

central (SNC), cuyos mecanismos de funcionamiento y su eficacia no están claramente definidos, a la vez que reducen el limitado tiempo de atención del paciente. Desarrollo. Un estudio piloto con 17 varones con SXF tratados con L-acetilcarnitina (LAC) durante un año demostró una reducción significativa en el comportamiento hiperactivo evaluado con el cuestionario Conners de padres y profesores. El uso de LAC en pacientes con SXF se deriva de la hipótesis que las propiedades bioquímicas y fisiológicas de esta sustancia pueden preservar la actividad cerebral. La LAC es una molécula pequeña hidrosoluble que se difunde fácilmente en el espacio extracelular y entra en cualquier célula del sistema nervioso por medio de un transportador específico. Las diferentes áreas del cerebro utilizan de forma diferente esta molécula para metabolizar la glucosa y lípidos para abastecer de ATP y la síntesis de neurotransmisores. El grupo acetilo presente en la LAC representa un elemento de señalización metabólica de gran importancia, posiblemente mediando su efecto en el SNC. La administración exógena de LAC puede afectar la actividad cerebral en el SXF por: modulación o administración de carburante para la producción de energía, que a nivel mitocondrial se asocia con el papel metabólico de la síntesis de neurotransmisores del ciclo de Krebs; remodelación de la membrana lipídica en función de la determinación activa, por parte de la LAC, de la producción de ácidos grasos polinsaturados, y efecto preferencial en el componente de atención del sistema colinérgico que depende de su peculiar modalidad de comunicación en el SNC. Un estudio explorativo, doblemente ciego, controlado con placebo y multicéntrico, se está llevando a cabo en función de estas premisas. Se incluirá una población total de 160 niños de nueve centros europeos. El objetivo del estudio es determinar el efecto de la LAC en el comportamiento hiperactivo de los niños con SXF de acuerdo con la evaluación del cuestionario Conners de padres y profesores. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S65-70]

Palabras clave. Comportamiento hiperactivo. L-acetilcarnitina. Síndrome X frágil.

central (SNC), cujos mecanismos de acção e eficácia não estão esclarecidos, ao passo que reduzem o limitado tempo de atenção do doente. Desenvolvimento. Um estudo piloto com 187 homens com SXF tratados com L-acetilcarnitina (LAC) durante um ano demonstrou uma redução significativa do comportamento hiperactivo, avaliado com o questionário O'Connors de pais e professores. O uso de LAC em doentes com SXF deriva da hipótese que as propriedades bioquímicas e fisiológicas desta substância podem preservar a actividade cerebral. A LAC é uma pequena molécula hidrossolúvel que se difunde facilmente no espaço extra?celular e entra em qualquer célula do sistema nervoso por intermédio de um transportador específico. As diferentes áreas do cérebro utilizam de forma diferente esta molécula para metabolizar glucose e lípidos e para renovar o ATP e a síntese de neurotransmisores. O grupo acetilo presente nos LAC representa um elemento de sinalização metabólica de grande importância, possivelmente mediando o seu efeito no SNC. A administração exógena de LAC pode afectar a actividade cerebral no SXF por: modulação ou administração de carburante para a produção de energia, que a nível mitocondrial se associa ao papel metabólico da síntese de neurotransmisores do ciclo de Krebs: remodelação da membrana lipídica em função da determinação activa, por parte da LAC, da produção de ácidos gordos polinsaturados, e efeito preferencial no componente da atenção do sistema colinérgico, que depende da sua peculiar modalidade de comunicação com o SNC. Actualmente, com base nestas premissas, está a ser conduzido um estudo explorativo, em dupla ocultação e multicêntrico, controlado com placebo. Será incluída uma população total de 160 crianças de nove centros europeus. O objectivo do estudo consiste em determinar o efeito da LAC no comportamento hiperactivo das crianças com SXF de acordo com a avaliação do questionário Conners de pais e professores. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S65-70]

Palavras chave. Comportamento hiperactivo. L-acetilcarnitina. Síndrome X-frágil.

Modelos terapéuticos experimentales en el síndrome X frágil

Y. de Diego-Otero

EXPERIMENTAL THERAPEUTIC MODELS FOR FRAGILE X SYNDROME

Summary. Fragile X syndrome is the most frequent form of familial mental retardation. The disease is caused by the absence of the function of the FMR1 gene product (FMRP). FMRP is a mRNA binding protein but the mechanism by which FMRP inactivation leads to the cognitive deficits in fragile X patients is still unknown. There is no effective specific treatment for the disease. The genetics of the fragile X syndrome suggest that gene therapy may eventually be able to provide a cure for the disease. However several different approaches are also being investigated by many different research laboratories. The search for an effective therapy for fragile X patients will be facilitated by a better understanding of the pathophysiology of the disease. This requires research into many different areas of biology including protein replacement therapy, gene reactivation, transcriptional regulation, neuronal activity enhancement and neuroprotection, nutritional intervention, regulation of neurotransmission and synapse regeneration. All these approaches can be investigated using animal models of the fragile X syndrome, before being used to develop effective treatment for fragile X patients. Although there is still no cure for the fragile X syndrome, the symptoms of the disease can be treated using an integrated approach where the different interventions are supported by a specific team. All of these approaches are providing new insights into both the treatment of fragile X patients and our understanding of the pathophysiology of the disease. Until a cure is found, an integrated approach to intervention is the best way to minimise or avoid some of the manifestations associated with the fragile X syndrome. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S70-6]

Key words. Animal models. Fragile X syndrome. Gene therapy. Neuroprotection. Research. Treatment.

INTRODUCCIÓN

Distintos abordajes experimentales, así como diferentes modelos, se vienen utilizando en los últimos años para investigar las

posibles vías de tratamiento del síndrome X frágil (SXF). Los más significativos se resumirán en esta revisión sobre el estado actual de los modelos terapéuticos experimentales.

Recibido: 20.09.01. Aceptado: 08.10.01.

Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad de Málaga. Málaga, España.

