

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : **ANPGM\_ 047**  
 Page : 1/13

Numéro de version : **V3.0**

Date de Création : Mai 2009

Date de 1<sup>ère</sup> mise en application : 15/06/2009

Numéro de l'ancienne version du document : ANPGM\_047

Date de la remise à jour V2 : Février 2012

Motif : nouvelle définition des classes d'allèle, nouvelles données sur FXPOI et FXTAS pour les femmes

Validation : 12/03/2012

Date de la mise à jour V3 : Juillet 2018

Motif : Actualisation sur la base des recommandations EMQM

Validation :

	<b>Nom</b>	<b>Hôpital</b>	<b>Date</b>
Rédacteur(s)	<i>Bénédicte Gérard</i> <i>Pascale Saugier Veber</i>	<i>Strasbourg</i> <i>Rouen</i>	18/07/2018
Vérificateur(s)	Valérie Biancalana Pierre Boisseau Christophe Philippe Gaétan Lesca Isabelle Creveaux Jean-Paul Bonnefont Martine Raynaud	Strasbourg Nantes Dijon Lyon Clermont Ferrand Paris Necker Tours	16/10/2017
Filières	Défiscience AnDDI-Rares		
Approbateur(s)	<b><u>Pour le CA de l'ANPGM :</u></b>		
	Benoit Arveiler	CHU Bordeaux	19/07/2018
	Cécile Acquiviva	CHU Lyon	
	Anne-Françoise Roux	CHU Montpellier	
	Pascale Saugier-Veber	CHU Rouen	

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène *FMR1***  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène *FMR1***

Référence : **ANPGM\_ 047**  
Page : 2/13

Numéro de version : **V3.0**

**SOMMAIRE**

**I. Description des pathologies associées aux expansions du gène *FMR1***

- A. Syndrome X fragile (*Martin-Bell Syndrome*) (*FXS*)
- B. Insuffisance ovarienne prématurée liée au gène *FMR1* (*FXPOI*)
- C. Ataxie – tremblements liés au gène *FMR1* (*FXTAS*)

**II. Quelques points clés sur le gène et le mode de transmission**

**III. Pathologie moléculaire**

**IV. Corrélations génotype-phénotype**

- A. Syndrome X fragile
- B. Insuffisance ovarienne prématurée liée au gène
- C. Ataxie – tremblements liés au gène *FMR1*

**V. Méthodes de diagnostic moléculaire**

- A. Analyses génétiques
- B. Cas index
- C. Apparentés
- D. Diagnostic prénatal

**VI. Arbres décisionnels pour la prise en charge diagnostique d'un échantillon**

- A. Cas index
- B. Apparenté
- C. Diagnostic Prénatal

**VII. Cotation des analyses selon le RIHN**

**VIII. Références bibliographiques**

**Annexe : Liste des laboratoires de diagnostic moléculaire pour le syndrome X fragile**

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : ANPGM\_ 047  
 Page : 3/13

Numéro de version : V3.0

**I. Description des pathologies associées aux expansions du gène FMR1**

Le Syndrome X fragile, l'Insuffisance Ovarienne Prématurée liée à l'X fragile et le Syndrome d'Ataxie-tremblements liés à l'X fragile sont les trois pathologies associées à des expansions CGG en 5'UTR du gène *FMR1* (*Fragile X mental retardation 1*).

**A. Syndrome X fragile (Martin-Bell Syndrome) (FXS, OMIM 300624)**

**Le syndrome X fragile est la cause la plus fréquente de retard mental monogénique**, avec une incidence estimée de 1 homme sur 4000 et une femme sur 8000.

Tous les garçons porteurs d'une mutation complète présentent un syndrome X fragile. Il n'existe pas de signe en période prénatale ou néonatale. La déficience intellectuelle est modérée à sévère avec un retard de langage et des troubles du comportement pouvant inclure une hyperactivité. Environ 30% des garçons atteints présentent des signes d'autisme. La dysmorphie faciale est discrète avec des oreilles de grande taille et décollées et un visage qui s'allonge quand l'enfant grandit. Une macroorchidie est fréquente après la puberté. Une microcéphalie et un microgénéralisme sont des critères d'exclusion d'un syndrome X fragile.

L'atteinte chez les filles est en général plus modérée : environ la moitié des filles porteuses d'une mutation complète présentent des troubles cognitifs de sévérité très variable. Les filles atteintes présentent souvent une anxiété et une timidité importante.

**Les signes cliniques ne sont ni spécifiques, ni constants et, notamment chez le jeune enfant, la déficience intellectuelle est parfois isolée.**

**B. Insuffisance ovarienne prématurée liée au gène FMR1 (FXPOI pour Fragile X-associated primary ovarian insufficiency, OMIM 311360)**

Les femmes porteuses d'une prémutation ont une ménopause 5 à 10 ans plus tôt que la population générale (Mailick *et al.*, 2014). Ces femmes présentent des cycles irréguliers, une hypofertilité, la réserve ovarienne est diminuée, un ratio FSH/LH élevé, une AMH basse (Elizur *et al.*, 2014).

