

UNIVERSIDADE PAULISTA

DAMARES GONÇALVES RIBEIRO

AVANÇOS RECENTES NO DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DO X FRÁGIL.

GOIÂNIA

2025

NOTA FINAL = 9,5

DAMARES GONÇALVES RIBEIRO

AVANÇOS RECENTES NO DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DO X FRÁGIL.

Trabalho de conclusão de curso para obtenção do título de graduação em biomedicina apresentado à Universidade Paulista – UNIP.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Menara de Souza Marques.

GOIÂNIA

2025

CIP - Catalogação na Publicação

Ribeiro, Damares

Avanços recentes no diagnóstico da síndrome do X frágil. / Damares
Ribeiro. - 2025.
27 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) apresentado ao Instituto
de Ciência da Saúde da Universidade Paulista, Goiânia, 2025.

Área de Concentração: Genética.

Orientador: Prof. Dr. Juliana Marques.

1. Síndrome do X frágil.. 2. Diagnóstico padrão da síndrome.. 3.
Avanços no diagnóstico da síndrome.. 4. Gene FMR1.. 5.
Aconselhamento genético.. I. Marques, Juliana (orientador). II. Título.

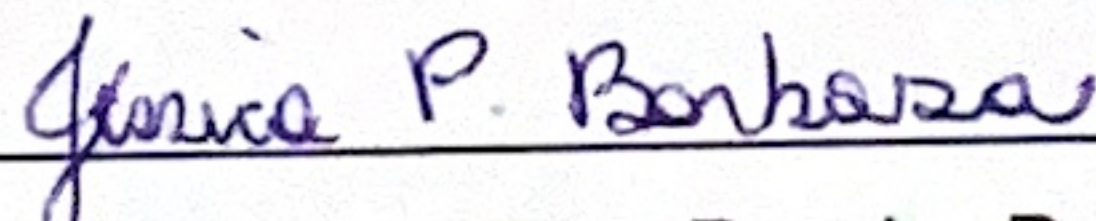
DAMARES GONÇALVES RIBEIRO

AVANÇOS RECENTES NO DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DO X FRÁGIL

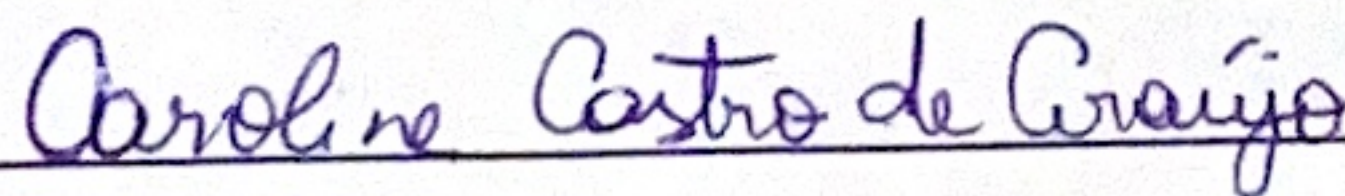
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Paulista, *Campus* Flamboyant, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovado em: 03 / 12 / 2025

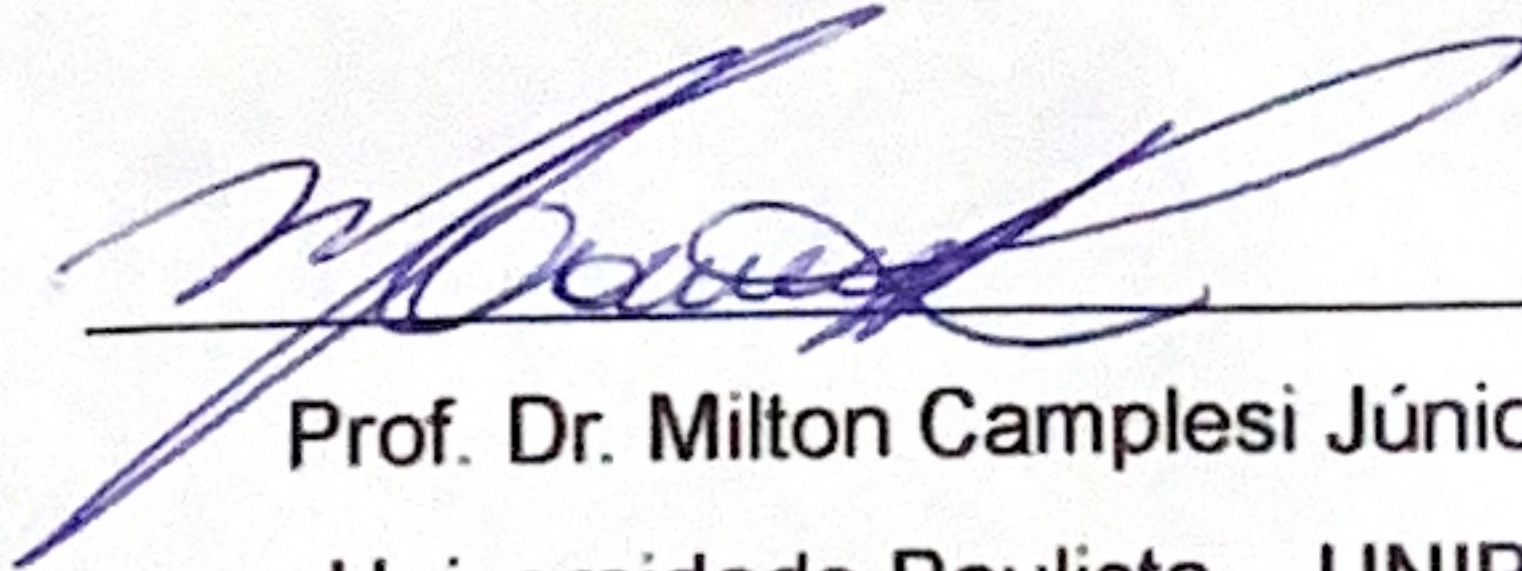
BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Jéssica Pereira Barbosa
Universidade Paulista - UNIP



Profa. Dra. Caroline Castro de Araújo
Universidade Paulista - UNIP



Prof. Dr. Milton Camplesi Júnior
Universidade Paulista - UNIP

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus, por plantar esse sonho em meu coração e me dar força e determinação para chegar até aqui.

