eurofins | Genoma

INFORMATIVA SUL TEST GENETICO DEL GENE FMR1

Sindrome dell'X Fragile e altre condizioni associate al gene FMR1

Finalità dell'informativa

La presente informativa descrive le principali caratteristiche delle condizioni genetiche associate al gene **FMR1**, le finalità dell'analisi molecolare, i possibili risultati e i limiti del test.

Le informazioni riportate hanno lo scopo di supportare il paziente e il professionista sanitario nella scelta consapevole dell'indagine genetica e nella comprensione del risultato.

Questa informativa non sostituisce la consulenza medica o genetica, che può essere indicata prima dell'esecuzione del test e, in particolare, in caso di identificazione di un allele intermedio, di una premutazione, di una mutazione completa o di un risultato non conclusivo.

Che cos'è il gene FMR1

Il gene **FMR1** (*Fragile X Messenger Ribonucleoprotein 1*) è localizzato sul braccio lungo del cromosoma X, nella regione **Xq27.3**.

Nella regione iniziale non codificante del gene è presente una sequenza costituita dalla ripetizione del trinucleotide **CGG**. Il numero di ripetizioni CGG varia normalmente da persona a persona.

Quando il numero di ripetizioni supera determinati valori, la sequenza può diventare instabile e associarsi a differenti condizioni cliniche.

Le principali condizioni associate a espansioni del gene **FMR1** sono:

- la **Sindrome dell'X Fragile** (*Fragile X Syndrome*, FXS);
- l'**insufficienza ovarica primaria associata a FMR1** (*Fragile X-associated Primary Ovarian Insufficiency*, FXPOI);
- la **sindrome tremore-atassia associata a FMR1** (*Fragile X-associated Tremor/Ataxia Syndrome*, FXTAS);
- altre possibili manifestazioni associate alla premutazione, complessivamente indicate come **condizioni associate alla premutazione di FMR1** (*Fragile X Premutation-Associated Conditions*, FXPAC).

Le condizioni associate a **FMR1** possono presentare caratteristiche differenti in base al numero di ripetizioni CGG, al sesso biologico, all'età e ad altri fattori individuali.

Perché può essere richiesto il test

L'analisi del gene **FMR1** può essere indicata in diversi contesti clinici e riproduttivi.

Contesto	Quando può essere indicato il test
Diagnosi clinica	In presenza di manifestazioni cliniche compatibili con una condizione associata al gene **FMR1**, quali disabilità intellettiva, ritardo dello sviluppo psicomotorio o del linguaggio, disturbo dello spettro autistico, insufficienza ovarica primaria, tremore-atassia dell'adulto o altre caratteristiche cliniche suggestive.
Storia familiare	In presenza di una storia familiare di Sindrome dell'X Fragile o di altre condizioni associate al gene **FMR1**, oppure per la valutazione dei familiari di una persona nella quale sia già stata identificata un'espansione del gene.

Screening preconcezionale e valutazione del rischio riproduttivo	Coppie che desiderano valutare il rischio di trasmettere un'espansione del gene **FMR1** alla prole, prima di una gravidanza spontanea o nell'ambito di un percorso di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA), compresa la valutazione di candidati alla donazione di gameti.

L'indicazione al test e il significato del risultato possono variare in base alla motivazione per cui l'analisi è stata richiesta.

È pertanto importante **fornire al laboratorio informazioni cliniche e familiari complete**, inclusi eventuali risultati genetici già disponibili nei familiari.

Come si trasmettono le alterazioni del gene FMR1

Il gene **FMR1** è localizzato sul cromosoma X.