Parmi les femmes porteuses d'une **prémuation**, **16-26 %** ont une ménopause survenant avant l'âge de 40 ans, répondant à la définition d'une **insuffisance ovarienne prématurée** (contre 1 % dans la population générale).

**C. Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1 (ou FXTAS, Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome, OMIM 300623)**

**Il s'agit d'un syndrome neurologique d'apparition tardive qui est retrouvé chez certains hommes et femmes porteurs d'une prémutation du gène FMR1.**

Le diagnostic est porté sur des critères cliniques, neuroradiologiques, moléculaires, voire neuropathologiques. Les principaux signes cliniques sont une ataxie cérébelleuse et un tremblement intentionnel, qui peuvent s'associer à un déclin intellectuel, une neuropathie périphérique et des signes parkinsoniens. Le degré d'atteinte et la sévérité clinique peuvent être très variables d'un patient à l'autre.

**II. Quelques points clés sur le gène et le mode de transmission**

Le mode de transmission est non mendélien, lié à des mutations dynamiques : expansions de triplets CGG localisés en 5'UTR du gène *FMR1*.

Le gène *FMR1* est localisé en Xq27.3 : OMIM 309550, NM\_002024.5, LRG\_762.

Il comporte 17 exons et s'étend sur 43 Kb. Ses coordonnées génomiques sont (GRCh38) chrX:147,909,951-147,953,127

Il code pour la protéine FMRP qui se lie à certains ARNm pour les véhiculer du noyau au cytoplasme. Dans les neurones, les complexes FMRP-ARNm sont transportés jusqu'à la synapse.

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : ANPGM\_ 047  
 Page : 4/13

Numéro de version : V3.0

### III. Pathologie moléculaire

Le gène *FMR1* comporte, dans sa région 5'UTR, une répétition d'un trinuéclotide CGG dont le nombre est variable. Différentes classes d'allèle sont définies (Table 1).

**Table 1** : Les différentes classes d'allèle au locus FRAXA et leur transmission (V. Biancalana et al., 2015)

Allèle	Nombre de répétitions	Transmission
Normal	6 – 44 répétitions	<ul style="list-style-type: none"> <li>Transmission stable. Des modifications mineures ont parfois été rapportées</li> </ul>
Zone intermédiaire Ou Zone grise	45-54 répétitions	<ul style="list-style-type: none"> <li>Les allèles compris entre <b>50 et 54</b> peuvent être instables lors de leur transmission : ils ne présentent pas de risque d'expansion vers une mutation complète en une seule génération mais ils peuvent passer dans l'intervalle des prémutations (<math>\geq 55</math> répétitions CGG) avec un risque associé de syndrome X Fragile pour la descendance. L'allèle en zone intermédiaire peut être d'origine maternelle ou paternelle : une consultation de conseil génétique doit être proposée.</li> <li>Les allèles compris entre <b>45 et 49</b> répétitions ne justifient pas d'explorations familiales systématiques en particulier si aucun cas de syndrome de l'X fragile, d'insuffisance ovarienne prématurée ou de syndrome neurologique type FXTAS n'a été identifié dans la famille.</li> <li>La présence d'AGG peut être prise en compte dans ces cas pour évaluer le risque de passage à une prémutation (Nolin et al., 2013).</li> </ul>
Prémuation	$\geq 55$ – 200 répétitions	<ul style="list-style-type: none"> <li>Instable lors de la transmission. Le risque de passage à une mutation complète est corrélé au nombre de répétitions.</li> <li>Une femme porteuse d'une prémutation transmet son allèle à risque dans 50% des cas. Le risque d'expansion vers une mutation complète augmente avec la taille de la prémutation et est supérieur à 99% lorsque la prémutation maternelle comporte plus de 100 répétitions CGG.</li> <li>Un homme porteur d'une prémutation transmet une prémutation à toutes ses filles. D'exceptionnels cas de réversion en allèle en Zone Intermédiaire ou Normal ont été décrits.</li> <li>Un diagnostic prénatal est recommandé pour une femme porteuse d'un allèle à partir de 55 répétitions CGG. Le plus petit allèle rapporté comme ayant subi une transition en mutation complète comporte 56 répétitions CGG sans interruption AGG.</li> </ul>
Mutation complète	> 200 répétitions avec méthylation anormale	<ul style="list-style-type: none"> <li>Instable lors de la transmission.</li> <li>Une femme porteuse d'une mutation complète transmet son allèle à risque dans 50% des cas. Elle transmet alors une mutation complète dans plus de 99% des cas. Dans de très rares cas, elle transmet un allèle prémuté ou en zone intermédiaire ou normal probablement parce qu'elle était porteuse d'une mosaïque prémutation-mutation complète.</li> <li>Les rares cas rapportés d'hommes avec mutation complète ayant eu des enfants, ont eu des filles avec une prémutation. Cependant, le risque de transmission d'une mutation complète ne peut être écarté et un diagnostic prénatal peut être proposé.</li> </ul>