Correspondencia: Dra. Yolanda de Diego Otero. Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina. Universidad de Málaga. Campus de Teatinos, s/n. E-29080 Málaga. E-mail: ydediego@yahoo.es

Agradecimientos. A todos los compañeros y amigos que han permitido que mi trabajo vea la luz, y con igual importancia a las familias afectadas, cuyo apoyo ha sido fundamental para que esta labor de investigación se continúe. El trabajo realizado por Y. de Diego Otero está financiado por un proyecto de investigación del programa Marie Curie (UE). Contrato MCFI-2000-01137. © 2001, REVISTA DENEUROLOGÍA

El gen *FMR1* está implicado en el desarrollo de la discapacidad intelectual hereditaria más frecuente, hoy conocida como SXF (también denominado síndrome de Martín-Bell por los autores que lo describieron en la década de los 40) [1]. El descubrimiento, en 1991, del gen causante de la enfermedad es el detonante inicial de la carrera científica para establecer una terapia de cura para el síndrome. Un número creciente de laboratorios repartidos por decenas de países mantienen esta carrera acelerada en la actualidad.

La falta de FMRP, la proteína codificada por el gen *FMR1*, en las células de los individuos afectados provoca la aparición de los múltiples síntomas asociados a esta enfermedad. Como ya se sabe, las características principales del SXF son la discapacidad intelectual de grado variable (inteligencia en el límite normal, 5,1%; retraso mental leve, 15,7%; moderado, 27,3%; grave, 30,6%; y profundo, 21,3%), que es siempre más grave en los varones que en las mujeres (más del 80% de las mujeres con mutación completa presentan trastornos del aprendizaje o psicológicos), el macroorquidismo que aparece en el 90% de los afectados varones, displasia del tejido conjuntivo en un 85%, otitis recurrente en la infancia en un 85%, alteraciones faciales en un 80%, trastorno por déficit de atención/hiperactividad (TDAH) en un 80%, estrabismo en un 36% y convulsiones en el 30% de los pacientes. Otras características menos frecuentes también se asocian a este síndrome: problemas del lenguaje, dentición irregular, rasgos autistas, disfunción ovárica en mujeres portadoras, pies planos o trastornos cardíacos [2].

Para entender qué puede suceder en este síndrome es importante conocer que el material genético (ADN) se compone de moléculas de ácidos nucleicos que suelen transmitirse sin cambios importantes a la generación siguiente; los cromosomas son su forma visible al microscopio. Este material hereditario se encuentra protegido por la envoltura porosa del núcleo celular y representa un código genético que codifica para decenas de miles de ARN mensajeros (ARNm) a través de un mecanismo que conocemos como transcripción. Todos los ARN transcritos tienen que transportarse desde el núcleo a la zona exterior de la envoltura o citoplasma. En estos mecanismos de transporte desempeñaría una función FMRP junto con otros miembros de su familia de proteínas -FXR1 y FXR2-, sobre las cuales se ha propuesto que podrían compensar dicha función en ausencia de FMRP. Los ARNm se descodifican por otro proceso conocido como traducción, lo que da las proteínas correspondientes (en la regulación o inhibición de la traducción de algunos ARNm, FMRP parece tener una función) [3].

Las proteínas son las moléculas funcionales que intervienen después en los procesos fisiológicos celulares, junto con los glúcidos o carbohidratos (azúcares), los lípidos (grasas), el agua, las vitaminas, los minerales, los neurotransmisores, las hormonas y otras muchas moléculas que, en unos niveles adecuados, permiten un funcionamiento correcto y coordinado de todas las células en los tejidos del organismo [4].

MODELOS TERAPÉUTICOS EXPERIMENTALES

Las líneas celulares en cultivo, establecidas desde células de pacientes (linfoblastos y fibroblastos, principalmente), fueron los modelos iniciales de experimentación. En estos momentos se usan estas líneas celulares para reactivar el gen *FMR1* a través de compuestos químicos o moléculas selectivas como los PNAS. Básicamente se está intentando la reactivación específica del gen *FMR1*, sin afectar a otros genes que puedan estar inactivos

de forma normal en las células. Los PNAS son moléculas similares a ácidos nucleicos (componentes del ADN o material hereditario) que se unirían por apareamiento homólogo y específicamente a la zona del gen *FMR1* hipermetilada, que es el lugar donde se quiere realizar la reactivación en el promotor que regula la expresión del gen. Estos experimentos, que se llevan a cabo en líneas celulares en cultivo, están todavía en fase preliminar, pero constituyen una herramienta prometedora desde el punto de vista terapéutico. El uso de activadores que consigan reactivar el gen *FMR1* de forma específica evitará que otros genes puedan verse afectados, sobre todo aquellos que necesariamente deben permanecer inactivos para que la célula sobreviva. La metilación como proceso de inactivación de genes es vital para las células, por lo que resulta imprescindible una reactivación selectiva del gen *FMR1* para tratar el SXF sin provocar otros daños.

Aun así, este sistema de reactivación *in vitro* sirve de modelo para ensayar nuevas drogas y compuestos que puedan ser más específicos en la función de reactivación del gen *FMR1*, inactivo pero presente en los pacientes afectados por el síndrome. Estos experimentos se llevan a cabo en dos laboratorios: por el Dr. Chui-razzi en Roma, en colaboración con el profesor Oostra, y en el laboratorio del Dr. Hoogeveen, estos dos últimos en Rotterdam [5].

En células en cultivo extraídas a pacientes también se estudia la influencia del número de tripletes CGG en la inactivación y expresión del gen *FMR1*. Se observa que, dentro del rango de premutación (50-200 tripletes CGG) y de mutación (más de 200 tripletes CGG) parcialmente metilada, se producirían mayores cantidades de ARNm del gen *FMR1* que en células normales (sin expansión, entre 6-50 tripletes CGG). Sin embargo, los niveles de proteína FMRP se reducen a medida que se estudian expansiones más grandes, lo que indicaría un problema en el mecanismo de transcripción del ARNm del gen *FMR1* premutado y mutado. Se observa que aumenta la cantidad de ARNm, lo que indicaría que de alguna manera se estaría autorregulando, elevando la transcripción del gen *FMR1* en su ARNm por el producto funcional del gen (la proteína FMRP) o alguna otra señal inducida por la deficiencia de la proteína FMRP. Se estudia cuál es la señal de autorregulación del gen para caracterizarla y ver si se puede influir sobre ella artificialmente, para conseguir transcribir el gen en las células de individuos afectados y obtener así proteína funcional que pueda evitar la manifestación del síndrome [6]. Estos experimentos se están llevando a cabo en el laboratorio del Dr. Hagerman en la Universidad de California, en Davis.

