en

350 personas⁽¹⁴⁾. Se estima que el síndrome X frágil puede representar el 40% de los retrasos mentales ligados a X, lo que quiere decir que hay, al menos, otro 60% de pacientes con otros síndromes que se asocian a retraso mental y cuya causa reside en otros genes localizados en el cromosoma X⁽¹⁵⁾. La falta de un marcador específico para estos síndromes, hace indispensable efectuar en las familias que reúnen condiciones adecuadas (número suficiente de pacientes y portadoras) el estudio de ligamiento genético que permitirá la localización (mapado) en el cromosoma X del gen responsable de estos síndromes. Sólo de esta forma se podrían definir los marcadores genéticos más próximos (ligados) al gen y que harían factible el diagnóstico de portadoras sanas y el diagnóstico prenatal de la familia sometida al estudio de ligamiento. En los últimos años más de 17 de estas entidades han sido localizadas a lo largo del cromosoma X mediante estudio de ligamiento genético⁽¹⁶⁾; estos estudios han demostrado que síndromes con fenotipo similar, en realidad son debidos a mutaciones en genes diferentes, que se localizan en

distintos "loci" en el cromosoma X, lo que se conoce como variabilidad de loci⁽¹⁷⁾. Además otros síndromes de expresión clínica diferente pueden relacionarse con distintas mutaciones en el mismo gen (variabilidad alélica)⁽¹⁸⁾.

II. CUADRO CLÍNICO

El diagnóstico basado en la expresión clínica es difícil por la naturaleza inespecífica de muchos de los signos de esta entidad y por el fenotipo cambiante con la edad⁽¹⁹⁾. En los varones jóvenes la primera manifestación es, en general, un retraso en la adquisición del lenguaje⁽²⁰⁾. Suelen ser pacientes con dificultades en el aprendizaje⁽²¹⁾ que se puede acompañar de manifestaciones de hiperactividad, inquietud, incluso agresividad o comportamiento autístico^(22,23,24), aunque en la literatura se señala que sólo el 2-3 % de los autistas se asocian con X frágil⁽²⁵⁾ -lo que algunos⁽²⁶⁾ han llamado síndrome Autismo Frágil X (AFRA X); los niños autistas sin X frágil presentan más trastornos sociales y simbólicos, mientras en los niños X frágil con trastornos similo-autistas pre-

Correspondencia: R. Palencia. Colón 8-4ªA. 47005 Valladolid.

dominan los trastornos de la comunicación (por ejemplo lenguaje repetitivo)⁽²⁷⁾. La posibilidad de una asociación entre X frágil e hiperactividad es cuestionada, con autores que describen esta concurrencia⁽²⁸⁾ mientras que otros la niegan⁽²⁹⁾; presentan también defectos de atención, ansiedad y conducta (mordeduras de manos, facilidad para la distracción, actitud defensiva, habla perseverante).

Algunos estudios sugieren una tendencia a la asociación de síndrome X frágil y epilepsia rolándica⁽³⁰⁾; las crisis se presentan en un 20% de los varones y suelen presentarse en la infancia temprana como episodios de mirada fija, crisis aquinéticas, parciales complejas o generalizadas tónico-clónicas. Suelen ser esporádicas y responden bien a la terapéutica convencional como la carbamazepina.

Las características morfológicas pueden orientar al diagnóstico, pero su aparición a menudo es tardía (son más destacados después de la pubertad) como sucede con la dismorfia facial, con pabellones auriculares grandes y despegados o la macroorquí (ésta es especialmente postpuberal), y no son específicas ni aparecen en todos los pacientes (especialmente no se observan las alteraciones faciales en las mujeres); ocasionalmente se observa un aumento del tamaño del pene, sin que se describan alteraciones del comportamiento sexual⁽³¹⁾.

En algunos pacientes se han referido trastornos de la refracción⁽³²⁾. También se ha recogido la presencia de hipotonía, hiperextensibilidad de los dedos de la mano, pies planos, escoliosis,

estrabismo y prolapso de válvula mitral⁽³³⁾.

Los estudios de RNM encefálica muestran una clara disminución del vermis cerebeloso (quizá por hipoplasia y no por atrofia), sobre todo posterior, con un 4º ventrículo agrandado tanto en hombres como en mujeres⁽³⁴⁾, hallazgo cuyo interés se ha visto realzado por la observación de que los pacientes autistas no X frágil tienen un neocerebelo pequeño.

