

## A SÍNDROME DO X-FRÁGIL

### RESUMO

Um (1) em cada 1500 homens, uma (1) em cada 2500 mulheres, são portadores da Síndrome do "X"Frágil, ou Síndrome de Martin Bell. A fragilidade cromossômica é encontrada no cromossoma sexual X, região Xq27, o que explica uma maior prevalência no sexo masculino. A triagem é feita por PCR um método moderno e rápido, utilizando-se dois genes bem definidos: o FRAXA e FRAXE. Clinicamente a síndrome é bastante heterogênea. Fenotipicamente pode-se encontrar (orelhas grandes, macroorquidismo, má formação dentária entre outras), além de características comportamentais irritabilidade, dificuldade de atenção, retardo mental, pobre contato visual, fala repetida e estereotípias. A falta de informação sobre a doença e o alto custo para diagnosticar a mesma , torna difícil a prevalência dessa Síndrome na nossa região e um apoio adequado aos portadores.

### (OBJETIVOS)

Oferecer gratuitamente o exame de PCR (DNA) para crianças sugestivas da Síndrome do X-Frágil. Detectar Portadores da Síndrome em Escolas Municipais de Blumenau e em entidades de retardo mental, orientando os profissionais da área de saúde e educacional, estabelecer um enfoque terapêutico multidisciplinar adequado e uma prevenção familiar oportuna através da detecção de novos casos dentro da família e realização de aconselhamento genético.

### (MATERIAIS E MÉTODOS)

A seleção dos pacientes foi realizada através de um questionário aplicado a todas as crianças das escolas que apresentavam distúrbio de aprendizado, repetição o ano letivo , dificuldade na fala , na escrita e na matemática e outros estigmas importantes para a S. do X Frágil . O.escore mínimo obtido a partir de questionário aplicado deveria preencher 10 pontos para partir para outra etapa que era o teste do DNA. Levou-se em consideração 18 quisitos importantes para se suspeitar da Síndrome ,a cada quisito apresentado pela criança computava-se 1 ponto, exceto características mais relevantes como o distúrbio da fala, as estereotípias, o pobre contato visual e antecedentes familiares que valiam dois (2) pontos. Nos pacientes selecionados, foram colhidos fios de cabelo com bulbo. Os indivíduos passaram por uma triagem diagnóstica por PCR. Utilizou-se 4 pares de primers de dois genes o FRAXA e o FRAXE. seguido por Eletroforese em gel de Poliacrilamida, com Nitrato de Prata mostrando a expansão dos Trinucleotídios (CGG). O paciente é considerado normal quando possui de 5 a 50 repetições de CGG, pré-mutado quando de 50 a 200 repetições e finalmente afetado quando excede 200.

### (RESULTADOS)

Dos 400 pacientes entrevistados, foram selecionados 63 pacientes, 56 meninos e 7 meninas, sendo que 30 deles freqüentavam escola especial e 33 escola regular. Foram encontrados 2 pacientes afetados e um paciente em zona gray (crianças que podem apresentar sintomatologia de X Frágil e comprometer sua próxima geração). Dentre os normais, o número de repetições de CGG variou de 17 a 36.

Dois pacientes tiveram resultados inconclusivos pelo método de PCR, sugere-se confirmação por Southern Blot.

### (CONCLUSÃO)

Mais uma vez pode-se confirmar como o X-frágil é uma síndrome de clínica heterogênea e que nem mesmo a alta pontuação no questionário é certa para diagnóstico, havendo necessidade de incremento no método de seleção (questionário). A importância do estudo foi não somente encontrar os afetados, mas também excluir esse diagnóstico em pacientes altamente sugestivos já que são crianças diferenciadas pelos professores e colegas. Todos os pacientes que foram estudados pertenciam as classes mais baixas da sociedade, e jamais teriam acesso a esta tecnologia se não fosse através deste estudo. Por se tratar de uma Síndrome Genética, é muito importante o diagnóstico dos familiares já que o teste os beneficiará para as próximas gerações, prevenindo o Retardo Mental. O próximo passo do projeto será pesquisar na família (pais e irmãos) dos afetados encontrados nesse projeto, bem como os outros portadores da síndrome encontrados em Santa Catarina, até o momento 30 afetados. Os pacientes já diagnosticado estão devidamente orientados, participam de encontros, terapias em grupo e possuem uma Associação específica no Estado que presta todo o apoio necessário.

