Review Article

กลุ่มอาการโครโมโซมเอกซ์เปราะ

นิลภา พฤกษานุศักดิ์[1]
พรพรต ลิ้มประเสริฐ[2*]

Fragile X Syndrome.

Ninlapa Pruksanusak[1], Pornprot Limprasert[2]
[1]Department of Obstetrics and Gynecology, [2]Department of Pathology,
Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110, Thailand.
***E-mail: lpornpro@medicine.psu.ac.th**
Songkla Med J 2012;30(3):153-165

บทคัดย่อ:

กลุ่มอาการโครโมโซมเอกซ์เปราะเป็นภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าซึ่งถ่ายทอดทางพันธุกรรมผ่านโครโมโซมเอกซ์ที่พบบ่อยที่สุด โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่มักเป็นผู้ชาย ความชุกของโรคในเด็กชายไทยที่มีภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าไม่ทราบสาเหตุประมาณร้อยละ 7 อาการทางคลินิกในเด็กผู้ชาย คือ พูดช้า ซนมาก และอยู่ไม่นิ่ง ระดับสติปัญญาต่ำ บางรายมีอาการออทิสติกร่วมด้วย ผู้ป่วยอาจมีใบหน้าแคบยาว หูกางใหญ่ หรืออัณฑะโต โรคนี้เกิดจากความผิดปกติของดีเอ็นเอในส่วนโปรโมเตอร์ของยีน fragile X mental retardation-1 (*FMR1*) คือ มีการซ้ำของนิวคลิโอไทด์ Cytosine-Guanine-Guanine (CGG) มากกว่า 200 ซ้ำ (full mutation) คนปกติมีการซ้ำของ CGG 6-55 ซ้ำ สำหรับผู้หญิงที่มี CGG 56-200 ซ้ำ ถือว่าเป็นพาหะของการผ่าเหล่า (premutation) กล่าวคือ มีโอกาสที่มีบุตรเป็นโรคได้ การถ่ายทอดไปยังบุตรเกิดจากมารดาที่เป็นพาหะของโรค จึงควรให้คำแนะนำปรึกษาทางพันธุกรรมและการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดแก่ครอบครัวผู้ป่วย

คำสำคัญ: กลุ่มอาการโครโมโซมเอกซ์เปราะ, พัฒนาการช้า, พันธุกรรม, ออทิซึม

[1]ภาควิชาสูติศาสตร์และนรีเวชวิทยา [2]ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110
รับต้นฉบับวันที่ 14 มีนาคม 2555 รับลงตีพิมพ์วันที่ 21 มิถุนายน 2555

Abstract:

Fragile X syndrome (FXS) is the most common X-linked mental retardation disorder. Most patients are males. In Thailand, the incidence of FXS in boys with mental retardation or delayed development is approximately 7%. Typical clinical characteristics in affected males include variable degrees of mental retardation, narrow and long face, large and prominent ears, enlarged testicles, hyperactivity, attention deficit, and autistic-like behaviors. It is caused by Cytosine-Guanine-Guanine (CGG) repeat expansion on the promoter region of the fragile X mental retardation-1 (*FMR1*) gene. Normal individuals have CGG repeats ranging from 6 to 55. In carriers, so called premutation, the CGG repeats range from 56 to 200 and expand to be more than 200 repeats for affected patients (designated as full mutation). Women with premutation stage can transmit the FMR1 gene with CGG repeat instability to her children with potential full mutation stage. Prenatal diagnosis and genetic counseling should be given to the family with this genetic disorder.

Key words: autism, delay development, Fragile X syndrome, genetics

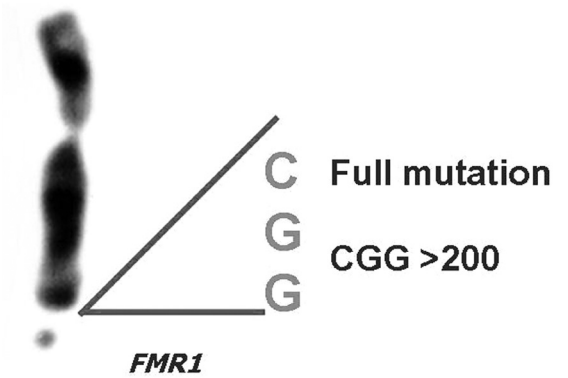
บทนำ

ภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าพบได้ประมาณร้อยละ 1-3 ของประชากร[1,2] มีผลกระทบต่อครอบครัวทั้งทางร่างกายและจิตใจ และมีผลกระทบต่อเศรษฐกิจทั้งระดับครอบครัวและระดับประเทศ ภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น ขาดออกซิเจนขณะคลอด ขาดฮอร์โมนไทรอยด์ ติดเชื้อในสมอง โรคทางพันธุกรรม เป็นต้น กลุ่มอาการโครโมโซมเอกซ์เปราะ หรือ Fragile X syndrome (FXS) เป็นภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมซึ่งพบบ่อยที่สุด โดยมีความชุกประมาณ 1:4,000 ในผู้ชาย และ 1:8,000 ในผู้หญิง[3] ถึงแม้กลุ่มอาการดาวน์จะพบได้บ่อยกว่า (1:700-800)[4] แต่มักไม่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมในญาติพี่น้อง การศึกษาในประเทศไทยพบว่ามีผู้ป่วย FXS ในคนไทยเช่นเดียวกับในรายงานของต่างประเทศ โดยพบความชุกของ FXS ในเด็กชายไทยอายุน้อยกว่าหรือเท่ากับ 15 ปี ที่มีพัฒนาการทางสติปัญญาช้าไม่ทราบสาเหตุ (ร้อยละ 6.8)[5]

รายงานผู้ป่วย FXS ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2486[6] เป็นผู้ชายที่มีพัฒนาการทางสติปัญญาช้าอย่างมาก และมีรายงานต่อเนื่องมาอีกหลายครั้ง จนในปี พ.ศ. 2512[7] ได้รายงานพบความผิดปกติบนโครโมโซมเอกซ์ที่มีรอยคอดตรงส่วนปลายของแขนข้างยาวสัมพันธ์กับภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าที่พบในผู้ป่วยชายครอบครัวเดียวกันทั้งสิ้น 4 ราย และในปี พ.ศ. 2520 Sutherland[8] ได้ค้นพบวิธีเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อให้แสดงจุดเปราะของแท่งโครโมโซมเอกซ์ในผู้ป่วย FXS (รูปที่ 1)

การถ่ายทอดทางพันธุกรรม

FXS เกิดจากการกลายพันธุ์ของยีน fragile X mental retardation-1 (*FMR1*) บนโครโมโซม Xq27.3 เป็นการกลายพันธุ์แบบพลวัต (dynamic mutation) คือ มีการขยายของ Cytosine-Guanine-Guanine $(CGG)_n$ บริเวณส่วน 5' untranslated region (5' UTR) ทำให้มีการซ้ำของ CGG มากกว่า 200 ชุด การซ้ำของ CGG ที่พบสามารถแบ่งได้เป็น 4 แบบ[9] คือ



รูปที่ 1 รูปแสดงจุดเปราะตำแหน่งของยีน *FMR1* เมื่อมีความหลากหลายทางพันธุกรรมแบบ CGG มากกว่า 200 ชุด

