

# Syndrome de l'X fragile

P. Labrune, service de pédiatrie  
et consultation de génétique  
hôpital Antoine-Béclère, Clamart

## GÉNÉTIQUE

Les domaines d'application de la génétique sont multiples. Génétique clinique, cytogénétique et génétique moléculaire sont les trois principaux champs concernés par la génétique humaine, mais d'autres sont en plein essor : génétique du développement, oncogénétique, pharmacogénétique, etc. C'est dire si le sujet est vaste et peut apparaître compliqué. De plus, le formidable essor technologique actuel entraîne un accroissement rapide des connaissances et peut rendre difficile la mise à jour du savoir de chacun. Enfin, il n'est pas rare que le jargon génétique soit obscur et peu compréhensible pour le non initié. La génétique médicale est une spécialité reconnue, mais elle est, à ce jour, souvent exercée par des pédiatres de formation. Cette situation découle logiquement du fait que nombreuses sont les affections génétiques qui concernent l'enfant et sa famille. Il est donc important qu'un journal de pédiatrie puisse régulièrement aborder des thèmes ayant trait à la génétique. C'est ce que cette rubrique essaiera de faire, une fois par trimestre. Les thèmes choisis concerneront la pathologie pédiatrique. Pour chaque sujet, plusieurs aspects seront envisagés : notions théoriques et actualisation des connaissances, glossaire des principaux termes spécifiques, exemples pratiques. Le premier sujet retenu est le syndrome de l'X fragile, en raison de sa fréquence, de sa gravité, de son mode d'hérédité et des mécanismes moléculaires qui le sous-tendent ; d'autres suivront, comme les syndromes de Klinefelter et de Turner... Si, la lecture achevée, les idées et les connaissances du pédiatre lecteur sont plus claires et plus complètes, cette rubrique aura alors rempli son rôle.

**L**e syndrome de l'X fragile est une cause fréquente de retard mental et c'est une des principales causes de retard mental familial. Son nom provient de sa description cytogénétique : présence d'un site fragile en Xq27.3 lorsque le caryotype est fait en présence d'un milieu de culture pauvre en folates. L'analyse de nombreux arbres généalogiques avait, depuis longtemps, mis en évidence un mode de transmission très particulier pour une affection liée au chromosome X (existence d'hommes normaux transmetteurs en particulier).

(alors que la trisomie 21 touche environ 1 enfant sur 700). Il associe un retard mental (avec en particulier des troubles de l'acquisition du langage) qui peut aller du retard modéré au retard sévère, des troubles du comportement (stéréotypies, instabilité), une dysmorphie faciale qui comprend souvent une macrocéphalie, des grandes oreilles décollées et un visage allongé. Cette dysmorphie est peu marquée chez le nouveau-né (il est exceptionnel que le diagnostic soit porté à cet âge de la vie en dehors de risques familiaux connus) et elle peut évoluer avec l'âge, certains éléments pouvant, passé l'enfance, se modifier voire s'atténuer. Le retard mental est

### PRÉSENTATION CLINIQUE

On estime que le syndrome touche environ 1 garçon sur 4000 et 1 fille sur 7000

\* Les mots suivis d'un astérisque sont expliqués dans le glossaire.

habituellement moins sévère chez la fille atteinte que chez le garçon. Enfin, une macro-orchidie peut être observée après la puberté. Il faut également noter que les signes peuvent ne pas être au complet et qu'ils peuvent également être plus ou moins sévères. Enfin, nous le reverrons, les femmes vectrices de la maladie sont à risque plus élevé de ménopause précoce.

## BASES MOLÉCULAIRES, TRANSMISSION ET DIAGNOSTIC

### BASES MOLÉCULAIRES

De 1976 à 1991, le diagnostic de ce syndrome a reposé sur la mise en évidence, en cytogénétique, du site fragile en Xq27.3. Outre les difficultés techniques, cet examen avait d'importantes limites (absence du site fragile chez les hommes normaux transmetteurs, baisse du nombre de cellules exprimant la fragilité de l'X lorsque l'âge du patient augmente).