(PALAVRAS-CHAVE)X-frágil, PCR, heterogênea.

## 1- INTRODUÇÃO

Conforme a literatura, a Síndrome do "X" Frágil representa a primeira causa de retardo mental herdada e a segunda causa de retardo mental após a Síndrome de Down. Entretanto, a falta de informação da doença e o alto custo para diagnosticar a mesma, torna difícil a prevalência dessa Síndrome no Brasil. Até o presente momento, o País dispõe de poucos dados, pois, poucos projetos relacionados a essa síndrome foram realizados ( BARBATO et al., 1999), portanto, havendo a necessidade de se conhecer a sua incidência para que posteriores medidas possam ser tomadas por parte das entidades competentes.

Um (1) em cada 1500 homens, uma (1) em cada 2500 mulheres, são diagnosticados para a Síndrome do "X"Frágil, ou Síndrome de Martin Bell (WANG e cols., 1995). Por ser uma Síndrome pouco conhecida, até recentemente, o diagnóstico onde o exame laboratorial conhecido era somente o cariótipo.

Clinicamente a síndrome é bastante heterogênea. Pacientes que apresentam esta Síndrome possuem características clínicas bastante variadas, sendo muitas vezes de difícil diagnóstico clínico. Quando na infância, apresentam poucos sinais clínicos (hiperatividade, distúrbio da fala, sinais leves de distúrbio do comportamento), já na fase escolar apresentam sinais de distúrbio de aprendizado, dificuldade atencional, hiperatividade, estereotípias, olhar evasivo, e outros sinais físicos tais como orelhas grandes, macroorquidismo (testículos grandes) e na puberdade as características físicas passam a aparecer com mais evidência, ou seja, faces alongadas, orelhas grandes, macroorquidismo,

distúrbio de comportamento, agressividade, timidez, com isolamento social e intelectualidade diminuída.

A fragilidade cromossômica é encontrada no cromossoma sexual X, em sua região distal do braço longo, sendo denominada de região Xq27. A mutação nesta região específica do cromossomo X leva a deficiência de uma proteína, a FMRP. Esta deficiência é que será a causa de grande parte da sintomatologia desses pacientes.

O sexo masculino é mais afetado que o feminino, já que este último é compensado pelo outro cromossomo X (homens XY e mulheres XX). As mulheres ocupam o papel de portadoras heterozigóticas e, quando afetadas, seus sintomas são mais brandos. Nesta região do cromossomo X, encontramos uma expansão na seqüência de trinucleotídeos dos portadores. No caso da mutação do FRAXA (gene FMR1) aparece uma alta repetição de CGG (citosina, guanina, guanina).

Com o advento da Biologia Molecular, tem-se melhores condições de fazer este diagnóstico através da técnica do PCR, onde uma triagem é feita de uma forma mais rápida e moderna, utilizando-se dos genes bem definidos como o FRAXA e FRAXE. Com o uso desta metodologia é possível identificar a Síndrome do "X Frágil" já muito precocemente (intra-útero). A vantagem deste diagnóstico é o de orientar corretamente a família no seus primeiros anos de vida, estimulando-os corretamente e tão logo a possibilidade da terapia genética ou mesmo a reposição da proteína FMRP.

Crianças com distúrbio de aprendizado que repetiram o mesmo ano letivo, podem estar afetadas pela Síndrome do "X" Frágil. Quando esta situação existe na escola, os métodos convencionais de ensino geralmente não são eficientes no processo ensino-aprendizagem, comprometendo a qualidade de vida das crianças.

## **2 – OBJETIVOS**

- Detectar os portadores da Síndrome do "X"Frágil em Escolas de Rede Municipal da região de Blumenau e em entidades de retardo mental.
- Oferecer o exame de DNA, gratuitamente, para as crianças suspeitas de portar a Síndrome.
- Auxiliar aos profissionais de várias áreas seja médica como educacional, nas Entidades com crianças de retardo mental e escolas normais, principalmente, através de palestras expositivas.
- Orientar aconselhamento genético e estabelecer um enfoque terapêutico, multidisciplinar adequado, bem como uma prevenção familiar oportuna.
- Desenvolver um estudo nas famílias de todos os afetados já diagnosticados em Santa Catarina, descobrindo novos portadores e, prevenindo assim, o Retardo Mental.