Los varones suelen mostrar un retraso mental moderado o profundo, pero a veces su psiquismo está en límites normales.

Las mujeres afectadas pueden ser físicamente normales o tener rasgos faciales levemente anormales como cara alargada, frente amplia, pabellones auriculares llamativos. De forma global la mujer afectada tiende a mostrar con mayor frecuencia que los varones, retraso intelectual leve, aunque se conocen mujeres con retraso medio e incluso profundo. Muestran problemas de conducta como hiperactividad, mordeduras en las manos, facilidad para distraerse, timidez, así como una mayor incidencia de depresión y signos esquizoides⁽³⁵⁾.

III. GENÉTICA

El síndrome X frágil se hereda como una alteración mendeliana dominante ligada al cromosoma X⁽³⁶⁾, con penetrancia incompleta y expresión variable. La mayoría de los varones que heredan la mutación están afectados; sin embargo, en el 20% el gen es no-pe-

netrante, su aspecto físico y su inteligencia son normales, pero son portadores del trastorno (varones normales transmisores). De las mujeres que heredan la mutación, el 30% tiene algún grado de afectación mental, pero no tienen manifestaciones dismórficas específicas; el 70% de las mujeres portadoras que son normales desde el punto de vista intelectual pueden no tener signos externos que hagan sospechar el riesgo de tener un hijo retrasado y es frecuente que sólo después del nacimiento de un segundo hijo con dificultades de aprendizaje cuando se comience a sospechar una causa genética.

El análisis por segregación demuestra que el peligro de retraso mental en hermanos de varones transmisores es del 18%, en tanto que es del 74% en los nietos por línea materna de estos varones transmisores. El que los nietos de varones transmisores tengan mayor probabilidad de sufrir el síndrome que los hermanos de dichas personas se conoce como "paradoja Sherman" y se explica por el hecho de que los alelos mutantes tienden a aumentar de tamaño en las meiosis maternas, y por tanto en las generaciones sucesivas.

Su locus génico coincide con el punto frágil folato-dependiente Xq 27.3 (FRAX-A)^(2,37,38).

Hasta 1991 (año de la identificación del gen) el único medio diagnóstico era el estudio citogenético, visualizando el FRAX-A en metafases de linfocitos cultivados en medio pobre en ácido fólico⁽³⁹⁾. Este método es laborioso y poco eficaz para detectar portadores/as sanos/as, debido a la baja (a veces nula)

expresividad del FRAX-A. Por otra parte, alrededor del 20% de los varones portadores no presenta evidencia clínica ni citogenética de síndrome X frágil (varones normales transmisores, identificados en tanto que son abuelos de niños afectados); en cuanto a las mujeres portadoras, sólo el 50% presenta algún tipo de déficit intelectual, que, sin embargo, no aparece en las hijas de varones transmisores normales (ellas son portadoras obligadas por haber recibido el X mutado de su padre).

La identificación del gen del síndrome X frágil, llamado FMR-1 (Fragile X Mental Retardation 1) supuso un importante avance en el diagnóstico de familias afectas. Esparcidos en una región del genoma de 80 kb, los exones del gen FMR-1 codifican para RNA mensajero de 4,8 kb presente en una gran variedad de tejidos, y especialmente en la placenta, cerebro y linfocitos de individuos sanos y portadores, pero ausente en los linfocitos de individuos enfermos.

La base molecular del síndrome X frágil es la expansión anómala de un trinucleótido repetitivo (CGG) (o sea, la amplificación anormal de una secuencia repetitiva CGG) en un lugar previo al gen FMR-1 (el cual no suele presentar ninguna mutación), que constituye una isla CpG, estructura frecuentemente relacionada con la regulación de los niveles de expresión de los genes situados a continuación⁽⁴⁰⁾. Esta expansión provoca de alguna manera la metilación de la isla CpG situada a 5' del primer codón del gen. Cuando el número de repeticiones es superior a 200, la metilación es com-

pleta y condiciona la ausencia de expresión del gen FMR-1 y con ello el bloqueo de la síntesis de la proteína.

