

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL DE LA SANTA CREU I SANT PAU

**CORRELACIÓN ENTRE LOS CAMBIOS
ESTRUCTURALES CEREBRALES (RM) Y EL
DETERIORO COGNITIVO EN EL SÍNDROME DE
TEMBLOR y ATAXIA ASOCIADO AL SÍNDROME DEL
CROMOSOMA X FRÁGIL(FXTAS)**

TESIS DOCTORAL

ESTHER GRANELL MORENO

DIRECTORES TESIS:

BEATRIZ GÓMEZ ANSÓN,

ANTONIO MARTÍNEZ NOGUERA

BARCELONA 2014

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

Trabajo que presenta ESTHER GRANELL MORENO para optar al grado de doctor en Medicina y Cirugía, realizado bajo la dirección de:

-La Dra. BEATRIZ GÓMEZ ANSÓN, Doctora en Medicina, Jefe Clínico de la Unidad de Neurorradiología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y Profesora Asociada de Radiología de la UAB

-El Dr. ANTONIO MARTÍNEZ NOGUERA, Doctor en Medicina, Jefe Clínico de Radiología General del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y Profesor Titular de Radiología de la UAB

Drs,

Beatriz Gómez Ansón

Antonio Martínez Noguera

Esther Granell Moreno

Tesis adscrita al Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB) y realizada en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, con la colaboración del Servicio de Bioquímica y Genética Molecular del Hospital Clínic de Barcelona.

Barcelona, mayo de 2014

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo
en el FXTAS

La Dra. Beatriz Gómez Ansón, Doctora en Medicina, Jefe Clínico de la Unidad de Neurorradiología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y Profesora Asociada de Radiología de la UAB

CERTIFICA:

Que Esther Granell Moreno, licenciada en Medicina y especialista en Radiodiagnóstico, ha trabajado bajo mi dirección, habiendo obtenido y estudiado el material del trabajo titulado

“Correlación entre los cambios estructurales cerebrales (RM) y el deterioro cognitivo en el síndrome de temblor y ataxia asociado al síndrome del cromosoma X frágil (FXTAS)”

Estudio que termina en el día de la fecha con todo aprovechamiento, habiéndolo revisado el que suscribe y estando conforme con su presentación para ser juzgado como tesis doctoral

Y para que conste a todos los efectos, firmo la presente en Barcelona, a 6 de Mayo de 2014

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo
en el FXTAS

El Dr. Antonio Martínez Noguera, Doctor en Medicina, Jefe Clínico de Radiología General del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y Profesor Titular de Radiología de la UAB

CERTIFICA:

Que Esther Granell Moreno, licenciada en Medicina y especialista en Radiodiagnóstico, ha trabajado bajo mi dirección, habiendo obtenido y estudiado el material del trabajo titulado

“Correlación entre los cambios estructurales cerebrales (RM) y el deterioro cognitivo en el síndrome de temblor y ataxia asociado al síndrome del cromosoma X frágil (FXTAS)”

Estudio que termina en el día de la fecha con todo aprovechamiento, habiéndolo revisado el que suscribe y estando conforme con su presentación para ser juzgado como tesis doctoral

Y para que conste a todos los efectos, firmo la presente en Barcelona, a 6 de Mayo de 2014

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco a la Dra. Gómez Ansón por haberme guiado en este proyecto de investigación que ha derivado en la presente tesis, la calidad de su aportación científica y la confianza depositada en mí.

Dras. Montse Milà i Laia Rodríguez, genetistas del Hospital Clínico de Barcelona, por su importantísima colaboración, tanto en tareas logísticas como en la recogida de datos y estudio genético, sin las cuales este proyecto no habría sido posible.

Dr. Javier Pagonabarraga, neurólogo de la Unidad de Trastornos del Movimiento, por su excelente colaboración en la visita y estudio neurológico de todos los pacientes.

A Olga López, por su colaboración en la evaluación neuropsicológica y apoyo en la recogida de datos.

A Yolanda Vives, Jordi Delgado, Jordi Casals y resto de compañeros y grandes colaboradores del PIC (Port D'Informació Científica), por su inestimable ayuda en la transferencia, procesado y análisis estadístico de las imágenes. Gracias por su amabilidad y su total disposición.

A Manuel de Juan y Fidel Núñez, compañeros de los que siempre he recibido apoyo.

A Antonio Martínez, por su ayuda y confianza.

A mi familia, por su apoyo incondicional y por sus horas cedidas.

Por último y fundamental, gracias a todos los pacientes, sus familiares y voluntarios por ofrecerse para participar en este estudio.

Las personas dependientes necesitan de los otros para conseguir lo que quieren. Las personas independientes consiguen lo que quieren gracias a su propio esfuerzo. Las personas interdependientes combinan sus esfuerzos con los esfuerzos de otros para lograr un éxito mayor.

Stephen Covey

ÍNDICE:

1. INTRODUCCIÓN: EL SÍNDROME DE TEMBLOR-ATAXIA ASOCIADO AL SÍNDROME DEL CROMOSOMA X FRÁGIL (FXTAS)	14
1.1. Genética	15
1.2. Epidemiología	20
1.3. Criterios diagnósticos	21
1.4. Asociación clínico-patológica	25
1.5. Asociación neuropatológica “in vivo”	28
1.5.1. Estudios de imagen anatómica	28
1.5.2. Estudios de imagen estructural	29
1.6. Perfil cognitivo/demencia en FXTAS	33
2. JUSTIFICACIÓN	35
3. OBJETIVOS	37
4. HIPÓTESIS	39
5. MÉTODOS	41
5.1. Muestra	42
5.2. Estudio genético, clínico y neuropsicológico	43
5.3. Estudios de imagen: Protocolo RM	45
5.3.1. Estudio morfológico	45
5.3.2. Postprocesado del estudio RM 3T	47

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo
en el FXTAS

5.4. Análisis de datos	51
6. RESULTADOS	52
6.1. Epidemiología	53
6.1.1. Estudio neuropsicológico	53
6.2. Neuroimagen	58
6.2.1. Hallazgos en RM	58
6.2.2. Volúmenes hipocampales: comparación entre los grupos ...	65
6.2.3. Correlación entre la neuroimagen, la neuropsicología y la genética	66
6.2.3.1. Correlación entre los volúmenes hipocampales y la neuropsicología.....	66
6.2.3.2. Correlación entre los volúmenes hipocampales y la genética	67
6.2.4. Análisis del volumen de las subregiones hipocampales	67
6.2.5. Análisis de la forma hipocampal	71
7. DISCUSIÓN	72
8. RESUMEN y FUTURAS LÍNEAS DE TRABAJO	80
9. CONCLUSIONES	88
10. BIBLIOGRAFIA	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelo de la patogénesis de las mutaciones del gen <i>FMR1</i>	15
Figura 2. Síndrome del X-frágil vs FXTAS	19
Figura 3. Representación esquemática del mecanismo de toxicidad por ganancia de función del ARN propuesta en la patogénesis del FXTAS	26
Figura 4. Análisis de forma del hipocampo	30
Figura 5. Esquema de las fases del proceso y ejemplo de análisis de la forma hipocampal	49, 50
Figura 6. Patrón de atrofia en FXTAS	58
Figura 7. Pérdida de volumen de tronco y cerebelo	59
Figura 8. Hiperseñal en la sustancia blanca periventricular y de los pedúnculos cerebelosos medios	59
Figura 9. Hiperseñal lateral putaminal en un paciente con FXTAS	60
Figura 10. Hiperseñal lateral putaminal en un premutado sin FXTAS	60
Figura 11. Hiperseñal en cuerpo calloso, en un paciente con FXTAS	61
Figura 12. Hiperseñal en cuerpo calloso, en un premutado sin FXTAS ...	61
Figura 13. Resultado estadístico con representación de las diferentes áreas con alteración de la forma hipocampal	71

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Expansión del gen FMR1 y consecuencia clínica	17
Tabla 2. Criterios diagnósticos de FXTAS	21
Tabla 3. Formas de presentación de FXTAS	22
Tabla 4. Indicaciones de despistaje de FXTAS	24
Tabla 5. Escala visual de Scheltens	46
Tabla 6. Características clínicas y demográficas en FXTAS, premutados sin FXTAS y controles	54
Tabla 7. Características neuropsicológicas de los pacientes con FXTAS, premutados mayores (PreM) y controles mayores (CM)	57
Tabla 8. Hallazgos RM en los premutados	61
Tabla 9. Valores de volúmenes hipocampales	65
Tabla 10. Volumen de las subregiones hipocampales	68
Tabla 11. Comparativa del volumen de cada subregión hipocampal entre FXTAS con memoria alterada y premutados con memoria normal	70

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparativa del resultado de la escala de Scheltens entre FXTAS, premutados mayores y controles mayores	64
Gráfica 2. Volumen de las subregiones hipocampales	69

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxinucleico

ADNc: Ácido Desoxinucleico citoplasmático

AMS tipo C: Atrofia Multisistémica variante Cerebelosa

ARN: Ácido Ribonucleico

ARNm: Ácido Ribonucleico mensajero

CGG: Triplete de Citosina-Guanina-Guanina

CJ: Controles Jóvenes (<50 años)

CM: Controles Mayores (>50 años)

ERM: Espectroscopía por Resonancia Magnética

FDR: False Discovery Rate

FLAIR: Fluid Attenuated Inversion Recovery

FMR1: Gen del Retraso Mental Ligado al cromosoma X Frágil

FMRP: Proteína del gen *FMR1*

FOP: Fallo Ovárico Prematuro

FS: Freesurfer

FXS: Síndrome del X Frágil

FXTAS: Síndrome de Temblor-Ataxia Ligado al cromosoma X

IDT: Imagen de Difusión Tensorial

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

LTD: Proteína de la Depresión sináptica a Largo Plazo

NAA: N-Acetil Aspartato

NAA/Cr: cociente entre N-Acetil Aspartato y Creatina

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

PIC: Port D'Informació Científica

PreJ: Premutados Jóvenes (<50 años)

PreM: Premutados Mayores (>50 años)

RM: Resonancia Magnética

RMf: Resonancia Magnética Funcional

ROI: Región de interés

TE: Tiempo de Eco

TR: Tiempo de Repetición

SPHARM.PDM : Spherical harmonic description – Point Distribution Model

ABREVIATURAS DE NOMBRES PROPIOS:

BG Beatriz Gómez Ansón

EG Esther Granell Moreno

JP Javier Pagonabarraga Mora

LR Laia Rodríguez Revenga

MM Montserrat Milà Recasens

OL Olga López Mourel

YV Yolanda Vives Gilabert

1. INTRODUCCIÓN: EL SÍNDROME DE TEMBLOR Y ATAXIA ASOCIADO AL SÍNDROME DEL CROMOSOMA X FRÁGIL (FXTAS)

1. INTRODUCCIÓN: EL SÍNDROME DE TEMBLOR Y ATAXIA ASOCIADO AL SÍNDROME DEL CROMOSOMA X FRÁGIL (FXTAS)

1.1. Genética

El gen *FMR1* es polimórfico, y en condiciones normales, contiene entre 5 y 55 repeticiones del triplete CGG, con una media de 29-30 repeticiones¹. El gen *FMR1* codifica para una proteína ligadora de ARN, la FMRP, que se asocia a poliribosomas y regula la transcripción en las dendritas de las neuronas, contribuyendo a su desarrollo. También se le ha atribuido función en la sinaptogénesis y maduración espinal.

La expansión del triplete CGG se considera una mutación dinámica, existiendo 3 condiciones diferentes asociadas al gen *FMR1*: la mutación completa, que produce el Síndrome del X Frágil (FXS) cuando existen >200 repeticiones; premutación, que produce el FXTAS cuando existen entre 55 y 200 repeticiones; y el estado de normalidad, cuando el número de repeticiones es inferior a 55². En la figura 1 se representa el modelo de patogénesis de la premutación y de la mutación completa.

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

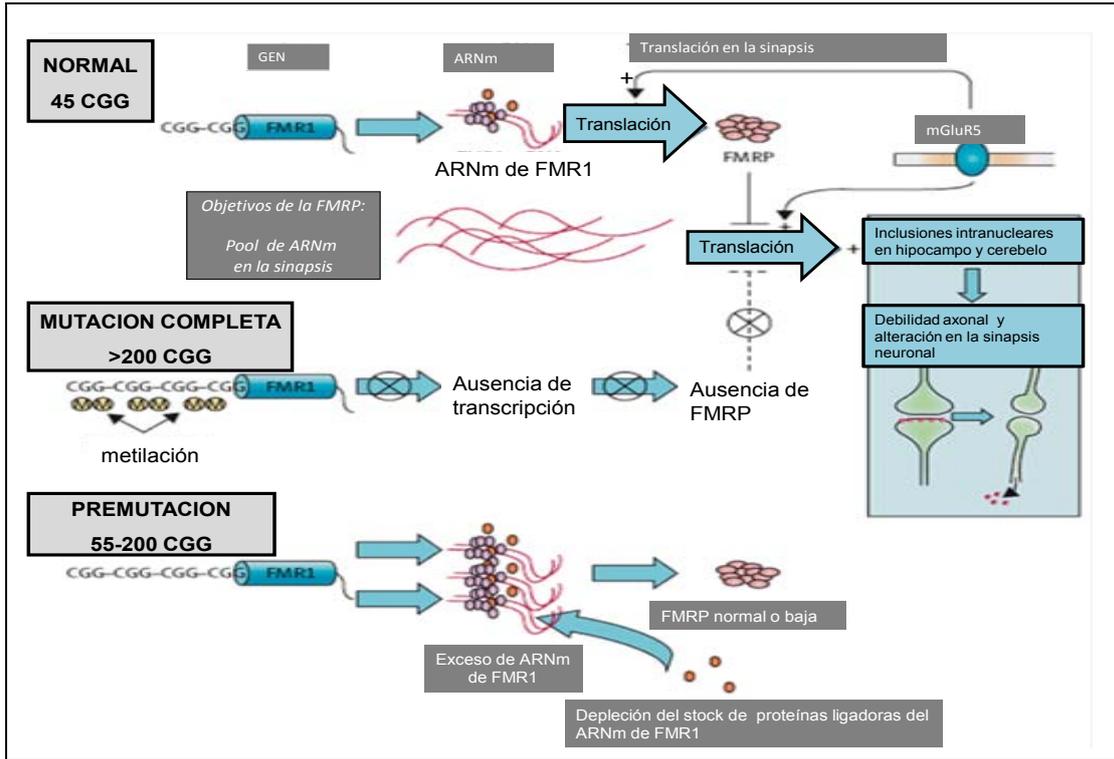


Figura 1. Modelo de patogénesis del FXS y FXTAS (adaptado del trabajo de Jacquemont et al., 2007)³. En sujetos normales, el receptor metabotrópico glutamatergico (mGluR) estimula la traducción de ARNm de FMR1 sintezando la proteína FMRP, que es una proteína ligando del ARN que actúa como inhibidora de la traducción en la sinapsis neuronal. Por otro lado, la proteína FMRP inhibe al receptor mGluR y, como feedback negativo de traducción de ARNm, con lo que se autoregula la producción de FMRP. Cuando mGluR está muy activada, se estimula la traducción de diferentes proteínas relacionadas con la alteración de la sinapsis neuronal, además de la producción de inclusiones intranucleares en diferentes regiones cerebrales. Esto es lo que ocurre en la mutación completa. Sin embargo, en un estado de premutación, se produce una sobreproducción de ARNm de FMR1, y esto puede conducir a dos situaciones, que los niveles de proteína FMRP sean normales o estén disminuidos. Cuando los niveles de FMRP son normales, no se producirá FXTAS, pero cuando estén reducidos, existirá un exceso de proteínas de ARNm. En este proceso también existe una situación de secuestro de otras proteínas chaperonas, ubiquitininas/proteasomas y proteínas ligadoras de CGG, que en consecuencia conllevan a la formación de inclusiones intranucleares y, finalmente, a la disfunción celular¹.

El rango en el cual el número de repeticiones se encuentra entre 45 y 54 se denomina "zona gris". Esta zona gris en principio es considerada como dentro de la normalidad, aunque condiciona alelos más inestables en la transcripción, por lo que en siguientes generaciones puede desarrollar un alelo premutado⁴.

Recientemente se han descrito 3 casos de pacientes con clínica de FXTAS y repeticiones de CGG dentro de la zona gris, por lo que realmente el límite de repeticiones para considerar la premutación podría ser ampliado⁵.

El **Síndrome del X-frágil** es la causa hereditaria más frecuente de retraso mental en varones⁶, cuya base molecular consiste en una expansión superior a 200 repeticiones del triplete CGG en el extremo 5' del gen *FMR1* (mutación completa)⁷⁻⁹. La mutación completa causa hipermetilación del gen *FMR1* y, en consecuencia, una ausencia de la expresión del gen (no se produce la proteína *FMR1*)¹⁰.

La expansión del triplete entre 55 y 200 repeticiones implica un estado de premutación¹¹, no existe metilación del gen y se producen niveles normales o ligeramente bajos de proteína FMRP (tabla 1).

Tabla 1. Extensión (CGG)n, expresión de *FMR1* y consecuencia clínica para las dos situaciones en las que diferente extensión del triplete condicionan transcripciones, traslaciones y fenotipos diferentes.