Em seguida agradeço à minha família, minha mãe, minha irmã e a meu afilhado. Sem vocês eu não seria nada. Vocês são a minha base. Obrigada por estarem comigo nesse momento tão especial e por sempre me proporcionarem todo o suporte necessário.

Agradeço também ao meu pai, que, mesmo não estando mais presente nesta vida, se fez presente em todos os momentos, em cada passo e em cada conquista. Sei que essa etapa concluída seria motivo de muito orgulho e alegria para ele.

Finalizo agradecendo a todas pessoas que fizeram parte dessa trajetória tão linda comigo. A realização deste sonho não é apenas minha, mas de vocês também, que acompanharam meus esforços, minhas dificuldades e as alegrias de cada conquistas ao longo do caminho.

Sou profundamente grata por todos vocês. Obrigada por fazerem parte disso junto comigo!

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar métodos de diagnósticos atualizados da síndrome do X frágil, destacando as alternativas com avanços onde permitem mais precisão e agilidade na detecção da mutação no gene FMR1. Consiste em uma revisão bibliográfica desenvolvida a partir do recrutamento de publicações científicas nacionais e internacionais, encontradas na base de dados da PubMed e Scielo. Foram observadas as principais técnicas utilizadas para o diagnóstico, com destaque em métodos moleculares, a avaliação dos estudos destaca que as técnicas de biologia molecular, como PCR em tempo real e o sequenciamento de nova geração, aumentam a capacidade de identificação de expansões de repetição CGG assim reduzindo os erros interpretativos e ajudando a obter mais diagnósticos precoces e seguros. Concluindo então, que a adesão de métodos avançados apresenta um avanço significativo na prática clínica, no acompanhamento de portadores e para o aconselhamento genético, evidenciando a importância da aprimoração constante das abordagens utilizadas.

Palavras-chave: Síndrome do X frágil; Diagnóstico molecular; Gene FMR1; Diagnósticos avançados; expansões CGG.

ABSTRACT

The present study aims to evaluate updated diagnostic methods for fragile X syndrome, highlighting alternatives that offer advancements allowing greater precision and efficiency in detecting mutations in the FMR1 gene. It consists of a literature review developed from the recruitment of national and international scientific publications found in the PubMed and Scielo databases. The main techniques used for diagnosis were observed, with an emphasis on molecular methods. The evaluation of the studies highlights that molecular biology techniques, such as real-time PCR and next-generation sequencing, increase the capacity to identify CGG repeat expansions, thereby reducing interpretative errors and helping achieve earlier and more reliable diagnoses. In conclusion, the adoption of advanced methods represents a significant advancement in clinical practice, in the monitoring of carriers, and in genetic counseling, highlighting the importance of the constant improvement of the approaches used.

Keywords: Fragile X syndrome; Molecular diagnosis; FMR1 gene; Advanced diagnosis; CGG expansions.

SUMÁRIO

| | | |
|------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2 | REFERENCIA TEÓRICO..... | 11 |
| 2.1 | Síndrome do X frágil..... | 11 |
| 2.2 | Gene <i>FMR1</i> | 11 |
| 2.3 | Diferenças da síndrome entre homens e mulheres..... | 12 |
| 2.4 | Aconselhamento genético..... | 12 |
| 3 | METODOLOGIA..... | 14 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 16 |
| 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 24 |
| | REFERÊNCIAS..... | 25 |

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome do X Frágil (SXF) é categorizada como a maneira mais comum de deficiência intelectual herdada, sendo mais comumente observada em homens. Sua causa está ligada à mutação no gene FMR1, situado no cromossomo X, responsável pela formação da proteína FMRP, primordial para o desenvolvimento e desempenho das sinapses neuronais (Acero-Garcés et al., 2023). Segundo Stone (2023), “a ausência ou deficiência da proteína FMRP compromete diretamente os processos cognitivos e comportamentais, produzindo um fenótipo altamente variável entre os indivíduos afetados”.

A mutação decorre da expansão irregular de repetições do trinucleotídeo CGG na região 5' não traduzida do gene FMR1, conseqüentemente, ao ultrapassar 200 repetições, proporciona a metilação do gene e o silenciamento de sua expressão (Protic et al., 2022). Esse mecanismo implica na plasticidade sináptica, danificando funções fundamentais como o aprendizado e o desenvolvimento neuropsicológico, o que reforça a importância do diagnóstico prévio para a conduta clínica e reprodutiva.

Além dos danos cognitivos e comportamentais, os pacientes com SXF podem apresentar problemas motores, sensoriais, no desenvolvimento da linguagem e dos aspectos físicos distintivos, como o rosto alongado (Castillo et al., 2021). Estudos também apontam que, mesmo as pessoas que apresentam pré-mutação, podem apresentar déficits sutis (Aparecida et al., 2022).

O diagnóstico da SXF é executado por meio de testes genéticos moleculares, os quais possibilitam detectar a síndrome e distinguir portadores com pré-mutação das com mutação completa e avaliar o estado de metilação do gene (Salcedo-Arellano; Hagerman; Martínez-Cerdenõ, 2020). Todavia, o diagnóstico constantemente ocorre de forma tardia, devido à versatilidade clínica da síndrome e à coincidência de sintomas com outros transtornos (Acero-Garcés et al., 2023).