En la población normal la secuencia de trinucleótidos (repeticiones) varía entre 7-50. Los varones enfermos presentan una repetición (expansión) que es siempre superior a 230 trinucleótidos y, generalmente, excede los 500 (*Mutación completa*); las mujeres afectadas tienen entre 500-5.000 repeticiones. Los varones normales transmisores y las mujeres portadoras suelen tener entre 50-200 tripletes (*Premutación*)⁽⁴¹⁾ (que como señalamos, no suele asociarse a manifestaciones clínicas, aunque es muy inestable en la meiosis femenina, y puede expandirse hacia mutaciones completas con más 200 repeticiones en las generaciones sucesivas cuando se transmite por vía materna). Algunos autores han introducido el término de *Promutación* para designar los casos con 40-60 trinucleótidos, ya que los alelos de este tamaño presentan, al menos "in vitro", una cierta inestabilidad mitótica y meiótica, con tendencia a aumentar de tamaño.

Así pues, la premutación es inestable y puede expandirse a mutación completa, particularmente tras su paso por mujeres en sucesivas generaciones, resultando además metilados (zona CpG) cuando alcanza las 600 bases de tamaño. Son estos fragmentos metilados los que definen la mutación X frágil; esta metilación anormal no se evidencia en el varón normal transmisor, por lo que este método no es útil para su detección⁽⁴²⁾.

El riesgo de expansión de una premutación materna en la siguiente ge-

neración aumenta exponencialmente cuando el número de tripletes está entre 65-100⁽⁴³⁾. Este fenómeno se conocía antes del descubrimiento del gen (FMR-1) como paradoja de Sherman (a la que ya nos hemos referido anteriormente), la cual definía el aumento en el número y proporción de individuos con retraso mental en sucesivas generaciones de familias con síndrome X frágil, y que en otras enfermedades, como la distrofia miotónica, se conocía como *Anticipación*.

Curiosamente la premutación sólo se convierte en mutación completa cuando se transmite por vía materna (como ya hemos señalado antes) y nunca lo hace cuando es transmitida por vía paterna (varón transmisor normal); se ha confirmado que la mutación completa está ausente en la línea germinal de varones afectados de síndrome X frágil cuyos espermatozoides portaban únicamente la premutación, no habiéndose descrito casos de mutaciones espontáneas en este síndrome⁽¹⁰⁾.

Se han descrito pacientes con fenotipo X frágil sin expresión citogenética de X frágil, ni amplificación repetitiva anormal CGG ni hipermetilación de la zona CpG, pero que presentan una delección de todo o parte del locus FMR-1 o una mutación puntual FMR-1⁽⁴⁴⁾. Las islas CpG con frecuencia regulan, en función de que estén o no metilados, un grupo de genes colocados a continuación; sin embargo, el hecho de que existan individuos con fenotipo X frágil y mutaciones en FMR-1 sin ampliación ni metilación de la tripleta CGG, confirma que este gen es el responsable único y último del síndrome.

La función del gen FMR-1 no está todavía bien precisada. Se sabe que existe una correlación entre el grado de afectación, el estado de metilación anormal de la zona CpG y la ausencia del RNA mensajero en los leucocitos y células linfoblastoides de pacientes con mutación completa. Los lugares de máxima expresión del FMR-1 son las neuronas colinérgicas del núcleo basal y las neuronas piramidales del hipocampo⁽⁴⁵⁾. Este hecho apoya la teoría de que las alteraciones en la expresión del gen FMR-1 contribuyen a la patogenia del síndrome X frágil, en especial del retraso mental⁽⁴⁶⁾. La proteína codificada por FMR-1, parece ser una ribonucleoproteína, y la función de ésta suele ser el transporte de RNA maduro al citoplasma celular. Permanece, sin embargo, oscuro el mecanismo por el que esta alteración puede provocar el fenotipo definido por el síndrome X Frágil.

Se han identificado otras zonas X frágil, que originan situaciones diferentes al síndrome que aquí estamos estudiando:

- Un lugar de fragilidad está localizado en Xq27.2 y se ha denominado FRAX-D para distinguirlo del FRAX-A (Xq27.3); este lugar (FRAX-D) es una fuente potencial de diagnósticos erróneos en mujeres portadoras, diagnóstico prenatal y ocasionales varones con muy bajos niveles de expresión de la fragilidad. Su prevalencia es desconocida en la población, pero no se asocia con retraso mental ni con ningún otro tipo de trastorno.