**Le syndrome X fragile est causé dans plus de 99% des cas par une mutation complète du gène *FMR1* qui aboutit à une perte de la transcription et donc de la traduction de la protéine FMRP.**

**Dans de très rares cas, le syndrome est causé par une mutation ponctuelle ou une délétion du gène *FMR1*.**

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : **ANPGM\_047**  
Page : 5/13

Numéro de version : **V3.0**

**Les mosaïques :**

A noter que les grandes expansions peuvent être instables également au niveau somatique. Cette instabilité peut conduire à trois types de **mosaïque cellulaire** :

- 1 / la mosaïque de nombre de répétitions CGG qui est fréquente
- 2 / la mosaïque de mutation complète et de prémutation qui est assez fréquente (environ 20% des cas)
- 3 / la mosaïque de mutation complète et d'allèle normal (ou mutation complète, prémutation et allèle normal) qui représente environ 1% des patients atteints de syndrome X fragile.

Par ailleurs, les allèles supérieurs à 200 répétitions CGG ne sont pas toujours associés à une méthylation anormale : il existe des cas de méthylation partielle pour les allèles entre 200 et 300 CGG, on parle de **mosaïque de méthylation**. **Ces patients présentent souvent des symptômes atténués.**

De rarissimes cas de **mosaïque tissulaire** ont également été rapportés : dans ce cas, une prémutation est détectée dans un tissu et une mutation complète est retrouvée dans un autre tissu.

#### **IV. Corrélations génotype-phénotype**

##### **A. Syndrome X fragile**

Tous les garçons atteints de syndrome de l'X Fragile présentent une mutation complète (hormis les autres mécanismes mutationnels : délétions, mutation intragénique).

L'atteinte chez les filles porteuses de mutation complète est probablement corrélée au rapport d'inactivation : « chromosomes X normaux / chromosomes X avec mutation complète » dans le cerveau mais cette hypothèse n'a pas été formellement démontrée.

##### **B. Insuffisance ovarienne prématurée liée au gène FMR1**

Les femmes porteuses d'une amplification de taille moyenne (compris entre 90-110) sont plus à risque d'IOP (Mailick *et al.* 2014).

Aucun lien n'a pu être établi entre la présence d'un allèle en zone grise et une insuffisance ovarienne prématurée (Voorhuis *et al.* 2013 ; Voorhuis *et al.* 2014). De même, il n'existe pas de risque d'IOP en cas de mutation complète isolée.

##### **C. Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**

La pénétrance de ce syndrome est incomplète et liée à l'âge: la pénétrance de l'ataxie et des tremblements est de 17%, 38%, 47% et 75% pour des hommes âgés de 50-59, 60-69, 70-79 et plus de 80 ans respectivement.

La pénétrance est trois fois moins élevée pour les femmes. Il y a une corrélation entre le nombre de répétitions et les symptômes moteurs et cognitifs. Le risque de développer un FXTAS dépend de la taille de la prémutation (surtout après 70 CGG) et du sexe du patient (Jacquemont *et al.*, 2011).

#### **V. Méthodes de diagnostic moléculaire**

##### **A. Stratégies d'étude de la répétition CGG du gène FMR1**

Le génotypage est basé sur la détermination du nombre de triplets CGG +/- la détermination du statut de méthylation.

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : **ANPGM\_ 047**  
Page : 6/13

Numéro de version : **V3.0**

De très nombreuses techniques permettent d'effectuer cette analyse et donnent des résultats de génotypage plus ou moins complet, la combinaison d'au-moins deux techniques étant en général nécessaire pour assurer un génotypage de tous les allèles possibles (N, ZI, P, M +/- mosaïque cellulaire).

On compte parmi les techniques possibles :

- Southern blot avec étude de méthylation
- Southern blot sans étude de méthylation
- PCR "standard" avec seuil de détection +/- élevé (jusqu'à environ 100 CGG en moyenne)
- Méthyl-sensible PCR (MS PCR)
- Triplet-primed PCR (TP PCR)
- Long Range PCR – blot (LR PCR)

Il existe plusieurs kits commerciaux, dont :

- Sizing PCR Kit Abbott (Fragile X PCR)
- TP PCR Kit Abbott
- TP PCR Kit Asuragen (AmplideX)
- MLPA kit MRC Holland

Il est difficile de représenter toutes les combinaisons de techniques possibles. Il y a des possibilités de faux positifs et/ou faux négatifs liés aux limitations techniques spécifiques à chaque méthode : ces limitations doivent apparaître clairement dans la conclusion du rapport adressé au clinicien.

Il est important de noter que le séquençage haut débit ne permet pas la détection des expansions CGG à l'heure actuelle.

**B. Recherche de mutation ponctuelle**

La recherche de mutation ponctuelle et de délétion est basée sur la PCR et le séquençage (Sanger ou séquençage haut débit). Ces mutations ne sont pas détectées par les stratégies ci-dessous sauf en cas de délétion emportant la répétition CGG.