A SXF impacta consideravelmente o ambiente familiar, produzindo dificuldades no acesso a serviços de saúde, além dos problemas emocionais, sociais e financeiros. As famílias passam por diversos obstáculos para conseguir o diagnóstico e tratamento apropriado, sofrendo ainda um desgaste emocional profundo (Rosa et al., 2023). Considerando essa realidade, o aconselhamento genético torna-se um recurso primordial para a explicação dos riscos de recorrência, mas também de oferecer assistência emocional, educativa e psicológica às famílias acometidas por esta doença (Viveiros;

Becerra; Rengifo, 2020).

A importância do diagnóstico eficaz e precoce da SXF está presente em diferentes contextos, na sociedade, permite a detecção antecipada de portadores da síndrome, possibilitando realizar o aconselhamento genético fornecendo maiores informações, tratamentos educativos e terapêuticos, promovendo uma qualidade de vida melhor e inclusão social. O uso de técnicas de diagnóstico mais atualizados ajudam a entender melhor e avançar os conhecimentos sobre a fisiopatologia da síndrome e o desenvolvimento de métodos mais eficazes, contribuindo a comunidade científica. Em termos de economia do país, principalmente se tratando do Sistema Único de Saúde (SUS), diagnósticos mais precisos diminuem gastos com tratamentos tardios ou desnecessários, gerenciando melhor os recursos e promovendo políticas de saúde mais eficientes. Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo mostrar os avanços recentes no diagnóstico da síndrome do X frágil.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Síndrome do X frágil

A síndrome do x frágil é a causa mais comum para comprometimento intelectual hereditário e monogênica para espectro autismo. Esta síndrome acomete aproximadamente um a cada cinco mil (1/5000) homens e uma a cada oito mil (1/8000) mulheres (PROTIC et al., 2022). Algumas das características físicas apresentadas pela SXF são orelhas grandes, rosto alongado, estrabismo e testículos grandes, também podem apresentar em pessoas acometidas por esta síndrome, deficiência intelectual, alto déficit de atenção (80% de prevalência), problemas de linguagem, ansiedade e hiperatividade (66% de incidência) (VIVEROS; BECERRA; RENGIFO,2020).

Em mulheres portadoras da pré-mutação podem gerar também a insuficiência ovariana prematura ocasionando fertilidade prejudicada (STONE et al., 2023). Existem algumas comorbidades ligadas a síndrome, entre elas a epilepsia é bastante comum, apesar do fato de que quase 90% das crianças afetadas possuem traços autistas ou sofrem de um transtorno autista (VIVEROS; BECERRA; RENGIFO,2020).

2.2 Gene *FMR1*

O gene responsável por esta síndrome é o *FMR1*, a falta da proteína que este gene codifica, *FMRP*, e o que leva as complicações relacionadas (ACERO-GARCÉS et al.,2023). *FMRP* é um estabilizador que direciona a tradução de proteínas, afetando as conexões neuronais, a plasticidade sináptica e as atribuições ovarianas. À vista disso, na ausência do *FMRP*, há aumento do estímulo neuronal e diminuição do desempenho do ácido gama-aminobutírico, causando então muitos sintomas da SXS, como por exemplo, as convulsões e deficiência intelectual (STONE et al., 2023).

Localizado no cromossomo X, apresenta uma área frágil e quebradiça em seu braço longo, essa área está devidamente ligada a expansão de repetição do trinucleotídeo CGG na região não transcrita do gene (PROTIC et al., 2022). Essa repetição de CGG é variável, e conforme o número de CGGs, o gene *FMR1* se classifica em classes alélicas, sendo elas: Normal, quando o número de repetições está entre 6–44 CGGs; Zona cinzenta, apresentando de 45–54 repetições de CGGs;

Pré-mutação entre 55–199 CGGs; e, por fim, alelos de mutação completa onde as repetições são acima de 200 CGGs (APARECIDA et al., 2022).

2.3 Diferenças da síndrome entre homens e mulheres

Devido a síndrome acometer o cromossomo X se dá o maior número de afetados em homens, pois só possuem um cromossomo X (XY), já as mulheres têm o par de cromossomos X (XX), logo, o cromossomo que não está comprometido pode suprimir as demandas do cromossomo afetado, diminuindo, deste modo, os acometimentos da síndrome (PROTIC et al., 2022).

Sobre a herança genética os homens que carregam a pré-mutação recebem o cromossomo X de todas as suas filhas com a mesma quantidade de repetições e não obtêm o cromossomo X de seus filhos. No entanto, as mulheres que possuem a pré-mutação podem receber o cromossomo X carregando a pré-mutação para crianças do sexo masculino e feminino com o mesmo número ou com o número de repetições aumentadas em toda a faixa de mutação; ocasionando filhos afetados pela síndrome do X frágil. Já homens portadores da mutação completa ganham a mutação completa de todas as filhas, e não de seus filhos. Mas as mulheres com mutação completa obtêm o alelo da mutação completa para 50% dos filhos e filhas. Concluindo então, todo homem que tiver a síndrome, sua mãe será portadora da pré-mutação ou possui a mutação completa (ACERO-GARCÉS et al., 2023).

2.4 Aconselhamento genético

Apesar de não haver cura para a SXF, o diagnóstico e a intervenção precoces ajudam a melhorar o prognóstico e a qualidade de vida dos portadores e familiares e instruí-los em suas futuras decisões reprodutivas (STONE et al., 2023). O aconselhamento genético desempenha um papel fundamental para famílias portadoras da síndrome do x frágil, ele vai ajudar a compreender geneticamente a doença, o risco de recorrência e opções disponíveis para famílias que pretendem ter filhos, como por exemplo a reprodução assistida (SALDARRIAGA-GIL; TASCÓN; HERRERA-CASTAÑEDA, 2020).