C'est en 1991 que les bases moléculaires de ce syndrome ont été élucidées, suite au clonage du gène FMR1 (Fragile Mental Retardation 1) [1]. Dans le premier exon\* de ce gène se trouve une répétition de triplets CGG dont le nombre, chez l'individu normal, varie de 6 à 54 (la majorité des sujets ayant une trentaine de répétitions). Chez les patients ayant un retard mental, homme ou femme, le nombre de répétitions CGG est supérieur à 200 et il s'y associe une méthylation anormale des paires CG ; on dit alors que la mutation est complète. Dans cette situation, la transcription du gène est inactivée (il n'y a donc plus de production d'ARN messager\*) et la protéine correspondante (FMRP : Fragile Mental Retardation Protein) n'est plus produite. Lorsque le nombre de répétitions CGG est compris entre 54 et 200, on parle de prémutation. C'est ce que l'on retrouve chez les hommes normaux transmetteurs et chez les femmes porteuses n'ayant pas de retard mental. Dans cette situation,

### GLOSSAIRE

**ARN messenger** : L'ARN messenger est le produit de la transcription du gène (fait d'ADN), et il existe donc un ARN messenger par gène exprimé. Le premier produit de la transcription (transcrit primaire) comprend encore les exons et les introns. Dans un deuxième temps survient la maturation de l'ARN messenger par élimination (excision) des introns et raboutage des exons (épissage) ; on obtient alors un ARN messenger mature.

**Exon** : un gène est composé d'ADN (bases puriques et pyrimidiques) et est, schématiquement, constitué d'exons et d'introns. Un exon est une séquence d'ADN qui, une fois transcrite en ARN, persiste dans l'ARN messenger mature et va être traduite secondairement en protéine. Les introns ne sont plus présents dans l'ARN messenger mature.

**Intron** : partie du gène qui est initialement transcrite en ARN messenger mais qui, lors de la maturation du transcrit, est éliminée par épissage des exons situés de part et d'autre.

**PCR** (polymerase chain reaction) : amplification en chaîne de l'ADN. Cette technique permet, à partir de quantités infimes d'ADN ou d'ARN, d'amplifier une séquence plus d'un million de fois. Elle repose sur l'utilisation d'amorces (primers) oligonucléotidiques (un oligonucléotide étant une courte molécule d'ADN simple brin synthétisée au laboratoire) qui flanquent la séquence que l'on veut amplifier, et de cycles répétés d'amplification au moyen d'une ADN polymérase (enzyme

capable de synthétiser de l'ADN double brin). On dispose alors d'une grande quantité de la séquence que l'on veut étudier. Ce fragment d'ADN peut être séquencé ou digéré par une enzyme de restriction (enzyme d'origine bactérienne capable de couper la molécule d'ADN double brin lorsqu'elle reconnaît une séquence spécifique, en général palindromique, c'est-à-dire se lisant aussi bien de 5' en 3' que de 3' en 5').

**Pénétrance** : proportion de sujets qui, alors qu'ils sont porteurs d'un gène dominant, expriment la maladie. Par exemple, si 50 % des individus ayant l'allèle mutant expriment le phénotype, on dit que la pénétrance est de 0,5.

**Southern blot** : méthode d'étude de l'ADN mise au point en 1975 par Southern. Elle repose sur la digestion de l'ADN par des enzymes spécifiques, suivie de la séparation des fragments ainsi obtenus par électrophorèse en gel d'agarose. Le contenu du gel est alors transféré (blot) sur une membrane de nylon (qui est donc la réplique du gel) qui peut alors être hybridée avec une sonde spécifique et marquée, permettant ainsi de visualiser les fragments d'ADN.

**Sonde** : séquence d'ADN ou d'ARN homologue à une séquence d'ADN ou d'ARN avec laquelle elle est capable de s'hybrider spécifiquement par association entre bases complémentaires (adénine et thymine d'une part, cytosine et guanine d'autre part).

il n'existe pas de méthylation anormale des paires CG et l'expression du gène FMR est normale. Si les individus porteurs d'une prémutation n'ont pas de phénotype particulier, il faut cependant mentionner que 13 à 25 % des femmes porteuses ont une insuffisance ovarienne prématurée définie par la survenue de la ménopause avant l'âge de quarante ans [2]. Ce point doit être pris en considération en consultation lorsque le projet d'autres grossesses vient à être discuté.