## **3- DISCUSSÕES E RESULTADOS**

Na primeira etapa do projeto, procurou-se dar esclarecimentos a profissionais da área de saúde e da educação, a respeito da Síndrome. A falta de informação sobre a existência da doença foi unânime entre as escolas visitadas. Alertou-se sobre o quadro clínico, enfatizando a importância do diagnóstico e a necessidade

de manter essas crianças na escola, com objetivo de integrá-las a sociedade e até mesmo como um estímulo ao desenvolvimento desses pacientes. Desde julho de 2000, foram visitadas 10 (dez) escolas, sendo que destas, 7 eram de ensino regular e 3 escolas de ensino especial.

Dentre as crianças que apresentavam dificuldade atencional, repetição de ano letivo ou retardo mental, foi realizado um questionário (anexo 1), o qual continha 18 quesitos considerando 1 ou dois pontos para cada item com resposta positivas. Na literatura discute-se a relevância dos sinais clínicos. TORRADO, et al (1997) constataram que características como desvio de olhar, dificuldade de fala, face alongada e estereotípias seriam características essenciais para diferenciar um paciente com a Síndrome. Logo, não se deve estipular uma pontuação única no questionário, isto é, um ponto para cada sinal, mas tornar o estudo mais dinâmico com as características mais relevantes valendo dois pontos. Foram aplicados 400 questionários para pré-seleção dos pacientes suspeitos. Mediante a realização do questionário, crianças que obtiveram pontuação maior ou igual a dez pontos foram selecionadas para estudo molecular (PCR). As crianças que obtiveram esta pontuação mínima foram em número de 63 (vinte) das quatrocentas avaliadas pelo questionário proposto., Procedeu-se com a coleta de fio de cabelo, em média, dez fios contendo o bulbo capilar, retirados com pinça e enviados para o laboratório NEUROGENE em Florianópolis para análise do DNA, sem custo algum para estes pacientes.

No laboratório extraiu-se o DNA do bulbo capilar dos fios coletados, e o método de PCR foi realizado. Dos 63 pacientes submetidos a estudo molecular encontrou-se três (3) pacientes com número de repetições alteradas. Um deles apresentou 50 repetições, estando portanto na "zona Gray", isto é, paciente pré-mutado. Os outros dois pacientes apresentaram bem mais de 200 repetições sendo, portanto, afetados. O paciente pré-mutado frequenta escola especial e os dois afetados frequentam escolas normais. Dos 63 pacientes 57 já foram diagnosticados como normais para Síndrome, isto é, não ultrapassaram as 50 repetições de CGG. O número de repetições destes pacientes apresentaram variou entre 17 e 36 repetições de CGG, portanto, excluímos a síndrome. Outros três (3) pacientes tiveram resultados inconclusivos pelo método de PCR, mostraram-se possivelmente afetados e o resultado deve ser confirmado pela técnica de Southern Blot, fora dos objetivos dessa pesquisa.

O pobre contato visual pobre definido como desviar os olhos ao olhar do examinador também foi observado em todos os pacientes portadores da síndrome. Defensividade ao tato do examinador e estereotípias de mãos também foram observados em todos os afetados. Em 100% destes pacientes foram observados também a ocorrência de orelhas grandes e transtornos de linguagem, que poderão ser utilizados como auxílio no reconhecimento clínico. O relato de casos familiares de retardo mental compatíveis com herança ligada ao cromossomo X foi unânime nos pacientes com a síndrome do X frágil. Este padrão de segregação, único para uma condição ligada ao cromossomo X (mãe portadora, filho homem afetado), torna obrigatória a triagem dos familiares. Portanto, o próximo passo do projeto tem como objetivo pesquisar dentro da família dos portadores, não apenas do município de Blumenau, mas em todo o

estado de Santa Catarina (até então 30 famílias) novos casos de portadores e afetados.