GENOTIPO	PREMUTACIÓN	MUTACIÓN COMPLETA
(CGG)n	55 <n<200	n>200
Transcripción	↑	↓
ARNm <i>FMR1</i>	↑	Ausencia
Traslación	↓	↓
FMRP	↓	Ausencia
FENOTIPO	FXTAS	FXS

Los portadores de la premutación con FXTAS tienen un fenotipo aparentemente normal, esto contribuyó a que inicialmente se considerara que todos los premutados eran asintomáticos y que sólo representaban un riesgo por la posible transmisión de la mutación completa en las siguientes generaciones, debido a la inestabilidad de los alelos y la capacidad de amplificación generacional de una madre portadora a un progenitor¹².

Posteriormente, diferentes estudios demostraron que algunos de los premutados desarrollaban cuadros neuropsicológicos y neuropsiquiátricos¹³, fallo ovárico prematuro en mujeres¹⁴, disfunción autonómica, cuadros de parkinsonismo y temblor/ataxia¹⁵ e incluso demencia¹⁶. En 2001 se describieron 5 casos de varones premutados que padecían de temblor de intención, disfunción ejecutiva y cerebelosa, deterioro cognitivo y parkinsonismo, asociado a atrofia cerebral¹⁷. También existía neuropatía periférica y disfunción autonómica. La degeneración del sistema nervioso se atribuyó a los niveles elevados de ARNm de *FMR1*, dado que estudios previos ya se había descrito la existencia de niveles altos en linfocitos de ARNm de *FMR1* en los premutados¹⁸.

Así pues, el síndrome FXTAS se describió como tal por primera vez en 2001 por RJ y PJ Hagerman, como una enfermedad neurodegenerativa de manifestación tardía, principalmente afectando a los varones portadores de la premutación¹⁹. (fig.2)

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

	
FXS	FXTAS
Trastorno del neurodesarrollo	Trastorno neurodegenerativo
Origen congénito	Inicio >50 años
Curso estático	Curso progresivo
Mutación completa <i>FMR1</i> ; CGG>200	Premutación <i>FMR1</i> ; CGG 55-200
Causa: ausencia o reducción de FMRP	Causa: aumento de ARNm de <i>FMR1</i>

Figura 2. FXS vs. FXTAS. La figura 2 refleja que el FXS y el FXTAS son dos procesos diferentes, cada uno de ellos como resultado de una extensión de tripletes diferente de un mismo gen (*FMR1*). Se muestran el ejemplo fenotípico en 2 varones, ya que se afectan con mayor frecuencia que las mujeres, debido a que la localización del gen (y por tanto, su posible mutación) se encuentra en el cromosoma X₂₀.

También se ha descrito el desarrollo de FXTAS en mujeres premutadas, aunque ocurre con una frecuencia inferior y las manifestaciones clínicas son más moderadas y de establecimiento más tardío²¹⁻²⁵. La explicación radica en la existencia de un segundo alelo normal y en la inactivación aleatoria del cromosoma X premutado. Además, parecen existir otras diferencias específicas del sexo adicionales que justifican una penetrancia inferior en las mujeres²⁶.

1.2. Epidemiología

En la población de América del Norte se describió que 1 de cada 813 varones y 1 de cada 259 mujeres eran portadores de la premutación^{27,28}. Un estudio de Israel que incluyó a 40000 mujeres detectó una prevalencia de 1 premutada de cada 154, sin existir diferencias de frecuencia si se tenía en cuenta la historia familiar de retraso mental y de anomalías del desarrollo²⁹. Resulta evidente que diferentes grupos étnicos muestran prevalencias diferentes de la premutación, siendo menor en poblaciones de Asia³⁰ y mayor en la región del Mediterráneo³¹.

El estudio realizado en España de una serie de pacientes con ataxia de aparición tardía, reveló una prevalencia estimada de FXTAS de alrededor de 1,15% en varones y de un 3% en mujeres³². De manera similar, se encontró una frecuencia del 1,6% de FXTAS en pacientes adultos con trastornos de movimiento que eran negativos para el gen de la enfermedad de Huntington³³. Se detectaron signos de FXTAS en un 16,5% de las mujeres premutadas, y en un 45,5% de los varones premutados mayores de 50 años. Además, en las mujeres premutadas había una penetrancia del 18,6% de fallo ovárico prematuro, del 15,9% de patología tiroidea y del 24,4% de dolor miopático crónico³⁴.

Así pues, no todos los portadores de la premutación desarrollan FXTAS, pero múltiples estudios coinciden en que la penetrancia de FXTAS en varones con la premutación es superior a un tercio^{21-23,35,36}, siendo esta inferior en mujeres^{21,23,25}. La penetrancia aumenta cuanto mayor es el número de repeticiones de CGG, principalmente cuando es superior a 70, por lo que a mayor expansión, mayor riesgo de desarrollar FXTAS. Adicionalmente, la penetrancia se incrementa con la edad, llegando a ser hasta del 50% para hombres de entre los 70 y 90 años.

Dado que la premutación es relativamente común en varones en la población general y que los varones premutados de mayor edad son los que tienen mayor riesgo de desarrollar FXTAS, ante un paciente de sexo masculino con ataxia y temblor intencional, debería de descartarse la mutación del gen *FMR1*, especialmente si se acompaña de parkinsonismo, disfunción autonómica o deterioro cognitivo, independientemente de la historia familiar²¹.

1.3. Criterios diagnósticos

El diagnóstico de FXTAS frecuentemente pasa por alto. En primer lugar, porque es un síndrome descrito hace relativamente poco¹⁷ y muchos facultativos no están familiarizados con él y, en segundo lugar, porque la forma de presentación inicial puede ser bastante variable (tabla 2). En fases iniciales los pacientes pueden presentarse con un solo síntoma clínico, que suele ser el temblor esencial, y esto puede sugerir múltiples diagnósticos³⁵, aunque se ha descrito algún caso de FXTAS con clínica inicial de demencia y parkinsonismo, sin temblor ni ataxia³⁷.

Tabla 2. Formas de presentación de FXTAS:

Manifestaciones clínicas asociadas

Disfunción autonómica ^{38,39}

Neuropatía sensitiva de vías largas ^{40,41},

Manifestaciones psiquiátricas: depresión, ansiedad, irritabilidad ^{42,43}

Deterioro cognitivo y demencia ⁴⁴

Disfunción oculomotora ⁴⁵

Distonía focal (extremidad, cervical, laríngea) ⁴⁶

Paraparesia espástica ⁴⁷

Presentaciones infrecuentes

- Pseudo-temblor esencial ⁴⁸
- Pseudo-atrofia multisistémica ⁴⁹
- Demencia rápidamente progresiva ⁵⁰
- Pseudo- neuropatía de Charcot-Marie-Tooth ⁴⁰
- Paraparesia espástica ⁴⁷

Heterogeneidad clínica dentro de una misma familia ^{48,51}

Los criterios diagnósticos aceptados de manera generalizada son los propuestos por Jacquemont y colaboradores. Para el diagnóstico de FXTAS se establecieron 3 categorías diagnósticas: “definitivo”, “probable” y “posible”³⁵. Cada categoría refleja la combinación de criterios clínicos y radiológicos (tabla 3):

Tabla 3 .Criterios diagnósticos de FXTAS en portadores de la premutación para el gen FMR1

CRITERIO OBLIGATORIO: nº repeticiones de CGG de 55–200.				
Categorías diagnósticas	Signos radiológicos		Signos clínicos	
	Mayor	Menor	Mayor	Menor
“definitivo” un signo radiológico mayor + un signo clínico mayor	-Lesiones en pedúnculos cerebelosos medios y/o en tronco cerebral.	-Lesiones en sustancia blanca cerebral -Atrofia cerebral generalizada	-Temblor intencional	-Parkinsonismo
”posible” un signo radiológico mayor + un signo clínico menor o dos signos clínicos mayores			-Ataxia	-Alteración de memoria de corto plazo -Disfunción ejecutiva
“probable” un signo radiológico menor + un signo clínico mayor				

El diagnóstico de **FXTAS “definitivo”** requiere de la existencia de una premutación en el gen *FMR1* y de la presencia de hiperintensidad de señal RM en el tronco cerebral y/o pedúnculos cerebrales medios (signos neurorradiológicos mayores), asociado a temblor intencional y/o ataxia (síntoma clínicos mayores). Adicionalmente, pueden existir otros signos neurorradiológicos menores, que incluyen lesiones en sustancia blanca cerebral o atrofia cerebral moderada; y otros signos clínicos menores, que incluyen parkinsonismo, alteración de memoria de moderada a severa, o disfunción ejecutiva.

El diagnóstico de **FXTAS “probable”** requiere de la presencia de: o bien, un signo neurorradiológico mayor asociado a un signo clínico menor, o de dos signos clínicos mayores.

El diagnóstico de **FXTAS “posible”** requiere de un signo neurorradiológico menor y uno clínico mayor.

Un diagnóstico acertado es vital, tanto para el paciente como para su familia, pues las generaciones siguientes están en riesgo para el FXS. Por este motivo el diagnóstico de FXTAS en un premutado requiere de consejo genético para él y su familia₂₀ (tabla 4):

Tabla 4. Indicaciones de despistaje de FXTAS

Ataxia cerebelosa	Causa desconocida en paciente \geq 50 años
Tembler de acción	Causa desconocida en paciente \geq 50 años + Ataxia cerebelosa, parkinsonismo o demencia
Demencia	Causa desconocida en paciente \geq 50 años + Ataxia cerebelosa, parkinsonismo o temblor de acción
Signos de FXTAS	Hiperseñal en pedúnculo cerebelosos medios o Historia familiar de fallo ovárico prematuro o Historia familiar de enfermedad relacionada con el gen <i>FMR1</i> Atrofia multisistémica, variante cerebelosa (AMS tipo C)*

*especialmente si el temblor de acción está presente o la duración de la enfermedad en mayor del tiempo esperable⁴⁹.

La hiperseñal en pedúnculos cerebelosos medios se considera el marcador más específico de FXTAS, además de la formación de inclusiones intranucleares⁵². Sin embargo, la hiperseñal en pedúnculos cerebelosos medios en realidad no es tan específica de FXTAS como se describió inicialmente⁵³. El diagnóstico diferencial principal debe establecerse con la AMS-C, donde se ha descrito hiperseñal en pedúnculos cerebelosos medios hasta en el 42% de pacientes⁵⁴, aunque también se han descrito casos en formas de atrofia olivopontocerebelosa, diferentes ataxias espinocerebelosas, enfermedades metabólicas (enfermedad de Wilson, hipoglucemia, cirrosis), algún tipo de infarto (ej.: de territorio de las arterias cerebelosas antero-inferiores por disección de la arteria vertebral), encefalopatía posterior reversible, parálisis supranuclear progresiva, enfermedades inflamatorias desmielinizantes y en neoplasias (linfoma, glioma, carcinomatosis meníngea)⁵⁴. Incluso se ha descrito este hallazgo en algunos individuos sanos, independientemente de su edad⁵⁶. Por lo que siempre hay que tener en cuenta todos los hallazgos radiológicos en

su conjunto y en su contexto clínico específico, para tener un correcto enfoque de cada caso.

Recientemente, en un trabajo de 2012, se ha relacionado en FXTAS la presencia de hiperseñal en los núcleos dentados del cerebelo con una mayor severidad en la escala de ataxia, y la hiperseñal en el cuerpo calloso, como marcador de progresión de FXTAS. Además, se ha sugerido incluir la hiperseñal del cuerpo calloso como criterio radiológico mayor, dado que su frecuencia de presentación (68%) fue similar a la de los pedúnculos cerebelosos medios⁵⁷.

1.4. Asociación clínico-patológica

Greco y cols. (2002) fueron los primeros en describir la presencia de inclusiones intranucleares en neuronas y astrocitos en tejido cerebral post-mortem de varones con FXTAS⁵⁸.

Estas inclusiones contenían ARNm de *FMR1*⁵⁹, además de otras proteínas entre las cuales se incluían las proteínas ligando de ARN⁶⁰.

La mayoría de estudios sobre la patogénesis de FXTAS apoyan el modelo de ganancia de función tóxica (fig. 3), que justifica el origen del daño neurológico en los premutados en el exceso de ARNm de *FMR1*, formando inclusiones intranucleares, gliosis y atrofia cerebral⁶¹. Esto es reforzado por el hecho de que en los adultos con el SXF, en el cual no se produce neurodegeneración, no existen inclusiones intranucleares⁵⁹.

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

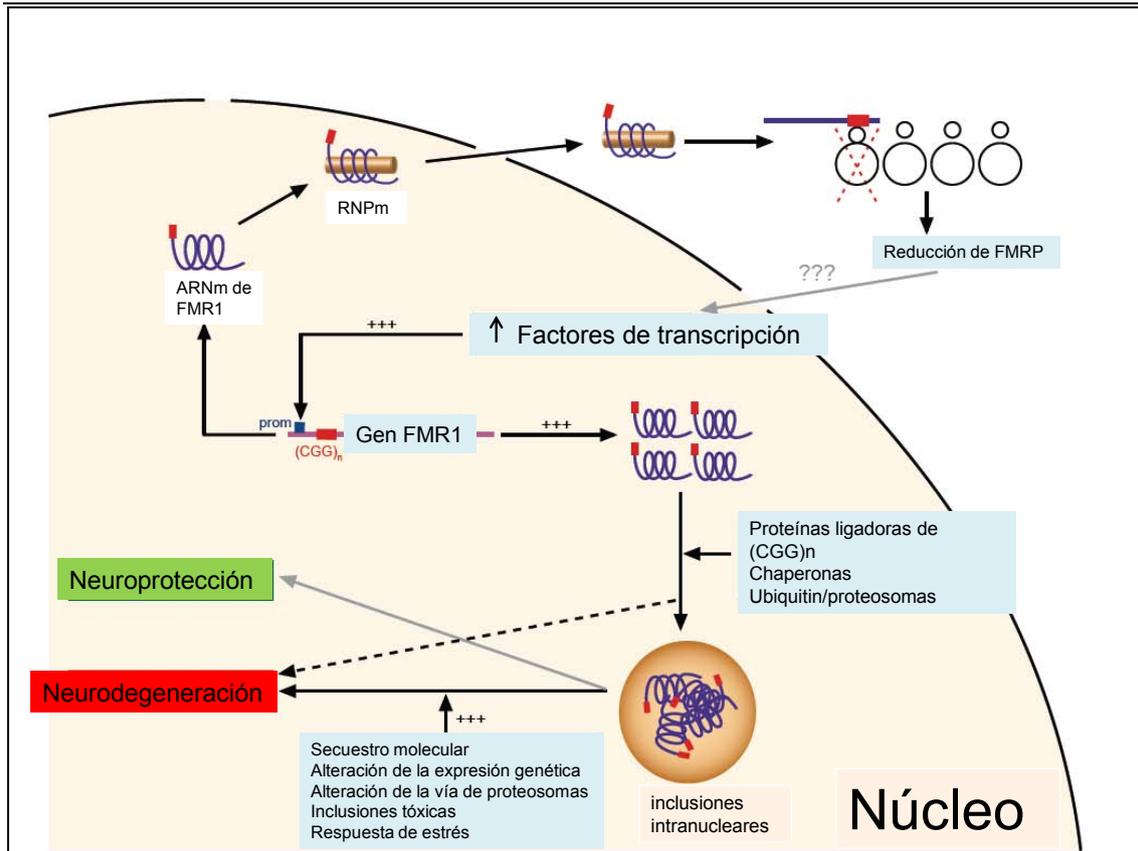


Figura 3. Representación esquemática del mecanismo de toxicidad por ganancia de función del ARN propuesta en la patogénesis del FXTAS (adaptado del trabajo de Oostra et al., 2009). El gen FMR1 se transcribe en el núcleo y se transporta por los ribosomas. La expansión del triplete CGG presente en el extremo 5'UTR del gen FMR1 impide la traducción, produciéndose menores niveles de FMRP. Al existir una alteración en la transcripción, los niveles de ARNm aumentan, la célula atrae chaperonas y elementos del sistema ubiquitina/proteasoma y se forman inclusiones intranucleares. El secuestro de proteínas en la formación de inclusiones intranucleares parece ser la causa de la neurodegeneración.

Así pues, la clave neuropatológica del FXTAS es la formación de inclusiones intranucleares en neuronas y astrocitos del sistema nervioso central (cerebro, cerebelo y médula espinal). La afectación cerebral predomina en el córtex, el tronco cerebral y, con una mayor densidad de inclusiones, en el hipocampo⁵⁸. Los estudios neuropatológicos muestran espongiosis en la sustancia blanca subcortical y profunda, así como en los pedúnculos cerebelosos medios⁶².

En el cerebelo se aprecia gliosis, degeneración axonal, inclusiones intranucleares en el núcleo dentado, y pérdida de células de purkinje, aunque no se observan inclusiones en estas últimas⁶³. También se han demostrado inclusiones intranucleares en otros tejidos, como el hipofisario o el testicular⁶⁴. Desafortunadamente, no se dispone de estudios neuropatológicos en premutados sin FXTAS fallecidos por otras causas. Estudios con modelos animales han encontrado una menor viabilidad en las neuronas hipocampales de ratones con la premutación, las cuales expresan proteínas de estrés más elevadas a medida que crecen. La reducción en la viabilidad resulta congruente con la toxicidad producida por el exceso de ARNm y la neurodegeneración asociada al FXTAS⁶⁵, por lo que parece existir un cierto trastorno en el neurodesarrollo también presente en los premutados del *FMR1*, y por tanto, no exclusivo de los sujetos con la mutación completa.