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : ANPGM\_ 047  
Page : 7/13

Numéro de version : V3.0

**VI. Arbres décisionnels pour la prise en charge d'un échantillon biologique**

**A. Cas index**

**La stratégie d'étude d'un cas index peut varier en fonctions des méthodes analytiques utilisées**  
**Les principes généraux sont les suivants :**

- Un résultat normal ou en zone intermédiaire peut être rendu par PCR standard (1 allèle détecté chez un garçon et deux allèles détectés chez une fille). Il doit être fait mention que ce résultat n'est valable qu'en cas de caryotype normal en ce qui concerne le nombre et la structure des chromosomes X. Il est également à noter que l'analyse par PCR standard ne permet pas d'exclure les rares cas de patients présentant une mutation complète en mosaïque cellulaire avec un allèle normal (environ 1% des patients porteurs d'une mutation complète soit une sensibilité diagnostique de 99 %).
- Les allèles inférieurs à 15 répétitions CGG sont extrêmement rares et peuvent parfois correspondre à une délétion. Pour assurer un génotypage complet d'un allèle de ce type et s'assurer qu'il ne s'agit pas d'une délétion de l'ATG, il est recommandé de réaliser une PCR, un Southern blot (ou une technique équivalente) et un séquençage de la région.
- Une duplication en tandem de 49 pb adjacente au triplet CGG qui touche la région des amorces les plus couramment utilisées en PCR a été décrite dans la population finlandaise (Mononen T *et al.*, 2007). Il y a donc un risque de faux négatif : une femme avec le variant et une mutation complète peut être génotypée en PCR comme normale à cause des deux allèles normaux générés par le variant. Il est donc conseillé d'effectuer un contrôle par une méthode indépendante pour les femmes porteuses de deux allèles qui diffèrent de 16 répétitions environ (31 CGG et 47 CGG par exemple, ou 20 et 36 CGG).
- En cas de détection d'une prémutation, la présence d'une mutation complète doit être recherchée (Southern, ou PCR détectant les allèles de grande taille)
- En cas de détection d'une prémutation de grande taille ou d'une mutation complète de petite taille (200 +/- 30 répétitions), l'analyse de la méthylation est indispensable.

**a. Syndrome X fragile (Martin-Bell Syndrome) (FXS, OMIM 300624)**

Compte-tenu de l'absence de signe clinique spécifique, une recherche de syndrome de l'X Fragile est proposée à tous les patients présentant une déficience intellectuelle associé ou non à un trouble du spectre autistique.

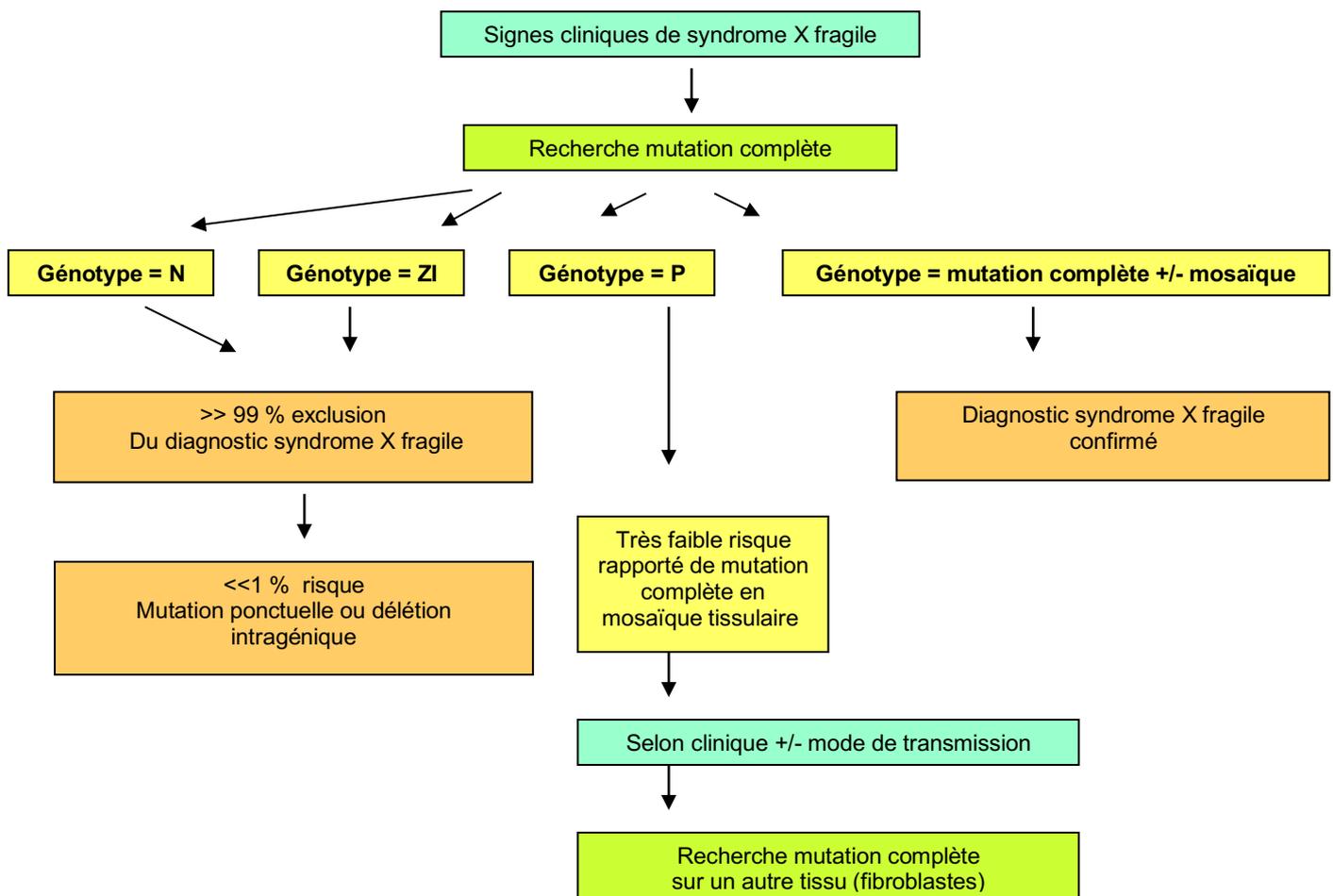
**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : ANPGM\_047  
 Page : 8/13