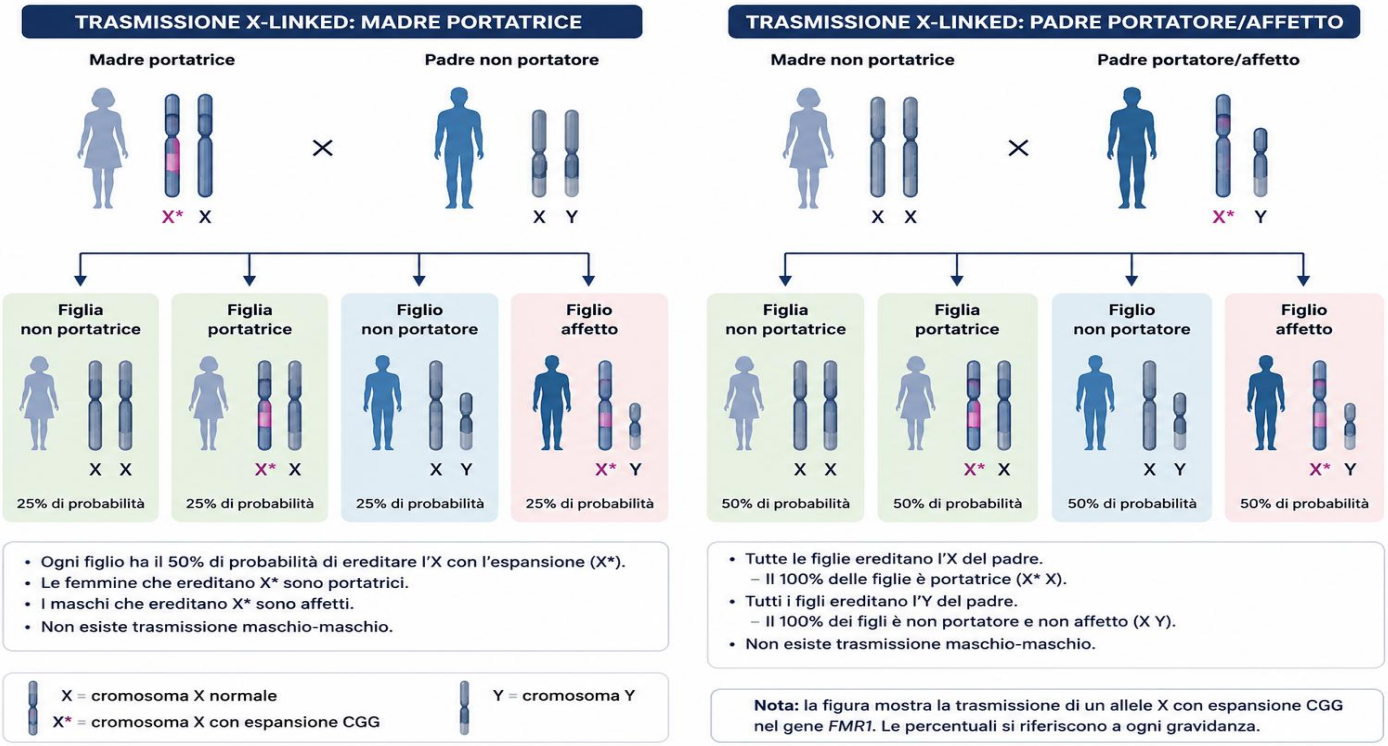
Una donna portatrice di un allele espanso del gene **FMR1** ha, a ogni gravidanza:

- una **probabilità del 50%** di trasmettere il cromosoma X contenente l'allele espanso;
- una **probabilità del 50%** di trasmettere il cromosoma X contenente l'allele normale.

Queste probabilità sono indipendenti dal sesso del concepito, ma avranno espressione clinica differente in base a questo.

Un uomo trasmette invece il proprio unico cromosoma X a tutte le figlie e il cromosoma Y a tutti i figli maschi. Pertanto:

- **tutte le figlie** di un uomo portatore di una premutazione erediteranno l'allele paterno e **saranno portatrici obbligate della premutazione**;
- **nessun figlio maschio** erediterà dal padre l'allele localizzato sul cromosoma X.