1. จำนวนซ้ำของ CGG น้อยกว่า 40 ชุด พบในคนปกติ

2. จำนวนซ้ำของ CGG 41-55 ชุด พบในคนที่ไม่มีอาการ แต่จำนวนซ้ำของ CGG อาจจะขยายเพิ่มจำนวนขึ้นเมื่อมีการถ่ายทอดไปยังบุตรเรียกว่า borderline/intermediate

3. จำนวนซ้ำของ CGG 56-200 ชุด พบในคนที่เป็นพาหะเรียกว่า premutation

4. จำนวนซ้ำของ CGG มากกว่า 200 ชุด พบในคนที่เป็นโรค FXS (full mutation)

คนเป็นโรคจะได้รับยีนผิดปกติมาจากมารดาเท่านั้น ไม่มีรายงานว่าบุตรสาวของผู้ชายที่เป็นพาหะแสดงอาการของโรคนี้ แต่สามารถถ่ายทอดแอลลีลที่เป็นชนิด premutation ผ่านบุตรสาวแล้วเปลี่ยนเป็นแบบ full mutation ในหลานและทำให้หลานเป็นโรคได้ทั้งชายและหญิง[10] การขยายเพิ่มจำนวนซ้ำของ CGG เกิดขึ้นเฉพาะในช่วงการแบ่งตัวแบบไมโอซิสของเซลล์ไข่มารดา ดังนั้นเมื่อมีการถ่ายทอดแอลลีลที่เป็นชนิด premutation จากมารดาที่เป็นพาหะสู่บุตร แอลลีลเหล่านี้มีการเพิ่มจำนวนซ้ำของ CGG ทำให้บุตรมี CGG ซ้ำกันมากกว่า 200 ชุด และเกิดโรคขึ้นในบุตร[11] 1 ใน 3 ของผู้หญิงที่เป็นเฮเทอโรไซกัสของแอลลีลที่มี CGG ซ้ำกันมากกว่า 200 ชุด (heterozygote) มีพัฒนาการทางสติปัญญาช้าได้[12] แต่ระดับความรุนแรงจะน้อยกว่าผู้ชายที่เป็นโรค เพราะมีโครโมโซมเพศหญิง 2 แท่ง และเกิด X-inactivation แบบสุ่ม[13] นอกจากนี้โอกาสเสี่ยงของการเพิ่มจำนวนซ้ำของ CGG จากชนิด premutation จนกลายเป็นโรคจะขึ้นอยู่กับจำนวนชุด CGG เริ่มต้นด้วย (ตารางที่ 1) มีรายงานน้อยมากที่พบการถ่ายทอดแอลลีลชนิด premutation จากมารดาที่เป็นพาหะสู่บุตรแบบลดจำนวนซ้ำของ CGG ลงสู่ช่วงของคนปกติ แต่พบว่า 1 ใน 3 ของบุตรสาวที่บิดามีแอลลีลชนิด premutation จะมีการถ่ายทอดแอลลีลแบบลดลงของจำนวนซ้ำเกิดขึ้นได้[14,15]

ในคนปกติมี Adenosine-Guanine-Guanine (AGG) แทรกอยู่ระหว่าง CGG ทุก 9-10 ชุด ของ CGG ซึ่งเชื่อว่า AGG ที่แทรกอยู่นี้จะทำให้บริเวณที่มีจำนวนซ้ำของ CGG มีความเสถียร ดังนั้น หากมีจำนวน AGG ที่น้อยกว่าปกติอาจทำให้ตำแหน่งนี้ไม่เสถียรและมีการเพิ่มจำนวนซ้ำของ CGG ได้เมื่อมีการแบ่งตัวของเซลล์เกิดขึ้น[16]

ตารางที่ 1 แสดงความเสี่ยงของการที่พบ CGG เปลี่ยนเป็นมากกว่า 200 ชุด ในมารดาที่เป็นพาหะของแอลลีลชนิด premutation ขนาดต่างๆ[14]

จำนวนชุด CGG ในมารดา	ร้อยละที่พบ CGG เปลี่ยนเป็นมากกว่า 200 ชุด
56-59	13.4
60-69	20.6
70-79	57.8
80-89	72.9
90-199	97.3

Ribonucleic acid (RNA) และ Fragile X mental retardation protein (FMRP)

ยีน *FMR1* ในคนปกติจะถูกถอดรหัสพันธุกรรมและสร้างโปรตีนที่จำเพาะ คือ FMRP แต่คนเป็นโรคจะมีการเติมหมู่เมทิล (methyl group) มากกว่าปกติที่คู่เบสไซโตซีน (cytosine) บริเวณโปรโมเตอร์ CpG Island ผลจากการเติมหมู่เมทิลที่มากกว่าปกติ จะทำให้ยีน *FMR1* ไม่ทำงานและไม่มีการสร้าง FMRP ในคนเป็นโรค[17] ในคนที่มีแอลลีลชนิด premutation จะมีการเพิ่ม messenger ribonucleic acid (mRNA) มากกว่าปกติ 2-8 เท่า แต่ปริมาณการสร้าง FMRP น้อยกว่าหรือเท่ากับปกติ ซึ่ง mRNA ที่เพิ่มมากขึ้นอาจรบกวนการทำงานของเซลล์ประสาท ทำให้เกิดกลุ่มอาการที่เรียกว่า fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) โดยพบได้บ่อยในผู้ชาย ซึ่งอธิบายโดยทฤษฎี RNA-mediated neurodegenerative disorder[18] (ตารางที่ 2)

คนปกติจะพบ FMRP เป็นจำนวนมากที่สมองและอัณฑะ นอกจากนั้นยังพบได้ที่รังไข่ ต่อมไทมัส ตา ม้าม และเยื่อบุผิวของหลอดอาหาร บริเวณที่ไม่มี FMRP คือ หัวใจ หลอดเลือดแดงเอออร์ตา และกล้ามเนื้อ บริเวณสมองจะมี FMRP เฉพาะที่เซลล์ประสาท โดยเฉพาะสมองส่วนฮิปโปแคมปัสและสมองน้อย (cerebellum)[19,20] ปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่ชัดเจนของ FMRP แต่เชื่อว่ามีบทบาทในการพัฒนาของสมองมนุษย์ทั้งระยะก่อนและหลังคลอด ในรายที่มีระดับของ FMRP ต่ำ จะมีความสัมพันธ์กับการแสดงออกของโรคที่รุนแรง การศึกษาในระดับอณูพันธุศาสตร์ถึงบทบาทการทำงานของ FMRP ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเซลล์สมองสรุปได้ดังนี้

1. FMRP มีบทบาทในการติดต่อระหว่างเซลล์ประสาท (synaptic plasticity) โดยควบคุมการขนส่งและยับยั้งการสร้างโพลิเปปไทด์ของ mRNA ที่ใช้ติดต่อระหว่างเซลล์ประสาท