Numéro de version : V3.0

**Figure 1** : Diagnostic génétique du syndrome X fragile : arbre décisionnel pour la prescription des analyses génétiques pour un(e) cas index(e).

N : normal; ZI : zone intermédiaire; P : prémutation



**b. Insuffisance ovarienne prématurée liée au gène FMR1 (IOP, OMIM 311360)**

Une prémutation du gène *FMR1* doit être recherchée devant tout signe d'insuffisance ovarienne prématurée inexpliquée (taux de FSH élevé chez une femme de moins de 40 ans et troubles des cycles menstruels), dans un contexte familial ou isolé (Figure 2).

Lors d'une enquête familiale dans une famille X fragile, en cas de découverte chez une femme d'une prémutation, un bilan de la fonction ovarienne est souhaitable sans attendre l'insuffisance ovarienne prématurée.

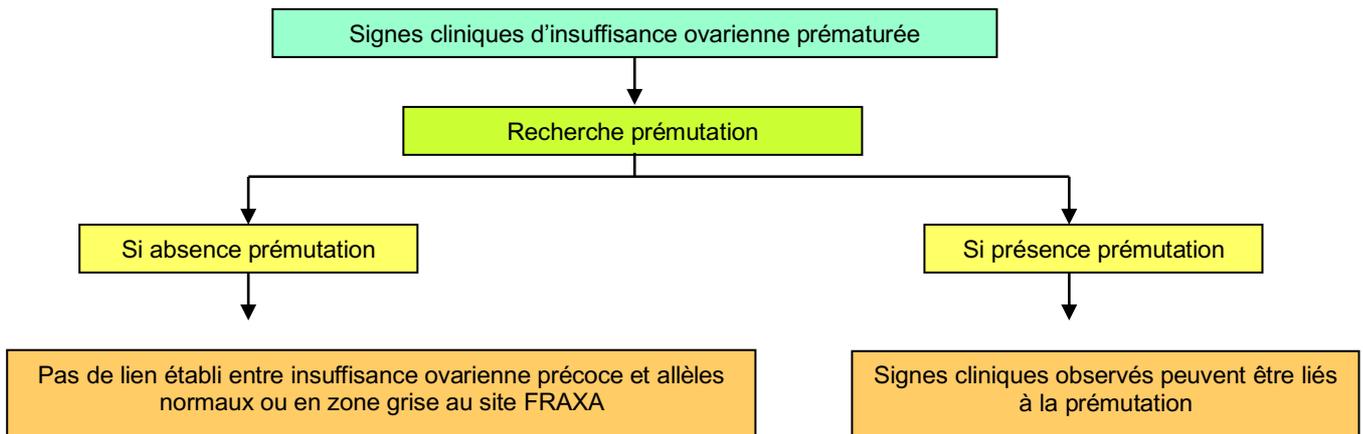
Les femmes porteuses d'une prémutation doivent être informées du risque de FXPOI. Il convient de les orienter vers une équipe spécialisée pour la réalisation d'un bilan de la fonction ovarienne dès la mise en évidence de la prémutation. Une cryoconservation des ovocytes pourra être proposée avant l'apparition de l'insuffisance ovarienne.