#### **4- CONCLUSÃO**

No município de Blumenau, através da pesquisa em escolas municipais e APAE no período de julho de 2000 à julho de 2001 , constatou-se a necessidade de ampliação do projeto, haja vista o grande número de crianças que preenchem as características fenotípicas e comportamentais para síndrome e que não puderam ser incluídas na pesquisa devido à limitação do número de questionários (200). Nesse novo projeto ( 2001/2002), a gama de escolas foi ampliada, levando informação sobre a síndrome a um número bem maior de pessoas, bem como dando oportunidade a um número cada vez maior de alunos de serem estudados por biologia molecular, o que seria impossível para algumas famílias devido ao alto custo financeiro para realização do exame.

Os pacientes selecionados para exame têm uma série de sinais positivos para Síndrome do X-Frágil, porém como é uma síndrome bastante heterogênea, mesmo nos indivíduos com todos os dados apontando para serem afetados, podem vir a ter um resultado normal (não portador da Síndrome do X-Frágil). Não se pode esquecer, que o cromossomo X comporta mais de 200 doenças genéticas ao longo do seu DNA.

Cabe ressaltar, que mesmo um resultado normal é de extrema importância, haja vista que exclui o diagnóstico e alerta para a pesquisa de outras anomalias que podem estar relacionadas ao distúrbio de aprendizado na criança. A ausência de marcadores clínicos patognomônicos limitam o potencial do questionário para o rastreamento da síndrome do X frágil , sendo recomendada a aplicação do teste molecular em todos os meninos com retardo mental de etiologia não identificada (Lachiewicz , Dawson , Spiridigliozzi , 2000). No entanto, esse tipo de questionário é um instrumento de rastreamento passível de modificações e adaptações com o objetivo de sinalizar indicadores de risco, de forma eficiente e custo-efetiva. O conhecimento destas características auxiliará profissionais de saúde ainda pouco familiarizados com a síndrome do X frágil na sua suspeição clínica e no pronto encaminhamento para centros de diagnóstico e aconselhamento genético.

O aconselhamento genético das famílias já pôde ser feito, por um especialista, tão logo os diagnósticos dos portadores foram estabelecidos. É de grande importância esta atuação já que a mulher geralmente transmite o gene à sua prole. Constata-se cada vez mais, a necessidade de projetos nesse âmbito, haja vista a grande quantidade de crianças desamparadas, no que diz respeito a diagnóstico, o pouco conhecimento da Síndrome nacionalmente e a alta freqüência encontrada na população. Além disso, professores e profissionais da área da educação encontram-se ainda pouco informados a respeito da Síndrome do X-Frágil. Instituições que trabalham com Retardo Mental bem como escolas que possuem estudantes com dificuldade de aprendizado (repetição do mesmo ano letivo) deveriam ter a oportunidade de acessar a estas formas de diagnóstico, já que tratamentos específicos estão disponíveis no momento seja na forma de drogas, ou sociedades específicas de Ajuda Mútua , ou até num futuro muito próximo a

geneterapia através da reposição da proteína (FMRP) para os indivíduos com Síndrome do "X"Frágil.

Foi criada uma Associação em Santa Catarina da Síndrome do X-Frágil que presta assistência às famílias , fazendo sua inclusão dos afetados nas escolas e apoio no desenvolvimento social das crianças , visando uma melhor qualidade de vida para as crianças e seus familiares.