2. FMRP มีบทบาทกำหนดหน้าที่ของเซลล์โดยควบคุมความเสถียรของ mRNA

3. FMRP มีบทบาทในการพัฒนาใยประสาทนำเข้า (dendritic development) โดยพบว่าผู้ป่วย FXS จะมีลักษณะของเซลล์ประสาทส่วนนี้ผิดปกติ ซึ่งสนับสนุนทฤษฎีที่ FMRP มีบทบาทในการติดต่อระหว่างเซลล์ประสาทดังกล่าวข้างต้น[21]

ปัจจุบันกำลังมีการศึกษาเรื่องการใช้ยากลุ่ม mGluR5 antagonist และกลุ่ม $GABA_A$ R agonist ในกลุ่มผู้ป่วย FXS โดยพัฒนามาจากทฤษฎีของ FMRP ข้างต้น เพื่อช่วยควบคุมหรือบรรเทาอาการของผู้ป่วยกลุ่มนี้[21]

ตารางที่ 2 การทำงานของยีน *FMR1* ในคนปกติ คนที่เป็นพาหะของแอลลีลชนิด premutation และคนเป็นโรค FXS[18]

	คนปกติ	คนที่เป็นพาหะ	คนเป็นโรค
ยีน *FMR1*	$(CGG)_{n<55}$	$(CGG)_{55<n<200}$	$(CGG)_{n>200}$
ปริมาณ mRNA	ปกติ	มากกว่าปกติ	ไม่มี
ปริมาณ FMRP	ปกติ	น้อยกว่าปกติ	ไม่มี
อาการแสดง	ปกติ	FXTAS Primary ovarian insufficiency	FXS

ความผิดปกติของยีน *FMR1* นอกจากทำให้เกิดภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าในคนเป็นโรค FXS โดยผ่านกลไกที่มีผลต่อการทำงานของ mRNA นอกจากนี้ยังพบว่าคนที่เป็นพาหะของแอลลีลชนิด premutation มีการสร้าง mRNA มากกว่าปกติ (ตารางที่ 2) จะมีผลทำให้เกิด FXTAS โดยมีหลักฐานเชื่อว่า mRNA ที่มากกว่าปกตินั้นจะเป็นพิษต่อการทำงานของเซลล์ประสาทคือ[18]

1. ในสัตว์ทดลองที่มีจำนวนซ้ำของ CGG ชนิด premutation จะมีรอยโรคเกิดขึ้นในนิวเคลียสของเซลล์สมอง (intranuclear inclusion) ซึ่งสัมพันธ์กับลักษณะที่พบและการแสดงอาการทางระบบประสาทในมนุษย์

2. ในมนุษย์พบว่าอาการ FXTAS ที่เริ่มเป็นและความรุนแรงของโรคจะสัมพันธ์กับจำนวนซ้ำของ CGG และจำนวนของ intranuclear inclusion

3. มีการสร้าง intranuclear inclusion ในเซลล์ประสาทที่มีจำนวนซ้ำของ CGG อยู่ในช่วง premutation

4. ตำแหน่ง 5'UTR ของ mRNA ที่มีจำนวนซ้ำของ CGG ที่อยู่ในช่วง premutation จะมีโปรตีนอยู่ 3 ชนิด มาทำปฏิกิริยา มีผลให้เมแทบอลิซึม (metabolism) ของ mRNA ผิดปกติและเกิดเซลล์ประสาทตาย

โดยสรุปความผิดปกติของยีน *FMR1* จะทำให้ไม่มีการสร้างโปรตีน FMRP ซึ่งทำให้เกิดภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าในคนเป็นโรค และการถอดรหัสเป็น mRNA ที่มากกว่าปกติ ทำให้เกิดกลุ่มอาการ FXTAS ในคนที่เป็นพาหะของแอลลีลชนิด premutation

ลักษณะทางคลินิก

คนเป็นโรค (full mutation)

ผู้ชาย มีลักษณะทางคลินิกหลากหลายทั้งด้านพฤติกรรม ระดับสติปัญญา และลักษณะภายนอก โดยเฉพาะใบหน้าจะเห็นชัดเจนเมื่ออายุมากขึ้น[22] แบ่งลักษณะการแสดงออกทางคลินิกเป็นกลุ่มได้ดังนี้

1. *พฤติกรรม* มีลักษณะคล้ายโรคออทิซึม เช่น สมาธิสั้นและซนอยู่ไม่นิ่ง (attention-deficit/hyper-activity) กลัวการถูกสัมผัสตัวหรือจับต้อง (tactile defensiveness) พูดคำหรือวลีซ้ำๆ (perseverative speech) พูดเลียนแบบคำพูดของผู้อื่น (echolalia) กลัวการเข้าสังคมและหลีกเลี่ยงการสบตา[23]

2. *ระดับสติปัญญา* มีภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าระดับปานกลางถึงรุนแรง แต่จะมีความจำที่ดีในเรื่องรูปภาพและรูปแบบการมองเห็น ซึ่งจะช่วยเรียนรู้และรู้จักตัวหนังสือและคำ ไม่เข้าใจความคิดรวบยอด (abstract ideas) และการจัดการกับปัญหา (problem-solving)

3. *ชัก* ผู้ป่วยประมาณร้อยละ 10-20 จะมีชักเกิดขึ้น มักจะควบคุมได้ด้วยยาและอาการมักหายไปเองเมื่อเข้าสู่วัยเด็ก[24] แต่ในผู้ป่วยหญิงมักไม่พบอาการนี้

4. *รูปลักษณ์ภายนอก* เด็กแรกคลอดมักไม่มีลักษณะภายนอกที่จำเพาะให้เห็นชัดเจน

ในเด็กชายอาจมีผิวหนังที่อ่อนนุ่มเหมือนกำมะหยี่ หน้าผากกว้าง ศีรษะค่อนข้างโตกว่าเด็กวัยเดียวกันเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่วัยรุ่น ลักษณะภายนอกที่จำเพาะจะเห็นได้ชัดเจนขึ้นคือ รูปหน้าที่ยาว กรามยื่นออก ใบหูใหญ่ ศีรษะโต อัณฑะมีขนาดใหญ่ ข้อต่อของร่างกายมีความยืดหยุ่นมากกว่าปกติ อาจพบ mitral valve prolapse[13]

ผู้หญิง จะมีอาการและความผิดปกติน้อยกว่าผู้ชายที่เป็นโรค ทั้งนี้เพราะมีโครโมโซมเพศหญิง 2 แท่ง ซึ่งมี X-inactivation แบบสุ่ม[13] ผู้ป่วยอาจมีพฤติกรรมที่คล้ายโรคออทิซึมได้ อาจมีความบกพร่องในเรื่องการเรียนรู้[25] ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับพฤติกรรมที่เป็น เช่น อยู่ไม่นิ่ง (hyperactivity) ประมาณร้อยละ 50 จะมีระดับสติปัญญาอยู่ในช่วงก้ำกึ่งหรือช้า[26] อีกร้อยละ 50 มีระดับสติปัญญาอยู่ในเกณฑ์ปกติ แต่ในปัจจุบันยังไม่มีวิธีที่สามารถทำนายความรุนแรงและการพยากรณ์โรคในผู้หญิงที่มีแอลลีลชนิด full mutation ได้อย่างแม่นยำ

คนที่เป็นพาหะ (premutation)