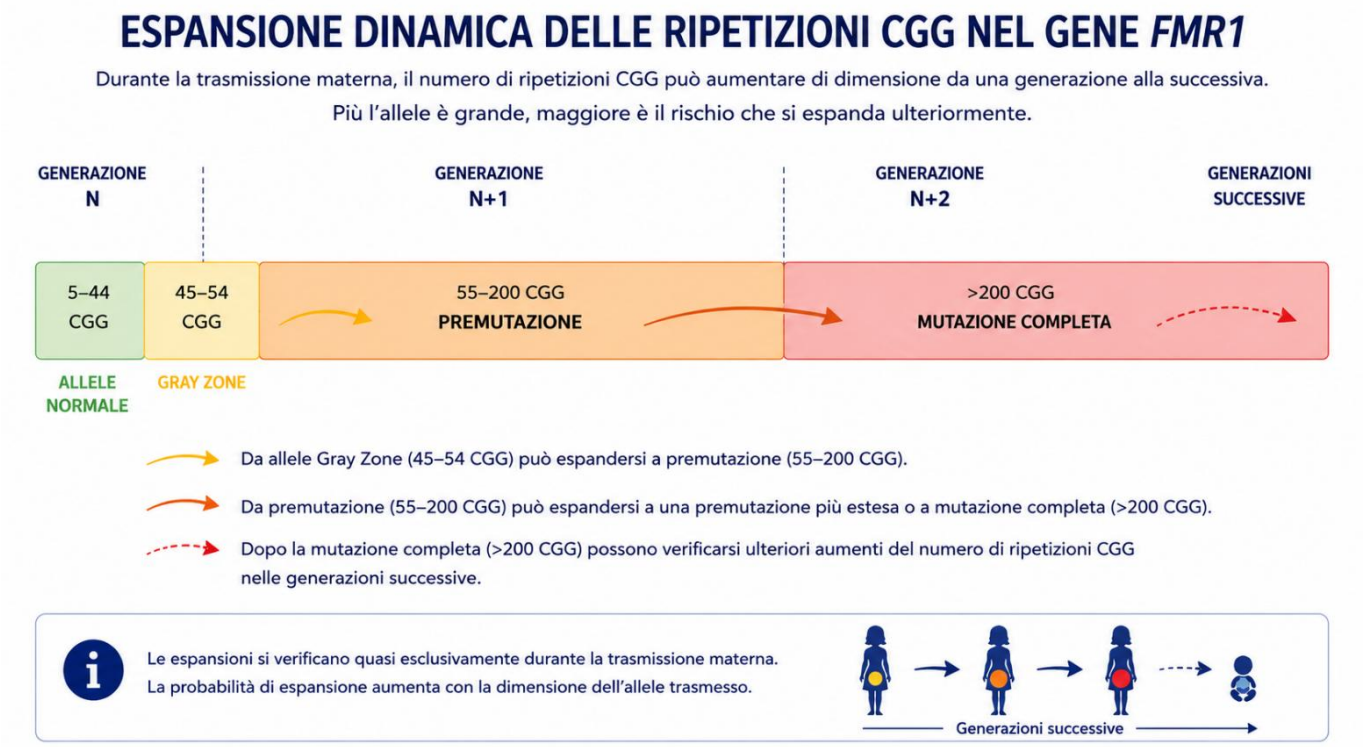
Quando una promutazione viene trasmessa da una donna, il numero di ripetizioni CGG può aumentare. Questo fenomeno prende il nome di **espansione dinamica**.

In alcuni casi l'allele trasmesso può raggiungere il range di **mutazione completa**, **superiore a 200 ripetizioni CGG**.

Il rischio di espansione dipende principalmente dal numero di ripetizioni CGG presenti nell'allele materno e dalla presenza e dalla distribuzione di **eventuali interruzioni AGG** all'interno della sequenza;

La trasmissione paterna di una premutazione alle figlie può essere associata a piccole variazioni del numero di ripetizioni, ma **non determina generalmente** un'espansione a mutazione completa.

Il rischio effettivo per i familiari e per la prole deve essere valutato sulla base del risultato specifico e nel contesto di una **consulenza genetica**.



Che cosa analizza il test

Il test determina il numero di **ripetizioni CGG presenti nella regione 5' non tradotta** del gene **FMR1**.

In base al numero di ripetizioni, gli alleli vengono classificati in diverse categorie che hanno implicazioni cliniche e riproduttive differenti, descritte nelle sezioni successive.

Allele normale: 5–44 ripetizioni CGG

Gli alleli compresi tra **5 e 44 ripetizioni CGG** sono considerati **normali**.

Questi alleli sono generalmente stabili durante la trasmissione da una generazione alla successiva e non sono associati alla **Sindrome dell'X Fragile** o alle altre condizioni cliniche correlate alle espansioni del gene **FMR1**.

Nei soggetti sottoposti a screening preconcezionale o del portatore, un risultato normale **riduce significativamente la probabilità di essere portatori** di un'espansione clinicamente rilevante del gene **FMR1**.