Ainsi, le syndrome de l'X fragile appartient à un groupe d'une douzaine de maladies (dont la maladie de Steinert et la chorée de Huntington) liées à des ex-

pansions instables de répétitions de trinucleotides. La biologie moléculaire a permis d'expliquer, en mettant en évidence l'augmentation de la taille de la répétition trinucleotidique à travers les générations, l'effet d'anticipation (augmentation du risque de développer la maladie) observé par les cliniciens.

### TRANSMISSION

Le passage d'une prémutation à une mutation complète n'est possible qu'au travers d'une méiose maternelle, et la probabilité que cette transition prémutation-mutation survienne dépend de la taille de la prémutation. Ainsi, le risque est faible au-dessous de 60 CGG, alors

que cette transition prémutation-mutation se fait dans 100 % des cas lorsque la taille de la prémutation dépasse 100 CGG. Toutes les mères ayant un enfant atteint sont porteuses d'une prémutation ou d'une mutation complète, et ont donc un risque élevé, à chaque grossesse, d'avoir un enfant exprimant la maladie. Ce risque peut être estimé à environ 40 %, en tenant compte du fait que la pénétrance\* de la maladie est partielle chez les filles (en effet, toutes les filles porteuses d'une mutation complète n'expriment pas le phénotype morbide, puisque, comme nous l'avons vu, 60 % des filles ayant cette mutation ont un retard mental).

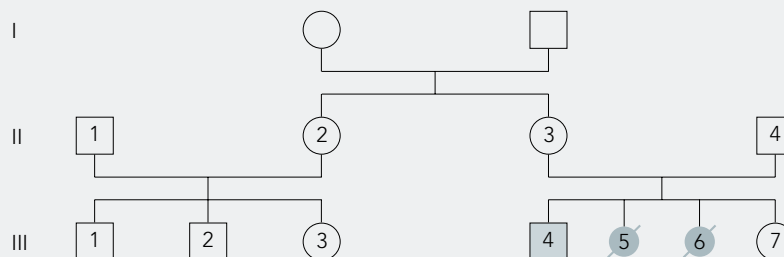
La biologie moléculaire a permis également d'expliquer certains paradoxes apparents. Ainsi, un homme normal transmetteur (porteur d'une prémutation) a des enfants tous normaux, garçons et filles (la prémutation reste stable au travers de la méiose masculine). Cependant, les filles de cet homme normal transmetteur, conductrices cliniquement normales, ont alors un risque d'avoir des enfants malades (passage de la prémutation par la méiose maternelle). Le risque concerne ainsi les petits-enfants (nés des filles) d'un homme normal transmetteur.

## DIAGNOSTIC

Depuis l'identification des bases moléculaires du syndrome, il est devenu parfaitement fiable. On peut ainsi affirmer ou infirmer le diagnostic et proposer, quand il est indiqué, le diagnostic prénatal.

La mise en évidence des mutations et prémutations est faite par la technique de Southern Blot\*. Les allèles normaux et les prémutations de la petite taille peuvent également être étudiés par PCR\* [3]. Cependant, la technique du Southern est délicate, coûteuse et longue à réaliser (digestion de l'ADN par des enzymes de restriction\*, hybridation avec une sonde\*) ; de même, la PCR classique peut échouer à amplifier les allèles porteurs de mutations complètes. C'est pourquoi d'autres types de PCR, utilisant la fluorescence, ont été développés ; les résultats en sont très

## OBSERVATION 1



A l'âge de dix-huit mois, l'enfant III-4 est adressé en consultation pour retard de langage et troubles du comportement (stéréotypies). L'examen trouve des éléments dysmorphiques évocateurs du syndrome de l'X fragile. L'analyse moléculaire montre que ce garçon est porteur dans le gène FMR1 d'une mutation complète (plus de 600 répétitions CGG) avec méthylation anormale, authentifiant le diagnostic. II-3, la mère de l'enfant, est vectrice de la maladie, et l'étude moléculaire montre que sa prémutation est de grande taille (150 CGG). Deux aspects doivent alors être envisagés :