ส่วนใหญ่คนที่เป็นพาหะของแอลลีลชนิด pre-mutation มักไม่มีอาการแสดงทางคลินิก แต่อาจมีอาการได้ประมาณร้อยละ 20-30 โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ

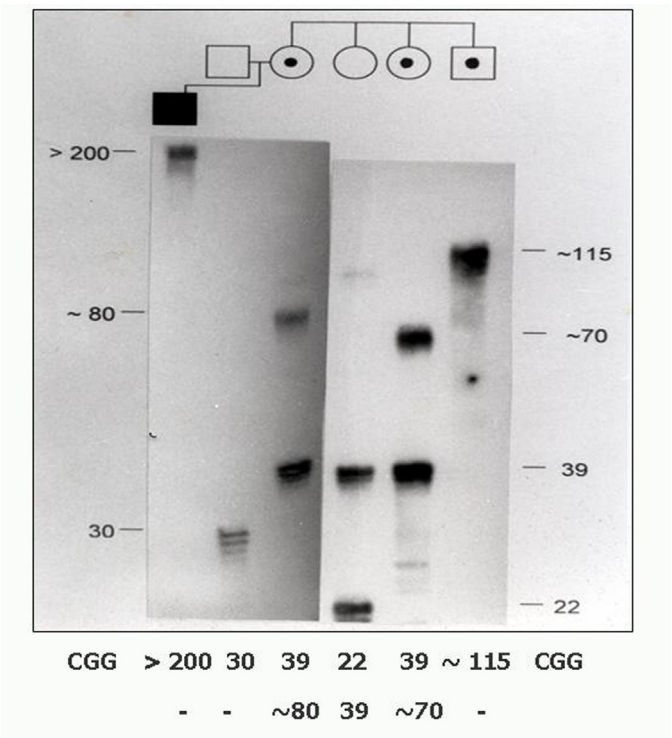
1. ภาวะรังไข่หยุดทำงานก่อนวัย (premature ovarian failure; POF) พบว่าผู้หญิงที่เป็นพาหะจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการมี POF หรือหมดประจำเดือนก่อนอายุ 40 ปี พบประมาณร้อยละ 20 ของคนที่เป็นพาหะ[27]

2. กลุ่มอาการสั่นและเดินเซ (fragile X-associated tremor/ataxia syndrome; FXTAS) พบว่า ในผู้ชายที่เป็นพาหะและมีอายุมากกว่า 50 ปี จะมีความเสี่ยงต่อการเกิด FXTAS การแสดงออกของอาการจะสัมพันธ์กับอายุ คือ พบมีอาการร้อยละ 17 ในผู้ชายที่เป็นพาหะที่อายุ 50-59 ปี ร้อยละ 38 ที่อายุ 60-69 ปี ร้อยละ 47 ที่อายุ 70-79 ปี และร้อยละ 75 ที่อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 80 ปี[28] มีรายงานพบกลุ่มอาการ FXTAS ในผู้หญิงที่เป็นพาหะเช่นกัน แต่มีความรุนแรงน้อยกว่าและพบไม่บ่อยเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ชายที่เป็นพาหะ[29]

3. ระดับสติปัญญาและการเรียนรู้ ไม่มีรายงานความผิดปกติของระดับสติปัญญาและการเรียนรู้

คนที่มี CGG ในยีน *FMR1* อยู่ในช่วงที่ไม่ชัดเจน (borderline/intermediate)

ไม่พบหลักฐานว่าในคนกลุ่มนี้จะมีความผิดปกติในเรื่องการเรียน พฤติกรรม และระดับสติปัญญา[31] ถึงแม้ว่ามีรายงานในผู้หญิงที่มีจำนวนซ้ำของ CGG อยู่ที่



หมายเหตุ สี่เหลี่ยม = ผู้ชาย วงกลม = ผู้หญิง

รูปที่ 2 ผลการตรวจ PCR แบบตรวจจำนวนซ้ำของ CGG ในครอบครัวกลุ่มอาการโครโมโซมเอกซ์เปราะ คนเป็นโรคแสดงด้วยสีดำ คนเป็นพาหะแสดงด้วยจุดตรงกลาง คนปกติแสดงโดยไม่มีสี ตัวเลขด้านล่างแสดงจำนวน CGG ของแต่ละแอลลีลของยีน *FMR1* บนโครโมโซมเอกซ์ (ผู้ชายมีโครโมโซมเอกซ์ 1 แท่ง จึงมี CGG เพียง 1 แอลลีล)

41-58 ชุด มีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะรังไข่หยุดทำงานก่อนวัยอันควรมากกว่าคนปกติ โดยมี odds ratio เท่ากับ 2.5 แต่มีรายงานขัดแย้งจากการศึกษาอีกกลุ่มหนึ่งพบว่าผู้หญิงที่จำนวนซ้ำของ CGG 35-58 ชุด ไม่มีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะรังไข่หยุดทำงานก่อนวัย[30] ดังนั้นผู้หญิงที่มี CGG ในยีน *FMR1* อยู่ในช่วงที่ไม่ชัดเจนจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะรังไข่หยุดทำงานก่อนวัยหรือไม่ ต้องรอผลการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

การวินิจฉัย

การวินิจฉัยกลุ่มอาการโครโมโซมเอกซ์เปราะใช้การตรวจทางอณูพันธุศาสตร์ เพื่อหาจำนวนซ้ำของ CGG และความผิดปกติของ methylation โดย 3 วิธีหลัก คือ

1. การตรวจโดยใช้วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอหรือการทำ Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อหาจำนวนซ้ำของ CGG (รูปที่ 2) การตรวจหาจำนวนซ้ำของ CGG สามารถใช้ Fluorescent PCR ได้ โดยใช้ไพร์เมอร์ติดสารเรืองแสงใช้ในการทำ PCR และใช้ capillary electrophoresis โดยมีการประมวลด้วยคอมพิวเตอร์ (รูปที่ 3) แต่วิธีนี้มีราคาแพง เพราะต้องใช้เครื่องมือเฉพาะ

2. การตรวจ methylation โดยใช้ Southern blot analysis เป็นการตรวจที่ใช้วินิจฉัยคนที่เป็นโรคหรือพาหะของการผ่าเหล่าบางราย ซึ่งต้องตรวจ methylation โดยการตัดด้วยเอนไซม์ 2 ชนิดคือ *Eco*RI และ *Eag*I โดยที่ *Eag*I ไม่ตัดสารพันธุกรรมบนโครโมโซมที่อยู่ในภาวะ inactivation ผู้หญิงปกติมีโครโมโซมเอกซ์ 2 แท่ง แท่งหนึ่งถูก inactivated แต่อีกแท่งไม่ถูก inactivated ซึ่งเกิดแบบสุ่ม (random) *Eag*I จึงตัดสายดีเอ็นเอได้ขนาดเป็น 2 แบบคือ ขนาด 2.8 กิโลเบส (ขนาดระหว่าง *Eag*I และ *Eco*RI ที่ตรวจจับได้ด้วยโพรบ) และขนาด 5.2 กิโลเบส (ขนาดระหว่าง *Eco*RI ทั้งสองตำแหน่งที่ตรวจจับได้ด้วยโพรบ) ในผู้ชายที่เป็นโรคมีโครโมโซมเอกซ์ 1 แท่ง ที่โปรโมเตอร์ของยีน *FMR1* มีจำนวน CGG มากกว่า 200 ชุด และบริเวณดังกล่าวถูก inactive โดย methylation การตรวจโดยวิธีนี้ จึงได้ขนาดมากกว่า 5.2 กิโลเบส เพราะจำนวนซ้ำที่เพิ่มขึ้นมาทำให้ขนาดของท่อนดีเอ็นเอใหญ่กว่าปกติ ซึ่งการตรวจวิธีนี้ต้องใช้ดีเอ็นเอจำนวนมาก (~10 ไมโครกรัม) ใช้เวลานานประมาณ 5 วัน และราคาแพง (รูปที่ 4)