También en modelos celulares de experimentación se intenta encontrar aquellos ARNm ausentes en las células de los pacientes debido a la falta de FMRP, una proteína que transporta ARNm (transcritos de otros genes) desde el núcleo al citoplasma, donde se traducen en proteínas funcionales. Se ha encontrado que más de 37 ARNm interaccionan con FMRP. La ausencia de las proteínas codificadas por esos 37 ARNm o de alguna en concreto, al no existir FMRP, que es el mecanismo de transporte de estos ARNm, podría causar las manifestaciones observadas en el síndrome. Conocer los ARNm y establecer sus funciones proteicas será de vital importancia para poder encontrar una posible terapia [7]. Estos estudios se están llevando a cabo en distintos laboratorios, entre ellos el del Dr. Darnell en la Universidad Rockefeller, el laboratorio del profesor Oostra en la Universidad Erasmus de Rotterdam, el laboratorio del Dr. Mandel en el IMSERM de Estrasburgo y el del Dr. Warren en la Universidad de Emory, en Atlanta.

Como el principal problema en los pacientes es la discapacidad intelectual, se intenta encontrar qué actividad está ausente en las sinapsis de las células nerviosas para que estén afectadas cuando no existe FMRP. Determinar qué ocurre a nivel básico en las sinapsis nerviosas permitiría establecer posibles vías de intervención para corregir los defectos que puedan encontrarse y probar posibles terapias [8]. También varios laboratorios trabajan actualmente en esta línea, como el del Dr. Weiller y el Dr. Greenough en la Universidad de Illinois, y el del Dr. Bassel y el Dr. Antan en la Universidad Albert Einstein, en Nueva York.

Se están llevando a cabo estudios controlados de los fármacos empleados para tratar a los pacientes afectados por el síndrome. Entre los fármacos estudiados destacan la clonidina y otros compuestos que afectan a los niveles del neurotransmisor serotonina, así como la melatonina (hormona controladora del reloj interno) para tratar los problemas de sueño observados en los pacientes [9]. Estos estudios se iniciaron en Denver por la Dra. Hagerman, que actualmente trabaja en la Universidad de California, en Davis.

También se está llevando a cabo un ensayo multicéntrico europeo con L-acetilcarnitina para tratar la hiperactividad, una de las alteraciones del comportamiento más frecuentes en el SXF, en cuyo ensayo participan pacientes españoles. Este estudio permitirá comprobar ampliamente los resultados preliminares del estudio anterior, realizado en Italia, que encontraba cierta mejoría en pacientes tratados con L-acetilcarnitina [10].

Otro modelo experimental que se está usando por su simplicidad genética y de comportamiento es la mosca *Drosophila melanogaster* (la pequeña mosca que sobrevuela la fruta madura o el vinagre). Se han creado en estas moscas modelos nulos del gen que codifica la proteína homóloga a FMRP (llamada dFMRP). Estas moscas, sin proteína dFMRP, sirven como sistema de ensayo para encontrar las funciones básicas de la proteína y de qué forma se afecta el funcionamiento de la célula cuando está ausente. Se observa que las moscas nulas (sin proteína dFMRP) presentan comportamientos motores descoordinados, deficiencia de aprendizaje y alteraciones en el comportamiento y en las sinapsis neuronales. Cuando la proteína dFMRP se halla en exceso se observan también alteraciones en las sinapsis y en la neurotransmisión. Entender los procesos básicos en los que se implica la proteína dFMRP y también otras proteínas que pueden controlar o modificar su actividad, puede permitir entender por qué se producen las manifestaciones del SXF y acercarse a la meta establecida, el desarrollo de un tratamiento. Tres laboratorios están implicados en estos estudios: el primero, en la Universidad de Utah, por el Dr. Broadie y el Dr. Zuang; el segundo, el de Spring Harbor, por el Dr. Yin y el Dr. Margulies, y el tercero, el laboratorio del Dr. Jongens y el Dr. Dockendorff.

Otro modelo experimental para estudiar nuevas terapias se ha creado en ratones de laboratorio, en los que los experimentos son fáciles de llevar a cabo. En 1995 se describieron las características del primer modelo experimental de ratón, creado con una alteración genética que anula el gen *FMR1*, lo que determina la ausencia de la proteína FMRP (como ocurre en los pacientes afectados por el SXF) [11].

Este primer ratón con el gen *FMR1* nulo fue creado por un consorcio belga-neerlandés formado por dos equipos, con un total de 19 investigadores. La ausencia de la proteína FMRP en las células de ratón provoca manifestaciones comparables a las observadas en los pacientes afectados, como macroorquidismo (aumento en el tamaño de los testículos), problemas de comportamiento y aprendizaje, hiperactividad y mayor comportamiento

exploratorio, convulsiones generadas bajo unos estímulos auditivos específicos y alteraciones en las espinas dendríticas de las células neuronales [12-14]. Muchos de los parámetros que esperaban encontrarse alterados en el ratón con el gen *FMR1* inactivo resultaron normales en muchas de las pruebas de laboratorio realizadas, pero aún quedan muchos estudios por hacer. Se siguen investigando las funciones de la proteína FMRP, así como de posibles proteínas y ARNm que se unen a ella y pueden regular su función o alterarse en su ausencia.

También se ha conseguido por terapia genética la restitución de la proteína FMRP, introduciendo el gen *FMR1* intacto en el genoma del ratón nulo. Se ha observado que la restitución de la proteína FMRP en todos los tejidos del ratón provoca alteraciones patológicas de aprendizaje y de comportamiento en el nuevo modelo de ratón, conseguido por terapia genética del ratón nulo modelo del SXF [15].