Los estudios neuropsicológicos en premutados muestran alteraciones en las funciones ejecutivas y memoria a corto plazo⁶⁶ y parece ser que las alteraciones neuropsicológicas aparecen más temprano que los propios síntomas de FXTAS, sugiriendo que el proceso que finalmente desencadena en FXTAS se desarrolla a una edad mucho más temprana⁶⁷.

Diferentes estudios han demostrado en varones premutados una relación entre la extensión de tripletes de CGG y: la alteración en la memoria de corto plazo⁶⁸, la disfunción motora⁶⁹, la severidad de la afectación de sustancia blanca, el grado de atrofia cerebral⁷⁰ e hipocampal⁷¹, la severidad de los signos neuropáticos⁷², el grado de neuropatía según medidas de la conducción nerviosa⁷³, la reducción del volumen cerebeloso⁷¹ y con el número de inclusiones intranucleares, tanto en neuronas como en astrocitos. Además, en varones premutados, la extensión de los tripletes CGG se considera predictor de la edad de debut de las alteraciones motoras de FXTAS⁷⁴. Por todo esto, el

número de repeticiones de CGG se puede considerar un potente predictor de la afectación clínica y neuropatológica del sistema nervioso central⁶⁴. A diferencia de los varones, en las mujeres premutadas no se ha demostrado una relación tan clara entre la extensión de las repeticiones del triplete CGG y algunos de los hallazgos neurorradiológicos, como es la reducción del volumen cerebeloso⁷¹.

1.5. Asociación neuropatológica “in vivo”

Los estudios de RM cerebral permiten analizar los cambios estructurales y diferencias macroscópicas en cuanto a la forma, tamaño y morfología de múltiples regiones cerebrales o de todo el cerebro en su conjunto. Asimismo, no sólo aporta información subjetiva sobre el tamaño cerebral, si no que permite obtener otro tipo de información objetivable, cuantificable y analizable estadísticamente, tanto del volumen cerebral global como de determinadas estructuras cerebrales, entre las cuales se puede considerar sustancia gris, sustancia blanca, ganglios basales, cerebelo, regiones corticales de interés, etc. Por este motivo, la RM representa una herramienta muy útil para analizar de forma indirecta el riesgo de desarrollar FXTAS y, eventualmente, de demencia.

1.5.1. Estudios de imagen anatómica

En el FXTAS, la RM cerebral muestra cambios de señal en la sustancia blanca cerebral subependimaria y profunda de predominio prefrontal, en la sustancia blanca profunda de los hemisferios cerebelosos y adelgazamiento del cuerpo calloso, córtex temporal inferior, amígdala-hipocampo y cerebelo⁷⁵. La

presencia en los premutados de una hiperseñal en secuencias T2 en los pedúnculos cerebelosos medios y en la sustancia blanca cerebral ya tiene valor como criterio de diagnóstico de FXTAS⁷⁶. En 2004, el grupo de Jacquemont propuso los criterios diagnósticos basándose en los hallazgos más característicos clínico-radiológicos comentados previamente⁷⁷.

En mujeres premutadas con FXTAS, el patrón de las alteraciones neurorradiológicas (la reducción del volumen cerebeloso y la alteración de la señal en pedúnculos cerebelosos medios) es similar, aunque la relevancia de los hallazgos y su frecuencia son más discretos que en los varones⁷⁶. Esto es congruente con la diferencia fenotípica de FXTAS entre hombres y mujeres. Sin embargo, en las mujeres no se ha encontrado una asociación entre los hallazgos neurorradiológicos y la genética, en concreto con la longitud de la extensión de tripletes de CGG, a diferencia de los varones⁷¹.

1.5.2. Estudios de imagen estructural

Con el desarrollo de las técnicas de procesado de la imagen han aparecido múltiples técnicas de enfoque, interpretación y análisis de la morfología cerebral. Para ello, se dispone de técnicas volumétricas (Voxel-Based Morphometry-VBM) para el estudio del volumen cerebral global o de determinadas regiones de interés corticales o subcorticales, como puede ser para el estudio de los ganglios basales o del hipocampo. También existen técnicas de grosor cortical (FreeSurfer) que también puede ser global de ambos hemisferios cerebrales o seleccionando una ROI (Región de interés) que permite analizar el grosor y/o volumen cortical de una región cortical concreta, así como también del volumen de estructuras subcorticales. Recientemente se han desarrollado otras técnicas de análisis de superficie o forma (SPHARM). Como ejemplo de este tipo de estudios cabe destacar el cambio de forma del hipocampo entre pacientes con enfermedad de Alzheimer

con respecto a los controles⁷⁸. Otros estudios en relación con la enfermedad de Parkinson, han descrito alteraciones en la forma de la zona central medial-parafascicular, un área conocida por presentar una degeneración selectiva⁷⁹. Los resultados preliminares de un estudio realizado en nuestro centro muestran alteraciones significativas en la forma hipocampal (señalado en rojo) en pacientes con enfermedad de Parkinson de larga evolución con demencia (PDD) comparado con pacientes con enfermedad de Parkinson sin deterioro cognitivo (PD) (fig.4).

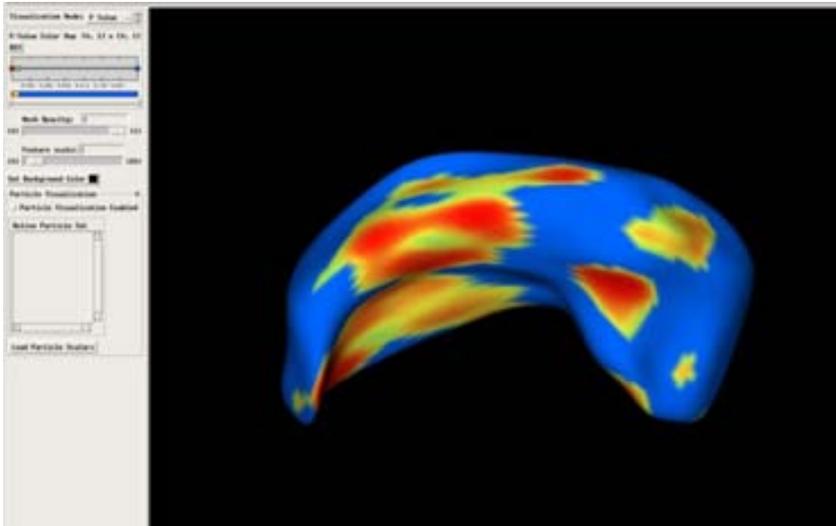


Figura 4. Análisis de forma del hipocampo (software SPHARM-PDM automatizado en web). Las áreas en rojo representan zonas de alteración selectiva de la forma en pacientes dementes con Parkinson versus pacientes con parkinson sin demencia. Se aprecia una alteración en el cuerpo del hipocampo (área CA1), mientras que prácticamente no se observan alteraciones en la cabeza del hipocampo.

Otro estudio preliminar ha analizado la forma del ventrículo en pacientes gemelos mono y bicigóticos con esquizofrenia, con el objetivo de reducir la variabilidad biológica, dado que estos sujetos muestran genes idénticos, demostrando diferencias significativas en cuanto a la forma, sin alterar el volumen total ventricular⁸⁰.

En el caso de FXTAS, existe poca bibliografía específica sobre las alteraciones estructurales tales como el patrón de pérdida de volumen cerebral y cerebeloso y, específicamente en el caso del hipocampo, únicamente existe algún estudio en el que se relaciona el volumen hipocampal con la sintomatología psicológica (en premutados sin y con FXTAS)⁸¹. También se han descrito, diferencias de volumen hipocampal entre portadores de la premutación^{70,81} e, incluso, diferencias en la activación hipocampal en RM funcional⁸². Sin embargo, hasta la fecha, no se ha llevado a cabo ningún estudio de su forma ni en relación con la sintomatología de FXTAS.

Los estudios de RM avanzada, que se basan en el análisis volumétrico de diferentes estructuras cerebrales, han demostrado que los varones premutados con FXTAS muestran una pérdida de volumen en la sustancia gris cerebelosa, tronco cerebral, complejo amígdalo-hipocampal, caudado e ínsula bilateralmente; además del córtex frontoparietal dorsomedial⁸³. También demuestran afectación de la sustancia blanca en cerebelo, tronco cerebral, protuberancia, giro cingulado y rodilla del cuerpo caloso, y en los tractos del lóbulo frontal y temporal. La correlación negativa entre la densidad de sustancia gris y blanca y el nº de repeticiones de CGG en algunas de estas localizaciones, apoya el hecho de que la expansión del triplete CGG tiene efectos biológicos y pueden modular el envejecimiento celular⁷⁰. En los premutados sin FXTAS ya se aprecia una reducción del volumen del tronco cerebral comparado con los controles, aunque esta es similar a la existente entre los premutados con FXTAS, apoyando la teoría de que los hallazgos neurorradiológicos preceden a la sintomatología de FXTAS.

En cuanto al volumen hipocampal se refiere, los resultados encontrados son variables. En un estudio de Loesch y cols, se describe un aumento del volumen hipocampal en premutados sin FXTAS, por lo que se ha sugerido la existencia también de cambios del neurodesarrollo además de neurodegenerativos en los pacientes premutados; hecho que sería congruente con los hallazgos

neuropatológicos descritos⁸⁴. Sin embargo, otras series o no han encontrado diferencias de volumen significativas⁸² o han encontrado tanto pérdida de volumen del complejo amígdalo-hipocampal⁷⁵ como del propio hipocampo⁸¹ entre premutados y controles, por lo que los resultados parecen ser influenciados por diferentes factores como pueden ser la edad, el sexo, el tiempo de evolución de la sintomatología o la repetición de triplete de CGG.

En cuanto a la influencia del sexo en el volumen hipocampal, se ha encontrado una correlación negativa entre la extensión de la amplificación de triplete CGG y el volumen hipocampal derecho, en mujeres premutadas, y el volumen hipocampal izquierdo, en varones⁸¹. Así pues, debería de valorarse la muestra en cada grupo para analizar e interpretar correctamente los resultados de cada serie. Por ejemplo, en el trabajo de Selmezy y cols. no se encontraron diferencias significativas de volumen amigdalario entre controles y premutados sin FXTAS, pero se encontró una correlación negativa entre el volumen amigdalario y la extensión de triplete sólo en el rango más bajo de repeticiones de CGG, por lo que este factor también puede influir en los resultados⁸⁵. El trabajo de Koldewyn y cols. no demostró diferencias en el volumen hipocampal; sin embargo, en estudios de RM funcional sí mostraron una reducción de la activación del hipocampo izquierdo y un aumento de la activación del córtex parietal derecho, sugiriendo alteraciones de memoria inmediata ya presentes en los premutados sin FXTAS. Además, se encontró una correlación negativa entre la activación hipocampal izquierda y los niveles de ARNm y la clínica psiquiátrica⁸².

Otros estudios con RMf en varones premutados encontraron hipoactivación amigdalario y en otras regiones relacionadas con la cognición social⁸⁶, por lo que la disfunción hipocampal y amigdalario es consistente, no sólo por las alteraciones neuropatológicas, si no que también por las funcionales y estructurales. Tanto los estudios neuropatológicos post-mortem, como los de RM estructural sugieren una afectación preferente del hipocampo en los individuos afectados por la premutación.

La alteración de la memoria, además de la disfunción ejecutiva también se ha relacionado con una disfunción en la activación frontal presente en estudios de RMf de premutados sin y con FXTAS⁸³.

Además de los cambios descritos en los estudios de RM anatómica y funcional, se han encontrado alteraciones en los estudios de espectroscopía por RM (ERM). En estos se aprecia una reducción de los niveles de N- Acetil-Aspartato (NAA) en la protuberancia⁸⁷ y una disminución de la relación NAA/Cr (NAA/Creatina) en protuberancia, cerebelo y ganglios basales⁸⁸.

1.6. Perfil cognitivo/demencia en FXTAS

A pesar de que los síntomas de FXTAS predominantemente son motores, tales como la ataxia y el temblor, los problemas psiquiátricos y el deterioro cognitivo se manifiestan también con frecuencia¹⁷. Los estudios radiológicos y patológicos se han centrado en los cambios neurodegenerativos presentes en estructuras cerebrales específicas, con especial predilección por el cerebelo y el sistema límbico⁶². Tal y como se ha comentado con anterioridad, la función de la proteína FMRP es importante en el desarrollo de la sinapsis y en la plasticidad neuronal. Dado que la función cognitiva depende de la plasticidad en la generación de sinapsis, una mutación que produzca un exceso o defecto en la misma puede condicionar alteración de la memoria y capacidad de aprendizaje. Las regiones cerebrales implicadas en la cognición y plasticidad se encuentran moduladas por las proteínas LTD y FMRP, en el hipocampo y el cerebelo³.

Durante los últimos años, el deterioro cognitivo en pacientes con FXTAS se ha investigado con un creciente interés. Los varones con FXTAS muestran alteraciones en la inteligencia, función ejecutiva, memoria a corto y largo plazo, memoria declarativa y del aprendizaje, velocidad en el procesado de

información, secuencia espacial y función visuoespacial. De forma similar, en los portadores de la premutación asintomáticos también se han observado alteraciones en la memoria declarativa y de corto plazo. Algunos estudios en premutados asintomáticos han descrito una relación entre el nº de repeticiones de CGG y la memoria de corto plazo, estando esta última más alterada cuanto mayor era la extensión de repeticiones del triplete CGG⁶⁶.

Teniendo en cuenta que las manifestaciones clínicas fundamentales del FXTAS son la ataxia cerebelosa y el temblor intencional²², Un estudio reciente de 2011 ha diferenciado 2 fenotipos dominantes: el primero, en el que predomina la manifestación de temblor y la aparición de la ataxia es tardía; y el segundo, en el que la ataxia es la manifestación dominante. En ambos subtipos, una vez aparece la ataxia, existe una tendencia al deterioro cognitivo frontal⁸⁹, aunque realmente se desconoce cuándo aparece el deterioro cognitivo una vez se han establecido los signos neurológicos de FXTAS.

El patrón de deterioro cognitivo se caracteriza por una demencia frontal subcortical con disfunción ejecutiva⁴², cuyos déficits difieren de la demencia tipo Alzheimer (EA)⁴³.

A pesar de que un estudio reciente describió una correlación entre el volumen del hipocampo derecho y la severidad de síntomas psicológicos en mujeres con FXTAS, no hay ningún estudio que haya investigado anomalías estructurales en relación con trastornos cognitivos y neuropsicológicos en sujetos premutados con y sin FXTAS⁸³.

2. JUSTIFICACIÓN

2. JUSTIFICACIÓN

No todos los portadores premutados desarrollan FXTAS, y no todos los FXTAS desarrollan deterioro cognitivo. A pesar de que se han descrito alteraciones típicas en RM convencional en los pacientes con FXTAS, existe evidencia de que se producen cambios cerebrales en los estudios de RM en los portadores premutados antes de que aparezca el Síndrome propiamente dicho. Por ejemplo, en el trabajo de Brunberg y cols. se propone que la alteración de la sustancia blanca precede a la clínica de FXTAS⁷⁵.

La afectación hipocampal está demostrada en estudios neuropatológicos y en modelos animales con ratones, pero el papel concreto y el patrón de la afectación del hipocampo en el FXTAS no es bien conocido. Es por ello, que una caracterización precisa ayudaría a proporcionar marcadores predictivos y pronósticos de la enfermedad, que permitirían diferenciar a aquellos portadores que se beneficiarían de un potencial tratamiento neuroprotector precoz.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

En el presente trabajo se pretende:

-Revisar y describir las alteraciones anatómicas visibles en RM craneal de alto campo (3T) en portadores premutados con y sin FXTAS.

-Buscar marcadores de RM (alto campo, 3T) en portadores preclínicos de FXTAS.

-Correlacionar los hallazgos anatómicos más relevantes con los valores genéticos y bioquímicos obtenidos en el estudio específico (repetición de tripletes CGG, niveles de ARNm y de proteína FMRP).

-Correlacionar las alteraciones anatómicas de RM con los hallazgos neuropsiquiátricos/neuropsicológicos más relevantes.

Por tanto, el objetivo primordial es realizar un estudio de las posibles alteraciones cerebrales globales y más específicas, en concreto del volumen y forma del hipocampo, así como una correlación con la clínica neuropsicológica/neuropsiquiátrica, y la genética. Así pues, se pretende establecer biomarcadores que puedan predecir el desarrollo de la enfermedad en fases preclínicas, pudiendo así propiciar la instauración de medidas y tratamientos neuroprotectores en fases precoces.

4. HIPÓTESIS

4. HIPÓTESIS

La hipótesis de este trabajo es que a lo largo del perfil fenotípico de la premutación del gen *FMR1* existen alteraciones en la neuroimagen (RM) que pueden preceder a la clínica de FXTAS. Además, y de forma específica, existen alteraciones del volumen y forma del hipocampo que ya estarían presentes en portadores premutados, aunque éstas serían más notorias en aquellos con criterios clínico-radiológicos de FXTAS. Estas alteraciones estarían relacionadas con la neuropsicología y con la genética. En el caso del hipocampo, se esperaría que a mayor pérdida de volumen y/o alteración de la forma, existiera una mayor afectación de la memoria, así como un mayor número de repeticiones de tripletes, mayor cantidad de ARNm y menor cantidad de proteína FMRP.