Quantificar o número de repetições CGG no cromossomo X sugere uma avaliação mais exata do risco de SXF e abrange informações importantes para as

famílias a respeito das opções reprodutivas. Os pacientes que carregam a pré-mutação ou mutação completa com apenas um teste de DNA FMR1 podem ter orientações a respeito do aconselhamento genético e planejamento familiar. Os médicos precisam oferecer testes pré-natais para a síndrome a homens e mulheres que possuem histórico de SXF ou familiar. Criança com deficiência intelectual de causa desconhecida também deve ser ofertados testes pré-natais aos pais. Alguns estudos também indicam testes de insuficiência ovariana prematura para as mulheres, este teste é essencial para futuras gestações e possíveis decorrências (STONE et al., 2023). Neste sentido, o presente trabalho visa contribuir com a investigação, por meio da literatura, de métodos diagnósticos desta síndrome.

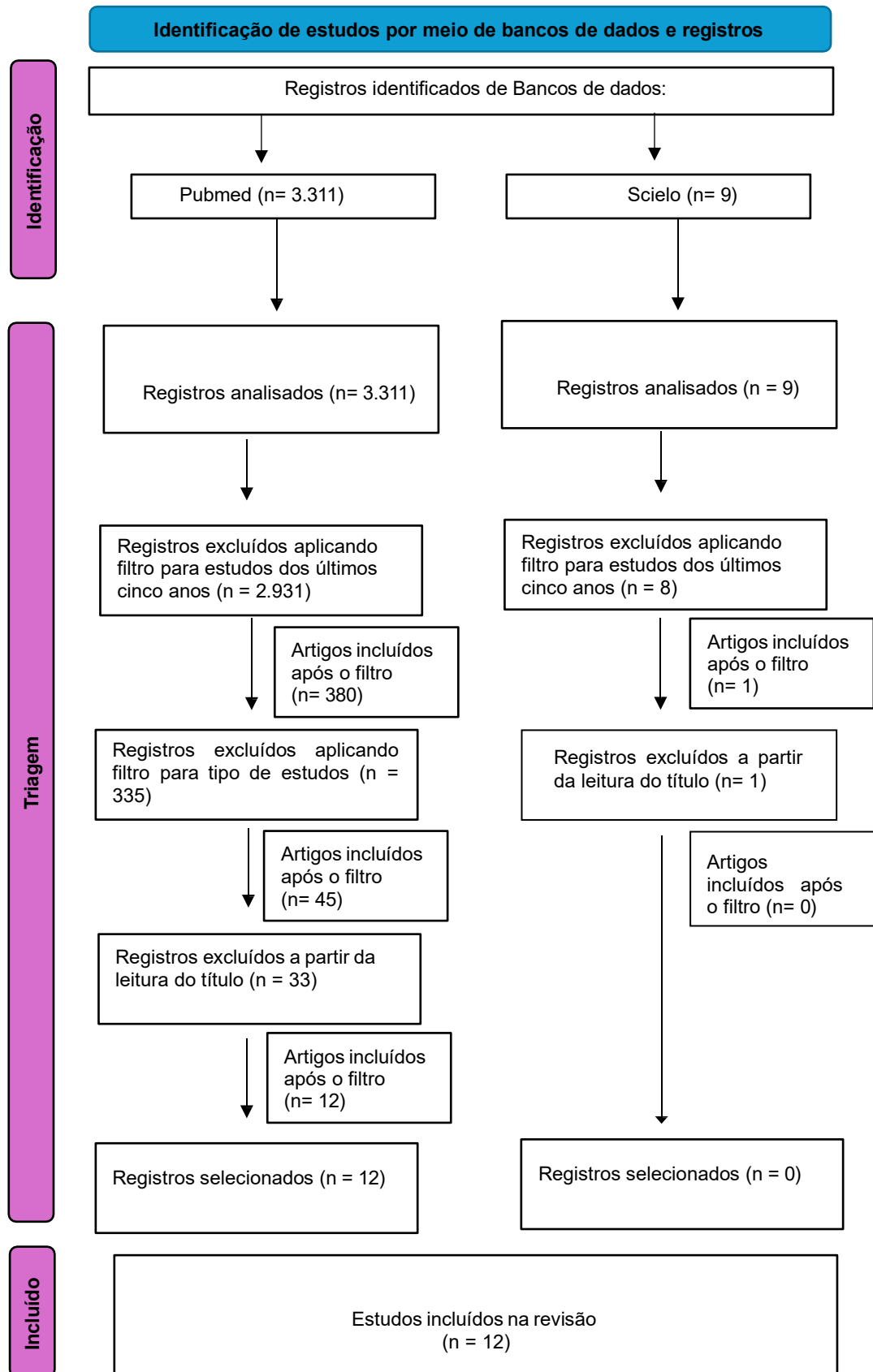
3 METODOLOGIA

O presente trabalho é uma revisão integrativa da literatura, composta por artigos nos idiomas inglês, espanhol e português publicados nos últimos cinco anos na base de dados *U.S. National Library of Medicine* (PubMed) e SciELO. A partir de buscas realizadas nos descritores de busca *MeSH terms* (PubMed) e Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), as palavras-chaves que melhor descrevem o tema e foram utilizadas como estratégias de busca são “*fragile X syndrome*” e “*diagnostic*”, em inglês, combinados com o operador booleano *AND*.

Os critérios de inclusão para a seleção dos artigos formam estudos do tipo coorte, caso-controle e ensaio clínico. Artigos que não contenham seleção de dados originais, como revisões de literatura, relatos de caso, nota técnica e editorial foram excluídos durante a busca bibliográfica.