Il risultato negativo non esclude tuttavia la presenza di altre alterazioni del gene non investigate dall'analisi o di altre cause genetiche associate a manifestazioni cliniche simili.

Allele intermedio o Gray Zone: 45–54 ripetizioni CGG

Gli alleli con **45–54 ripetizioni CGG** vengono definiti **alleli intermedi o Gray Zone**.

Questi alleli non sono associati alla Sindrome dell'X Fragile né sono associati, sulla base delle conoscenze attuali, **ad altre manifestazioni cliniche correlate alle espansioni del gene FMR1**; inoltre non identificano uno stato di portatore della Sindrome dell'X Fragile.

Gli alleli intermedi possono tuttavia presentare una lieve instabilità durante la trasmissione da una generazione alla successiva, soprattutto quando trasmessi per via materna.

Circa il **14%** degli alleli intermedi trasmessi da una donna può subire una variazione di dimensioni ed espandersi nel **range di premutazione**.

Gli alleli intermedi **non sono noti per espandersi direttamente a mutazione completa in una singola generazione**. Pertanto, la loro identificazione non determina un rischio aumentato di avere un figlio affetto da Sindrome dell'X Fragile nella gravidanza in corso o nella generazione immediatamente successiva.

La possibile espansione nel range di premutazione può tuttavia assumere rilevanza per le generazioni future.

In presenza di una storia familiare suggestiva o nell'ambito di una valutazione preconcezionale può essere indicata una **consulenza genetica**.

Premutazione: 55–200 ripetizioni CGG

Gli alleli compresi tra **55 e 200 ripetizioni CGG** vengono definiti **premutazioni**.

Le persone portatrici di una premutazione **non sono affette dalla Sindrome dell'X Fragile**. La premutazione può tuttavia essere associata a un aumentato rischio di sviluppare alcune condizioni cliniche correlate al gene **FMR1**, complessivamente indicate come **Fragile X Premutation-Associated Conditions (FXPAC)**.

È importante sottolineare che la presenza di una premutazione non determina necessariamente la comparsa di manifestazioni cliniche.

La probabilità di sviluppare una condizione associata alla premutazione e la sua gravità possono variare in funzione del sesso, dell'età, del numero di ripetizioni CGG, dell'inattivazione del cromosoma X nelle donne e di altri fattori genetici, clinici e ambientali.

Insufficienza ovarica primaria associata a FMR1 – FXPOI

Le donne portatrici di una premutazione presentano un rischio aumentato di sviluppare un'**insufficienza ovarica primaria associata a FMR1**, definita come riduzione o cessazione della funzione ovarica prima dei 40 anni.

Si stima che circa il **20% delle donne portatrici di una premutazione** sviluppi FXPOI, rispetto a circa l'1% della popolazione femminile generale.

Il rischio non è uniforme per tutte le dimensioni della premutazione e sembra essere maggiore per gli alleli appartenenti alla fascia intermedia della premutazione.

La diagnosi di insufficienza ovarica primaria non esclude completamente la possibilità di ovulazioni occasionali o di una gravidanza spontanea.

In caso di identificazione di una premutazione in una donna in età riproduttiva può essere indicata una valutazione ginecologica o presso un centro di medicina della riproduzione.

Sindrome tremore-atassia associata a FMR1 – FXTAS

La premutazione può associarsi alla **sindrome tremore-atassia associata a FMR1**, una condizione neurologica progressiva a esordio generalmente tardivo.

La condizione può interessare sia gli uomini sia le donne portatrici di una premutazione, sebbene il rischio sia maggiore negli uomini e aumenti con l'età e con il numero di ripetizioni CGG. Nelle donne la FXTAS è meno frequente e può presentare manifestazioni più lievi o parziali, anche grazie alla presenza del secondo cromosoma X.
La maggior parte dei portatori di premutazione non sviluppa comunque FXTAS.

Altre condizioni associate alla premutazione

Nei portatori di premutazione sono state descritte ulteriori manifestazioni neurologiche, neuropsichiatriche, endocrine, autoimmuni e dolorose croniche.

Alcune di queste manifestazioni sono state riunite sotto il termine **FXPAC** o, limitatamente alle manifestazioni neuropsichiatriche, **FXAND** (*Fragile X-Associated Neuropsychiatric Disorders*).