3. การตรวจแบบ methylation specific PCR ซึ่งสามารถตรวจ methylation ได้ โดยใช้ปริมาณดีเอ็นเอน้อยลงและลดระยะเวลาในการตรวจ[32-34] แต่การตรวจด้วยวิธีนี้มีข้อจำกัดในการตรวจผู้หญิง เพราะไม่สามารถแยก full mutation ออกจาก premutation ได้[33]

การตรวจโดยการทำ PCR มีข้อดี คือ ใช้ปริมาณดีเอ็นเอที่น้อยกว่า มีความไวในการตรวจแยกคนปกติกับคนที่เป็นพาหะได้ชัดเจนและราคาถูกกว่า แต่มีข้อจำกัดในการที่จะตรวจคนที่เป็นโรค ทั้งนี้เพราะการทำ PCR สามารถเพิ่มปริมาณของส่วนดีเอ็นเอได้เพียงส่วนสั้นๆ เท่านั้น การตรวจ methylation โดยใช้ southern blot analysis จึงเป็นการตรวจมาตรฐาน (gold standard) ของการวินิจฉัย FXS

การตรวจคัดกรองในกลุ่มประชากร

ปัจจุบันยังไม่แนะนำให้มีการตรวจคัดกรองหาความผิดปกติของยีน *FMR1* ในประชากรทั่วไป ยกเว้นเพื่อการศึกษาในงานวิจัย แต่ได้มีคำแนะนำให้ตรวจความผิดปกติของยีน *FMR1* ในกลุ่มที่มีความเสี่ยง โดยเป็นคำแนะนำของ American College of Medical Genetics (ACMG)[35] และ American College of Obstetrics and Gynecology (ACOG) ดังนี้[36]

บุคคลที่ควรได้รับการตรวจ FXS ที่แนะนำโดย American College of Medical Genetics ได้แก่

1. มีภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้า หรือออทิซึม โดยเฉพาะมีลักษณะทางกายภาพหรือพฤติกรรมของ FXS หรือมีประวัติครอบครัวเป็น FXS หรือภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าไม่ทราบสาเหตุ

2. ครอบครัวมารับการปรึกษาเรื่องการเจริญพันธุ์ร่วมกับมีประวัติครอบครัวเป็น FXS หรือภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าไม่ทราบสาเหตุ

3. ทารกในครรภ์ที่มีมารดาเป็นพาหะ

4. ผู้ป่วยที่เคยได้รับการตรวจโครโมโซม พบจุดเปราะแต่ยังไม่เคยตรวจดีเอ็นเอ

5. ผู้หญิงมีระดับฮอร์โมน follicle-stimulating hormone (FSH) สูง โดยเฉพาะมีประวัติครอบครัวเป็น FXS หรือมีภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าไม่ทราบสาเหตุ หรือภาวะรังไข่หยุดทำงานก่อนวัย

6. ผู้ป่วยมีอาการสั่นหรือเดินเซ โดยเฉพาะมีประวัติครอบครัวเป็น FXS หรือภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าไม่ทราบสาเหตุ หรือเรื่องการเคลื่อนไหวที่ผิดปกติ

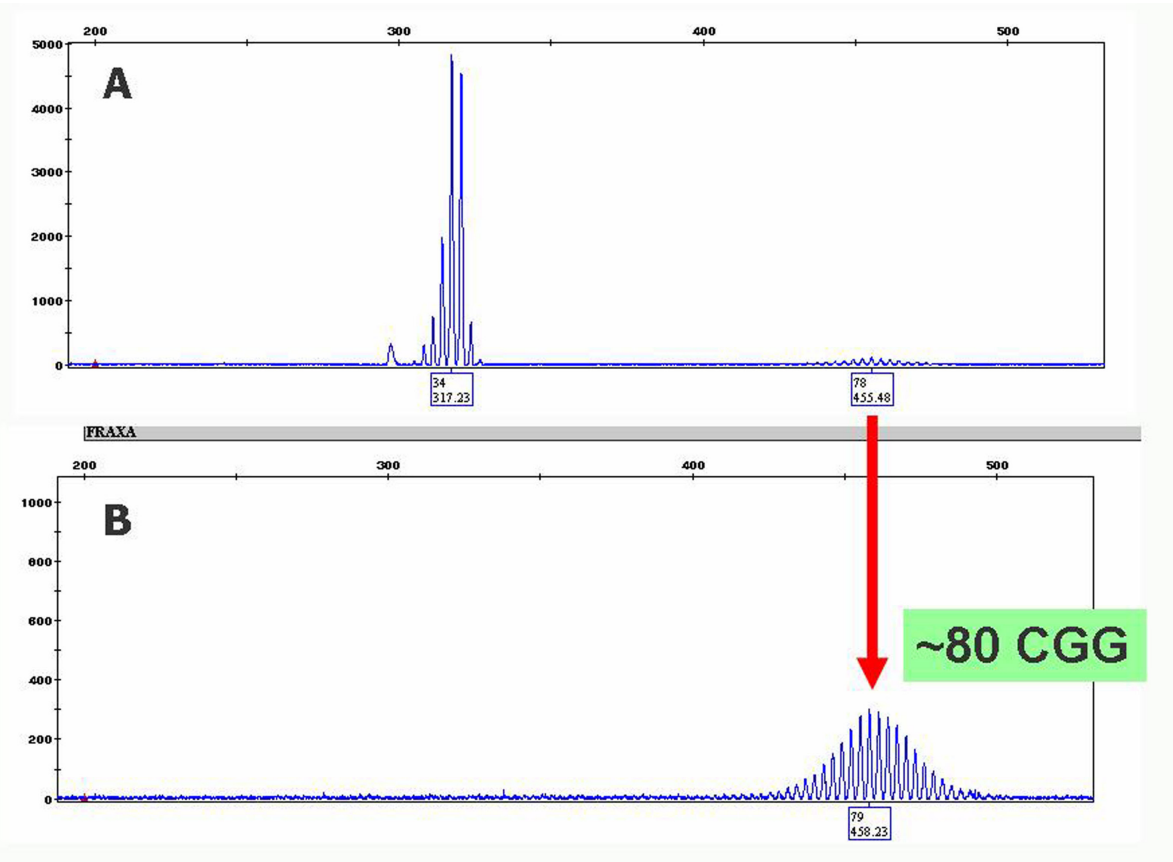
บุคคลที่ควรได้รับการตรวจ FXS ที่แนะนำโดย American College of Obstetrics and Gynecology ได้แก่