5. MÉTODOS

5. MÉTODOS

5.1. Muestra

Se incluyeron cuarenta y cinco sujetos, 31 premutados y 14 controles. Los pacientes premutados para el gen *FMR1*, fueron diagnosticados prospectivamente en el Departamento de Bioquímica y Genética Molecular del Hospital Clínic de Barcelona (MM y LR). El Hospital Clínic es un hospital terciario, centro de referencia para el diagnóstico genético del Síndrome del X Frágil (SXF). Los familiares de los niños con SXF fueron estudiados para buscar la premutación del *FMR1*. Aquellos que se encontraban con un nº de CGG dentro del rango de la premutación, fueron derivados al Departamento de Trastornos del Movimiento del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, donde se realizaba su estudio neurológico (JP) y neuropsicológico (OL).

Este estudio fue aprobado por el comité de ética de ambos hospitales. El consentimiento informado fue obtenido en todos los sujetos tras la explicación de todos los procedimientos implicados en el mismo.

El estudio, además, fue dotado con becas FIS PI07/770 (IP Beatriz Gómez-Ansón) y PI12/00879 (IP Montserrat Milà Recasens).

5.2. Estudio genético, clínico y neuropsicológico

El estudio molecular de las repeticiones de CGG en el gen *FMR1*, se llevó a cabo mediante PCR y/o Southern blotting. La amplificación con PCR se realizó primers f y c marcados previamente con fluorescencia, según lo descrito previamente por Fu y cols. (1991). El producto de la reacción fue analizado en un ABI310 (Applied Biosystems, Foster City, CA). El tamaño de los alelos se determinó mediante el programa Seqaid II TM versión 3.81. Todos los resultados de la muestra incluida en este trabajo fueron realizados en el mismo centro, evitando la eventual variabilidad debido al proceso de cada centro.

Para la detección de ARNm de *FMR1*, el ARN total fue aislado a partir de 2.5 ml de sangre periférica mediante un método standard (Purescript kits, Gentra). La reacción de síntesis de ADNc se realizó mediante el Kit ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems, Foster City, CA) y siguiendo el protocolo establecido. Se utilizaron tres concentraciones de ARN total (400ng, 200, ng, and 100 ng, per 100 µl reaction) de cada muestra para asegurar la linealidad de la respuesta del PCR-RT. La determinación cuantitativa de PCR por fluorescencia de los niveles relativos de ARNm de *FMR1* se realizó mediante el pack TaqMan y Universal PCR master mix obtenido de Applied Biosystems (Foster City, CA). Para cada muestra, la reacción cuantitativa de PCR se realizó por duplicado con el uso de una muestra estándar de ARN obtenida de una muestra pareada por sexo perteneciente a un rango normal de repeticiones CGG. Adicionalmente, la expresión de FMRP en raíz de cabello fue determinada mediante el estudio inmunohistoquímico determinado Willemsen y cols. (1999)₉₀. El número de FMRP positivos en raíz de cabello fue expresado en porcentaje del total de cabellos examinados. Un control positivo fue incluido en cada análisis.

El diagnóstico de FXTAS se realizó mediante la conjunción de los criterios clínicos y radiológicos, definidos previamente³⁵. Los premutados sin FXTAS se subdividieron en 2 grupos, dependiendo de su edad: premutados mayores (preM) y jóvenes (preJ), según si eran mayores o menores de 50 años, respectivamente. Las mujeres y cuidadores de los premutados sin enfermedad ni clínica cardiovascular, neurológica ni cardiológica previa, se seleccionaron como grupo control. Estos, a su vez, también se dividieron en controles mayores (CM>50 años) y controles jóvenes (CJ<50 años).

La valoración clínica (realizado por JP) del síndrome rígido-acinético y de temblor y ataxia se realizó mediante la escalas ICARS (International Cooperative Ataxia Rating Scale), Fahn-Tolosa-Marin y la sección motora de la UPDRS-III (Unified Parkinson's Disease Rating Scale).

El estudio neuropsicológico (realizado por OL) incluyó tests de función cognitiva global y de tareas específicas para los diferentes dominios cognitivos. La valoración global de la función cognitiva se realizó mediante el Mini-Mental Test⁹¹. El análisis de los dominios específicos incluyó: (i) funciones ejecutivas, con el digit span forward and backward subtests del WAIS-III⁹², Stroop test⁹³, y el Frontal Assessment Battery⁹⁴; (ii) memoria verbal, con el Rey Auditory Verbal learning Test (RAVLT; memoria inmediata y a largo plazo)⁹⁵; (iii) lenguaje con la escala de Boston Naming test⁹⁶; (v) y habilidad visuoespacial con el test de las líneas de orientación de Benton⁹⁷. También se pasó un test para analizar separadamente la función ejecutiva, la desinhibición y la apatía con el Frontal Systems and Behavior scale⁹⁸, que cuantifica la valoración de los tres parámetros del comportamiento característicos en una disfunción frontal.

Por último, se valoró la presencia de otros trastornos neuropsiquiátricos y del humor mediante la Neuropsychiatric Inventory (NPI)⁹⁹ y la Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)¹⁰⁰.

5.3. Estudios de neuroimagen: Protocolo RM

Los estudios de neuroimagen se realizaron mediante una Resonancia Magnética (RM) de alto campo, 3 Teslas (Philips) del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

El protocolo de estudio incluyó en primer lugar imágenes estructurales de alta resolución con secuencias especialmente diseñadas: T1 3D de todo el cráneo Turbo Field Echo, TR=6.7, TE=3.1, tamaño de voxel=1x1x1.2. También se incluyeron otras secuencias: T2, FLAIR, difusión tensorial y espectroscopía con voxel centrado en el córtex medial prefrontal y en ambos hipocampos. Todos los estudios fueron anonimizados y almacenados en el Port d'Informació Científica (PIC) de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB), para ser posteriormente postprocesados (con ayuda de YV).

5.3.1. Estudio morfológico

El estudio anatómico y morfológico visual de los estudios de RM craneal se centró en las secuencias T1, con reconstrucciones en los 3 planos del espacio, para la valoración de la presencia o no de pérdida de volumen cerebral, del cuerpo caloso, del tronco cerebral y del cerebelo. En el estudio morfológico visual también se valoró en la secuencia FLAIR 3D, con reconstrucciones en los 3 planos, la presencia o no de hiperseñal en los pedúnculos cerebelosos medios, el cuerpo caloso, el tronco cerebral y la sustancia blanca cerebral. Posteriormente, se valoró la presencia o no de hiperseñal lateral putaminal.

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

La cuantificación, tanto de la pérdida de volumen como de la hiperseñal, se clasificó en ausente (-), ligera (+), moderada (++) o severa (+++). La hiperseñal de la sustancia blanca cerebral, además, se estudió de forma específica mediante la escala semicuantitativa de Scheltens ¹⁰¹ (tabla 5).

Tabla 5. Escala visual de Scheltens. Valoración semicuantitativa de la hiperseñal en regiones separadas. Rango de la escala entre paréntesis, n=número de lesiones, a=ausencia de hiperseñal.

Hiperseñal periventricular (0-6)		
Copa occipital	0/1/2	0= a
Copa frontal	0/1/2	1≤ 5 mm
Banda lateral	0/1/2	2≥ 5mm y <10 mm
Hiperseñal en la sustancia blanca (0-24)		
Frontal	0/1/2/3/4/5/6	0= a
Parietal	0/1/2/3/4/5/6	1< 3mm, n ≤ 5
Occipital	0/1/2/3/4/5/6	2< 3mm, n > 6
Temporal	0/1/2/3/4/5/6	3= 4-10 mm, n ≤ 5
		4= 4 mm, n > 6
		5= >11mm, n>1
		6= confluyente
Hiperseñal en ganglios basales (0-30)		
Caudado	0/1/2/3/4/5/6	
Putamen	0/1/2/3/4/5/6	
Pálido	0/1/2/3/4/5/6	
Tálamo	0/1/2/3/4/5/6	
Cápsula interna	0/1/2/3/4/5/6	
Focos de hiperseñal infratentorial (0-24)		
Cerebelo	0/1/2/3/4/5/6	
Mesencéfalo	0/1/2/3/4/5/6	
Protuberancia	0/1/2/3/4/5/6	
Bulbo	0/1/2/3/4/5/6	

5.3.2. Postprocesado de RM 3T

-Análisis de volumen: Freesurfer

Para el estudio de la sustancia gris se utilizó una herramienta de cuantificación y conversión instalada en GRID (Freesurfer versión 4.3.1; disponible en <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Mediante esta herramienta se realizan diferentes procesos: extracción de todo el tejido no cerebral¹⁰², transformación de Talairach, normalización de intensidad, delimitación entre la sustancia gris y blanca, correcciones automáticas¹⁰³ y deformación de la superficie en función de los bordes entre sustancia blanca, sustancia gris y líquido cefalorraquídeo.

Posteriormente, se realiza un análisis visual y correcciones manuales de los eventuales errores de la delimitación automática de los márgenes entre sustancia gris, blanca y líquido cefalorraquídeo, mediante el mismo investigador (EG). Finalmente, se produce la transformación de Talairach, el registro de atlas, mapas esféricos de superficie y parcelaciones, que permiten realizar posteriores comparaciones con un análisis estadístico potente¹⁰⁴.

Las diferencias entre 2 grupos de sujetos se realizan mediante un modelo general lineal que analiza con una t-student vertex por vertex. Los mapas son suavizados mediante un modelo Gaussiano a lo largo de la superficie. Los resultados se corrigen para comparaciones múltiples, determinados con una p de 0,05.

Mediante el Freesurfer (FS) se obtuvieron los volúmenes hipocampales (proceso automatizado), así como el volumen intracraneal total. El grupo de investigación en neuroimagen tiene estandarizada esta metodología, habiéndola utilizado para otras enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson¹⁰⁵ o la enfermedad de Alzheimer¹⁰⁶.

Para validar el procedimiento automatizado mediante FS, la segmentación manual del hipocampo se llevó a cabo también manualmente mediante el programa ITK-SNAP por el mismo investigador (OL), ciego a la información clínica, según el método previamente descrito por Sánchez-Benavides y cols en 2010¹⁰⁷. Se seleccionaron 10 sujetos de forma aleatoria y se procesaron dos veces (de forma automática) por el mismo investigador (YV) para valorar la variabilidad intraobservador. Posteriormente, otro investigador (OL) realizó 10 segmentaciones (manualmente) para evaluar la variabilidad interobservador. El estudio resultó en un valor de coeficiente de correlación intraclase de 0,92 interobservador y de 0,94 intraobservador.

- Análisis de forma hipocampal: SPHARM-PDM

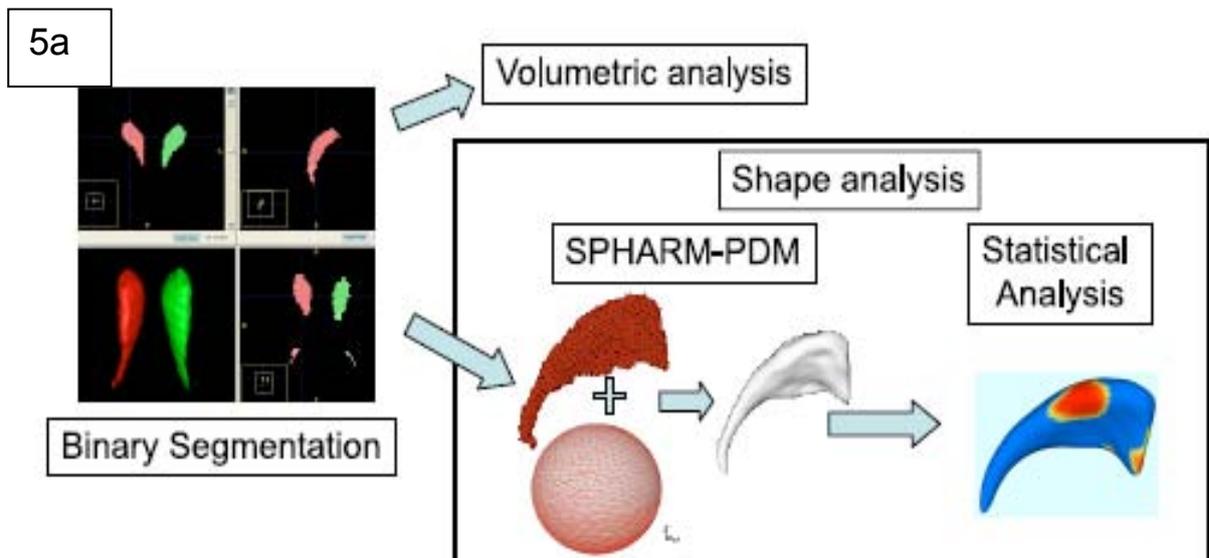
Para el análisis de forma del hipocampo se utilizó una metodología específica para analizar estructuras subcorticales, mediante el SPHARM.PDM (spherical harmonic description – point distribution model). Esta herramienta permite representar la superficie de la zona que se quiere analizar con diferentes grados de detalle.

El procedimiento a seguir se puede dividir en 5 pasos (fig. 5):

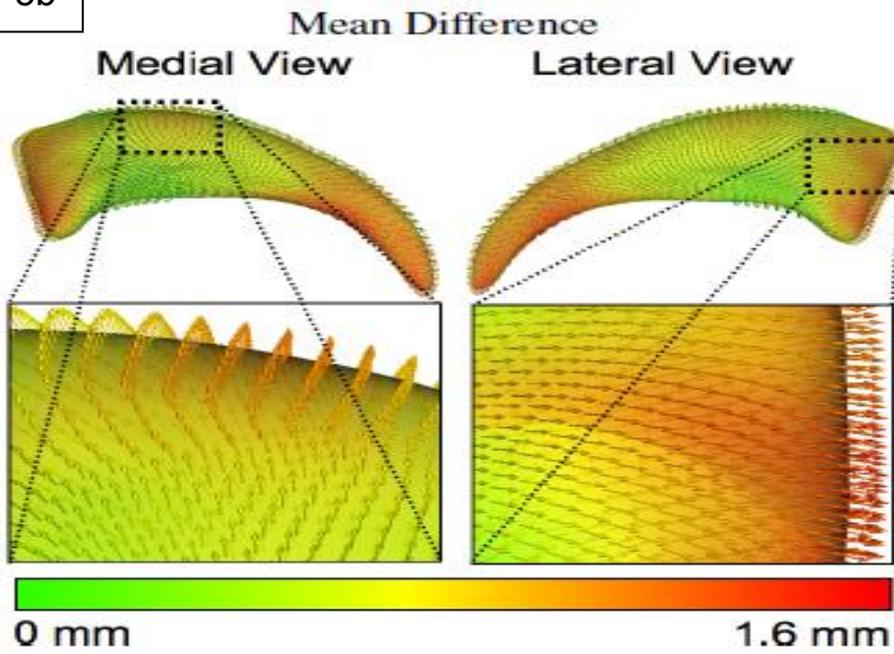
- Pre-procesado de los datos → En primer lugar las resonancias magnéticas se segmentan con un software automático (FS), o bien semi-automático (ITK-SNAP).
- Extracción de la estructura subcortical seleccionada, en este caso el hipocampo, una vez están las imágenes segmentadas.
- Topología esférica (SPHARM) → La superficie de la estructura segmentada se convierte en una malla de puntos y a partir de esta se realiza una parametrización esférica.
- Alineamiento, para poder establecer una correspondencia entre las diferentes superficies.

- SPHARM-PDM → El resultado se divide en superficies triangulares, formada por icosaedros.
- Estadística → Las diferencias entre los grupos se analizaron utilizando un método independiente de plantilla (template), el “Hotelling T2 two sample metric”. Los resultados que se obtienen son además, mapas de valores de p, corregidas o no con el Family Wise Error, y mapas de las diferencias entre las medias de los grupos:

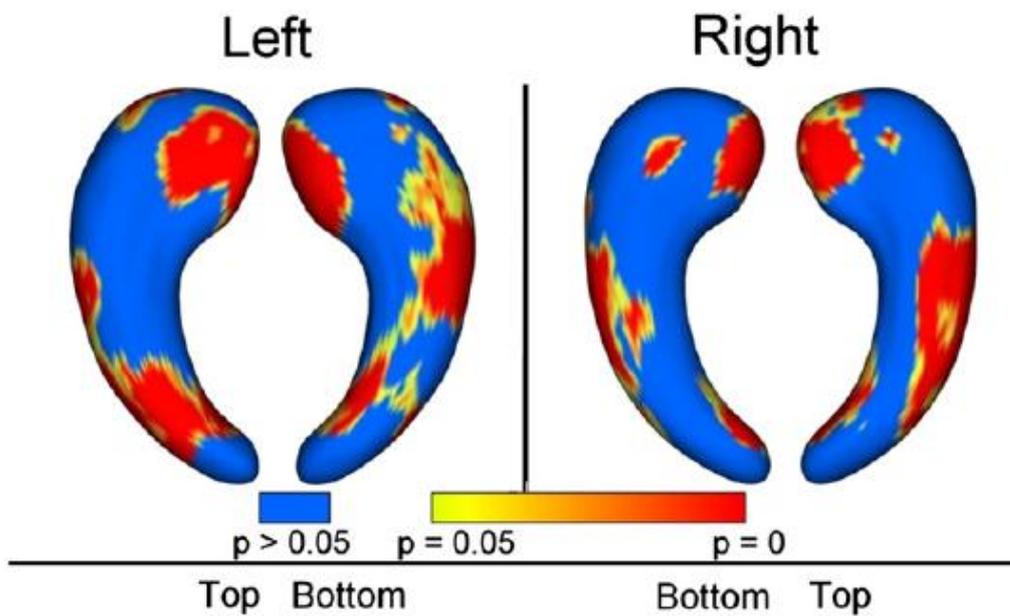
Figura 5. Esquema de las fases del proceso y ejemplo de análisis de la forma hipocampal. En la figura 5a se muestran los diferentes pasos del procesado de la imagen para obtener el análisis de forma del hipocampo, y así posteriormente realizar el estudio estadístico entre dos grupos. En las figuras 5b y 5c se muestran las diferentes formas en las que se puede representar el resultado estadístico: mediante vectores donde se aprecia el sentido hacia donde se produce dicho cambio de forma (5b), o con un mapa de colores de la significación estadística (5c). En todos los casos se muestran ambos hipocamos desde diferentes perspectivas, en su visión medial y lateral (5b), inferior y superior (5c).