□ II-2, la sœur de II-3, est cliniquement normale et a trois enfants (III-1, III-2 et III-3) normaux. Son étude moléculaire montre

qu'elle n'est pas vectrice du syndrome de l'X fragile, ce qui permet de la rassurer quant à elle et à sa descendance ;

□ II-3 est rapidement enceinte. Un diagnostic prénatal par biopsie trophoblastique est organisé. L'étude moléculaire révèle qu'il s'agit d'une fille porteuse d'une mutation complète. Après discussion longue et difficile, la grossesse est interrompue. Dix-huit mois plus tard, la même situation se reproduit, aboutissant au même résultat moléculaire et à la même décision. Enfin, lors de la quatrième grossesse, l'analyse moléculaire montre qu'il s'agit d'une fille porteuse, comme sa mère, d'une prémutation. Cette enfant a maintenant trois ans et va parfaitement bien.

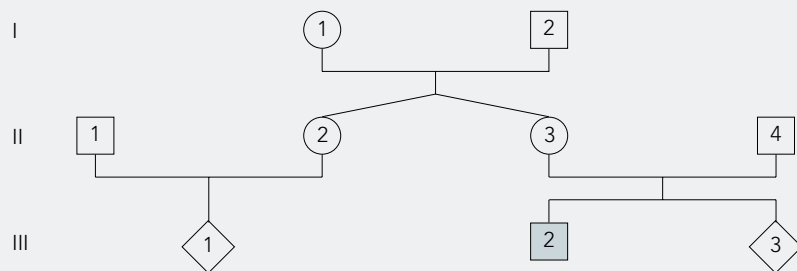
intéressants, puisque ce protocole permet la détermination précise du nombre de triplets CGG pour les allèles normaux et prémutés chez les filles et les garçons, ainsi que l'identification des allèles portant une mutation complète chez les garçons [4]. D'autres techniques ont été développées afin de visualiser l'absence de la protéine FMRP à l'aide d'anticorps spécifiques ; ces analyses sont possibles sur les lymphocytes et les racines des cheveux [5, 6], mais elles ne sont pas encore de pratique courante.

La facilité et la fiabilité du diagnostic moléculaire de l'X fragile doivent le faire considérer comme important dans la démarche diagnostique devant un enfant, surtout un garçon, ayant un retard mental, des troubles du comportement (stéréotypies, troubles de communication). L'attitude à adopter vis-à-vis d'une fille ayant un retard mental est

plus difficile à définir. Cependant, il ne faut pas oublier que le caryotype doit également être demandé, en plus de la recherche moléculaire de l'X fragile, chez un enfant ayant un retard mental et une dysmorphie, afin de détecter d'autres anomalies chromosomiques possiblement en cause.

Lorsque le diagnostic a été fait chez un enfant, il faut entreprendre une enquête familiale afin de dépister les femmes porteuses de l'affection. L'information génétique est souvent difficile à expliquer et à transmettre, en raison du mode de transmission particulier qu'il faut expliciter. De plus, il faut également prendre en compte les conséquences d'une telle information pour le groupe familial. Le diagnostic prénatal peut être proposé si la mère est vectrice de la maladie ; il nécessite le plus souvent d'effectuer une biopsie de trophoblaste (aux environs de la douzième semaine

## OBSERVATION 2



II-2 et II-3 sont jumelles (grossesse bichoriale biamniotique). II-3 amène son fils, III-2, en consultation pour retard de développement intellectuel et troubles du comportement. Ce petit garçon a dix-huit mois. Le diagnostic de syndrome de l'X fragile est évoqué, puis confirmé par la biologie moléculaire (450 répétitions CGG). L'analyse moléculaire montre que II-3 est vectrice de l'affection