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : ANPGM\_ 047  
 Page : 9/13

Numéro de version : V3.0

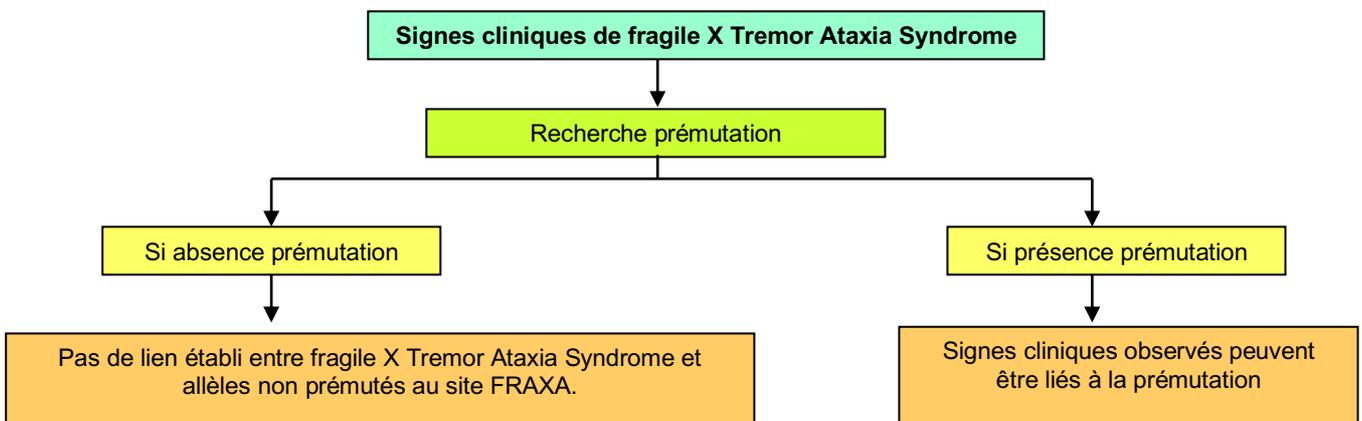
**Figure 2** : Diagnostic génétique de Fragile X Premature Ovarian Insufficiency (FXPOI): arbre décisionnel pour la prescription des analyses génétiques pour une proposante



**A. Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1 (FXTAS, OMIM 300623)**

Un syndrome ataxique associé à des tremblements intentionnels, sans cause retrouvée, doit motiver la recherche de FXTAS, *a fortiori* lorsque l'imagerie cérébrale met en évidence les lésions caractéristiques des pédoncules cérébelleux moyens.

**Figure 3** : Diagnostic génétique de Fragile X Tremor Ataxia Syndrome (FXTAS): arbre décisionnel pour la prescription des analyses génétiques pour un(e) proposant(e)



**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : ANPGM\_ 047  
 Page : 10/13

Numéro de version : V3.0

### **B. Apparenté**

La stratégie diagnostique pour l'étude de la répétition CGG dans le cadre du diagnostic d'un apparenté, symptomatique ou pas, suit les mêmes règles générales que celles décrites pour les cas index. Il est recommandé d'utiliser au moins deux analyses indépendantes pour le diagnostic des apparentés, sur deux prélèvements indépendants (ou un seul prélèvement si l'identité de l'ADN a pu être confirmée par l'analyse de marqueurs microsatellites). Il est recommandé d'utiliser au moins une technique qui permet de détecter les mutations complètes.

Un conseil génétique doit être proposé aux apparentés dans les cas suivants :

- Mise en évidence d'une mutation complète ou d'une prémutation ( $\geq 55$  CGG)
- Mise en évidence d'un allèle dans la zone intermédiaire ( $50 \leq x \leq 54$  CGG)
- Mise en évidence d'un allèle compris entre 45 et 49 CGG, si ATCD familial de X fragile, de ménopause prématurée ou de syndrome neurologique type FXTAS
- Mise en évidence d'une délétion intragénique ou d'une mutation ponctuelle du gène *FMR1*

Un diagnostic chez une personne apparentée et symptomatique peut être réalisé.

Un diagnostic chez une personne apparentée asymptomatique ne peut être réalisé que si elle est majeure, dans le respect du Décret n° 2008-321 du 4 avril 2008, « Art. R. 1131-5 » :

### **C. Diagnostic prénatal**

#### **Indication**

Le diagnostic prénatal dans le cadre d'un risque de syndrome X fragile peut être proposé dans les cas suivants :

- femme porteuse d'un allèle supérieur ou égal à 55 répétitions CGG, qu'il s'agisse d'une prémutation ou d'une mutation complète (Nolin *et al.*, 2011)
- femme porteuse d'une délétion ou d'une mutation ponctuelle du gène *FMR1*
- homme porteur d'une mutation complète : les cas d'hommes porteurs d'une mutation complète ayant eu des filles sont très rares et elles sont porteuses d'une prémutation. Par ailleurs des études menées sur des spermatozoïdes d'hommes porteurs d'une mutation complète ont montré que ces spermatozoïdes sont porteurs d'une prémutation. Il n'y a donc pas de risque démontré de transmettre une mutation complète à une fille pour un homme porteur d'une mutation complète. Cependant, ces observations reposant sur des études très restreintes, l'intérêt de proposer un diagnostic prénatal, sur liquide amniotique, à un homme porteur d'une mutation complète, peut être considéré par mesure de sécurité.