- Estudios de cariotipos con bandeados de alta resolución han evidenciado un lugar frágil distal al gen FMR-

1, en la porción proximal de Xq28. Este lugar se denomina FRAX-E⁽⁴⁷⁾, es folato-sensible y citogenéticamente no se distingue del FRAX-A. La anomalía FRAX-E cursa con retraso mental habitualmente ligero (menor que en el FRAX-A) y se manifiesta por retraso en la adquisición del lenguaje y problemas del aprendizaje, sobre todo de lectura y escritura, y los individuos tienen amplificaciones igualmente de un fragmento poliGCC.

Otro lugar frágil, denominado FRAX-F se ha identificado en Xq27-q28 y no es sensible al folato. Todos los casos descritos son mujeres y su grado de afectación intelectual es inusualmente severo para los heterocigotos X frágil; no presentan trastornos del comportamiento ni rasgos dismórficos.

Se ha descrito⁽⁴⁸⁾ una prueba diagnóstica mediante un análisis rápido de anticuerpos para identificar pacientes con síndrome X frágil, basado en que en el síndrome X Frágil existe ausencia de la proteína FMR-1.

IV. CONSEJO GENÉTICO

El consejo genético es muy difícil. El análisis citogenético es poco eficaz para despistar a las mujeres portadoras (sólo el 55% son detectadas). La transmisión por hombres aparentemente normales añade un problema más ya que sus hijas serán portadoras (a menudo sin expresión citogenética).

Las mujeres que portan una expansión anormal de CGG en el lugar del gen FMR-1 pueden ser sintomáticas o asintomáticas. Las sintomáticas

tienen una mutación X frágil con repeticiones CGG que exceden de 200 e incluso 500; la intensidad de la clínica probablemente dependa de la relación en el sistema nervioso central de cromosomas X sanos y cromosomas X frágiles inactivados. Las mujeres pueden ser asintomáticas a pesar de tener la mutación X con más de 200 repeticiones CGG, a condición de que la mayoría de estos cromosomas X frágiles hayan sido inactivados; también las mujeres pueden ser portadoras asintomáticas con una premutación que conste de 52-200 repeticiones CGG. Las mujeres portadoras tienen manifestaciones del tipo de la depresión en más del 70% de los casos comparados con el 40% de las mujeres control que han tenido niños con X frágil no retrasados.

En el diagnóstico prenatal la búsqueda del sitio frágil en las vellosidades coriónicas es difícil técnicamente (porque el sitio frágil se expresa en tasa más débil que en los linfocitos) con riesgo de falsos negativos. Para remediar estos problemas se ha desarrollado el análisis por PCR de la expansión del poliCGG, lo que permite seguir la transmisión y posible amplificación de la mutación⁽⁴⁹⁾.

V. ATENCIÓN AL PACIENTE CON SÍNDROME X FRÁGIL

En el momento actual no es posible la curación de estos pacientes, pero con la ayuda de medicación, atención psicológica y educación puede reducirse su problemática. Los déficits de atención y la hiperactividad que a veces

asocian pueden mejorarse con medicación como metilfenidato⁽⁵⁰⁾ y el ácido fólico⁽⁵¹⁾, aunque la utilidad de este último es más discutible.