5b



5c



5.4. Análisis de datos

Se utilizó el programa PASW Statistics 18, incluyendo correlaciones (Pearson) para validar la volumetría manual mediante FS. La comparación de los parámetros de alteración de los volúmenes hipocampales entre los diferentes grupos se llevó a cabo mediante ANOVA, post-hoc (Tuckey B y Bonferroni), y t-test. El análisis de correlación de Pearson se realizó para evaluar la relación entre los datos genéticos y los volúmenes hipocampales. La significación estadística se definió en $p < 0,05$. Se incluyó el estudio de las diferencias entre las superficies de cada grupo mediante medidas de "Hotelling T2 two sample metric". Los valores estadísticos se corrigieron para comparaciones múltiples con FDR dando lugar a mapas de significación estadística.

6.RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. Epidemiología

De los 31 pacientes premutados para el gen FMR1 que se incluyeron en este estudio, 12 de ellos tenían criterios de FXTAS (♂ 50%, 67.1 ± 10 años de edad, 4.9 ± 3 años de duración de la enfermedad, 92 ± 28 repeticiones de CGG), y 19 eran portadores de la premutación (9 jóvenes y 8 mayores), sin criterios clínicos ni radiológicos. Todos los sujetos fueron apareados por edad y educación. Los pacientes con FXTAS y los premutados fueron también apareados según las repeticiones del triplete CGG.

6.1.1 Estudio neuropsicológico

Las características clínicas de los pacientes con FXTAS fueron similares a las descritas en otras series (tabla 6). El temblor postural e intencional en las extremidades superiores estaba presente en el 91.6%, el 8.3% de los pacientes tenía temblor de reposo, el 66.7% ataxia, el 33.4% un síndrome rígido acinético, y un 33.3% cumplían criterios clínicos DSM-IV de demencia.

Los pacientes con FXTAS, al compararlos con los premutados y los controles, se caracterizaban por tener unas puntuaciones más altas en la escala ICARS (gait and kinetic substests), en la escala de temblor de Fahn-Tolosa-Marin y en la escala de parkinsonismo UPDRS-III. Los premutados mayores y los controles mayores, no diferían en los síntomas neurológicos (tabla 7).

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

Tabla 6. Características clínicas y demográficas en FXTAS, premutados no FXTAS y controles.

	FXTAS (n=12)	PreM (n=10)	CM (n=8)	PreJ (n=9)	CJ (n=6)
Edad	67.1 ± 10*	60.1 ± 9*	67.3 ± 5*	45.4 ± 3	40.2 ± 7
Escolaridad, años	7.1 ± 2*	8.7 ± 3*	7.8 ± 3*	9.1 ± 2	10.3 ± 3
Hombres, %	50 %	25 %	42.8 %	20 %	10 %
Duración enf, años	± 3	-	-	-	-
Nº CGG	92 ± 28*	77 ± 15*	-	101 ± 29*	-
ICARS					
. total	12.6 ± 11 [†]	0.9 ± 1.8 [†]	0 [†]	0.25 ± 0.7	0
. ataxia	5.1 ± 5 [†]	0.5 ± 1 [†]	0 [†]	0	0
. movimiento	6.1 ± 4 [†]	0.1 ± 0.35 [†]	0 [†]	0.42 ± 0.7	0
. habla	0.6 ± 1	0.3 ± 0.7	0	0	0
. óculomotor	0.5 ± 0.7	0	0	0	0
Fahn-Tolosa-Marin	7.5 ± 4 [†]	0.4 ± 0.7 [†]	0 [†]	0.36 ± 0.2	0
UPDRS-III	6.7 ± 7 [†]	0.7 ± 1 [†]	0 [†]	0.25 ± 0.8	0

Valores expresados en media ± desviación típica, o porcentaje de sujetos (%).

* Diferencias no significativas entre grupos (p>0.10)

[†] FXTAS > Premutados mayores = Controles mayores (p<0.05)

Se analizaron las diferencias neuropsicológicas de los pacientes con FXTAS, PreM (premutados mayores) y CM (controles mayores).

One-Way ANOVA mostró diferencias significativas en el MMSE ($p=0.009$), Digit Span forward ($p<0.001$) y backward ($p<0.001$), RAVLT inmediata ($p=0.01$) y de largo plazo ($p=0.001$), Stroop test interference ($p=0.02$), FAB total ($p=0.04$), series motoras ($p=0.001$), valores Go-noGo ($p=0.006$), FrSBe total ($p=0.04$), y en las escalas de disfunción ejecutiva ($p=0.03$), y apatía ($p=0.01$). No se encontraron diferencias significativas en las escalas de valoración del lenguaje (Boston Naming test; $p=0.2$) ni en la habilidad visoespacial (JLOT; $p=0.16$).

En las comparaciones Post-hoc entre los pacientes con FXTAS, los premutados y los controles mayores mostraron un patrón de deterioro cognitivo diferente en los dominios cognitivos evaluados. En todos ellos, sin embargo, el análisis de los valores crudos mostró un deterioro progresivo con la edad, siendo menor en los controles y más importante en los premutados y en los FXTAS. Los premutados únicamente mostraron peores valores en las escalas digit span forward ($p<0.001$) and backward ($p=0.05$) comparado con los controles, aunque existía una tendencia a la significación en los valores de FrSBe ($p=0.07$). Por otro lado, los pacientes con FXTAS mostraron diferencias significativas con respecto a los controles en todos los dominios cognitivos evaluados, ($p\leq 0.02$), excepto en la escala de FAB total. Además, los FXTAS puntuaron de forma significativamente peor que los premutados mayores en el MMSE ($p=0.03$), RAVLT de memoria a largo plazo ($p=0.02$), FAB de series motoras ($p=0.001$) y en FAB Go-noGo ($p=0.01$).

Al analizar las medias de ANOVA con box plots, los dominios cognitivos que mostraron un patrón más claro de deterioro progresivo de controles a premutados y a FXTAS, fueron la escala RAVLT de memoria inmediata y de largo plazo, Stroop interference effect, la escala FrSBe total, y los valores de apatía y disfunción ejecutiva, mientras que aquellos que mostraron una

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

reducción abrupta en FXTAS con respecto a los premutados mayores fueron el MMSE, FAB motor series y Go-noGo scores.

El análisis de regresión logística mostró unos valores de RAVLT-de memoria a largo plazo ($p=0.01$) y FAB motor series ($p=0.001$) de predicción independiente de conversión a FXTAS.

No se encontraron diferencias significativas entre los diferentes grupos en las escalas NPI ni en HADS.

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

Tabla 7. Características neuropsicológicas de los pacientes con FXTAS, premutados mayores (PreM) y controles mayores (CM).

	FXTAS (n=12)	PreM (n=10)	CM (n=8)	p (One-way ANOVA)	Post-hoc (Tukey)
MMSE	27±2	28.8±1	29.1±0.3	0.009	*0.03; **0.02; † NS
Digit Span Forward	3.8±0.7	4.5±0.7	6.6±0.7	<0.001	*NS; ** <0.001; † <0.001
Digit Span Backward	3.1±0.6	3.7±1	5.4±1.5	<0.001	*NS; ** <0.001; † 0.005
RAVLT memoria inmediata	9.1±3	12±2	13.1±1	0.01	*NS; **0.01; † NS
RAVLT memoria largo plazo	6.2±3	10±3	11.5±1.5	0.001	*0.02; **0.002; † NS
Stroop, interference effect	36±7	43±8	49±7	0.02	*NS; **0.01; † NS
FAB, total	13±4	16±2	16±1	0.04	*NS; **NS; † NS
FAB, motor series	1.6±0.9	2.9±0.3	2.6±0.5	0.001	*0.001; **0.02; † NS
FAB, Go-noGo	1.6±1	2.6±0.5	2.7±0.5	0.006	*0.01; **0.01; † NS
FrSBe, total	63±8	59±7	50±5	0.02	*NS; ** 0.009; † 0.07
FrSBe, disejecutivo	61±8	57±8	50±4	0.03	*NS; ** 0.02; † NS
FrSBe, apatía	69±15	58±7	52±6	0.01	*NS; ** 0.02; † NS
FrSBe, desinhibición	57±18	57±11	47.12	0.08	NS
Boston Naming Test	48±6	50±12	56±2	0.2	-
JLOT	16.4±7	21.2±4	20.3±4	0.16	-

MMSE: Mini-Mental State Examination; RAVLT: Rey Auditory Verbal Learning Test; FAB: Frontal Assessment Battery;

FrSBe: Frontal Systems Behavior scale; JOLT: Judgemnt of Line Orientation Test.

*: FXTAS vs PreM; **: FXTAS vs CM; †: PreM vs CM; NS: no-significativo

6.2. Neuroimagen

6.2.1. Hallazgos en RM.

El análisis visual de los estudios de RM craneal en los pacientes premutados con FXTAS evidenció, además de los típicos hallazgos previamente descritos, otros hallazgos adicionales. En cuanto a la pérdida de volumen cerebral, se observó una mayor prominencia de los surcos frontales, temporales y, en menor grado, parietales (fig. 6). La pérdida de volumen en el tronco cerebral y los hemisferios cerebelosos era algo más llamativa (fig. 7). Además de existir pérdida de volumen, también se apreció una alteración de la señal en la sustancia blanca periventricular, en la protuberancia y en los pedúnculos cerebelosos medios (fig. 8).

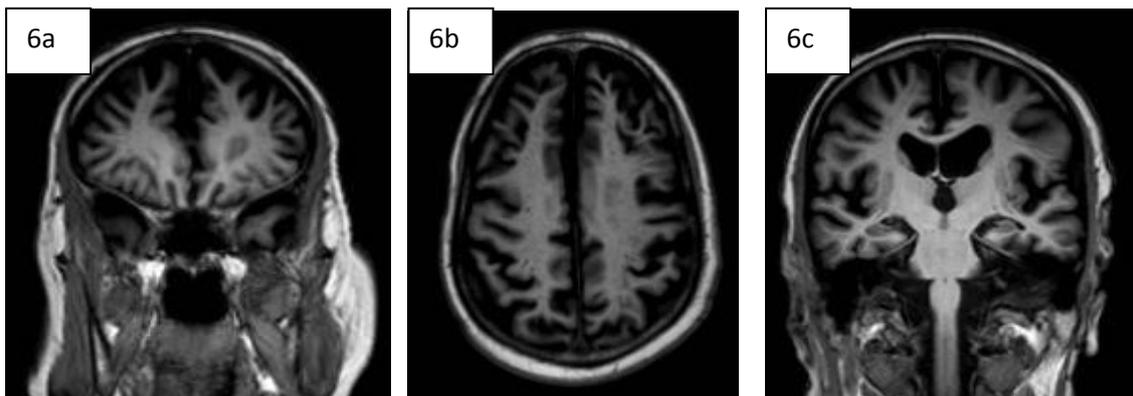


Figura 6. Patrón de pérdida de volumen en FXTAS. **6a.** Corte coronal, secuencia T1. Se observa un aumento de los surcos frontales, que son más prominentes de lo esperable para la edad. **6b.** Corte axial, secuencia T1. La pérdida de volumen frontal es mayor que la parietal. **6c.** Corte coronal, secuencia T1. También existe pérdida de volumen en los lóbulos temporales, aunque es menos llamativa.

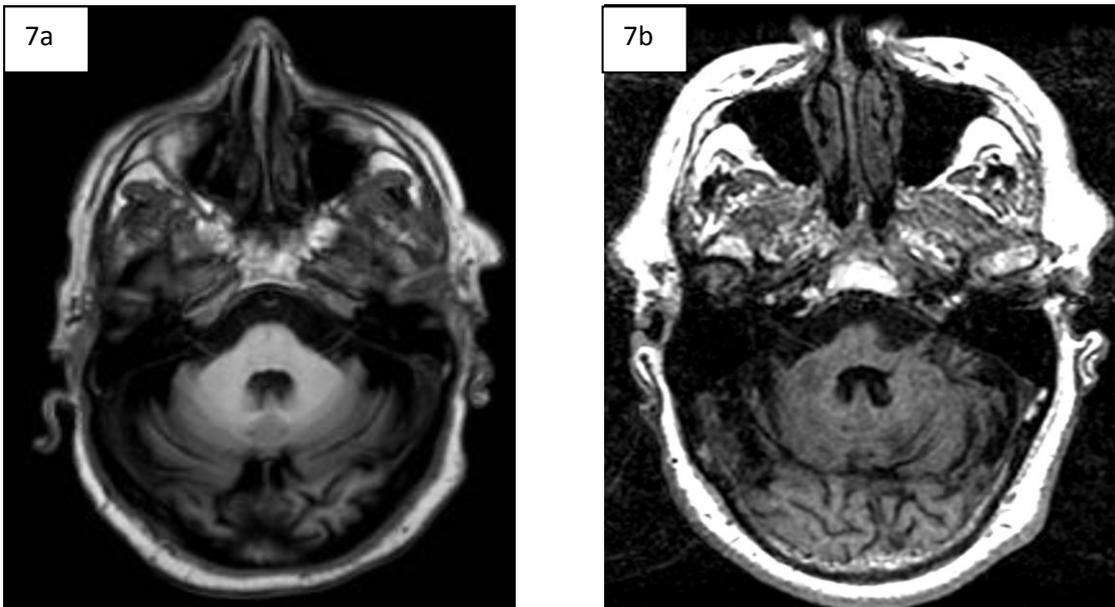


Figura 7. Pérdida de volumen de tronco y cerebelo. Obsérvese, en ambos casos, el aumento de las folias de ambos hemisferios cerebelosos, y de las cisternas prepontina y del ángulo pontocerebeloso, hallazgos que indican una pérdida de volumen cerebeloso y del tronco cerebral.

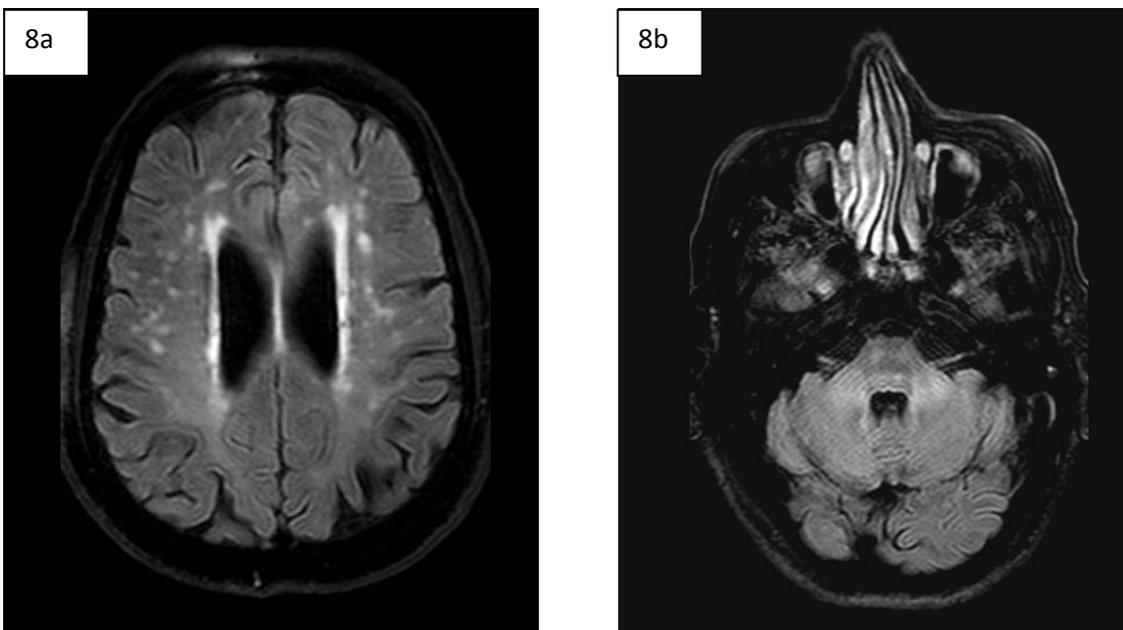


Figura 8. Hiperseñal en la sustancia blanca periventricular y en los pedúnculos cerebelosos medios. Se muestran imágenes en plano axial, ponderadas en FLAIR. Se aprecian múltiples focos de hiperseñal en la sustancia blanca periventricular (8a), en la protuberancia, así como hiperseñal en los pedúnculos cerebelosos medios (8b).