Le associazioni con queste condizioni presentano penetranza e gravità variabili e, per alcune manifestazioni, le evidenze scientifiche non sono ancora definitive.

La presenza di sintomi aspecifici non consente pertanto, da sola, di stabilire una relazione causale con la premutazione. Il risultato deve essere valutato nel contesto della storia clinica individuale.

Implicazioni riproduttive della premutazione

Una donna portatrice di premutazione ha, a ogni gravidanza, **una probabilità del 50%** di trasmettere l'allele espanso.

Durante la trasmissione materna, la premutazione può aumentare di dimensioni e raggiungere il **range di mutazione completa**.

Il rischio di espansione non è uguale per tutte le premutazioni: aumenta generalmente con l'aumentare del numero di ripetizioni CGG ed è influenzato dalla presenza **di interruzioni AGG** nella sequenza.

Un uomo portatore di premutazione trasmette il proprio cromosoma X a **tutte le figlie**, che erediteranno la premutazione, **e a nessun figlio maschio**. La premutazione trasmessa per via paterna **non si espande generalmente** a mutazione completa.

Mutazione completa: oltre 200 ripetizioni CGG

Gli alleli con **oltre 200 ripetizioni CGG** vengono definiti mutazioni complete.

Nella maggior parte dei casi, la mutazione completa si associa a una **metilazione anomala** della regione regolatoria del gene **FMR1**. Questo determina una riduzione o un'assenza della produzione della proteina FMRP, importante per il normale sviluppo e funzionamento del sistema nervoso.

La mutazione completa è responsabile della **Sindrome dell'X Fragile**.

Nei soggetti con **un solo cromosoma X** la mutazione completa determina generalmente un quadro clinico di Sindrome dell'X Fragile.

Nelle persone con **due cromosomi X**, la gravità delle manifestazioni è più variabile. Alcune donne possono presentare disabilità intellettiva o difficoltà di apprendimento e comportamento, mentre altre possono avere un funzionamento cognitivo nella norma.

Questa variabilità è influenzata, tra gli altri fattori, dal meccanismo di **inattivazione del cromosoma X.**

Possono inoltre essere identificati casi di **mosaicismo**, nei quali sono presenti popolazioni cellulari con alleli di dimensioni o stato di metilazione differenti. Il mosaicismo può contribuire alla variabilità del quadro clinico.

L'identificazione di una **mutazione completa richiede una consulenza genetica** per discutere:

Classe	Ripetizioni CGG	Sindrome X-Fragile	Rischio personale	Rischio riproduttivo
🟢 **Normale**	5–44	No	No	No
🟡 **Gray Zone**	45–54	No	Nessun rischio noto	Possibile espansione a premutazione nelle generazioni successive
🟠 **Premutazione**	55–200	No	FXPOI, FXTAS e altre FXPAC	Possibile espansione a mutazione completa durante la trasmissione materna
🔴 **Mutazione completa**	>200	Sì	Sindrome dell'X Fragile	Trasmissione secondo le modalità ereditarie del gene FMR1

Quali analisi sono disponibili

Eurofins Genoma offre differenti modalità di analisi del gene **FMR1**, che si distinguono in base al percorso analitico previsto e alla necessità di eventuali approfondimenti.

A472 – X Fragile FRAXA

L'analisi **A472 – X Fragile FRAXA** rappresenta il test di primo livello per la valutazione del numero di ripetizioni CGG presenti nella regione 5' non tradotta del gene **FMR1**.

L'analisi viene eseguita mediante **amplificazione PCR con primer fluorescenti, seguita da elettroforesi capillare**.

La metodica consente di determinare il numero di **ripetizioni CGG** degli alleli rilevati, fino a una dimensione di **circa 80 ripetizioni**.

Nella maggior parte dei casi, l'analisi di primo livello permette di ottenere un risultato conclusivo.

In alcune situazioni, tuttavia, può essere identificato:

- un unico allele in una persona con due cromosomi X;
- nessun allele in una persona con un solo cromosoma X;
- un profilo che non consente di escludere la presenza di un'espansione di dimensioni superiori alla capacità di misurazione del test.

In questi casi può essere indicato un approfondimento mediante **analisi di secondo livello**.