BIBLIOGRAFÍA

- Martin JP, Bell J. A pedigree of mental defect showing sex-linkage. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1943; **6**:154-157.
- Lubs HA. A marker X chromosome. *Am J Hum Genet* 1969; **21**:231-244.
- Giraud F, Ayme S, Mattei JF, Mattei MG. Constitutional chromosomal breakage. *Hum Genet* 1976; **34**:125-136.
- Harvey J, Judge C, Wiener S. Familial X-linked mental retardation with and X chromosome abnormality. *J Med Genet* 1977; **14**:46-50.
- Southerland GR. Marker X Chromosomes and mental retardation. *N Engl J Med* 1977; **296**:1415.
- Editorial. Preventive screening for fragile X syndrome. *Lancet* 1986; **2**: 1191-1192.
- Goldson E, Hagerman RJ. The fragile X syndrome. *Dev Med Child Neurol* 1992; **34**:822-832.
- Pascual Pascual SI, García Marcos JA, Martín Lucas MA. Estudio del síndrome X frágil en la población de la compañía telefónica de España. *Rev Neurol(Barc)* 1995; **23**:644-647.
- Mc Kusick VA. Mendelian inheritance in man. Catalogues of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes. 8th edition. Th John Hopkins University Press. Baltimore, London. 1988.
- Ramos Fuentes FJ. Avances en el síndrome frágil X y otras enfermedades con anticipación genética. *An Esp Pediatr* 1994; **61**:79-84.
- Herbst DS, Miller J. Non specific X-linked mental retardation. II: the frequency in British Columbia. *Am J Med Genet* 1980; **7**:461-470.
- Webb T. The epidemiology of fragile X syndrome. En: Davies KE(ed). The fragile X syndrome. Oxford University Press. Oxford, 1991: 45-54.
- Warren ST, Nelson DL. Advances in molecular analysis of fragile X syndrome. *JAMA* 1994; **271**:536-542.
- Rousseau F, Rehel R, Rouillard P et al. Mutational prevalence of fragile X pre-mutations in 10,624 females from the general population by Southern blotting. *Am J Hum Genet* 1993; **A 3**.
- Opitz JM. Editorial comment: on the gates of hell and a most unusual gene. *Am J Med Genet* 1986; **23**:1-10.
- Gedeon A, Kerr B, Mulley J, Turner G. Localisation of the MRX3 gene for non-specific X linked mental retardation. *J Med Genet* 1991; **28**:372-377.
- Arveiler B, Alembik Y, Hanauer A et al. Linkage analysis suggest at least two loci form X-linked non-specific mental retardation. *Am J Genet* 1988; **30**:473-483.
- Gal A, Wieringa B, Smeets D, Bleeker L, Ropers HH. Submicroscopic interstitial deletion of the X chromosome explains a complex genetic syndrome dominated by Norrie disease. *Cytogenet Cell Genet* 1986; **42**:219-224.
- Carpenter NJ. Anticipación genética. Expansiones de repetición en tándem. *Clinicas Neurológicas de Norteamérica* (ed esp) 1994; **4**:641-655.
- Sudhalter V, Maranion M, Brooks P. Expressive semantic deficit in the productive language of males with X fragil. *Am J Med Genet* 1992; **43**:65-71.
- Slaney SF, Wilkie AOM, Hirst MC, Charlton R, McKinkley M, Pointon J, Christodoulos Z, Huson SM, Davies KE. DNA testing for fragile X syndrome in schools for learning difficulties. *Arch Dis Child* 1995; **72**:33-37.
- Brown WT, Friedman E, Jenkis EC, Brooks J, Wisniewski K, Raguthu S, French JH. Association of fragile X syndrome with autism. *Lancet* 1982; **1**:100.
- Reiss AL, Freund L. Behavioural phenotype of fra(X):DSM III R autistic behaviour in male children. *Am J Med Genet* 1992; **43**:35-46.
- Rodríguez de la Rúa V, Álvarez García F, Hernando I, Benavides A, Coto GD, de Juan J, Fernández Toral J. El retraso mental y la fragilidad del cromosoma X. *An Esp Pediatr* 1986; **25**:329-334.
- Bailey A, Bolton P, Butler L et al. Prevalence of the fragile X anomaly amongst autistic twins and singletons. *J Child Psychol Psychiatry* 1993; **34**:673-688.
- Gillberg Ch, Wahlström J, Johansson R, Tornblom M, Albertsson-Wikland K. Folic acid as an adjunct in the treatment of children with the autism fragile-X syndrome(AFRA X). *Dev Med Child Neurol* 1986; **28**:624-627.
- Turk J. Fragile X syndrome. *Arch Dis Child* 1995; **72**:3-5.
- Hagerman RJ. Fragile X syndrome. *Current Problems in Pediatrics*. 1987; **17**:627-674.
- Einfeld S, Hall W, Levy F. Hyperactivity and the fragile X syndrome. *J Abnorm Child Psychol* 1991; **19**:253-262.
- Musumeci SA, Colognola RF, Gigli GL et al. Fragile X syndrome:a particular epileptogenic EEG pattern. *Epilepsia* 1988; **29**:41-47.
- Pascual Castroviejo I, López Pajares I, Delicado A. Retraso mental ligado al cromosoma X, macroorquidismo y zona frágil en el cromosoma X. *An Esp Pediatr* 1982; **17**:466-474.
- Flood A, Sanner G. Trastornos de la refracción en el síndrome X frágil. *Acta Paediatr Scand* (ed esp) 1985; **6**:1069.
- Hagerman RJ. Physical and behavioral