Il n'y a pas lieu de proposer un diagnostic prénatal à un homme porteur d'une prémutation.

Le diagnostic prénatal peut être réalisé quel que soit le sexe du fœtus, masculin ou féminin. Mais la connaissance du sexe fœtal est indispensable à l'interprétation des données biologiques.

L'interruption médicale de grossesse ne sera envisagée que si le fœtus est porteur d'une mutation complète, en mosaïque ou non, retrouvée dans au moins un tissu testé (trophoblaste et/ou cellules amniotiques).

### **Syndrome X fragile**

## **Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1 Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : **ANPGM\_ 047**

Numéro de version : **V3.0**

Page : 11/13

A noter que la moitié des filles porteuses d'une mutation complète exprimeront des troubles cognitifs de sévérité variable mais en général plus modérés que celle observée chez les garçons mais le futur statut clinique d'un fœtus de sexe féminin porteur d'une mutation complète ne peut être prédit au niveau individuel.

### **Prélèvements**

Le laboratoire réalisant le prénatal doit s'assurer qu'il possède les échantillons nécessaires à la réalisation de l'analyse :

- le prélèvement de la mère est obligatoire (pour le contrôle de non contamination du prélèvement fœtal par des cellules maternelles)
- le prélèvement du père est très souhaitable dans le cas d'un fœtus féminin
- les prélèvements des apparentés qui permettent de définir l'haplotype à risque chez la femme enceinte sont nécessaires en cas d'étude indirecte

Le diagnostic sur villosités chorales est le diagnostic le plus précoce, donc celui à privilégier si possible. Cependant, il peut être judicieux de prévoir une ponction de liquide amniotique pour une femme porteuse d'une petite prémutation (<70 répétitions), sachant qu'elle a une probabilité importante de transmettre une prémutation en cas de transmission de l'allèle à risque (Nolin *et al.*, 2011).

### **Diagnostic direct : quantification des répétitions CGG**

Le diagnostic sur villosités chorales permet de conclure dans les cas suivants :

- Exclusion du syndrome X fragile si le fœtus a hérité de l'allèle normal
- Diagnostic du syndrome X fragile si le fœtus est porteur d'une amplification de plus de 200 CGG (mutation complète). A noter qu'il n'existe pas de certitude concernant le statut de méthylation pour le fœtus à naître si la mutation complète est très proche de la région des 200 CGG. Il peut être utile dans ce cas de confirmer le statut de méthylation sur un LA à 16 SA.

Le diagnostic sur villosités chorales ne pourra pas répondre avec certitude dans le cas suivant :

- Si le fœtus est porteur d'une prémutation (55-200 CGG), il est recommandé de proposer l'étude du liquide amniotique (ponction à partir 16 SA) pour exclure la possibilité d'un mosaïcisme tissulaire (prémuation dans les villosités chorales et mutation complète dans les cellules amniotiques) ou le risque théorique d'une transition tardive d'une partie des cellules prémutées en mutation complète. Ce contrôle est notamment indiqué en cas de différence importante entre la prémutation de la mère et celle du fœtus.

La stratégie diagnostique pour l'étude de la répétition CGG dans le cadre du DPN suit les mêmes règles générales que celles décrites pour les cas index. Elle suit de plus les règles générales du diagnostic prénatal, notamment la recherche de l'absence de contamination par du tissu maternel.

Il est recommandé d'utiliser au moins deux analyses indépendantes pour le DPN.

Il est essentiel d'utiliser au moins une technique qui permet de détecter les mutations complètes.

### **Diagnostic indirect : étude familiale de ségrégation de marqueurs microsatellites**

L'analyse de ségrégation de marqueurs microsatellites peut être utilisée en complément de l'analyse directe d'étude de la répétition (CGG)n.

L'analyse de ségrégation de marqueurs microsatellites peut permettre d'obtenir un diagnostic prénatal indirect mais plusieurs facteurs doivent être pris en compte pour l'interprétation :

- les évènements de recombinaison entre marqueur microsatellite et locus FRAXA
- les rares évènements de conversion génique des marqueurs microsatellites

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : **ANPGM\_047**  
 Page : 12/13

Numéro de version : **V3.0**

- l'existence d'un allèle « cryptique » pour DXS548
- la nature de l'expansion de la mère (la transition en mutation complète dépend de la taille de la prémutation quand la mère est prémutée)
- la possibilité d'un événement rare de rétraction de prémutation ou de mutation complète en allèle normal