1. มีประวัติครอบครัวเป็นภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าหรือ FXS

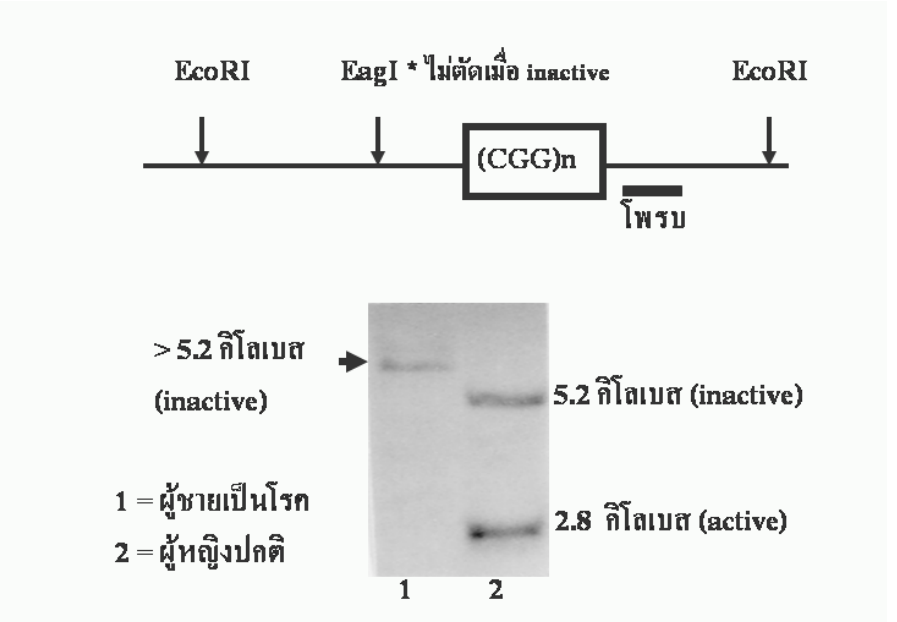
2. ทารกในครรภ์ที่มีมารดาเป็นพาหะ

3. มีพัฒนาการช้าไม่ทราบสาเหตุ หรือออทิซึม

4. ผู้หญิงที่รังไข่หยุดการทำงานก่อนวัยหรือระดับฮอร์โมน FSH สูงก่อนอายุ 40 ปี โดยไม่ทราบสาเหตุ



รูปที่ 3 A. ผลการตรวจ PCR แบบตรวจจำนวนซ้ำของ CGG โดยใช้ Fluorescent PCR แสดงภาวะพาหะ (premutation) ในผู้หญิง มีจำนวนซ้ำ CGG 34 และ ~80 ชุด B. รูปขยายจาก A บริเวณ CGG ~80 ชุด



รูปที่ 4 ผล southern blot ใช้การตัดด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด (*Eco*RI และ *Eag*I) ในการตรวจยีน *FMR1* ของกลุ่มอาการโครโมโซมเอกซ์เปราะ ผู้ชายที่เป็นโรคได้แถบขนาดมากกว่า 5.2 กิโลเบส แบบ inactive (แถวที่ 1) ผู้หญิงปกติได้แถบ 2.8 และ 5.2 กิโลเบส เพราะมีโครโมโซมเอกซ์ 2 แท่ง แบบ active และ inactive (แถวที่ 2)

การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด

วัตถุประสงค์ของการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด คือ เพื่อตรวจทารกในครรภ์ว่าเป็นโรคหรือไม่ ปัจจุบันแนะนำให้ตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอดในกรณีที่มารดาเป็นพาหะของแอลลีลชนิด premutation หรือมารดามีแอลลีลที่เป็นโรคอยู่ ในมารดาที่มีแอลลีลอยู่ในช่วงที่ไม่ชัดเจน (borderline/intermediate) ไม่มีข้อบ่งชี้ที่จะทำการตรวจวินิจฉัยทารกในครรภ์ก่อนคลอด เพราะไม่มีรายงานว่าในมารดากลุ่มนี้จะมีการถ่ายทอดแอลลีลที่ผิดปกติไปยังบุตรและทำให้เกิดโรคในบุตรได้[37]

ในผู้ชายที่มีแอลลีลในช่วงที่เป็น premutation มีความเสี่ยงน้อยมากที่จะมีการเพิ่มจำนวนซ้ำของ CGG ส่งผ่านไปยังบุตร มีรายงานผู้ชายที่เป็น premutation เพียง 1 รายเท่านั้น ที่พบว่ามีบุตรสาวเป็น full mutation[38] ดังนั้นการแนะนำให้ตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดในกรณีที่มีบิดาเป็น premutation จึงยังไม่เป็นที่แนะนำเหมือนเช่นกรณีที่มารดาเป็น premutation หรือเป็น full mutation แต่ต้องให้คำแนะนำว่าผู้ชายที่เป็น premutation นั้นจะมีการถ่ายทอดยีนที่เป็น premutation ไปยังบุตรสาวได้ บุตรสาวก็จะเป็น premutation และสามารถถ่ายทอดต่อไปยังรุ่นหลานจนอาจเกิดเป็นโรค FXS ได้

การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดจะต้องตรวจสารพันธุกรรมในระดับอณูพันธุศาสตร์ การให้ได้มาซึ่งสารพันธุกรรมของทารกในครรภ์นั้นมีได้หลายวิธีขึ้นกับอายุครรภ์เมื่อมาพบแพทย์และข้อจำกัดในแต่ละวิธี

การตรวจวินิจฉัยพันธุกรรมก่อนการฝังตัวของตัวอ่อนทารก (preimplantation genetic diagnosis; PGD)

ในอดีตการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอดในคนที่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคนั้นจะได้รับการตรวจเมื่อตั้งครรภ์แล้ว ซึ่งเมื่อตรวจพบว่าทารกในครรภ์เป็นโรคก็อาจเลือกยุติการตั้งครรภ์ ซึ่งส่งผลกระทบต่อทางด้านจิตใจของทั้งบิดาและมารดา รวมถึงอาจมีภาวะแทรกซ้อนและผลกระทบต่อร่างกายของมารดาด้วย ในบางศาสนาหรือความเชื่อก็ไม่สามารถที่จะทำการยุติการตั้งครรภ์ได้ จึงได้เริ่มมีการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยก่อนการฝังตัวของตัวอ่อนทารก โดยทำการดูดเอาเซลล์จากตัวอ่อนที่ประมาณวันที่ 3 หลังการปฏิสนธิมาประมาณ 1-2 เซลล์ แล้วแต่จำนวนเซลล์ของตัวอ่อนในขณะนั้นว่ามีน้อยกว่าหรือมากกว่า 6 เซลล์[39] นำเซลล์มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี multiplex nested PCR และนำมาตรวจหาจำนวนซ้ำของ CGG วิธีการให้ได้ตัวอ่อนทารกทำโดยผู้หญิงที่เป็นพาหะจะต้องได้รับการกระตุ้นรังไข่ เก็บไข่และนำมาปฏิสนธิจนได้เป็นตัวอ่อนทารกในหลอดทดลองภายนอกร่างกาย (*In Vitro* Fertilization; IVF) และเลี้ยงจนได้จำนวนเซลล์มากพอที่จะนำไปตรวจ ซึ่งการตรวจ PGD ในกรณีโรค FXS ในปัจจุบันยังมีข้อจำกัดที่สำคัญ 2 ประการ ซึ่งยังต้องศึกษาวิจัยเพิ่มเติมคือ