- phenotype. En: *Fragile X syndrome: diagnosis, treatment and research*. Hagerman RJ, Silverman AC (eds). The Johns Hopkins University Press. Baltimore. 1991. p3.
34. Reiss AL, Aylward E, Freund LS, Joshi PK, Bryan RN. Neuroanatomy of fragile X: the posterior fossa. *Ann Neurol* 1991; **29**: 26-32.
 35. Freund L, Reiss AL, Abrams MT. Psychiatric disorders associated with fragile X in the young female. *Pediatrics* 1993; **91**:321-329.
 36. Sherman SL, Morton NE, Jacobs PA, Turner G. The marker X syndrome: a cytogenetic and genetic analysis. *Ann Hum Genet* 1984; **48**:21-37.
 37. Brown WT. The fragile X: progress towards solving the puzzle. *Am J Hum Genet* 1990; **47**:175-180.
 38. Sutherland GR, Mulley JC. Diagnostic molecular genetics of the fragile X. *Clinical Genetics* 1990; **37**:2-11.
 39. Sutherland GR. Heritable fragile sites on human chromosomes. II. Distribution, phenotypic effects, and cytogenetics. *Amer J Hum Genet* 1979; **31**:136-148.
 40. Verkerk A, Pieretti M, Sutcliffe JS 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; **65**:905-914.
 41. Ramos FJ, Eupnu DL, Finucane B, Pfendner EG. Direct DNA testing for fragile X syndrome. *Am J Dis Child* 1993; **147**:1231-1235.
 42. Prieto F, Martínez F. Genética del síndrome del cromosoma X frágil. *Rev Neurol* (Barcelona) 1994; **22**:106-108.
 43. Heitz D, Devys D, Imbert G, Kretz C, Mandel JL. Inheritance of the fragile X syndrome: size of the fragile X premutation is a major determinant of the transition to full mutation. *J Med Genet* 1992; **29**:794-801.
 44. Lugenbeel KA, Peier AM, Carlson NL, Chudley AE, Nelson DL. Intragenic loss of function mutations, demonstrate the primary role of FMR1 in Fragile X Syndrome. *Nature Genet* 1995; **10**:483-485.
 45. Abitbol M, Menini C, Delezoide AL, Rhyner T, Vekemans M, Mallet J. Nucleus basalis magnocellularis and hippocampus are the major sites of FMR-1 expression in the human fetal brain. *Nature Genet* 1993; **4**:115-116.
 46. Devys D, Lutz Y, Rouyer N, Belloq JP, Mandell JL. The FMR-1 protein is cytoplasmic. Most abundant in neurons and appears normal in carriers of a fragile premutation. *Nat Genet* 1993; **4**:335-340.
 47. Knight SL, Flanney AV, Hirst MC et al. Trinucleotide repeat amplification and hypermethylation of a CpG island in FraxE mental retardation. *Cell* 1993; **74**:127-134.
 48. Willemsen R, Mohkamsing S, de Vries B, Devys D, van den Ouweland A, Mandel JL, Galjaard H, Oostra B. Análisis rápido de anticuerpos en el síndrome de X frágil. *Lancet* (ed esp) 1995; **27**(3):181-183.
 49. Milá Recasens M, Sánchez Díaz A, Glover López G, Castellví Bel S, Carbonell Meseguer P, Kruyer H, Ballesta Martínez F, Estivill Pallejá X. Estudio genético y molecular de 85 familias afectas del síndrome del cromosoma X frágil. *An Esp Pediatr* 1996; **44**:250-256.
 50. Hagerman RJ, Murphy MA, Wittenberger MD. A controlled trial of stimulant medication in children with the fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 1988; **30**:377-392.
 51. Hagerman RJ, Jackson AW, Levitas A et al. Oral folic acid versus placebo in the treatment of males with the fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 1986; **23**:241-262.