Inicialmente, a seleção dos artigos foi filtrada por meio dos operadores booleanos, os filtros aplicados após foi diferente para cada base de dados, na base de dados Pubmed foram aplicados da seguinte maneira, filtro dos últimos cinco anos e em seguida foram selecionados os tipos de estudos que se encaixavam na pesquisa. Por fim, foram selecionamos os artigos através da leitura do título. Na base de dados Scielo, utilizou-se inicialmente o filtro para artigos dos últimos cinco anos e logo após finalizamos a seleção com a leitura dos títulos. Os textos que foram selecionados tiveram seus resumos lidos e os que se enquadraram nos critérios de inclusão preestabelecidos foram selecionados para a leitura na íntegra. Os artigos que não se encaixaram no delineamento da pesquisa, foram excluídos. A partir da leitura dos textos elegíveis, foi realizada uma análise qualitativa dos dados apresentados para a obtenção dos resultados (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma do processo de seleção de artigos sobre o diagnóstico atualizados relacionados a síndrome do X frágil.



Fonte: adaptado de PRISMA (2020).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados ao total 12 artigos. Dos artigos selecionados, 50% foram realizados na China, seguido dos Estados Unidos (25%) e o restante dos países Austrália, Bulgária, Egito e Equador (8,33%). Os estudos selecionados tiveram como objetivo principal métodos alternativos de diagnóstico da SXF e mais atualizados, com potencial para substituir os métodos convencionais padrões. Foram apresentadas diversas abordagens de diagnóstico molecular voltadas à detecção da Síndrome do X frágil. No entanto, destacaram a triagem de portadores, o diagnóstico pré-natal e triagem populacional, direcionadas à identificação precoce de mutações no gene FMR1. Também foram avaliados métodos alternativos baseados em biomarcadores moleculares e epigenéticos, capazes de complementar ou substituir técnicas convencionais. Abordagens mais atuais destacaram o uso de sequenciamento de leitura longa e diagnóstico genético de alta resolução, ampliando a precisão e abrangência das análises.

Diante dos estudos selecionados, os resultados apresentaram respostas positivas, demonstrando que métodos moleculares de nova geração fornecem maior precisão diagnóstica, reduzem o tempo e o custo dos diagnósticos, e permitem identificar portadores e mosaicos com maior segurança. Em relação as vantagens, o que mais evidencia são as possibilidades de aplicação em triagens populacionais, a detecção precoce em recém-nascidos, e o uso de amostras não invasivas, além do potencial de prever o impacto clínico das mutações com base em padrões epigenéticos e de expressão gênica (Tabela 1).

Tabela 1 – Dados apresentados sobre diagnóstico da Síndrome do X Frágil.

| AUTOR/ANO | PAÍS | TIPO DE DIAGNOSTICO | MÉTODO | APLICAÇÃO | VANTAGENS | PRINCIPAIS RESULTADOS |
|----------------------------|-------------|---|---|---|---|--|
| Berry-Kravis et al. (2021) | EUA | Diagnóstico molecular: Triagem de portadores | utilizou PCR com análise por eletroforese capilar (TP-PCR/AmplideX assay) associada a software de interpretação (Xpansion Interpreter), sendo comparada a métodos tradicionais. | Diagnóstico pós natal, triagem de portadores, avaliação de heterozigose feminina e mapeamento de interrupções AGG. | Alta sensibilidade e capacidade de identificar grandes mutações por PCR, reduzindo a utilização de Southern blot em muitos casos; Resolução de heterozigose em mulheres; fornece dados sobre AGG que melhora avaliação de risco para pré-mutações e mutações completas. | Demonstrou boa sensibilidade e especificidade em validações; permitiu identificação consistente de mutações por PCR e melhor significado clínico por interpretação de AGG. |
| Jalnapurkar et al. (2022) | EUA | Biomarcador molecular – Diagnóstico alternativo | Coleta de folículos capilares, extração de RNA, qRT-PCR para FMR1 mRNA e ensaio para FMRP; comparações com sangue e swab bucal. | Estudos de longo tempo, monitoramento de FMR1 expressão FMRP em ensaios clínicos e potenciais triagens não invasivas. | Menos invasivo na coleta; viável em ambiente domiciliar; repetível, útil para estudos longitudinais. | Amostragem de folículos foi executada e reprodutível; permitiu medir FMR1 mRNA e FMRP e é promissora como método complementar para biomarcadores. |
| Guo et al. (2021) | China | Diagnóstico pré-natal – Triagem | Testes moleculares para FMR1 -PCR/TP- | Programas de saúde pública, detecção em | constatou que histórico familiar não é preditor eficiente; | Maior amostragem de portadores e mapeamento do |

| | | | | | | |
|-------------------------|-----------|--|--|---|---|--|
| | | populacional de portadores | PCR e metodologias confirmatórias. | mulheres de idade reprodutiva e diagnóstico pré-natal para fetos em risco. | mostrou que triagem populacional é promissora; permite intervenções de aconselhamento. | perfil genético de FMR1 em populações do Leste Asiático. |
| Kraan et al. (2020) | Austrália | Biomarcador epigenético precoce | Análise de metilação em cartões de sangue de triagem neonatal, comparação com níveis de FMR1 mRNA. | Triagem neonatal e previsão de gravidade fenotípica, informar acompanhamento precoce e intervenções. | Permite intervenção precoce do impacto cognitivo e traços autísticos, sensibilidade / especificidade muito altas no sexo masculino; viável em amostras de triagem neonatal guardadas. | Obteve sensibilidade e especificidade próximas de 100% para distinguir SXF nos testes analisados; em meninos com SXF a metilação ao nascimento correlacionou fortemente com a função intelectual e características autísticas. |
| Stoyanova et al. (2022) | Bulgária | Triagem molecular direcionada a população de risco | Testes moleculares - PCR/TP-PCR; e aconselhamento genético. | Diagnóstico etiológico em serviços de referência pediátricos/neuro pediatria, identificar causas genéticas preveníveis. | Aumenta a etiologia no diagnóstico em crianças e orienta manejo e aconselhamento genético familiar. | Demonstra utilidade da triagem molecular em coortes pediátricas com atraso de desenvolvimento; identificou casos positivos que justificam investigação genética rotineira nesse grupo. |
| Straub et al. (2023) | EUA | Diagnóstico molecular | qRT-PCR altamente sensível em | Pesquisa translacional, explicar | Detecta níveis muito baixos de mRNA em alguns indivíduos; | O ensaio detecta níveis traço de FMR1 mRNA em |