**Table 2** : Marqueurs microsatellites flanquant le locus FRAXA

Locus	Hétérozygotie	Taille (pb)	Distance (Kb)	Séquence des amorces
DXS297 (VK23)	0.66	179-195	990	5'-TTGGACTTCCCAAGCCTCCACAA-3' 5'-TTCTGAGTCTGTGCAGTGTATTTGTCAG-3'
DXS998	0.57	113-119	385	5'-CAGCAATTTTTCAAAGGC-3' 5'-AGATCATTATATAACCTCAAAGA-3'
DXS548 (RS46)	0.64	190-206	190	5'-AGAGCTTCACTATGCAATGGAATC-3' 5'-GTACATTAGAGTCACCTGTGGTGC-3'
FRAXAC1	0.67	145-165	7	5'-GATCTAATCAACATCTATAGACTTTATT-3' 5'-GATGAGAGTCACTTGAAGCTGG-3'
<b>(CGG)<sub>n</sub></b>				
FRAXAC2	0.80	145-165	12	5'-GACTGCTCCGGAAGTTGAATCCTCA-3' 5'-CTAGGTGACAGAGTGAGATCCTGTC-3'
DXS1215	0.55	242-250	460	5'-GGGCAAACATTAAACCTCTC-3' 5'-GCCCTCTAAGTCATTACGCT-3'
DXS8091	0.76	89-111	660	5'-CACATTCAGGTTCCACAGG-3' 5'-CAAGATCCAGGCAAAGTC-3'

## VII. Cotation

Selon les techniques utilisées :

- N354 Détection de mutations par expansion de microsatellites
- N019 Etude de la méthylation
- N037 Southern blot
- Ou B500 dans certains laboratoires

Diagnostic prénatal :

- 4050 : B500
- 4051 : B700

## VIII. Références bibliographiques

- Biancalana V, Glaeser D, McQuaid S, Steinbach P. EMQN best practice guidelines for the molecular genetic testing and reporting of fragile X syndrome and other fragile X-associated disorders. *Eur J Hum Genet.* 2015 Apr;23(4):417-25.
- Elizur SE, Lebovitz O, Derech-Haim S, Dratviman-Storobinsky O, Feldman B, Dor J, Orvieto R, Cohen Y. Elevated levels of FMR1 mRNA in granulosa cells are associated with low ovarian reserve in FMR1 premutation carriers. *PLoS One.* 2014 Aug 25;9(8):e105121.
- Jacquemont S, Birnbaum S, Redler S, Steinbach P, Biancalana V. Clinical utility gene card for: fragile X mental retardation syndrome, fragile X-associated tremor/ataxia syndrome and fragile X-associated primary ovarian insufficiency. *Eur J Hum Genet.* 2011 Sep;19(9).

**Syndrome X fragile**  
**Syndrome tremblement-ataxie lié à une prémutation du gène FMR1**  
**Insuffisance ovarienne prématurée liée à une prémutation du gène FMR1**

Référence : **ANPGM\_ 047**  
Page : 13/13

Numéro de version : **V3.0**

- Maenner MJ, Baker MW, Broman KW, Tian J, Barnes JK, Atkins A, McPherson E, Hong J, Brilliant MH, Mailick MR. FMR1 CGG expansions: prevalence and sex ratios. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2013 Jul;162B(5):466-73.
- Mailick MR, Hong J, Greenberg J, Smith L, Sherman S. Curvilinear association of CGG repeats and age at menopause in women with FMR1 premutation expansions. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2014 Dec;165B(8):705-11.
- Mononen T, von Koskull H, Airaksinen RL, Juvonen V. A novel duplication in the FMR1 gene: implications for molecular analysis in fragile X syndrome and repeat instability. *Clin Genet.* 2007 Dec;72(6):528-31.
- Nolin S, Glicksman A, Ding X, Ersalesi N, Brown WT, Sherman SL, Dobkin C. Fragile X analysis of 1112 prenatal samples from 1991 to 2010. *Prenat Diagn* 2011; 31: 925–931.
- Nolin SL, Sah S, Glicksman A, Sherman SL, Allen E, Berry-Kravis E, Tassone F, Yrigollen C, Cronister A, Jodah M, Ersalesi N, Dobkin C, Brown WT, Shroff R, Latham GJ, and Hadd AG. Fragile X AGG Analysis Provides New Risk Predictions for 45–69 Repeat Alleles. *Am J Med Genet A.* 2013 Apr; 0(4): 771–778.
- Voorhuis M, Onland-Moret NC, Fauser BC, Ploos van Amstel HK, van der Schouw YT, Broekmans FJ. The association of CGG repeats in the FMR1 gene and timing of natural menopause. *Hum Reprod.* 2013 Feb;28(2):496-501.
- Voorhuis M, Onland-Moret NC, Janse F, Ploos van Amstel HK, Goverde AJ, Lambalk CB, Laven JS, van der Schouw YT, Broekmans FJ, Fauser BC; Dutch Primary Ovarian Insufficiency Consortium. The significance of fragile X mental retardation gene 1 CGG repeat sizes in the normal and intermediate range in women with primary ovarian insufficiency. *Hum Reprod.* 2014 Jul;29(7):1585-93.
- Saul RA, Tarleton JC. FMR1-Related Disorders. 1998 Jun 16 [updated 2012 Apr 26]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, Smith RJH, Stephens K, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2015. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1384/>