En algunos casos, adicionalmente, llamaba la atención la presencia de una hiperseñal putaminal lateral, a veces sutil, pero que se observó en casi la mitad tanto de los premutados con FXTAS (fig. 9 a y b), como de los portadores sin FXTAS (fig. 10 a y b). Este hallazgo observacional nuestro, hasta ahora no se ha descrito en el contexto de la premutación y no se asoció a una mayor clínica de parkinsonismo, medida con la escala UPDRS.

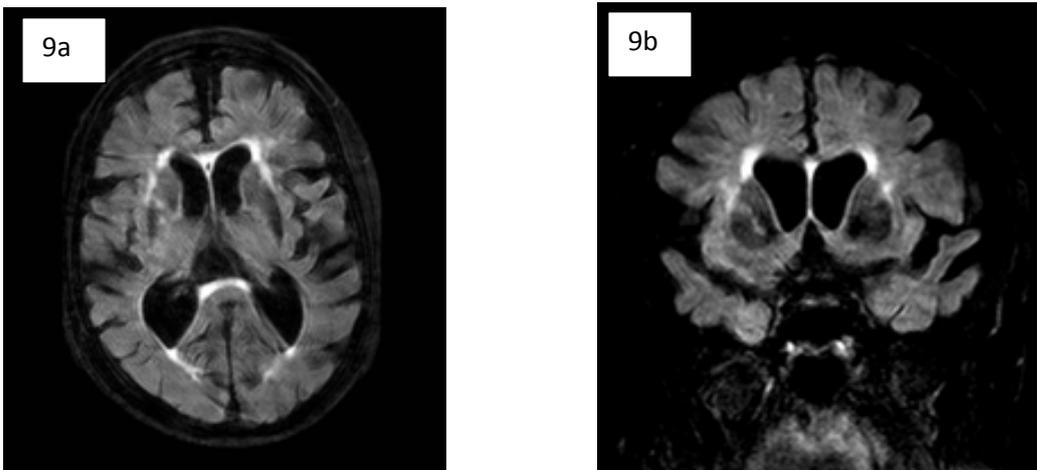


Figura 9. Hiperseñal lateral putaminal en un paciente con FXTAS. Corte axial (9a) y coronal (9b) en secuencia FLAIR, centrados a la altura de los ganglios basales.

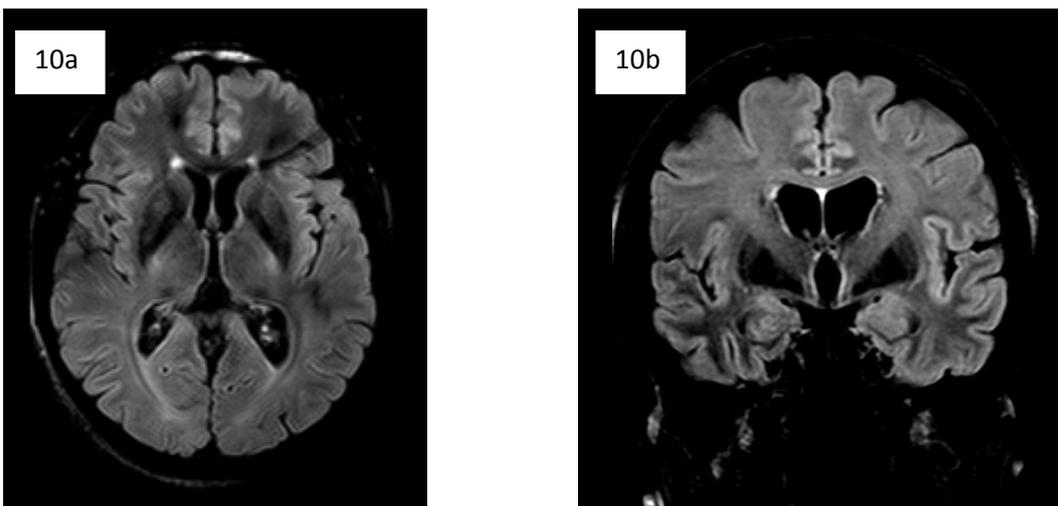


Figura 10. Hiperseñal lateral putaminal en un premutado sin FXTAS. Corte axial (10a) y coronal (10b) en secuencia FLAIR, centrados a la altura de los ganglios basales.

También se encontró adelgazamiento e hiperseñal en el cuerpo caloso, hallazgo que fue visible en más de la mitad de los pacientes con FXTAS (fig.11) y en el 10% de los premutados asintomáticos mayores de 50 años (fig.12).

Fig 11. Corte sagital en FLAIR, en un paciente con FXTAS, donde se aprecia adelgazamiento del cuerpo caloso, así como hiperseñal en su interior.

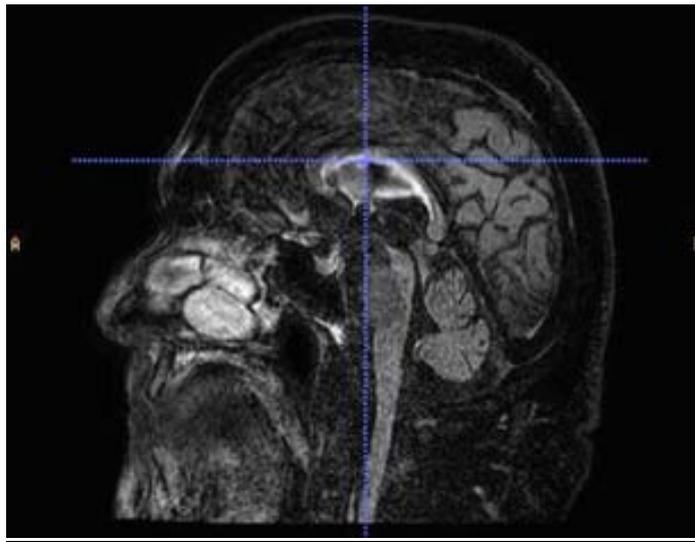
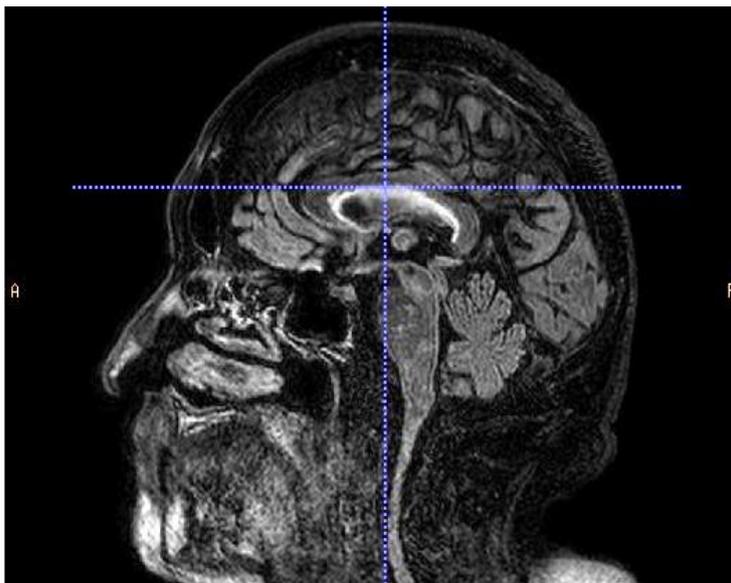


Fig 12. Corte sagital en FLAIR, en un sujeto premutado sin FXTAS, donde se aprecia la hiperseñal en el cuerpo caloso. En este caso no existe una pérdida de volumen significativa en el mismo.



Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

El conjunto de los hallazgos radiológicos típicos son resumidos en la siguiente tabla (tabla 8):

Tabla 8. Hallazgos RM presentes en sujetos premutados con y sin FXTAS. (+++ severo, ++ moderado, + leve)

	Hiperseñal PCM	Hiperseñal tronco	Atrofia cerebelosa	Atrofia tronco	Atrofia cerebral
FXTAS	83% (3 ++, 7 +)	83% (4 ++, 6 +)	100% (3 +++, 6 ++, 3 +)	91,6% (5 ++, 6 +)	100% (3 +++, 5 ++, 4 +)
PreM	60% (6 +)	40% (4 +)	50% (1 +++, 4 +)	40% (4+)	80% (3++, 5+)
PreJ	88,8% (1 ++, 7 +)	66,6% (6+)	88,8% (8+)	33,3% (3+)	77,77% (7+)

	Hiperseñal Putaminal Lateral	Atrofia cuerpo calloso	Hiperseñal cuerpo calloso
FXTAS	5/12	5/12	6/12
PreM	4/10	1/10	1/10
PreJ	5/9	0/9	0/9
CM	3/8	0/8	0/8
CJ	1/6	0/6	0/6

HIPERSEÑAL PUTAMINAL LATERAL:
 FXTAS > CM, $p < 0,001$
 PreM > CM, $p < 0,01$
 Pre (M+J) > C(M+J), $p < 0,001$
 FXTAS vs pre (M+J), $p = 0,24$
 PreJ vs CJ, $p = 0,42$

HIPERSEÑAL y ATROFIA DEL CUERPO CALLOSO:
 50% de FXTAS!! 10% preM

En cuanto a la alteración de la señal en la sustancia blanca cerebral, valorada de forma semicuantitativa con la escala de Scheltens, se observaron diferencias entre los controles mayores, premutados mayores y FXTAS (gráfica 1), cercanas al nivel de la significación al comparar FXTAS y controles mayores. No se apreciaron diferencias significativas entre FXTAS y premutados asintomáticos.

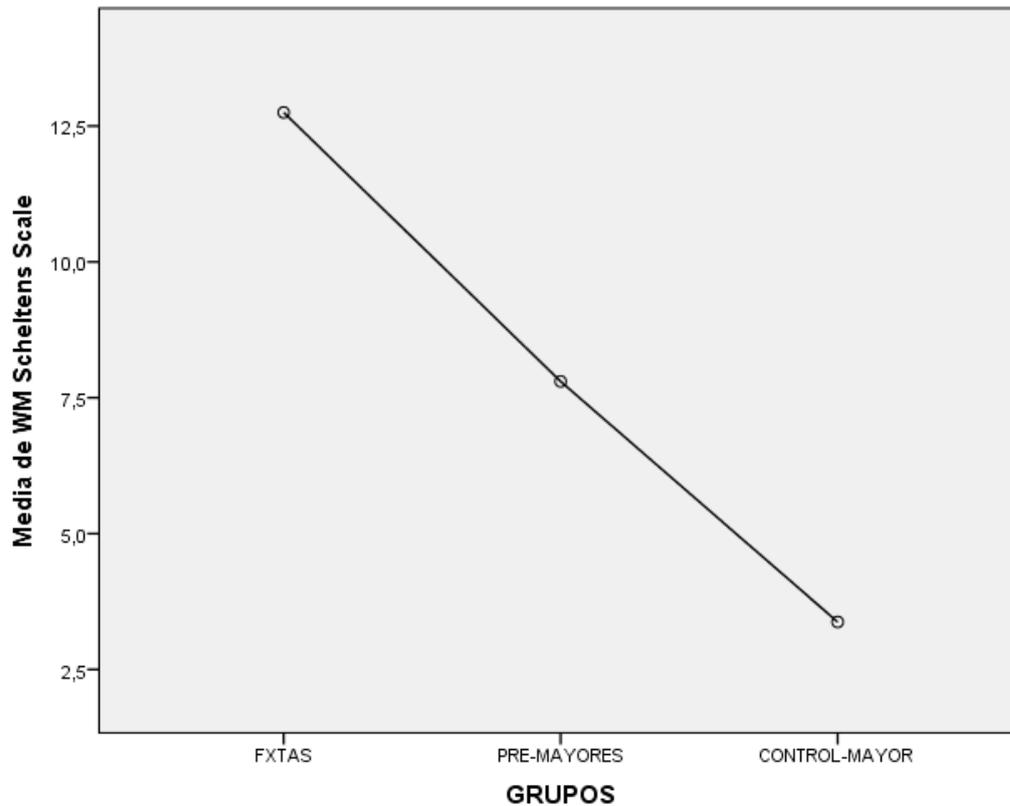
Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo
en el FXTAS

		N	Media	Desviación típica
Escala de Scheltens	FXTAS	12	12,75	10,261
	PreM	10	7,80	8,230
	CM	8	3,38	3,926

Comparaciones múltiples				
HSD de Tukey				
Variable dependiente	GRUPOS	GRUPOS	Sig.	Intervalo de confianza al 95%
				Límite inferior
Escala de Scheltens	FXTAS	PreM	0,362	-3,90
		CM	0,052	-,06
	PreM	FXTAS	0,362	-13,80
		CM	0,511	-5,38
	CM	FXTAS	0,052	-18,81
		PreM	0,511	-14,23

HSD de Tukey^{a,b}

GRUPOS	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
CM	8	3,38	
PreM	10	7,80	7,80
FXTAS	12		12,75
Sig.		0,480	0,402



Gráfica 1. Comparativa en la puntuación de la escala de Scheltens entre FXTAS, premutados mayores y controles mayores.

Los resultados en la puntuación de la escala de Scheltens mostraron una correlación significativa con los siguientes tests neuropsicológicos: Mattis Construcción ($p=0,025$), Mattis Conceptualización ($p=0,025$), Dígitos Directos ($p=0,027$), AVLT_largo plazo ($p=0,002$), Boston ($p=0,22$), Fluencia fonémica ($p=0,035$), FAB TOTAL ($p<0,00'1$), GO_NO GO FAB ($p=0,002$), Apatía-FrSBe ($p=0,004$).

6.2.2. Volúmenes hipocampales: Comparación entre los grupos.

Se encontraron diferencias significativas entre los FXTAS y los premutados mayores, con una pérdida de volumen hipocampal en los pacientes con FXTAS, tanto para el hipocampo izquierdo ($F=6.78$, $p=0.017$), como para el derecho ($F=7.6$, $p=0.012$).

Con respecto a los controles, los premutados mostraron mayor volumen hipocampal, tanto los jóvenes (hipocampo izq. $F= 1.85$, $p= 0.197$; dcho, $F= 3.24$, $p= 0.095$) como los mayores (izq., $F= 0.893$, $p= 0.36$; dcho, $F= 0.518$, $p= 0.48$). Aunque los premutados con FXTAS mostraban menor volumen hipocampal que los controles, esta comparación no alcanzó la significación estadística (izq., $F=2.03$, $p=0.171$; dcho., $F=2.773$, $p=0.113$). Los valores medios y desviaciones típicas se muestran en la tabla 9.

Tabla 9. Valores de volúmenes hipocampales, con media \pm desviación típica (mm^3). HI: Hipocampo izquierdo. HD: Hipocampo derecho.

	HI	HD
FXTAS	3131 \pm 1013	3172 \pm 1026
PreM	4107 \pm 665	4212 \pm 660
CM	3712 \pm 662	3872 \pm 723
PJ	4910 \pm 1071	5174 \pm 924
CJ	4235 \pm 684	4411 \pm 563

6.2.3. Correlaciones entre la neuroimagen, neuropsicología y genética.

6.2.3.1. Correlaciones entre los volúmenes hipocampales y la neuropsicología.

Se realizaron correlaciones bivariadas (Pearson) entre los volúmenes hipocampales y los tests neuropsicológicos en todos los casos.

Para el hipocampo izquierdo, los cambios de volumen se correlacionaron significativamente con la edad ($R=-0.77$; $p<0.001$), y con los siguientes tests neuropsicológicos: MMSE ($R=0.65$; $p<0.001$), RAVLT inmediata ($R=0.77$; $p<0.001$) y largo plazo ($R=0.71$; $p<0.001$), FAB total ($R=0.64$; $p=0.001$), Go/noGo ($R=0.45$; $p=0.03$) y FrSBe ($R=-0.50$; $p=0.02$).

Los volúmenes del hipocampo derecho se correlacionaron con las mismas variables que el hipocampo izquierdo, y con una significación similar: edad ($R=-0.77$; $p<0.001$), MMSE ($R=0.68$; $p<0.001$), RAVLT inmediata ($R=0.77$; $p<0.001$) y largo plazo ($R=0.74$; $p<0.001$), FAB total ($R=0.67$; $p=0.001$), Go/noGo ($R=0.46$; $p=0.03$), y FrSBe ($R=-0.51$; $p=0.02$).

No se encontraron correlaciones entre el volumen hipocampal y el nivel educacional. El análisis de regresión logística mostró que los valores de RAVLT de memoria verbal inmediata eran predictores independientes de la pérdida de volumen en ambos hipocampos ($p=0.001$; $OR=0.76$).

6.2.3.2. Correlaciones entre los volúmenes hipocampales y la genética.

Tomando todos los premutados, no se encontraron correlaciones entre los volúmenes hipocampales y los datos genéticos/bioquímicos: n° de repeticiones de tripletes CGG en el gen *FMR1*, niveles de ARNm ni % de FMRP.

6.2.4. Análisis del volumen de las subregiones hipocampales.

Se estudiaron las subregiones hipocampales en los pacientes con FXTAS que mostraban alteraciones en los tests de memoria verbal inmediata y se compararon con los portadores premutados que tenían la memoria preservada, y con controles de edad similar (>50 años).