| | | | | | | |
|-----------------------------|---------|---|---|---|---|---|
| | | quantitativo – biomarcador | amostras de sangue. | variabilidade fenotípica, possível uso como marcador prognóstico e em estudos de tratamento. | correlaciona com função cognitiva, demonstrando relevância clínica; método reprodutível. | alguns indivíduos; níveis detectáveis mostraram correlação positiva com medidas cognitivas, indicando que transcrição residual pode influenciar fenótipo. |
| Gu et al. (2021) | China | Diagnóstico molecular – Alternativa a métodos convencionais | TP-PCR com fragment analysis; comparação com Southern blot em amostras de validação. | Rotina diagnóstica laboratorial para categorização de alelos e triagem. | Apresentou alta concordância com Southern blot; é mais rápida, simples e evita uso de Southern blot em muitos casos. | TP-PCR apresentou alta sensibilidade e concordância com métodos padrão, sendo uma alternativa confiável para detecção de expansões CGG. |
| Refeat et al. (2022) | Egito | Triagem molecular para mutações completas e pré-mutações | MS-PCR, qRT PCR para FMR1 mRNA, e sizing por PCR; análise correlacional entre CGG e mRNA. | Diagnóstico clínico em serviços locais; identificar pré-mutação e orientar aconselhamento genético. | Alternativas moleculares são sensíveis e rápidas para detectar pré-mutações; correlação entre número de CGG e expressão de FMR1 mRNA reforça utilidade diagnóstica. | Abordagem molecular se mostrou sensível e apropriada para triagem de pré-mutação; recomenda aplicação em amostras clínicas maiores. |
| Pozo-Palacios et al. (2021) | Equador | Diagnóstico molecular – triagem local | PCR end-point para sizing de CGG, com confirmação por Southern blot ou TP PCR. | Adesão de serviço diagnóstico em país de renda média, identificação de casos e | Demonstra viabilidade de implementar diagnóstico molecular em cenários com recursos limitados; | Identificaram 22 homens afetados, evidenciando atraso no diagnóstico e a necessidade de programas de triagem. |

| | | | | | | |
|---------------------|-------|--|---|--|--|--|
| | | | | aconselhamento familiar. | fornece dados locais de prevalência e idade média ao diagnóstico. | |
| Liang et al. (2022) | China | Diagnóstico genético abrangente | Sequenciamento de leitura longa com pipeline bioinformático para contar CGG, mapear AGG e detectar variantes estruturais. | Utilizado em diagnóstico e triagem, atende limitações de PCR/Southern blot; útil para casos complexos. | Capacidade de medir CGG e encontrar variantes estruturais; apresenta maior desempenho que PCR tradicional e Southern blot. | Long-read assay identificou expansões, interrupções AGG e variantes raras, como grandes deleções não detectadas por métodos convencionais. |
| Xia et al. (2024) | China | Triagem de portadores por long-read nanopore | Nanopore sequencing + pipeline analítico para identificar número de CGG e interrupções AGG. | Programas de triagem populacional em larga escala; potencial para triagem de baixo custo e alta portabilidade. | Portátil, capacidade de leitura longa que integra sizing e metilação numa única corrida; redução de custo e logística em triagem. | Assay nanopore apresentou uma boa performance em amostras; promissor para adesão em programas de triagem. |
| Hou et al. (2023) | China | Diagnóstico genético de alta resolução | Long-read sequencing - complemento de pipelines para identificar CGG, AGG e variantes estruturais. | Rotina de diagnóstico genético e aconselhamento principalmente em casos com suspeita de variantes complexas ou quando PCR falha. | Capaz de detectar mutações que PCR não identificou; diminui necessidade de vários testes; aprimora dados para aconselhamento genético. | Long-read approach demonstrou maior amplitude e precisão, permitindo diagnóstico mais informativo e detecção de deleções, variações complexas que escapam a PCR/Southern blot. |

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Diante a síndrome, o diagnóstico precoce e preciso é essencial para o direcionamento clínico e para o aconselhamento genético familiar, pois proporciona intervenções direcionadas e prevenção de recorrência familiar. Com o grande avanço das biotecnologias, possibilitou que diversas metodologias moleculares fossem desenvolvidas com o intuito de aprimorar a detecção das expansões do gene FMR1, contando que a instabilidade de repetições CGG é o principal fator ocasionador da síndrome (Letícia, Paula 2022).

Nos últimos anos, a evolução tecnológica possibilitou uma evolução de métodos convencionais, como o Southern blot, para técnicas mais modernas baseadas em PCR, qRT-PCR, ensaios de metilação e sequenciamento de leitura longa, proporcionando um diagnóstico mais rápido, sensível e abrangente. Os métodos padrões baseavam-se em técnicas como PCR convencional e Southern blot, que apesar de atender a demanda, apresentavam muitas limitações importantes como, a não detecção de expansões longas e a diferenciação entre mutação completa e pré-mutações (Berry-Kravis et al., 2021).