1. ในผู้หญิงที่เป็นพาหะของโรคจะมีรายงานเรื่องภาวะรังไข่หยุดทำงานก่อนวัย โดยพบประมาณร้อยละ 20 ดังกล่าวข้างต้น และกระบวนการของการกระตุ้นรังไข่จะมีการตอบสนองของรังไข่ต่อการกระตุ้นค่อนข้างต่ำ จนต้องยกเลิกการทำไปและไม่สามารถทำ PGD ได้ โดยพบประมาณร้อยละ 22[39,40]

2. ปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากเซลล์ของตัวอ่อน 1 เซลล์ จะมีปริมาณจำกัด จึงไม่สามารถเอามาทำการวิเคราะห์แบบ southern blot ได้ และตรวจไม่พบ methylation ของยีนในเซลล์ของตัวอ่อนทารกระยะนี้ ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยแบบนี้จึงมักทำได้กรณีที่จำนวนซ้ำของ CGG มีขนาดไม่มาก ส่วนใหญ่จะซ้ำไม่เกิน 75 ชุด[40]

การเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อรกของทารกในครรภ์ (chorionic villus sampling; CVS)

การทำ CVS จะทำในช่วงอายุครรภ์ 10-13 สัปดาห์ ซึ่งทำได้ 2 ทาง คือ ทำผ่านทางหน้าท้องและผ่านทางปากมดลูก การจะเลือกทำทางใดนั้นขึ้นกับหลายปัจจัย ได้แก่ อายุครรภ์ที่มาพบ ตำแหน่งของรกที่เกาะ และความชำนาญของแพทย์ผู้ตรวจ การทำ CVS จะต้องได้ปริมาณดีเอ็นเอที่มากพออย่างน้อย 10 ไมโครกรัม เพื่อจะได้เพียงพอในการตรวจวิเคราะห์แบบ southern blot เพื่อวินิจฉัยทารกในครรภ์ที่เป็นโรค แต่ข้อจำกัดของการตรวจ CVS คือ การตรวจหา methylation ของยีนที่เป็นตัวบอกว่ายีนสามารถทำหน้าที่ได้หรือไม่ ซึ่งมีความสำคัญในการที่จะแยกระหว่างจำนวนซ้ำของ CGG ที่มีขนาดใหญ่กับคนที่เป็นโรคที่มีจำนวนซ้ำไม่ต่างกันมากนัก กล่าวคือ ในช่วงอายุครรภ์ประมาณ 10 สัปดาห์ พบว่าในเซลล์เนื้อเยื่อรกของทารกในครรภ์ที่เป็นโรคจะสร้าง FMRP ได้ตามปกติ แปลว่ายีนยังไม่ถูก hypermethylation และที่อายุครรภ์ประมาณ 12.5 สัปดาห์ เซลล์เนื้อเยื่อรกของทารกในครรภ์ที่เป็นโรคจึงจะไม่มีการสร้าง FMRP อีก[41] และพบว่าในทารกที่เป็นโรค (มีจำนวนซ้ำของ CGG ที่มากกว่า 200 ชุด และมีภาวะ hypermethylation ของยีน) ก็ตรวจไม่พบว่ามี hypermethylation ของยีนบนเซลล์เนื้อเยื่อรก แต่กลับพบมี hypermethylation ของยีนที่ตัวทารก[42] กรณีที่ทารกในครรภ์เป็นเพศหญิง ซึ่งมีโครโมโซมเอกซ์อยู่สองแท่งและมีแท่งหนึ่งที่มีแอลลีลที่เป็นโรคนั้น จะไม่สามารถทำนายได้เลยว่าทารกเพศหญิงนั้นจะมีภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าหรือไม่ หรือยีน *FMR1* จะมีการทำงานหรือไม่ ทั้งนี้เพราะพบว่าในเซลล์เนื้อเยื่อรกของทารกเพศหญิงที่มีแอลลีลที่เป็นโรคอยู่ 1 แท่ง นั้น จะมีความหลากหลายของการแสดงออกของยีนในแต่ละกลุ่มของเนื้อเยื่อรกกล่าวคือ สามารถพบทั้งเซลล์ที่มีการสร้าง FMRP เป็นปกติและเซลล์ที่ไม่มีการสร้าง FMRP เลย ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎีของ X-inactivation ที่เป็นแบบสุ่ม ทำให้ทราบว่าการเกิด X-inactivation นั้นจะเกิดตั้งแต่ช่วงแรกสุดของการ

พัฒนาของตัวอ่อนและเกิดก่อนการ hypermethylation ของยีน *FMR1*[41] ข้อดีของการวินิจฉัยโดย CVS คือ การได้ทราบผลที่เร็วขึ้นและหากจะยุติการตั้งครรภ์ก็จะทำได้ที่อายุครรภ์ไม่มากและมีผลแทรกซ้อนน้อย

การเจาะน้ำคร่ำตรวจเซลล์ของทารกในครรภ์ (Amniocentesis)

การเจาะน้ำคร่ำจะตรวจที่อายุครรภ์ประมาณ 14-20 สัปดาห์ จะทำการตรวจวินิจฉัยเช่นเดียวกับที่ทำได้ในผู้ใหญ่ทุกประการ แต่ข้อเสียเมื่อเปรียบเทียบกับการทำ CVS คือ จะได้ผลช้ากว่า ทำให้การตั้งครรภ์ดำเนินล่วงเลยไปมากขึ้นและหากต้องทำการยุติการตั้งครรภ์ที่อายุครรภ์ที่มากก็อาจจะมีภาวะแทรกซ้อนเกิดขึ้นได้มากกว่า แต่ข้อดีกว่าของการเจาะน้ำคร่ำ คือ มีความเสี่ยงจากการแท้งน้อยกว่าการทำ CVS

สรุป

กลุ่มอาการโครโมโซมเอกซ์เปราะเป็นภาวะพัฒนาการทางสติปัญญาช้าที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรมที่พบบ่อยที่สุด โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่มักเป็นผู้ชาย ดังนั้น การสืบค้นประวัติภายในครอบครัวที่ละเอียดจะช่วยให้สงสัยและนำไปสู่การตรวจวินิจฉัยหาผู้ป่วยและผู้ที่เป็นพาหะของโรค โดยเฉพาะในสตรีวัยเจริญพันธุ์ที่เป็นพาหะหรือมียีนของโรคแฝงอยู่นั้นจะมีโอกาสถ่ายทอดไปยังทารกในครรภ์ได้ ซึ่งในปัจจุบันสามารถให้การวินิจฉัยทารกในครรภ์ได้และนำไปสู่การวางแผนครอบครัวที่เหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