Il referto riporterà il risultato ottenuto, il significato della classe allelica identificata e, quando necessario, l'indicazione a eseguire l'approfondimento.

Tempo indicativo di refertazione: 10 gg lavorativi

A1639 – FMR1 (FRAXA) Long-range PCR – Esame di II livello

L'analisi **A1639 – FMR1 (FRAXA) Long-range PCR** è un esame di approfondimento destinato ai casi nei quali il test di primo livello non consenta di caratterizzare completamente il genotipo.

L'analisi viene eseguita mediante una PCR a tre primer di tipo **CGG Repeat-Primed PCR**, che permette di:

- verificare la presenza di espansioni di grandi dimensioni;
- distinguere, nelle persone con due cromosomi X, una reale omozigosi per due alleli della stessa dimensione dalla presenza di un secondo allele espanso non rilevato dal test di primo livello;
- approfondire i casi nei quali non sia stato identificato alcun allele in una persona con un solo cromosoma X;
- caratterizzare alleli appartenenti al range di **premutazione o mutazione completa**.

Quando tecnicamente possibile, l'esame può essere eseguito **sullo stesso campione biologico già disponibile presso il laboratorio**, senza necessità di un nuovo prelievo.

L'analisi di secondo livello deve essere richiesta separatamente quando il paziente sia stato inizialmente sottoposto al solo test **A472**.

Tempo indicativo di refertazione: 15 gg lavorativi a partire dalla richiesta di aggiunta analisi di secondo livello.

A2098 – X Fragile FRAXA Complete

L'analisi **A2098 – X Fragile FRAXA Complete** prevede un percorso analitico completo.

Il test comprende:

1. l'esecuzione dell'**analisi di primo livello** mediante PCR fluorescente ed elettroforesi capillare;
2. **l'esecuzione automatica dell'analisi di secondo livello** mediante CGG Repeat-Primed PCR, qualora il risultato del primo livello richieda un approfondimento.

L'analisi di secondo livello viene pertanto eseguita **solo quando necessaria** per ottenere una caratterizzazione più completa del risultato, senza necessità di una nuova richiesta o di una successiva autorizzazione.

Questa soluzione consente di:

- predisporre fin dall'inizio un percorso diagnostico completo;

- evitare richieste integrative successive;
- ridurre i tempi organizzativi necessari all'attivazione dell'approfondimento;
- utilizzare, quando tecnicamente possibile, lo stesso campione biologico;
- semplificare la gestione del test **nei percorsi preconcezionali, di Procreazione Medicalmente Assistita e di valutazione dei donatori di gameti**.

Tempo indicativo di refertazione: 15 gg lavorativi.
Il tempo di refertazione può essere maggiore nei casi in cui si renda necessaria l'esecuzione del secondo livello.

Analisi	Finalità	Quando è indicata	TAT*
A472 – X Fragile FRAXA	Analisi di primo livello	Tutti i pazienti	10
A1639 – FMR1 Long-range PCR	Approfondimento di secondo livello	Solo nei casi meritevoli di approfondimento	15§
A2098 – X Fragile FRAXA Complete	Percorso completo con eventuale secondo livello automatico	Screening preconcezionale, PMA, donatori di gameti e tutti i casi in cui si desideri evitare richieste integrative	15

*I giorni sono da intendersi **lavorativi**; §i tempi di refertazione sono da **intendersi dal momento della richiesta di aggiunta dell'analisi di 2° livello**, non dall'accettazione del campione.

Campione biologico richiesto

L'analisi viene generalmente eseguita su DNA estratto da un campione di **sangue periferico**.

In specifici contesti clinici può essere eseguita anche su DNA ottenuto da altri campioni biologici, quali:

- villi coriali;
- liquido amniotico;
- materiale biologico fetale;
- DNA già estratto, purché rispetti i requisiti qualitativi e quantitativi previsti dal laboratorio.

La tipologia di campione richiesta può variare in funzione dell'indicazione clinica e dell'analisi prescritta.

L'adeguatezza del campione viene verificata dal laboratorio prima dell'esecuzione dell'analisi. In caso di quantità insufficiente, qualità non adeguata o risultato non interpretabile, potrebbe essere necessario richiedere un nuovo campione.