A triagem molecular em crianças com deficiência intelectual não explicada apresentou ser uma técnica interessante para a detecção de casos não diagnosticados (Stoyanova et al., 2022). Em complemento, destacou o Triplet Repeat Primed PCR (TP-PCR) que demonstra uma maior sensibilidade e desempenho comparado aos métodos convencionais, confirmando sua capacidade clínica (Gu et al., 2021). O estudo com o AmplideX Fragile X Dx Kit, reforçou a evidência que plataformas comerciais padronizadas empregam diagnósticos mais rápidos e precisos (Berry-Kravis et al., 2021). Os resultados apresentados são consistentes ao estudo que destacou o valor diagnóstico das abordagens moleculares na detecção de casos de pré-mutação, possibilitando a identificação de indivíduos assintomáticos com risco genético (Refeat et al., 2022). De mesma maneira, relato de uma experiência no Equador, mostrou que a implementação de métodos moleculares aumentou a capacidade diagnóstica em contextos clínicos locais, mostrando que mesmo em locais com infraestrutura limitada, é possível implementar fluxos de diagnóstico molecular confiáveis, destacando a importância da padronização internacional dos testes (Pozo-Palacios et al., 2021).

Além da detecção genética, alguns estudos pesquisaram o gene FMR1 como um marcador complementar no diagnóstico. Foi apresentado que a utilização de qRT-PCR sensível possibilita identificar quantidade de FMR1 mRNA relevantes,

direcionando um melhor entendimento do fenótipo clínico (Straub et al., 2023). De modo surpreendente, foi estudado uma técnica minimamente invasiva, mas eficiente para medições de FMRP e FMR1 mRNA em crianças portadoras ou não da síndrome, utilizando como amostras alternativas folículos capilares. Esses achados aumentam o campo de diagnóstico, entendendo que a mensuração da expressão gênica pode complementar a análise molecular tradicional (Jalnapurkar et al., 2022).

As alterações epigenéticas também apresentam um papel importante no fenótipo da síndrome do x frágil, foram ressaltados que os critérios de metilação do DNA ao nascimento podem predizer o funcionamento intelectual, destacando a importância dos valores de biomarcadores epigenéticos precoces na triagem e no prognóstico clínico. Visualizando uma mudança do diagnóstico unicamente genético para uma alternativa mais abrangente, que apresenta tanto marcadores funcionais quanto epigenéticos (Kraan et al., 2020).

A incorporação de programas de triagem populacional e diagnóstico pré-natal em populações do Leste Asiático, foi possível através da expansão dos métodos moleculares. Os autores ressaltam a possibilidade e importância da detecção de portadores precoce, atribuindo para estratégias de aconselhamento genético e prevenção (Guo et al., 2021).

Recentemente, o desenvolvimento de tecnologias de sequenciamento de nova geração e, especialmente, o long-read sequencing, colaborou avanços significativos para o diagnóstico da síndrome. Foi demonstrado que a avaliação completa do locus FMR1 por long-read sequencing possibilita caracterizar por completo as expansões de repetições CGG, mutações e variações estruturais (Liang et al., 2022). Uma avaliação clínica comparativa feita estudou a aplicabilidade clínica dessa técnica e confirmou sua alta precisão e capacidade de detectar variações complexas, tornando-a uma alternativa confiável aos métodos tradicionais (Hou et al., 2023). De forma semelhante, foi abordado o potencial do Nanopore Sequencing como alternativa para triagem de portadores, enfatizando seu custo reduzido e tempo de resposta curto (Xia et al., 2024).

Esses estudos mostram o potencial de substituição de técnicas convencionais por métodos baseados em sequenciamento de longa leitura, que oferecem precisão diagnóstica, o que proporciona a redução de necessidade de múltiplos testes complementares, melhora a interpretação reprodutiva, impactando na clareza do laudo diagnóstico com análises mais completas e integradas. Esses avanços notados

não apenas aumentam a taxa de detecção da síndrome, mas também dão mais suporte ao aconselhamento genético reprodutivo, promovendo decisões clínicas mais seguras e conscientes. Entretanto, a implementação em larga escala ainda depende de fatores como programas de triagem e políticas públicas precisam ser adaptados às realidades regionais, com protocolos padronizados de coleta, análise e aconselhamento genético (Carlos, Roberto 2008).

A assimilação entre métodos genéticos, epigenéticos e de expressão mostra que o diagnóstico da Síndrome do X Frágil deve ser analisado como um processo que assimila a detecção de mutações com a avaliação funcional e prognóstica. A avaliação de FMR1 mRNA, FMRP e a análise do estado de metilação proporcionam uma visão maior de compreensão do impacto clínico da mutação, auxiliando nos riscos e na previsão da gravidade fenotípica. Vale destacar, a utilização de amostras não invasivas como folículos capilares e testes rápidos TP-PCR para facilitarem o monitoramento clínico e o acesso ao diagnóstico precoce (Jalnapurkar et al., 2022).

Embora o progresso nas técnicas de diagnóstico da síndrome do x frágil sejam visivelmente notadas, apresenta limitações como, o acesso restrito as tecnologias mais modernas, o alto custo, a falta de padronização entre laboratórios e a capacitação profissional adequada. Há também, a notável carência de estudos mais abrangentes que verifiquem a aplicabilidade desses métodos em diferentes contextos clínicos. Essas limitações mostram a precisão de mais estudos e investimentos que possibilitem o diagnóstico avançado mais acessível, contribuindo para um diagnóstico mais eficaz.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base na análise dos estudos apresentados, nota-se que os métodos baseados em biologia molecular, como PCR em tempo real e o sequenciamento de nova geração, são os métodos mais progressistas para a detecção de mutações no gene FMR1. Essas técnicas fornecem maior sensibilidade, agilidade e a capacidade de identificar diferentes expansões do trinucleotídeo CGG, se sobrepondo assim as limitações apresentadas em métodos convencionais. Diante disso, os métodos moleculares de alta precisão constituem ótima eficácia no diagnóstico da síndrome do X-frágil, ajudando nas intervenções precoces e no acompanhamento clínico dos portadores.

REFERÊNCIAS

ACERO-GARCES, David O. et al. **Fragile X Syndrome in children**. Colomb. Med., Cali, n. 2, p. 1-22, junho 2023. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S165795342023000200005&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 24 de março de 2025.