Por fim, enfatizamos a importância de identificar indivíduos com a síndrome do X frágil, que se reflete em várias áreas. O diagnóstico acurado pode aliviar a incerteza e a angústia dos pais em relação à causa da deficiência., o diagnóstico precoce provê oportunidade para intervenção educacional e terapêutica precoces. Em termos de saúde pública, pode significar a diminuição de custos institucionais e, com o aconselhamento genético, a conseqüente queda na incidência da doença.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARBATO, I. T. et al. Estudo clínico e molecular de 40 pacientes suspeitos de Síndrome do X frágil no Estado de Santa Catarina. *Genetics and Molecular Biology*. Vol.22: n.3, 553-4. 1999.
2. CORA, T; DEMIREL S; ACAR A; Chromossomal abnormalities in mentally retarded children in the Konya region-Turkey. *Genet couns*; 11(1):53-5, 2000.
3. CORNISH, K. M. Et al. Differential impact of the FMR-1 full mutation on memory and attention functioning: a neurophysiological perspective.Vol.1:n.13, 144-50.2001.
4. DÍAZ, S. A.et al. Estudio genético y molecular de 85 familias afectadas del síndrome de cromossoma X frágil. *Anales españoles de pediatria*. Vol.44.: 250-256. 1996.
5. FISCH, S.G. What is associated with the fragile X syndrome?. *Am J Med Genet* vol.48:112-121. 1993.
6. FRYNS, J. P. et al. Mental status and fragile X expression in relation to FMR-1 gene mutation. *Eur J Hum Genet*. Vol.1:72-79. 1993.
7. GOULD, E. I. et al. Melatonin profiles and sleep characteristics in boys with fragile X syndrome: a preliminary study. *Am. J Med Genet*. Vol.4: n.95. 307-15. 2000.
8. HANGERMAN, R. J. Fragile X syndrome. *Curr. Probl. Pediatr*. Vol.17:621-674. 1987.
9. HANGERMAN, R. J.; AMIRI, K.; CONISTER A. Fragile X checklist. *Am. J Hum. Genet* Vol 38:283-287. 1991.
10. KREMER, E.J et al. Mapping of DNA instability at the fragile X to a trinucleotide repeat sequence. *Science*. Vol.252:1711-1714, 1991.
11. LACHIEWICZ A M, DAWSON D.V, SPIRIDIGLIOZZI G. A. Physical characteristics of young boys with fragile X syndrome: reasons for difficulties in making a diagnosis in young males. *Am J Med Genet* 2000;92:229-236;
12. MAZZOCCO, M. Advances on research on the Fragile X Syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*; 6(2): 96-106, 2000.
13. OBERLÉ, I. et al. Instability of 550 - base pair DNA segment and abnormal methylation in Fragile X Syndrome. *Science*. Vol.252: 1097-1102. 1991.

14. OMS: CID-10 Classificação de transtornos mentais de comportamento da CID 10: Critérios diagnósticos para pesquisa. Porto Alegre: Artes Médicas Editora, 1998.
15. REISS, A. L.; FREUND, L. Behavioral Phenotype of Fragile X Syndrome. American Journal of Medical Genetics. Vol.43: 34-46. 1992.
16. REISS, A. L. et al. Brief screening questionnaire for determining affected state in fragile X Syndrome: A consensus recommendation. American Journal of Medical Genetics. Vol.43: 61-64. 1992.
17. SABARATAM, M. et al. Epilepsy and EEG finds in 18 males with fragile X. Seizure. Vol.1: n.10. 60-3. 2001.
18. TORRADO, M. D. V et al; Validación del un puntaje clínico para la detección del Síndrome del sitio frágil del X. Jornal de Pediatria, Vol.73: supl.1. 1997.
19. WANG, Q. et al. A rapid, non-radioactive screening test for Fragile X mutation at the FRAXA and FRAXE loci. J Med Genet. Vol.32: 170-173. 1995.

#### **FICHA TÉCNICA:**

##### **INSTITUIÇÃO**

**UNIVERSIDADE FURB - FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE REGIONAL DE  
BLUMENAU - Departamento de Ciências da Saúde**

Curso Medicina

Rua Antônio da Veiga, 140

Blumenau - SC

Fone: (47) 321.0200

ccs@furb.rct-sc.br

##### **PROFESSOR (ES) RESPONSÁVEL (EIS)**

Prof. Geraldo Moretto

##### **ALUNOS (AS) RESPONSÁVEL (EIS)**

Mariana Tremel Barbato

##### **ALUNO (A) RESPONSÁVEL PARA CONTATO**

Mariana Tremel Barbato

Av. das Rendeiras, 400

Lagoa da Conceição

Florianópolis - SC

CEP: 88062-400

Fone: (0xx48) 232.0259 / (0xx48) 9111.8856

E-mail: [maribarbato@yahoo.com.br](mailto:maribarbato@yahoo.com.br) r / [maribarbato@floripa.com.br](mailto:maribarbato@floripa.com.br)