Limiti dell'analisi

Il test è finalizzato esclusivamente alla valutazione del numero di ripetizioni **CGG presenti nella regione 5' non tradotta** del gene **FMR1**.

L'analisi non consente di identificare:

- varianti a singolo nucleotide o piccole inserzioni e delezioni del gene **FMR1**;
- delezioni o duplicazioni parziali o complete del gene;
- riarrangiamenti cromosomici che coinvolgano la regione di **FMR1**;
- lo stato di metilazione del promotore del gene;

- il rapporto di inattivazione del cromosoma X;
- il numero e la posizione delle **interruzioni AGG** presenti nella sequenza CGG;
- alterazioni di altri geni associate a disabilità intellettiva, disturbi dello spettro autistico, insufficienza ovarica o patologie neurologiche;
- anomalie dei cromosomi sessuali.

Alterazioni di **FMR1** differenti dall'espansione CGG rappresentano una quota molto limitata delle cause della Sindrome dell'X Fragile, ma non possono essere escluse mediante questa analisi.

La presenza di varianti rare nelle regioni di appaiamento dei primer può interferire con l'amplificazione e determinare il mancato rilevamento di un allele, fenomeno denominato **Allelic Dropout**.

L'analisi di primo livello consente di misurare direttamente alleli fino a circa **80 ripetizioni CGG**. Espansioni di dimensioni superiori possono richiedere il test di secondo livello.

Anche l'analisi di secondo livello:

- può rilevare la presenza di un'espansione senza consentirne sempre una misurazione esatta;
- non consente di escludere una delezione del gene o del secondo allele;
- non valuta lo stato di metilazione;
- non consente di definire con certezza la distribuzione del mosaicismo nei diversi tessuti.

Nei casi in cui il quadro clinico sia fortemente suggestivo di una **condizione associata a FMR1**, un risultato negativo può richiedere ulteriori approfondimenti genetici.

In presenza di una storia familiare, il risultato negativo deve essere interpretato confrontandolo, quando possibile, con l'alterazione precedentemente identificata nella famiglia.

Qualora non sia disponibile il risultato molecolare del familiare affetto o portatore, un risultato negativo può non essere sufficiente a escludere completamente il rischio familiare.

Implicazioni per i familiari

L'identificazione di **un allele intermedio, di una premutazione o di una mutazione completa** può avere implicazioni anche per altri membri della famiglia, e in base al risultato può essere indicata l'esecuzione dell'analisi da parte di altri familiari, previa consulenza genetica dedicata.

Monitoraggio del rischio riproduttivo

Quando viene identificata una **espansione**, la persona o la coppia può discutere con il genetista e con gli specialisti della medicina della riproduzione le opzioni disponibili.

Le principali possibilità comprendono:

- la **diagnosi prenatale** in corso di gravidanza, mediante analisi del DNA fetale ottenuto tramite **villocentesi o amniocentesi**;
- **la diagnosi genetica preimpianto per malattie monogeniche (PGT-M), nell'ambito di un percorso di Procreazione Medicalmente Assistita**;

La diagnosi prenatale può consentire di verificare se il feto abbia ereditato l'allele a rischio e di caratterizzare l'espansione identificata.

La PGT-M consente invece di valutare, prima del trasferimento in utero, quali embrioni abbiano ereditato l'allele familiare associato al rischio. La fattibilità dell'analisi deve essere valutata preliminarmente e può richiedere lo studio genetico della coppia e di altri familiari.

La scelta del percorso più appropriato dipende da diversi fattori, e le caratteristiche, i limiti e i possibili risultati delle diverse opzioni devono essere discussi con gli specialisti di riferimento.

Le principali possibilità comprendono la diagnosi prenatale e la Diagnosi Genetica Preimpianto (PGT) nell'ambito di un percorso di Procreazione Medicalmente Assistita.

Consulenza genetica

Il risultato dell'analisi deve essere interpretato considerando la **storia clinica, familiare e riproduttiva della persona**.

La consulenza genetica è particolarmente raccomandata in caso di riscontro di allele espanso valutazione del rischio riproduttivo o dell'estensione dell'analisi ad altri familiari. Nel caso di familiarità per **condizioni associate al gene FMR1** è fortemente raccomandato eseguire una consulenza genetica prima di eseguire il test.