1. Leonard H, Wen X. The epidemiology of mental retardation: challenges and opportunities in the new millennium. Ment Retard Dev Disabil Res Rev 2002; 8: 117 - 34.
2. World Health Organization. World health report 2001. Mental health: new understanding, new hope. Geneva: WHO; 2001.
3. Warren ST, Sherman SL. The fragile X syndrome. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D, et al, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill; 2001; p.1257 - 90.
4. Epstein CJ. Down syndrome (trisomy 21). In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited isease. 8th ed. New York: Mcgraw-Hill; 2001; p.1223 - 56.
5. Limprasert P, Ruangdaraganon N, Sura T, et al. Molecular screening for fragile X syndrome in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1999; 30 (Suppl 2): S114 - 8.
6. Martin JP, Bell J. A pedigree of mental defect showing sex-linkage. J Neurol Psychiatr 1943; 6: 154 - 7.
7. Lubs HA. A marker X chromosome. Am J Hum Genet 1969; 21: 231 - 44.
8. Sutherland GR. Fragile sites on human chromosomes: demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium. Science 1977; 197: 265 - 6.
9. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, et al. Williams Obstetrics. 23rd ed. New York: McGraw-Hill; 2010.
10. de Vries BB, Halley DJ, Oostra BA, et al. The fragile X syndrome. J Med Genet 1998; 35: 579 - 89.
11. Rifé M, Badenas C, Quintó L, et al. Analysis of CGG variation through 642 meioses in fragile X families. Mol Hum Reprod 2004; 10: 773 - 6.
12. Kenneson A, Warren ST. The female and the fragile X reviewed. Semin Reprod Med 2001; 19: 159 - 65.
13. Nelson DL. The fragile X syndromes. Sem Cell Biol 1995; 6: 5 - 11.
14. Nolin SL, Lewis FA 3rd, Ye LL, et al. Familial transmission of the FMR1 CGG repeat. Am J Hum Genet 1996; 59: 1252 - 61.
15. Fisch GS, Snow K, Thibodeau SN, et al. The fragile X premutation in carriers and its effect

on mutation size in offspring. Am J Hum Genet 1995; 56: 1147 - 55.
16. Zhong, N, Ju W, Pietrofesa J, et al. Fragile X "gray zone" alleles: AGG patterns, expansion risks, and associated haplotypes. Am J Med Genet 1996; 64: 261 - 5.
17. Pieretti M, Zhang FP, Fu YH, et al. Absence of expression of the FMR1 gene in fragile X syndrome. Cell 1991; 66: 817 - 22.
18. Tan H, Li H, Jin P. RNA-mediated pathogenesis in fragile X-associated disorders. Neurosci Lett 2009; 466: 103 - 8.
19. Devys D, Lutz Y, Rouyer N, et al. The FMR1 protein is cytoplasmic, most abundant in neurons and appears normal in carriers of a fragile X permutation. Nat Genet 1993; 4: 335 - 40.
20. Hinds HL, Ashley CT, Sutcliffe JS, et al. Tissue specific expression of FMR1 provides evidence for a functional role in fragile X syndrome. Nat Genet 1993; 3: 36 - 43.
21. D'Hulst C, Kooy RF. Fragile X syndrome: from molecular genetics to therapy. J Med Genet 2009; 46: 577 - 84.
22. Wapner RJ, Jenkins TM, Khalek N. Prenatal diagnosis of congenital disorders. In: Creasy RK, Resnik R, Iams JD, et al, editors. Creasy and Resnik's Maternal-Fetal Medicine Principles and Practices. 6th ed. Philadelphia: Saunders Elsvier; 2009: p.221 - 74.
23. Budimirovic DB, Bukelis I, Cox C, et al. Autism spectrum disorder in fragile X syndrome: differential contribution of adaptive socialization and social withdrawal. Am J Med Genet A 2006; 140: 1814 - 26.
24. Berry-Kravis E. Epilepsy in fragile X syndrome. Dev Med Child Neurol 2002; 44: 724 - 8.
25. Keysor CS, Mazzocco MM. A developmental approach to understanding fragile X syndrome in females. Microsc Res Tech 2002; 57: 179 - 86.
26. de Vries BB, Wiegers AM, Smitx AP, et al. Mental status of females with an FMR1 gene full mutation. Am J Hum Genet 1996; 58: 1025 - 32.
27. Sherman SL. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. Am J Med Genet 2000; 97: 189 - 94.
28. Hagerman RJ, Leavitt BR, Farzin F, et al. Fragile-X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in females with the FMR1 premutation. Am J Hum Genet 2004; 74: 1051 - 6.
29. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey MA, et al. Penetrance of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in a premutation carrier population. JAMA 2004; 291: 460 - 9.
30. Bennett CE, Conway GS, Macpherson JN, et al. Intermediate sized CGG repeats are not a common cause of idiopathic premature ovarian failure. Hum Reprod 2010; 25: 1335 - 8.
31. Ennis S, Murray A, Youings S, et al. An investigation of FRAXA intermediate allele phenotype in a longitudinal sample. Ann Hum Genet 2006; 70: 170 - 80.
32. Weinhäusel A, Oskar AH. Evaluation of the Fragile X (FRAXA) Syndrome with Methylation-Sensitive PCR. Hum Genet 2001; 108: 450 - 8.
33. Zhou Y, Law HY, Boehm CD, et al. Robust fragile X (CGG)n genotype classification using a methylation specific triple PCR assay. J Med Genet 2004; 41: e45.
34. Charalsawadi C, Sripo T, Limprasert P. Multiplex Methylation Specific PCR Analysis of Fragile X Syndrome: experience in Songklanagarind Hospital. J Med Assoc Thai 2005; 88: 1057 - 61.
35. Sherman S, Pletcher BA, Driscoll DA. Fragile X syndrome: diagnostic and carrier testing. Genet Med 2005; 7: 584 - 7.
36. ACOG committee opinion. No.338: Screening for fragile X syndrome. Obstet Gynecol 2006; 107: 1483 - 5.
37. Cronister A, Teicher J, Rohlfs EM, et al. Prevalence and Instability of Fragile X Alleles: implications for offering fragile X prenatal diagnosis. Obstet Gynecol 2008; 111: 596 - 601.

38. Zeesman S, Zwaigenbaum L, Whelan DT, et al. Paternal transmission of fragile X syndrome. Am J Med Genet A 2004; 129: 184 - 9.
39. Reches A, Malcov M, Ben-Yosef D, et al. Preimplantation genetic diagnosis for fragile X syndrome: is there increased transmission of abnormal FMR1 alleles among female heterozygotes? Prenat Diagn 2009; 29: 57 - 61.
40. Platteau P, Sermon K, Seneca S, et al. Preimplantation genetic diagnosis for fragile Xa syndrome: difficult but not impossible. Hum Reprod 2002; 17: 2807 - 12.
41. Willemsen R, Bontekoe CJ, Severijnen LA, et al. Timing of the absence of FMR1 expression in full mutation chorionic villi. Hum Genet 2002; 110: 601 - 5.
42. Castellví-Bel S, Milà M, Soler A, et al. Prenatal diagnosis of fragile X syndrome: (CGG)n expansion and methylation of chorionic villus samples. Prenatal diagnosis 1995; 15: 801 - 7.