Como pudimos demostrar por los resultados de nuestros estudios en los ratones normales, la proteína FMRP se expresa en mayor cantidad en aquellos tejidos derivados de ectodermo (entre los que está el tejido nervioso), así como en las gónadas de origen mesodérmico y en el epitelio respiratorio de origen endodérmico, por lo que conseguir la regulación del gen de la forma natural es ciertamente difícil [16,17]. Se está probando, también por terapia genética, restablecer la expresión de la proteína con una regulación concreta del tejido nervioso, para que el gen *FMR1* intacto que intenta recuperar la expresión en el ratón nulo se exprese sólo en las neuronas, y así comprobar si esta terapia genética parcial puede revertir el fenotipo X frágil del ratón nulo y acercarlo a la normalidad [18]. Estos experimentos se están llevando a cabo en distintos laboratorios, entre ellos el del profesor Oostra, en Rotterdam, y el del Dr. Brown, en Nueva York.

Otro grupo de investigación está estudiando cómo regular los neurotransmisores implicados en los procesos de hiperactividad y ansiedad. Para este estudio se emplean dos modelos de ratón —uno que carece del gen *FRM1* (ratón nulo) y otro modelo, también en ratón, que expresa una cantidad mucho mayor de proteína FMRP funcional—, comparándolos con los ratones normales, y así se intenta encontrar la forma de tratar estos síntomas en los pacientes. El Dr. Paylor y el Dr. Lugenbeal, en el Baylor College de Medicina, están llevando a cabo estos experimentos.

En otros proyectos se analizan el aprendizaje, la sensibilidad sensorial y la memoria del ratón nulo, comparado con el ratón normal. Estos estudios, realizados en el laboratorio del Dr. Bailey, en la Universidad de Carolina del Norte, en Chapel Hill, permitirán entender qué ocurre a nivel básico en el modelo de ratón y probar distintas terapias para contrarrestar las deficiencias que se encuentren.

Otra de las posibles terapias que se ensaya sobre el ratón nulo, modelo de esta enfermedad, es la incorporación de proteína FMRP artificial, producida en el laboratorio con un sistema de baculovirus. A través de ingeniería genética se introduce el gen intacto para que se exprese gran cantidad de proteína, que puede extraerse del sistema. Esta proteína FMRP artificial purificada puede utilizarse en pruebas experimentales con animales vivos y células en cultivo para analizar la incorporación y la dosificación, y comprobar si el funcionamiento es el esperado. Estos experimentos se llevan a cabo, entre otros sitios, en el laboratorio del profesor Oostra, en Rotterdam.

Dentro de las investigaciones sobre el modelo de ratón nulo se ha observado que, dependiendo de la base genética usada para crear el ratón, aparecen diferentes niveles en las manifestaciones

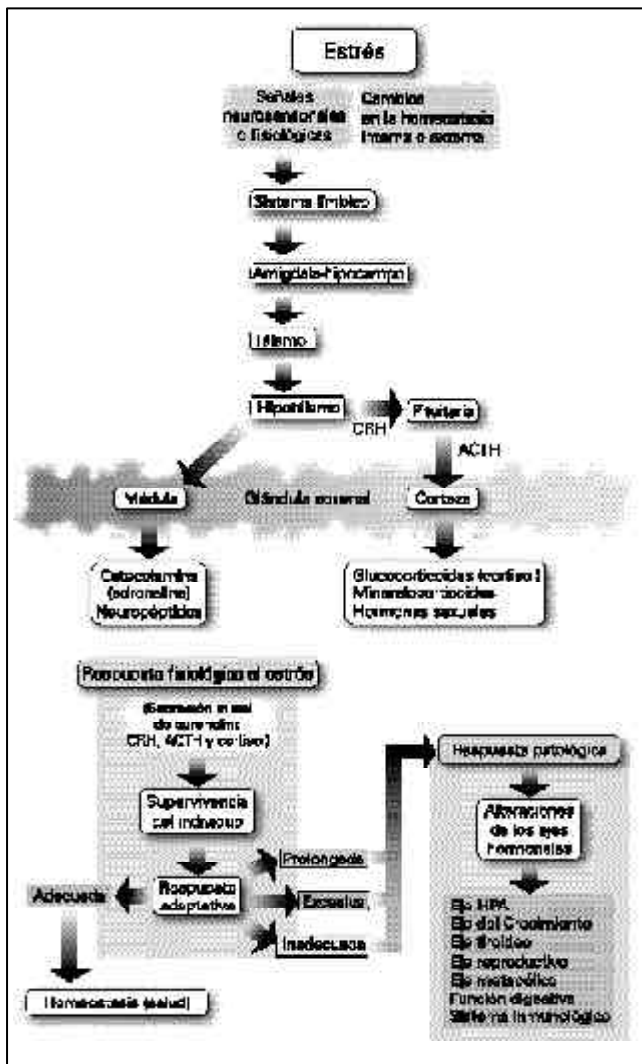


Figura. Efectos fisiológicos de la respuesta hormonal al estrés.

patológicas observadas, por lo que se deduce que otros genes pueden estar interviniendo en las características de los ratones nulos del gen *FMRI* [19].

Como ya se conoce, los pacientes muestran una variabilidad extrema en las manifestaciones del síndrome, lo que indicaría que no es sólo la falta de la proteína FMRP lo que determina su afectación, sino que también otros genes propios de la base genética familiar intervienen en el nivel intelectual; además, un medio adecuado para sus necesidades especiales resulta fundamental para el desarrollo de sus capacidades. También está documentado que los ambientes estimulantes y enriquecedores favorecen el aprendizaje y mejoran las áreas cerebrales implicadas en las actividades diarias que involucran la memoria y el aprendizaje; ello genera un mayor número de conexiones entre neuronas en un área tan relevante en este proceso como es el hipocampo, y posiblemente en las conexiones con la corteza cerebral [10-23].