(prémuation dont la taille est de 80 répétitions CGG). Le diagnostic va avoir plusieurs conséquences :  
 II-3 nous dit que sa sœur jumelle, II-2, est enceinte et qu'elle n'est informée de rien. La grossesse est au terme de trente-deux semaines et il s'agit d'un garçon selon les images échographiques. La question de la diffusion de l'information se pose, mais II-3 ne peut se ré-

soudre à informer sa sœur. II-2 accouche à terme d'un garçon. L'information lui est donnée quelques semaines après la naissance, avec beaucoup de difficultés, par sa sœur jumelle. II-2 demande alors que l'étude moléculaire soit faite chez elle. Le résultat indique qu'elle est vectrice du syndrome de l'X fragile. L'inquiétude grandit. La biologie moléculaire montre un peu plus tard que son fils, III-1, est indemne. Pour la prochaine grossesse, II-2 demandera qu'un diagnostic prénatal, voire préimplantatoire, soit réalisé ;  
 II-3 est enceinte quelques semaines après que le diagnostic a été fait chez son fils. Une biopsie de trophoblaste est faite à onze semaines et demie d'aménorrhée. L'étude moléculaire montre qu'il s'agit d'un embryon de sexe féminin, vecteur du syndrome, comme sa mère. La grossesse se poursuit sans encombre.

d'aménorrhée) et repose sur la détermination du sexe du fœtus (caryotype) et l'analyse de l'ADN fœtal (détermination du nombre de répétitions de triplets CGG). La décision (interruption ou poursuite de la grossesse) est difficile lorsque le fœtus est une fille porteuse

d'une mutation complète, car le risque de retard mental (QI compris entre 50 et 80) est alors estimé à 60 % sans qu'il soit encore possible aujourd'hui de mieux préciser ces données. Enfin, le diagnostic génétique préimplantatoire, dont la pratique débute dans notre

pays, pourra, au cas par cas, après résolution des problèmes techniques, être proposé aux couples à risque. Cette technique repose sur l'analyse d'une cellule prélevée sur un embryon (obtenu par fécondation in vitro) avant sa réimplantation dans l'utérus maternel.

## Références

- [1] OBERLÉ I., ROUSSEAU F., HEITZ D., KRETZ C., DEVYS D., HANAUER A., BOUÉ J. et al. : « Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome », *Science*, 1991 ; 252 : 1097-1102.  
 [2] UZIELLI M.L., GUARDUCCI S., LAPI E., CECCONI A., RICCI V., RICCOTTI G., BIONCHI C. et al. : « Premature ovarian failure (POF

- and fragile X premutation females : from POF to fragile X carrier identification, from fragile X carrier diagnosis to POF association data », *Am. J. Med. Genet.*, 1999 ; 84 : 300-303.  
 [3] MANDEL J.L., BIANCALANA V. : « Le diagnostic anténatal du syndrome X fragile », in FORESTIER F., SCHORDERET D.F. : *Diagnostic prénatal et biologie moléculaire*, Lavoisier, TEC DOC, Paris, 1997 ; p. 81-90.  
 [4] HOUDAYER C., GÉRARD M., TREDANO M., SARGIS I., MAGNIER C., BILLETTE DE VILLEMEUR T. et al. : « Développement d'une technique de PCR fluorescente appliquée au dépistage

- du syndrome de l'X fragile dans une population de garçons retardés mentaux », *Immunoanal. Biol. Spec.*, 1999 ; 14 : 315-320.  
 [5] WILLEMSSEN R., MOHKAMSING S., DE VRIES B.B.A., DEVYS D., VAN DEN OUWELAND A., MANDEL J.L., GALJAARD H. et al. : « Rapid antibody test for fragile X syndrome », *Lancet*, 1995 ; 345 : 1147-1148.  
 [6] WILLEMSSEN R., ANAR B., DE DIEGO OTERO Y., DE VRIES B.B.A., HILHORST-HOFSTEE Y., SMITS A., VAN LOOVEREN E. et al. : « Non invasive test for fragile X syndrome using hair root analysis », *Am. J. Hum. Genet.*, 1999 ; 65 : 98-103.