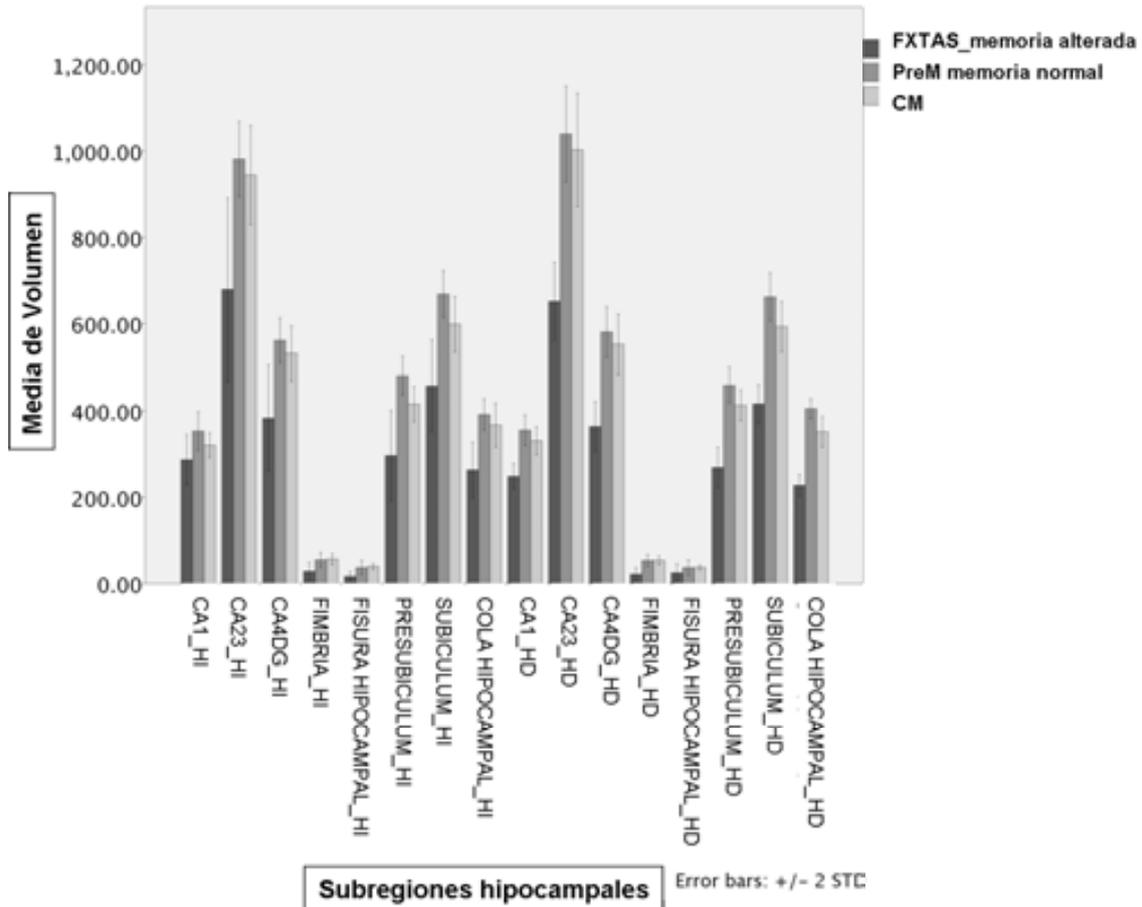
Los resultados obtenidos mostraron que los pacientes con FXTAS y memoria alterada tenían menor volumen en las subregiones del presubiculum, subiculum, CA2-3 y CA4-DG de ambos hipocampos, comparados con los premutados con memoria normal y con los controles. Curiosamente, en los portadores premutados con memoria normal, se encontró un mayor volumen en todas las subregiones hipocampales de ambos lados y con respecto a los otros dos grupos, excepto en la fimbria y en la fisura hipocampal (ver tablas 10 y 11, y gráfica 2).

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

Tabla 10. Volumen de las subregiones hipocampales (media y desviación típica en mm^3). HI= Hipocampo Izquierdo, HD= Hipocampo Derecho.

	FXTAS_memoria alterada		PreM_memoria normal		ConM	
	HI	HD	HI	HD	HI	HD
Cola hipocampal	263±72	227±28	392±51	405±32	367±72	352±50
Presubiculum	297±117	269±52	481±62	459±58	416±57	413±50
CA1	287±65	248±33	353±63	355±50	320±41	331±46
CA2-3	679±237	652±101	981±123	1039±157	944±163	1003±186
Fimbria	28±23	21±17	54±24	53±19	56±17	53±14
Subiculum	458±118	416±50	668±77	662±79	599±91	593±82
CA4-DG	383±136	364±64	561±73	580±82	531±88	552±98
Fisura Hipocampal	16±12	25±23	37±23	37±25	39±9	37±7

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS



Gráfica 2. Volumen de las subregiones hipocampales. Comparativa entre el volumen de las subregiones del hipocampo derecho e izquierdo entre FXTAS con memoria alterada, premutados con memoria normal y controles mayores. (HI= Hipocampo Izquierdo, HD= Hipocampo Derecho).

Tabla 11. Comparativa del volumen de cada subregión hipocampal, entre FXTAS con memoria alterada y premutados con memoria normal. (HI= Hipocampo Izquierdo, HD= Hipocampo Derecho).

	FXTAS_memoria alterada vs PreM_memoria normal		FXTAS_memoria alterada vs CM	
	HI	HD	HI	HD
Hipocampo	t=-3.8 p=0.003	t=-10.4 p=6.86e-7	t=-2.5 p=0.027	t=-5.1 p=3.9e-4
Presubiculum	t=-3.7 p=0.003	t=-5.9 p=9.25e-5	t=-2.5 p=0.030	t=-4.9 p=4.3e-4
CA1	t=-1.8 p=0.096	t=-4.2 p=0.0014	t=1.1 p=0.274	t=-3.5 p=0.0051
CA2-3	t=-3.1 p=0.011	t=-4.8 p=4.73e-4	t=-2.4 p=0.035	t=-3.8 p=0.0027
Fimbria	t=-1.9 p=0.08	t=-3.1 p=0.01	t=-2.5 p=0.029	t=-3.8 p=0.0031
Subiculum	t=-3.9 p=0.002	t=-6.1 p=6.9e-5	t=-2.5 p=0.033	t=-4.3 p=0.0012
CA4-DG	t=-3.1 p=0.1	t=-4.9 p=4.1e-4	t=-2.4 p=0.035	t=-3.8 p=0.0029
Fisura hipocampal	t=-1.8 p=0.104	t=-0.86 p=0.409	t=-3.8 p=0.003	t=-1.4 p=0.181

6.2.5. Análisis de forma hipocampal

El análisis de forma hipocampal mostró diferencias significativas en el subiculum y en la región CA2-3 del hipocampo izquierdo entre FXTAS_memoria alterada y PreM_memoria normal, y entre los FXTAS_memoria alterada y los controles. En cuanto al hipocampo derecho, las diferencias significativas se encontraron en el presubiculum, subiculum, CA2-3, región ventral de la región CA4-DG y en la cola del hipocampo, al comparar los FXTAS_memoria alterada y PreM_memoria normal; y en el CA2-3, presubiculum y subiculum al comparar los FXTAS_memoria alterada y los controles. Los resultados se muestran en la figura 13:

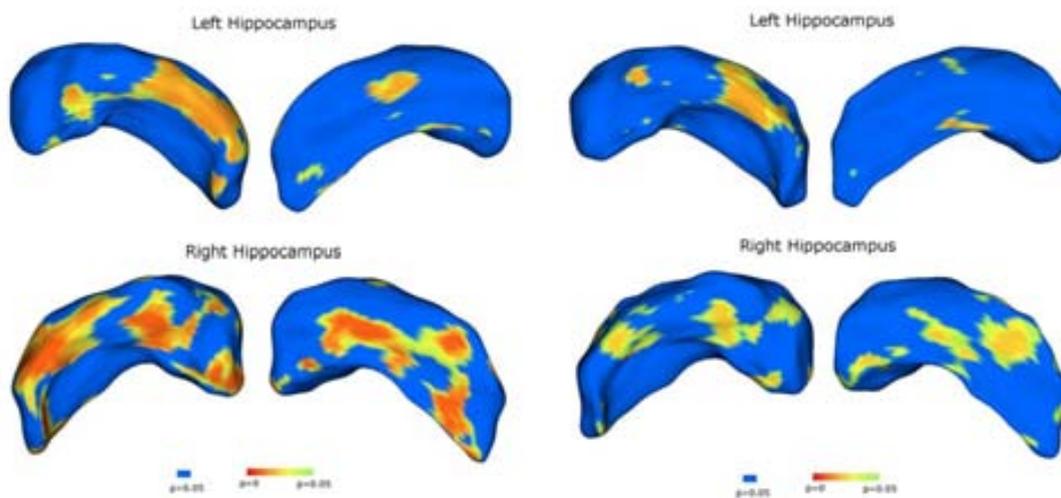


Figura 13. Resultado estadístico con representación de las diferentes subregiones que mostraron una alteración de la forma hipocampal. A la izquierda se representa la comparativa entre FXTAS_memoria alterada y PreM_memoria normal. A la derecha, se representa la comparativa entre FXTAS_memoria alterada y CM (valores normalizados al volumen intracraneal y corregidos con FDR).

7. DISCUSIÓN

7. DISCUSIÓN

Los cambios morfológicos presentes en este trabajo van siguiendo la línea a lo previamente descrito³⁵. Sin embargo, se encontraron hallazgos adicionales. Uno de ellos fue la hiperseñal en el margen lateral del putamen, cuya interpretación no es clara, dada la ausencia de estudios neuropatológicos específicos en esta región en el contexto del FXTAS.

La presencia de una hiperseñal lateral putaminal es un hallazgo inicialmente considerado como algo muy específico e incluso patognomónico de la atrofia multisistémica. Posteriormente, se relacionó con otras enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson o la degeneración córticobasal. Sin embargo, algún trabajo también lo describió en individuos sanos de edad avanzada, principalmente mayores de 70 años¹⁰⁸, por lo que su valor podría ser discutido. De cualquier modo, su presencia debe ser valorada dentro del contexto clínico. La hiperseñal putaminal lateral en individuos asintomáticos de edad avanzada, se ha atribuido a la menor concentración relativa de hierro en forma de ferritina en la porción marginal lateral, comparado con el resto del putamen¹⁰⁹, mientras que en los pacientes con atrofia multisistémica, la hiperseñal es consecuencia de las inclusiones citoplasmáticas en células gliales, que posteriormente conducen a una atrofia putaminal y al acúmulo de líquido extracelular en la cápsula putaminal¹⁰⁷. Sería interesante disponer de series más largas donde se valore la presencia de hiperseñal putaminal lateral en el caso de la premutación del gen *FMR1*, así como de estudios neuropatológicos, dado que hasta la fecha no se ha descrito la existencia de inclusiones intranucleares en este núcleo que la justifiquen.

Otro hallazgo llamativo adicional que hemos encontrado en este trabajo es la presencia de hiperseñal y adelgazamiento del cuerpo caloso. La hiperseñal parece predominante en la rodilla del cuerpo caloso y siguiendo, linealmente y de forma continua, la porción inferior periependimaria del cuerpo caloso, diferenciándose de otras entidades, como puede ser la enfermedad de Marchiafava Bignami, donde existe una desmielinización y/o necrosis del cuerpo caloso que se inicia en el cuerpo y se extiende posteriormente a la rodilla y esplenio afectando la capa central, pudiendo dar lugar al signo del sandwich en una visión sagital de RM₁₁₀. El patrón de afectación del cuerpo caloso en FXTAS también es diferente de la apariencia que muestran los focos de desmielinización en la esclerosis múltiple o de las pequeñas lesiones microangiopáticas del Síndrome de Susac, donde además, el contexto clínico es muy diferente₁₁₁. En los premutados con FXTAS, la hiperseñal del cuerpo caloso se describió recientemente en un trabajo reciente de Apartis y cols.⁵⁷, donde su frecuencia de presentación era similar a la de la hiperseñal de los pedúnculos cerebelosos medios, por lo que se sugirió incluirlo como criterio diagnóstico radiológico mayor. Sin embargo, no se ha descrito su presencia en premutados asintomáticos. En nuestra serie hemos encontrado una frecuencia de hiperseñal y adelgazamiento del cuerpo caloso en el 50% de los FXTAS, y en el 10% de los premutados, mientras que la presencia de hiperseñal en los pedúnculos cerebelosos medios se ha encontrado en un 80% de FXTAS y 60% de premutados. Nosotros hemos encontrado una frecuencia de presentación de de la afectación del cuerpo caloso algo inferior a la de los pedúnculos cerebelosos medios, especialmente en los portadores premutados asintomáticos; sin embargo, sigue siendo relevante y llamativa en los sujetos con FXTAS, por lo que nos parece muy razonable proponerlo e incluirlo como criterio radiológico mayor de diagnóstico de FXTAS.

Los cambios estructurales y neuropsicológicos observados en este trabajo apuntan hacia un patrón de degeneración cortical prefrontal y temporal. Analizando las alteraciones neuropsicológicas entre los diferentes grupos, no se encontraron diferencias relevantes entre los premutados jóvenes y los controles de su misma edad (<50 años). Sin embargo, los premutados mayores sin FXTAS, sí que mostraron un empeoramiento en las tareas de memoria (digit span forward and backward). Al comparar los premutados asintomáticos y los que habían desarrollado FXTAS, se encontraron alteraciones en las tareas ejecutivas relacionadas con el córtex frontal inferior y dorsomedial. Específicamente, los FXTAS, mostraron peor habilidad para la capacidad de inhibición mental y motora (FAB motor series and Go-noGo items, Stroop interference task). Mientras que las tareas de memoria de trabajo se han asociado con el córtex prefrontal dorsolateral y el superior¹¹², la inhibición de función y de respuesta se han atribuido al córtex prefrontal inferior y prefrontal dorsomedial¹¹³, así como con el córtex cingulado anterior¹¹⁴. Las puntuaciones en el test de apatía del FrSBe diferencian los premutados con y sin FXTAS, apuntando a una alteración cortical prefrontal inferior y dorsomedial. Además, el test motor del FAB, se mostró como un factor predictor independiente para el diagnóstico de FXTAS.

Las alteraciones de memoria verbal inmediata y de largo plazo se han relacionado con la funcionalidad del córtex prefrontal (codificación de información) y de la región temporal medial (retrieval defectes)¹¹⁵. En cuanto al patrón de afectación de las regiones inferomedial y lateral prefrontales, se diferenciaba de forma significativa entre premutados con y sin FXTAS al añadir los defectos de memoria inmediata de largo plazo, algo que no estaba presente al comparar los premutados asintomáticos y los controles.

Al realizar correlaciones bivariadas, se encontró que las alteraciones de memoria en FXTAS eran significativas y se asociaban de forma independiente a una pérdida de volumen hipocampal bilateral. Finalmente, la alteración en la puntuación global del MMSE no sólo caracterizaba al grupo de FXTAS, si no que también se comportaba como predictor independiente, indicando que la severidad de las alteraciones cognitivas prefrontales e hipocampales eran lo suficientemente severas como para afectar al estado cognitivo global.

En este trabajo se han encontrado cambios en el volumen y forma del hipocampo a lo largo del espectro clínico de la premutación del X frágil, hallazgos que se han relacionado con las alteraciones neuropsicológicas. Mientras que los premutados asintomáticos mostraban un mayor volumen hipocampal, los premutados con FXTAS tenían una pérdida de volumen en ambos hipocampos, más acusada en aquellos con memoria alterada. Además, esta reducción de volumen hipocampal en los FXTAS con memoria alterada parecía ocurrir selectivamente y preferentemente en las subregiones hipocampales del presubiculum, subiculum, CA2-3 y CA4-DG, áreas que también mostraban alteración de su forma.

Existe evidencia en la literatura de alteraciones en el hipocampo relacionadas con el gen *FMR1*. Estudios histopatológicos, demostraron la existencia de niveles elevados de la proteína FRMP en las capas granulares del hipocampo, además de las células piramidales del feto humano¹¹⁶. Además, en los sujetos con el FXS, (mutación completa del gen *FMR1*), se encontró un volumen hipocampal mayor, a pesar del desarrollo retraso mental, y es por ello que se consideró que el FXS era un trastorno del neurodesarrollo¹¹⁷.

Los resultados sobre la cuantificación del volumen hipocampal en los portadores asintomáticos de la premutación del gen *FMR1*, han sido variables y controvertidos. Se ha descrito tanto la existencia de un volumen hipocampal mayor⁸⁴, como menor⁷¹, o similar⁷⁰, al comparar premutados y controles sanos.

La heterogeneidad de estos resultados podría deberse a múltiples factores, que podrían explicarse por la interconurrencia, en un proceso dinámico en el tiempo, dentro del espectro clínico de un trastorno del neurodesarrollo y neurodegenerativo, además de otras eventuales diferencias entre las muestras de cada serie, como puede ser la carga genética (ARNm de FRMP, FRMP, repetición de triplete de CGG), la edad, la presencia de premutados con o sin FXTAS y, por supuesto, la distribución por sexos, dado que es bien conocido que las mujeres con la premutación muestran alteraciones mucho menos severas que en los varones, tanto clínicas como radiológicas. Por último, y no por ello menos importante, estarían las diferencias entre las técnicas empleadas para el análisis y post-procesado de la imagen para la obtención del volumen hipocampal.