APARECIDA, Aline. et al. **Working memory and arithmetic impairments in children with FMR1 premutation and gray zone alleles**. Scielo Brasil., S.L, v. 16, n. 1, p. 105-114, março de 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/dn/a/8v4QsyB56MRqZcjXJ5D7zxb/?lang=en>. Acesso em: 01 de abril de 2025.

BERRY-KRAVIS, Elizabeth *et al.* **Diagnostic profile of the AmpliX Fragile X Dx and Carrier Screen Kit for diagnosis and screening of fragile X syndrome and other FMR1-related disorders**. Expert review of molecular diagnostics, EUA, v. 21, n. 3, p. 255–267, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33666525/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

CARLOS, Roberto. **O conhecimento de genética consolidado para o diagnóstico da Síndrome do X-frágil e o desafio da sua inclusão nas políticas públicas de saúde**. Orientador: Dr. Aparecido Divino da Cruz. 2008. 194. Dissertação Mestrado em Genética - Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2008.

CASTILLO, Juan Carlos. et al. **Síndrome X frágil y otras patologías asociadas al gen FMR1**. Revista Med., S.L, v. 29, n. 1, p. 37-55, junho de 2021. Disponível em: <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rmed/article/view/5262/5017>. Acesso em: 01 de abril de 2025.

GU, Hyunjung *et al.* **Accuracy and performance evaluation of triplet repeat primed PCR as an alternative to conventional diagnostic methods for fragile X syndrome**. Annals of laboratory medicine, China, v. 41, n. 4, p. 394–400, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33536358/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

GUO, Qiwei *et al.* **Population-based carrier screening and prenatal diagnosis of fragile X syndrome in East Asian populations**. Yi chuan xue bao [Journal of genetics and genomics], China, v. 48, n. 12, p. 1104–1110, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34412977/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

HOU, Fei *et al.* **Evaluating the clinical utility of a long-read sequencing-based approach in genetic testing of fragile-X syndrome**. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry, China, v. 551, n. 117614, p. 117614, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38375623/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

JALNAPURKAR, Isha *et al.* **The feasibility and utility of hair follicle sampling to measure FMRP and FMR1 mRNA in children with or without fragile X syndrome: a pilot study**. Journal of neurodevelopmental disorders, EUA, v. 14, n. 1, p. 57, 2022.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36494616/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

KRAAN, Claudine M. *et al.* **DNA methylation at birth predicts intellectual functioning and autism features in children with Fragile X syndrome.** International journal of molecular sciences, Austrália, v. 21, n. 20, p. 7735, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33086711/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

LETÍCIA, Paula. **Diagnóstico da síndrome do x frágil.** Orientador: Sandmary Chambo. 2022. 40. Dissertação Graduação em Biomedicina – Universidade Anhanguera, Taubaté, 2022.

LIANG, Qiaowei *et al.* **Comprehensive analysis of fragile X syndrome: Full characterization of the FMR1 locus by long-read sequencing.** Clinical chemistry, China, v. 68, n. 12, p. 1529–1540, 2022. Disponível em <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36171182/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

POZO-PALACIOS, Juan *et al.* **Experiences of the molecular diagnosis of fragile X syndrome in Ecuador.** Frontiers in psychiatry, Equador, v. 12, p. 716311, 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8710471/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

PROTIC, Dragana D. *et al.* **Fragile X Syndrome: From Molecular Aspect to Clinical Treatment.** Int J Mol Sci., S.L., v. 23, n. 4, p. 1-20, fevereiro 2022. Disponível em: < <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8875233/>>. Acesso em: 24 de março de 2025.

REFEAT, Miral M.; EL SAIED, Mostafa M.; ABDEL RAOUF, Ehab R. **Diagnostic value of molecular approach in screening for fragile X premutation cases.** Irish journal of medical science, Egito, v. 192, n. 5, p. 2265–2272, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36409419/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

ROSA, Thamires. *et al.* **Quality of life of Brazilian families who have children with Fragile X syndrome: a descriptive study.** J Community Genet., S.L., v. 14, n. 4, p. 407-418, agosto de 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10444934/>. Acesso em: 24 de março de 2025.

SALCEDO-ARELLANO, María Jamena; HAGERMAN, Randi J.; MARTÍNEZ CERDEÑO, Verónica. **Síndrome X frágil: presentación clínica, patología y tratamiento.** Gac Med Mex., Califórnia, v. 156, n. 1, p. 60-66, julho de 2020. Disponível em: https://www.gacetamedicademexico.com/frame_esp.php?id=385. Acesso em: 01 de abril de 2025.

STOYANOVA, Milena *et al.* **Molecular screening for fragile X syndrome in children with unexplained intellectual disability and/or autistic behaviour.** Folia medica, Bulgária, v. 64, n. 1, p. 27–32, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35851904/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

STRAUB, Devan *et al.* **A sensitive and reproducible qRT-PCR assay detects physiological relevant trace levels of FMR1 mRNA in individuals with Fragile X syndrome.** Scientific reports, EUA, v. 13, n. 1, p. 3808, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36882476/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.

VIVEIROS, Elisa; BECERRA, Lina Vanessa; RENGIFO, Juliana. **FMRP y las neurologinas: la influencia de la actividad sensorial en las dinámicas del neurodesarrollo.** Univ. Med., Bogotá, v. 61, n. 4, p. 1-20, outubro de 2020. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S201108392020000400035&lang=pt. Acesso em: 01 de abril de 2025.

XIA, Zhongmin *et al.* **Fragile X syndrome carrier screening using a nanopore sequencing assay.** The Journal of molecular diagnostics: JMD, China, v. 27, n. 7, p. 645–656, 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40280405/>. Acesso em: 24 de outubro de 2025.