INVESTIGACIÓN BÁSICA SOBRE LA FISIOPATOLOGÍA DEL SÍNDROME

Por los resultados que hemos obtenido de los últimos proyectos realizados sobre el modelo de ratón nulo, comparado con el nor-

mal, se demuestra que en los ratones normales, la médula adrenal, durante la última fase del desarrollo embrionario y las primeras etapas de período neonatal, expresa la proteína FMRP sin coexpresión de las otras dos proteínas de la familia, FXR1 y FXR2 (estas tres proteínas componen una familia que comparte los dominios funcionales y forman complejos entre sí y con otras proteínas; se ha propuesto una posible compensación funcional en los tejidos en los que se coexpresan simultáneamente).

La compensación de la función por parte de las otras proteínas sería imposible en la médula adrenal, por lo que la función específica de FMRP en este tejido estará ausente al no expresarse la proteína ni existir compensación por otros componentes de su familia proteica en las células adrenales de los pacientes; ello podría determinar alteraciones en la fisiología del tejido adrenal, encargado de secretar hormonas para adaptar el organismo a las situaciones de estrés [16,31].

Nuestros resultados se complementan con los obtenidos por otro grupo que trabaja en la Universidad de Stanford, en California, midiendo, entre otros parámetros, los niveles de hormonas adrenales secretadas durante los procesos de estrés diario o en situaciones de estrés provocado en los pacientes con SXF. Estos estudios demuestran un nivel de cortisol superior en individuos afectados por el síndrome comparados con sus hermanos normales, en las muestras tomadas antes de comer y antes de acostarse [32].

Estas pruebas nos remiten a una nueva hipótesis para explicar la fisiopatología del síndrome, según la cual una inadecuada respuesta neuroendocrinológica al estrés sería una posible causa de las manifestaciones observadas en este síndrome, que estaría determinada por niveles alterados de las hormonas secretadas por la glándula adrenal. Estas hormonas se implican en la adaptación del organismo a las exigencias del entorno y afectan la regulación de distintos ejes hormonales y el aprendizaje (Figura).

Los niveles inadecuados de hormonas secretadas en situaciones de estrés diario provocarían multitud de variaciones en otras hormonas interrelacionadas, sobre todo en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que controla la sensibilidad del organismo al estrés, así como otros sistemas hormonales que actuarían para recuperar la homeostasis y la estabilidad fisiológica del organismo.

La hipótesis propone una alteración en un tejido distinto al nervioso (aunque con un mismo origen embrionario, pues la médula adrenal y el tejido nervioso proceden de la cresta neuronal), que tiene como efecto secundario la alteración de sistemas hormonales, lo que a su vez induce un funcionamiento inadecuado del sistema nervioso.

Se conoce que, en estados de estrés prolongado, la acción de altos niveles de hormonas adrenales sobre las neuronas altera los niveles de neurotransmisores excitadores, así como el estado oxidativo y energético de la célula, lo que provoca fallos en el aprendizaje y la memoria. Las manifestaciones relacionadas con estas alteraciones hormonales, que también aparecen en el síndrome, serían las convulsiones (producidas por una sobrestimulación neuronal ejercida por hipersecreción de neurotransmisores excitadores), la alteración del tejido conjuntivo (hiperlaxitud articular o problemas cardíacos), los problemas de aprendizaje (por la acción de estas hormonas sobre el hipocampo y otras áreas del cerebro) y los trastornos emocionales, en las funciones ejecutivas y en la planificación (por su influencia sobre la corteza frontal), entre las acciones más directas. Otras acciones indirectas son: alteración de los patrones de sueño, aversión olfativa y del gusto, sensibilización, rabietas, hiperactividad, depresión y alteraciones endocrinas. La hipótesis de

Tabla I. Efectos demostrados de la respuesta adaptativa patológica al estrés.

Niveles alterados de hormonas adrenales
Hipotiroidismo/hipertiroidismo
Alteraciones menstruales en mujeres
Síndrome de tensión premenstrual
Anorexia/bulimia
Hiperfagia
Alteraciones en el crecimiento
Disminución de la masa ósea y muscular
Estimulación de la función gastrointestinal
Ejercicio o actividad excesiva (hiperactividad)
Dependencia crónica de drogas
Fatiga
Patología del tejido conectivo
Funciones autonómicas anormales
Ansiedad crónica/ataques de pánico
Trastornos obsesivo-compulsivos
Depresión
Patrones de sueño alterados
Cambios de humor
Sensibilidad a los estímulos sensoriales
Comportamiento maniaco
Psicosis
Alteraciones cognitivas
Discapacidad intelectual

una alteración en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal como causa del SXF se propuso hace más de una década y estos nuevos resultados parecen apoyarla (Tablas I y II) [33,34].

Si falla alguno de los múltiples puntos esenciales, en el proceso de regulación para restablecer la homeostasis del sistema, tras las situaciones de estrés diario, las células entran en un proceso de readaptación que permitirá la supervivencia del organismo aunque su actividad sea inadecuada. Todos los procesos y respuestas celulares inadecuadas, excesivas o prolongadas ante nuevas situaciones de estrés pondrán en peligro procesos tan sutiles como la memoria y el aprendizaje, que se basan en la acción de hormonas liberadas desde la glándula adrenal y el hipotálamo sobre las zonas cerebrales fundamentales en el aprendizaje, como el hipocampo, la amígdala y la corteza, entre otras [35]. Unos niveles adecuados y regulados de hormonas y receptores hormonales son necesarios para que el sistema nervioso funcione dentro de la normalidad y para que los procesos fisiológicos que ocurren durante el aprendizaje se lleven a cabo [21-23].

Estudiar el *status* oxidativo, así como restablecer y proteger las células nerviosas frente al desequilibrio fisiológico al que se ven sometidas por los niveles inadecuados de hormonas adrenales de respuesta al estrés, es el proyecto en el que trabajo actual-

Tabla II. Características del síndrome X frágil relacionadas con la respuesta adaptativa patológica al estrés.

Eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) anormal
Niveles elevados de cortisol
Respuesta moderada de TSH a la estimulación con TRH
Elevación moderada de los niveles de progesterona
Elevaciones moderadas de androstenediona, FSH y LH
Fallo ovárico prematuro
Hiperfagia (comer desmesuradamente)
Alteración del tejido conectivo
Problemas cardíacos
Hipotonía
Trastorno por déficit de atención/hiperactividad (TDAH)
Epilepsia y convulsiones
Ansiedad
Depresión
Problemas del sueño
Problemas de integración sensorial
Hipersensibilidad sensorial
Discapacidad intelectual

mente. La Unión Europea financia este proyecto, que pretende determinar la posible alteración de los sistemas fisiológicos de oxidación y antioxidación, como respuesta fisiológica a los niveles inadecuados de hormonas adrenales, lo que implicaría como efecto secundario un mal funcionamiento de las células nerviosas. Este proyecto, pionero en el estudio de estos aspectos de la fisiopatología del síndrome, se desarrollará en el modelo de ratón nulo cedido amablemente por el Departamento de Genética Clínica de la Universidad Erasmus, en Rotterdam. Resultados positivos en este estudio en ratones justificarán el ensayo con compuestos protectores y reguladores de la secreción adrenal, que se usarán en un tratamiento preliminar en los ratones, en los cuales mediremos la efectividad para corregir los daños causados por una excesiva oxidación en las células del organismo o evitar que los daños aparezcan.

Hasta que lleguemos al tratamiento que evite los daños causados por la falta de proteína FMRP en las células de los pacientes, será necesario un cuidado y un apoyo familiar, sanitario, educativo y social intenso y específico, así como un ambiente estimulante pero estructurado, para evitar aumentar el estrés que de hecho ya representan, para la fisiología de los pacientes, todas las exigencias del entorno. Será preciso efectuar aquellas intervenciones que actúan para minimizar los efectos del estrés en el organismo, como la práctica deportiva, la natación y las actividades acuáticas, montar a caballo, cuidar de animales o hacer cualquier tipo de ejercicio que requiera esfuerzo físico (montar en bicicleta, correr...). También está documentado el efecto beneficioso de la musicoterapia, la acupuntura o la práctica del yoga. Estas intervenciones actuarían modulando la respuesta al estrés [29-31].

Otro factor que determina de forma inmediata nuestra capacidad de aprendizaje y el comportamiento que manifestamos es el estado nutricional. Se ha demostrado que niveles inadecuados de ciertos minerales, aminoácidos fundamentales, vitaminas y ácidos grasos esenciales provocan deficiencias o acumulación de neurotransmisores, péptidos, cofactores y actividades enzimáticas directamente relacionadas con la actividad celular, lo que afecta el funcionamiento de las células nerviosas que intervienen en cualquier proceso intelectual. La falta o la acumulación de alguno de los micronutrientes esenciales, que tienen que ingerirse en la dieta diaria porque el organismo no puede sintetizarlos, provocan patologías conocidas desde hace décadas, determinan que las células pierdan sus niveles energéticos, afectan el estado de oxidación-reducción o la capacidad de defensa y desintoxicar el organismo de los productos dañinos producidos durante la fisiología normal o que pueden incorporarse al organismo por la alimentación o por la respiración, entre otras formas. Estos procesos provocan, en muchos casos, mal funcionamiento de la célula y, en último término, muerte celular y degeneración del tejido, como se ha podido comprobar en muchas de las enfermedades que se conocen en la actualidad, como el Alzheimer, el síndrome de fatiga crónica y las enfermedades autoinmunes. Incluso en síndromes que también manifiestan discapacidad intelectual, como el de Down y el de Rett, se han documentado recientemente alteraciones del estado oxidativo que se implicarían en la fisiopatología observada en estas enfermedades [32-38].

Por todo esto es importante, desde un punto de vista terapéutico, conseguir una dieta que permita un equilibrio y una biodisposición mucho más adecuada para el organismo de todos los micronutrientes esenciales, que en estos pacientes pueden estar deficientes por un excesivo gasto fisiológico. Se conoce que el estrés continuado provoca deficiencia en antioxidantes, vitaminas y minerales [39,40]. Una dieta rica en estos compuestos, por sus efectos preventivos sobre enfermedades, puede representar un abordaje nutricional como un primer paso terapéutico para cubrir las necesidades específicas de los pacientes con el síndrome y prevenir una posible deficiencia en micronutrientes. El sentido de toda esta intervención será reequilibrar el sistema energético

y de defensa celular, es decir, compensar un desequilibrio provocado por los efectos de las hormonas secretadas durante los procesos de estrés sobre las células del organismo y, principalmente, sobre el tejido nervioso, que interviene en todos los procesos vitales y de aprendizaje. De esta manera se busca intentar un abordaje nutricional con escasos o nulos efectos secundarios para tratar a los pacientes afectados por el retraso mental hereditario más frecuente, el SXF.

CONCLUSIONES

El trabajo de tantos laboratorios y el esfuerzo de muchos profesionales de la investigación mantienen abiertas todas las posibilidades que pueden abordarse para conseguir el objetivo de tratar eficazmente a los pacientes afectados por el SXF.

Los últimos resultados de varios grupos de investigación apoyan esta nueva hipótesis sobre la fisiopatología del síndrome, por la cual se involucra un tejido de origen embrionario neural, como la médula adrenal, y la alteración de los niveles hormonales secretados por la glándula adrenal, que a su vez actuarían sobre distintos ejes hormonales implicados en las manifestaciones observadas en el SXF. Esta nueva hipótesis apunta un nuevo abordaje para explicar la fisiopatología del síndrome, que hasta ahora permanecía sin una explicación concreta.

Como se ha comentado en esta revisión sobre el estado de la investigación terapéutica, es de vital importancia encontrar una terapia o cura para el síndrome. Y resulta igual de importante, e incluso más, detectar a los individuos afectados por el síndrome a edades tempranas porque, en España, aproximadamente el 80% de los individuos afectados están aún por diagnosticar. Está detección temprana permitirá una intervención interdisciplinar. Un modelo propuesto como el más eficaz es la intervención coordinada de los distintos profesionales (fisioterapia, logopedia, integración sensorial, apoyo psicopedagógico, apoyo médico-asistencial y apoyo nutricional), esencial para minimizar los efectos negativos de la falta de la proteína FMRP (causada por una mutación que inhibe la expresión del gen *FMR1*), lo que provoca en los individuos afectados la discapacidad intelectual hereditaria más frecuente que conocemos como síndrome X frágil.

BIBLIOGRAFÍA

- Martin JP, Bell J. A pedigree of mental defect showing sex-linkage. *J Neurol Psychiatry* 1943; 6: 154-7.
- De Diego-Otero Y, Hmadcha A, Carrasco-Mairena M, Pintado-Sanjuán E. Síndrome X frágil y discapacidad mental hereditaria. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo; 1999.
- Li Z, Zhang Y, Ku L, Wilkinson KD, Warren ST, Feng Y. The fragile X mental retardation protein inhibits translation via interacting with mRNA. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 2276-83.
- Lodish A, Berk P, Matsudaira D, Baltimore L, Zipursky SL, Darnell J. *Molecular cell biology*. New York: WH Freeman & Co.; 1995.
- Chiurazzi P, Pomponi MG, Pietrobono R, Bakker CE, Neri G, Oostra BA. Synergistic effect of histone hyperacetylation and DNA demethylation in the reactivation of the *FMR1* gene. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 2317-23.
- Tassone F, Hagerman RJ, Taylor AK, Hagerman PJ. A majority of fragile X males with methylated, full mutation alleles have significant levels of *FMR1* messenger RNA. *J Med Genet* 2001; 38: 453-6.
- Warren S. Advances in molecular studies (abstract). 7th International Fragile X Conference. Los Angeles. July 2000.
- Weiler IJ, Irwin SA, Klintsova AY, Spencer CM, Brazelton, AD, Miyashiro K, et al. Fragile X mental retardation protein is translated near synapses in response to neurotransmitter activation. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 5395-400.
- Gould EL, Loesch DZ, Martin MJ, Hagerman RJ, Armstrong SM, Huggins RM. Melatonin profiles and sleep characteristics in boys with fragile X syndrome: a preliminary study. *Am J Med Genet* 2000 11; 95: 307-15.
- Torrioli MG, Vernacotola S, Mariotti P, Bianchi E, Calvani M, de Gaetano A, et al. Double-blind, placebo-controlled study of L-acetylcarnitine for the treatment of hyperactive behavior in fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 1999; 87: 366-8.
- Dutch-Belgian Fragile X Consortium. *FMR1* knockout mice: a model to study fragile X mental retardation. *Cell* 1994; 78: 23-33.
- Comery TA, Harris JB, Willems PJ, Oostra BA, Irwin SA, Weiler IJ, et al. Abnormal dendritic spines in fragile X knockout mice: maturation and pruning deficits. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 5401-4.
- Fisch GS, Hao HK, Bakker C, Oostra BA. Learning and memory in the *FMR1* knockout mouse. *Am J Med Genet* 1999; 84: 277-82.
- Van Dam D, D'Hooge R, Hauben E, Reyniers E, Gantois I, Bakker CE, et al. Spatial learning, contextual fear conditioning and conditioned emotional response in *FMR1* knockout mice. *Behav Brain Res* 2000; 117: 127-36.
- Peier AM, McIlwain KL, Kenneson A, Warren ST, Paylor R, Nelson DL. (Over)correction of *FMR1* deficiency with YAC transgenics: behavioral and physical features. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1145-59.
- De Diego-Otero, Y, Bakker C, Raghoe P, Hoogeveen A, Oostra B, Willemsen R. Immunocytochemical characterisation of FMRP, FXR1P and FXR2P during embryonic development in the mouse. *Gene Funct and Disease* 2000; 1: 28-37.
- Bakker CE, de Diego-Otero Y, Bontekoe C, Raghoe P, Luteijn T,

- Hoogeveen AT, et al. Immunocytochemical and biochemical characterization of FMRP, FXR1P, and FXR2P in the mouse. *Exp Cell Res* 2000; 258: 162-70.
18. Brown W, Rabe A, Dumas R, Haubenstock H, Dobkins C. *FMR1* knockout mouse shows a strain-specific severe learning impairment: evidence for a role of modifying genes in the fragile X syndrome (abstract). 7th International Fragile X Conference. Los Angeles. July 2000.
 19. Dobkin C, Rabe A, Dumas R, El Idrissi A, Haubenstock H, Brown WT. *FMR1* knockout mouse has a distinctive strain-specific learning impairment. *Neuroscience* 2000; 100: 423-9.
 20. Watanabe Y, Gould E, McEwen BS. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res* 1992; 588: 341-5.
 21. Woolley CS, Gould E, McEwen BS. Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. *Brain Res* 1990; 531: 225-31.
 22. Magarinos AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 14002-8.
 23. Sapolsky RM. Glucocorticoid toxicity in the hippocampus: reversal by supplementation with brain fuels. *J Neurosci* 1986; 6: 2240-4.
 24. De Diego-Otero Y, Bakker C, Severijnen L, Hoogeveen A, Oostra B, Willemsen R. Immunolocalization of the fragile X-related proteins during embryonic development in the mouse (abstract). 7th International Fragile X Conference. Los Angeles. July 2000.
 25. Bisbeck JM, Huffman LC, Freund L, Gunnar MR, Davis EP, Reiss AL. Cortisol and social stressors in children with fragile X: a pilot study. *J Dev Behav Pediatr* 2000; 21: 278-82.
 26. Wilson DP, Carpenter NJ, Berkovitz G. Thyroid function in men with fragile X-linked MR. *Am J Med Genet* 1988; 31: 733-4.
 27. Heinrichs SC, Menzaghi F, Merlo-Pich E, Britton KT, Koob GF. The role of CRF in behavioral aspects of stress. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 771: 92-104.
 28. Ukai M. Influence of stress on learning and memory. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 2000; 20: 93-6.
 29. Bittman BB, Berk LS, Felten DL, Westengard J, Simonton OC, Pappas J, et al. Composite effects of group drumming music therapy on modulation of neuroendocrine-immune parameters in normal subjects. *Altern Ther Health Med* 2001; 7: 38-47.
 30. Petry JJ. Surgery and complementary therapies: a review. *Altern Ther Health Med* 2000; 6: 64-74.
 31. Yardi N. Yoga for control of epilepsy. *Seizure* 2001; 10: 7-12.
 32. Joseph JA, Shukitt-Hale B, Denisova NA, Prior RL, Cao G, Martin A, et al. Long-term dietary strawberry, spinach, or vitamin E supplementation retards the onset of age-related neuronal signal-transduction and cognitive behavioral deficits. *J Neurosci* 1998; 18: 8047-55.
 33. Kidd PM. A review of nutrients and botanicals in the integrative management of cognitive dysfunction. *Altern Med Rev* 1999; 4: 144-61.
 34. Pitchumoni SS, Doraiswamy PM. Current status of antioxidant therapy for Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc* 1998; 46: 1566-72.
 35. Nunomura A, Perry G, Pappolla MA, Friedland RP, Hirai K, Chiba S, et al. Neuronal oxidative stress precedes amyloid-beta deposition in Down syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59: 1011-7.
 36. Ani C, Grantham-McGregor S, Muller D. Nutritional supplementation in Down syndrome: theoretical considerations and current status. *Dev Med Child Neurol* 2000; 42: 207-13.
 37. Iannello RC, Crack PJ, de Haan JB, Kola I. Oxidative stress and neural dysfunction in Down syndrome. *J Neural Transm Suppl* 1999; 57: 257-67.
 38. Haas RH, Light M, Rice M, Barshop BA. Oxidative metabolism in Rett syndrome. I. Clinical studies. *Neuropediatrics* 1995; 26: 90-4.
 39. Joseph JA, Denisova NA, Bielinski D, Fisher DR, Shukitt-Hale B. Oxidative stress protection and vulnerability in aging: putative nutritional implications for intervention. *Mech Ageing Dev* 2000; 116: 141-53.
 40. Benton D, Donohoe RT. The effects of nutrients on mood. *Public Health Nutr* 1999; 2: 403-9.

MODELOS TERAPÉUTICOS EXPERIMENTALES EN EL SÍNDROME X FRÁGIL

Resumen. El síndrome X frágil es la forma más frecuente de discapacidad intelectual de tipo familiar; está causado por una pérdida de función del producto del gen *FMR1*, la proteína *FMRP*. *FMRP* funcionaría como proteína unidora de ARN mensajeros, pero los mecanismos por los que su ausencia conducen a una deficiencia cognitiva todavía permanecen desconocidos. Hoy en día este síndrome no tiene un tratamiento de cura o preventivo específico; el origen genético de este síndrome nos acerca a la idea de un tratamiento por terapia genética como cura para la enfermedad, pero también otras posibilidades siguen en investigación para acercarnos a una terapia, trabajos que se llevan a cabo por muchos laboratorios diferentes. La investigación terapéutica se centra en estudios de biología básica para entender la fisiopatología, así como poner a punto la restitución proteica, la reactivación del gen *FMR1*, la regulación transcripcional, la neuroprotección y la regulación de la actividad neuronal, la intervención nutricional, la regulación de la neurotransmisión, así como la mejora de la sinapsis. Incluso aunque una cura no está puesta a punto para su uso en esta enfermedad, hoy en día, el tratamiento de los síntomas observados en los pacientes se encamina hacia una intervención integrada, donde los distintos tipos de intervenciones se llevan a cabo por un equipo específico especializado y coordinado. Todos estos enfoques nos traen nuevos puntos de vista para el tratamiento del síndrome y abre nuevas ventanas para entender la fisiopatología de esta frecuente enfermedad hereditaria. Hasta que una cura aparezca, el modelo de intervención integrada es la mejor forma para disminuir o evitar las manifestaciones asociadas tan frecuentemente al síndrome X frágil. [*REV NEUROL* 2001; 33 (Supl 1): S70-6]

Palabras clave. Investigación. Modelos animales. Neuroprotección. Síndrome X frágil. Terapia genética. Tratamiento.

MODELOS TERAPÊUTICOS EXPERIMENTAIS NA SÍNDROMA X FRÁGIL

Resumo. A síndrome X frágil é a forma mais frequente de incapacidade intelectual de tipo familiar, sendo causada por uma perda de função do produto do gene *FMR1*, a proteína *FMRP*. A *FMRP* funcionaria como proteína unificadora de RNA mensageiros, contudo os mecanismos cuja ausência conduzem a uma deficiência cognitiva permanecem desconhecidos. Presentemente não existe para esta síndrome uma terapêutica ou uma profilaxia específicas. A sua origem genética sugere-nos uma abordagem genética como terapêutica, no entanto outras hipóteses continuam em estudo em diferentes laboratórios de investigação. A experimentação terapêutica centra-se em estudos de biologia básica para entender a fisiopatologia, assim como para afinar a restituição proteica, a reativação do gene *FMR1*, a regulação transcripcional, a neuroproteção e a regulação da actividade neuronal, a intervenção nutricional, a regulação da neurotransmissão, assim como a melhoria da sinapse. Embora hoje em dia não seja posto em causa um tratamento para esta doença, o tratamento dos sintomas observados nos doentes caminha para uma intervenção integrada, onde os distintos tipos de intervenções são levados a cabo por uma equipa específica especializada e coordenada. Todas estas características trazem-nos novos pontos de vista para o tratamento da síndrome e abrem novas janelas para entendermos a fisiopatologia desta frequente doença hereditária. Até aparecer uma nova cura, o modelo de intervenção integrada é a melhor forma para reduzir ou evitar as manifestações associadas tão frequentemente à síndrome X frágil. [*REV NEUROL* 2001; 33 (Supl 1): S70-6]

Palavras chave. Investigação. Modelos animais. Neuroproteção. Síndrome X frágil. Terapia genética. Tratamento.