En nuestro trabajo, hemos encontrado un patrón de U invertida en la progresión del volumen hipocampal a lo largo del espectro clínico de la premutación. Parece ser que en fases preclínicas hay un aumento del volumen hipocampal, mientras que este disminuye al desarrollar el FXTAS, especialmente cuando existen alteraciones de memoria. El aumento de volumen del hipocampo también se ha descrito recientemente en fases preclínicas de otros trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Parkinson¹⁰⁵ y en Alzheimer¹⁰⁶.

El análisis por subregiones hipocampales también mostró un aumento de prácticamente todas ellas en los sujetos premutados con memoria normal, excepto en la fimbria y la fisura hipocampal, cosa que podría traducir una pérdida inicial selectiva en estas dos subregiones previa al trastorno cognitivo del FXTAS. En esta misma línea, estudios recientes han mostrado evidencia de alteraciones en la fimbria/fórnix hipocampal y en la estría terminal en los portadores premutados^{118,119}.

En el presente trabajo, los pacientes con FXTAS y memoria alterada, mostraron una pérdida de volumen en todas las subregiones de ambos hipocampos, no llegando a la significación en el área CA1 del hipocampo

izquierdo. El hecho de que esta subregión sea la menos afectada, marca una diferencia más, con la enfermedad de Alzheimer, donde es el área CA1 la que se afecta de forma preferente¹²⁰.

La región ventral del hipocampo y, en concreto, la subregión DG, se ha relacionado de forma estrecha con las emociones y la neurogénesis, así como el aprendizaje espacial y la memoria¹²¹.

La atrofia preferente de subregiones hipocampales también se ha descrito en otras enfermedades neurodegenerativas, como por ejemplo en la demencia por cuerpos de Lewy o en el deterioro cognitivo leve, donde se afecta selectivamente el área CA2-3¹²².

La vulnerabilidad del área CA1 a la isquemia es bien conocida, mientras que las áreas CA3 y el DG son más resistentes. Por otro lado, en estas existe una plasticidad sináptica importante, y las situaciones de estrés producen una retracción sináptica, cosa que en el caso del FXTAS, podría explicar las manifestaciones psiquiátricas y del neurodesarrollo. Las alteraciones relacionadas con las áreas CA3/DG también se han relacionado con déficits de memoria episódica en el deterioro cognitivo leve¹²³.

En el deterioro cognitivo leve, se describió también atrofia en el subiculum y CA2-3 manteniendo volúmenes hipocampales conservados con respecto a los controles^{120,124}, y atrofia y alteraciones de la forma en el área CA1, que se asociaron a un riesgo de conversión a enfermedad de Alzheimer^{125,126}. Paralelamente, las alteraciones en la fimbria y la fisura hipocampal que hemos encontrado en nuestro trabajo en premutados con memoria normal, podrían preceder al deterioro cognitivo y comportarse como un biomarcador de conversión a FXTAS. Sería interesante llevar a cabo estudios de seguimiento a largo plazo para ver la evolución clínica en estos sujetos.

Este trabajo tiene algunas limitaciones. En primer lugar, la muestra es relativamente pequeña, dada la escasa prevalencia de FXTAS. Por otro lado, se está tratando de un proceso ligado al cromosoma X y que afecta con menor severidad en las mujeres, por lo que la existencia de una heterogeneidad en la distribución por sexos podría influir en los resultados, a pesar de que en el grupo de FXTAS el porcentaje entre hombres y mujeres es el mismo. Por último, los sistemas de procesado y postprocesado de la imagen deben tenerse en cuenta dada su relevancia en la extracción de todos los datos neurorradiológicos considerados en este trabajo. En este sentido, las técnicas de segmentación hipocampal mediante FS han sido ampliamente evaluadas y validadas en la literatura. Aunque se sabe que mediante FS se sobreestima ligeramente el volumen hipocampal¹⁰⁷, su resultado es muy aproximado al del trazado manual (0.75-0.8), y se considera la herramienta más acertada con respecto a otras técnicas automatizadas como son el FSL o el IBASPM.

En cuanto a la técnica de análisis de forma, no existe ningún trabajo que incluya cambios en la morfología hipocampal en FXTAS y su correlación neuropsicológica. Existen varios trabajos sobre análisis de forma hipocampal en la enfermedad de Alzheimer en los cuales las técnicas de análisis de forma aportan un mayor valor pronóstico al añadirlas a las técnicas automatizadas de medida volumétrica hipocampal¹²⁵. Estos mismos resultados se obtuvieron también por Frisoni et al.¹²⁴ utilizando técnicas de segmentación manual del hipocampo¹⁰⁷.

En este trabajo no se han encontrado correlaciones significativas entre los volúmenes hipocampales, el número de repeticiones de tripletes CGG, el nivel de proteína o de ARNm de la FMRP. En parte, podría deberse al tamaño de la muestra y a la inclusión de hombres y mujeres en la misma, ya que en algunas series la relación entre los hallazgos de imagen en mujeres no ha sido tan consistente como en los varones. Por tanto, este hallazgo no contradice la literatura previa, que ha sido algo variable al respecto⁷¹.

8. RESUMEN y FUTURAS LÍNEAS DE TRABAJO

8. RESUMEN Y FUTURAS LÍNEAS DE TRABAJO

El presente trabajo se ha centrado en la búsqueda de biomarcadores de Resonancia Magnética y función cerebral (RM de alto campo, 3T) en portadores preclínicos de una enfermedad neurodegenerativa que muestra una alteración del movimiento: el Síndrome de temblor y ataxia asociado al cromosoma del síndrome X frágil (FXTAS). Para ello se reclutaron portadores premutados del gen *FMR1* (con y sin clínica de FXTAS) y se valoró la clínica, los estudios de imagen de RM, las alteraciones neuropsicológicas/neuropsiquiátricas, y la genética (repeticiones de tripletes CGG, ARNm y cantidad de proteína FMR1). Además, se incluyeron sujetos sanos como grupo control. Con este objetivo, se ha pretendido establecer biomarcadores que puedan predecir el desarrollo de la enfermedad, pudiendo así propiciar la instauración de medidas y tratamientos neuroprotectores en fases preclínicas.

Los hallazgos de neuroimagen, clínica y neuropsicología en los pacientes premutados del gen *FMR1* han sido publicados en:

Laia Rodríguez-Revenga, Beatriz Gómez-Ansón, Esther Granell Moreno, Javier Pagonabarraga and Montserrat Milà (2012). Neuroimaging in Fragile X-Associated, Neuroimaging-Clinical Applications, Prof.Peter Bright (Ed.), ISBN: 978-953-51-0200-7, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/neuroimaging-clinical-applications/neuroimaging-in-fragile-x-associated-tremor-ataxia-syndrome-fxtas->

Por otro lado, las alteraciones hipocampales y su correlación con las alteraciones clínicas, neuropsicológicas/neuropsiquiátricas y con la genética, está en proceso de publicación.

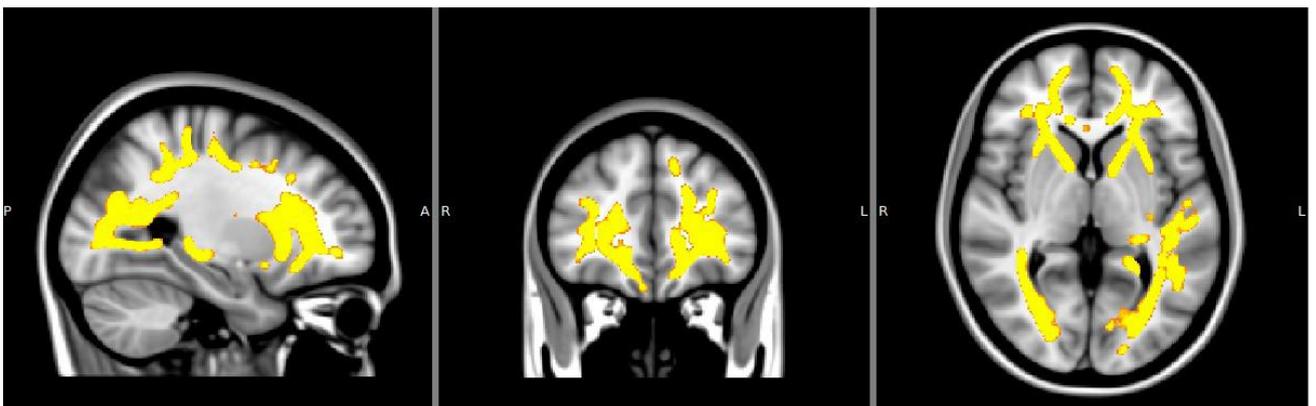
Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

El estudio de las alteraciones de la sustancia blanca es la siguiente línea en proceso de desarrollo, pues además de las alteraciones de la señal que son visibles en las secuencias convencionales de un estudio básico de resonancia magnética cerebral, se incluyeron secuencias de difusión tensorial que permiten un postprocesado y análisis de los diferentes parámetros relacionados con la difusión del agua y la integridad axonal y de las vainas de mielina. Esto nos permite un estudio estructural más profundo de las alteraciones de la sustancia blanca existentes en los pacientes portadores de la premutación, las cuales parecen existir ya en fases preclínicas de la enfermedad. Asimismo, parece que existe una correlación muy alta entre las alteraciones de la sustancia blanca y la neuropsicología.

Los tests neuropsicológicos que se correlacionaban con dichas alteraciones de la señal de la sustancia blanca fueron: FAB Total, MMSE, AVLT largo plazo y fluencia.

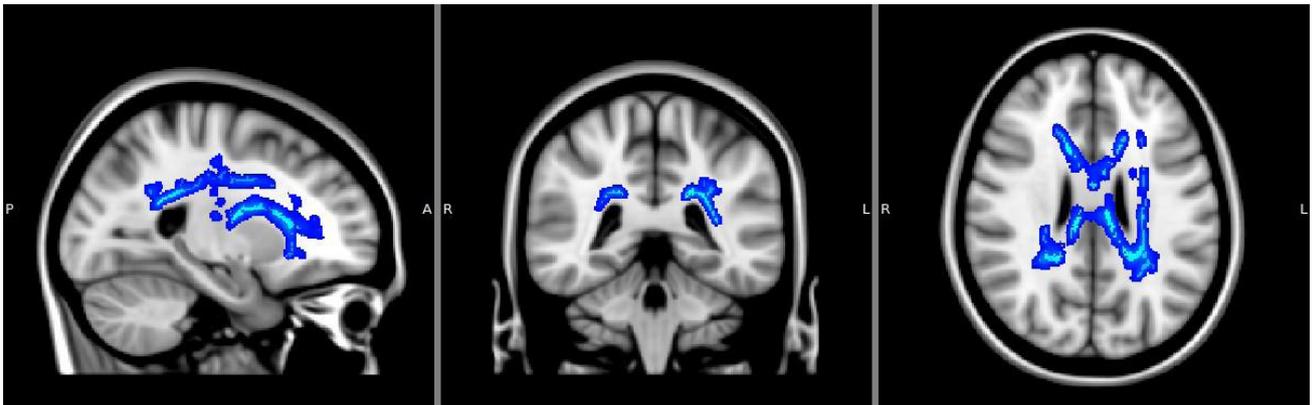
Ejemplo de la Correlación entre los resultados del FAB Total y el aumento Anisotropía Fraccional (AF) y la reducción de las Difusividades Media (DM), Axial (DA) y Radial (DR):

AF:

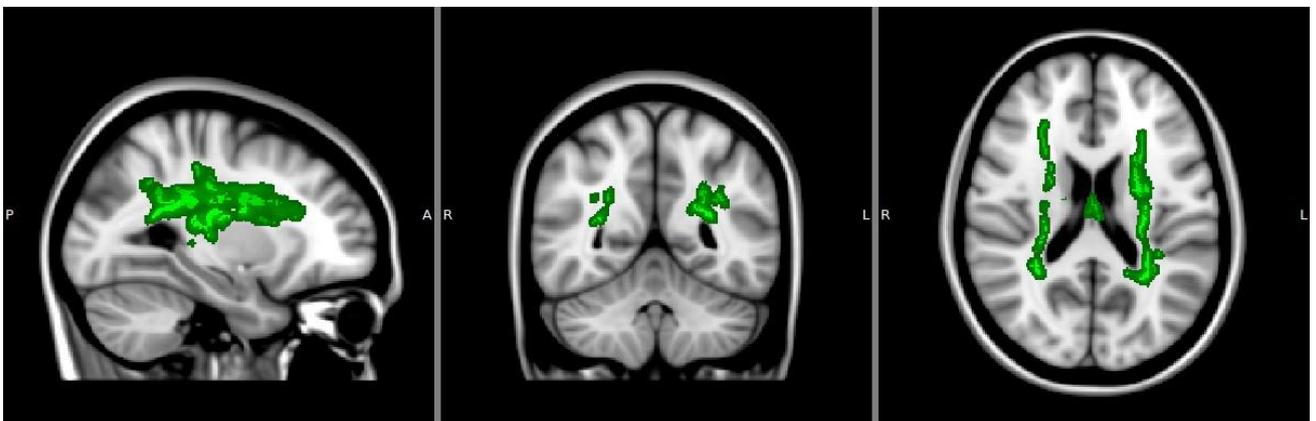


Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

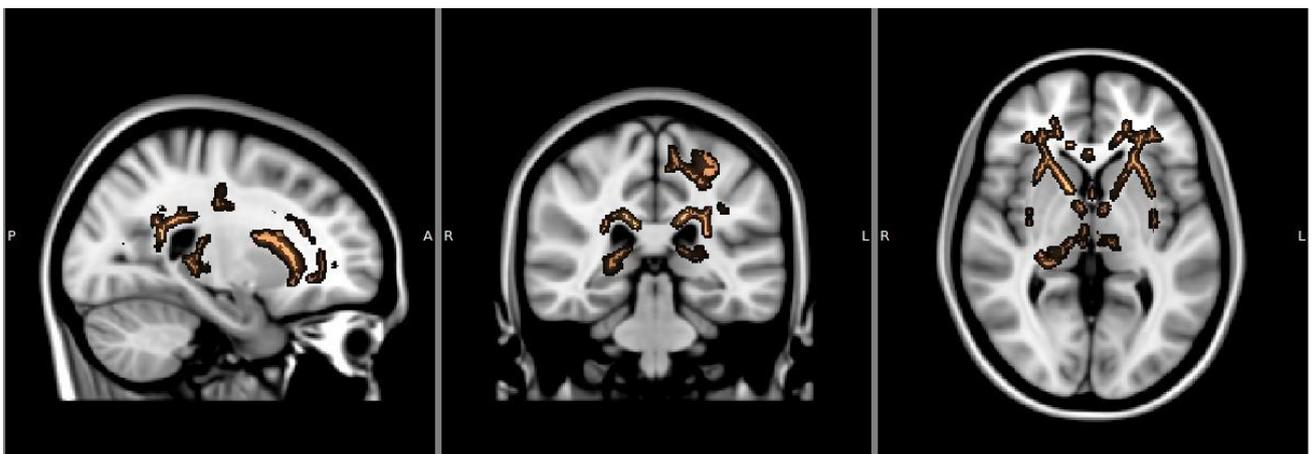
DM



DA:



DR:



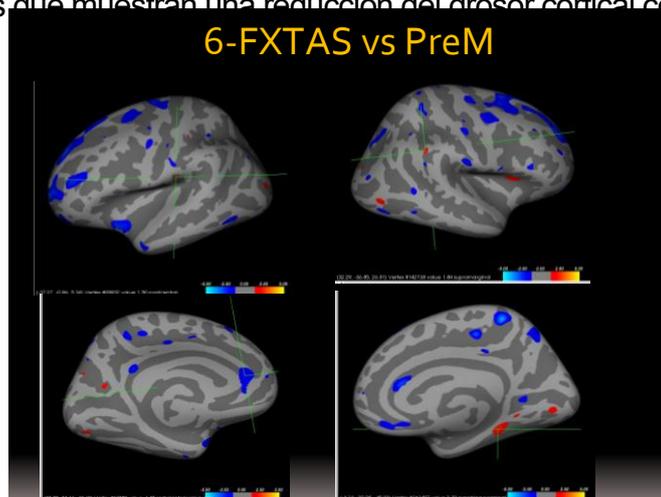
Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

Tal y como se aprecia en las figuras, a mayor alteración del test neuropsicológico, mayor aumento de los valores de FA, cosa que se correlacionaría con un mayor grado de daño tisular. Por otro lado, tanto la DM del agua como la DR y DA quedan aumentadas. El hecho de que aumente la difusividad media puede ser debido a daño axonal (dando lugar a un aumento de los valores de DA) o por desmielinización (dando lugar a un aumento de la DR). En el caso de los pacientes con alteraciones neuropsicológicas relacionadas con una disfunción frontal, parece secundario a una afectación más importante de la vaina de mielina, dado que las zonas de aumento de la DR que se correlacionan con el test se concentran más en lóbulos frontales.

Otras líneas de trabajo en las que hemos trabajado han sido:

-Las alteraciones en el grosor cortical en los pacientes premutados con y sin FXTAS, que ya han sido publicadas previamente en diferentes congresos nacionales e internacionales.

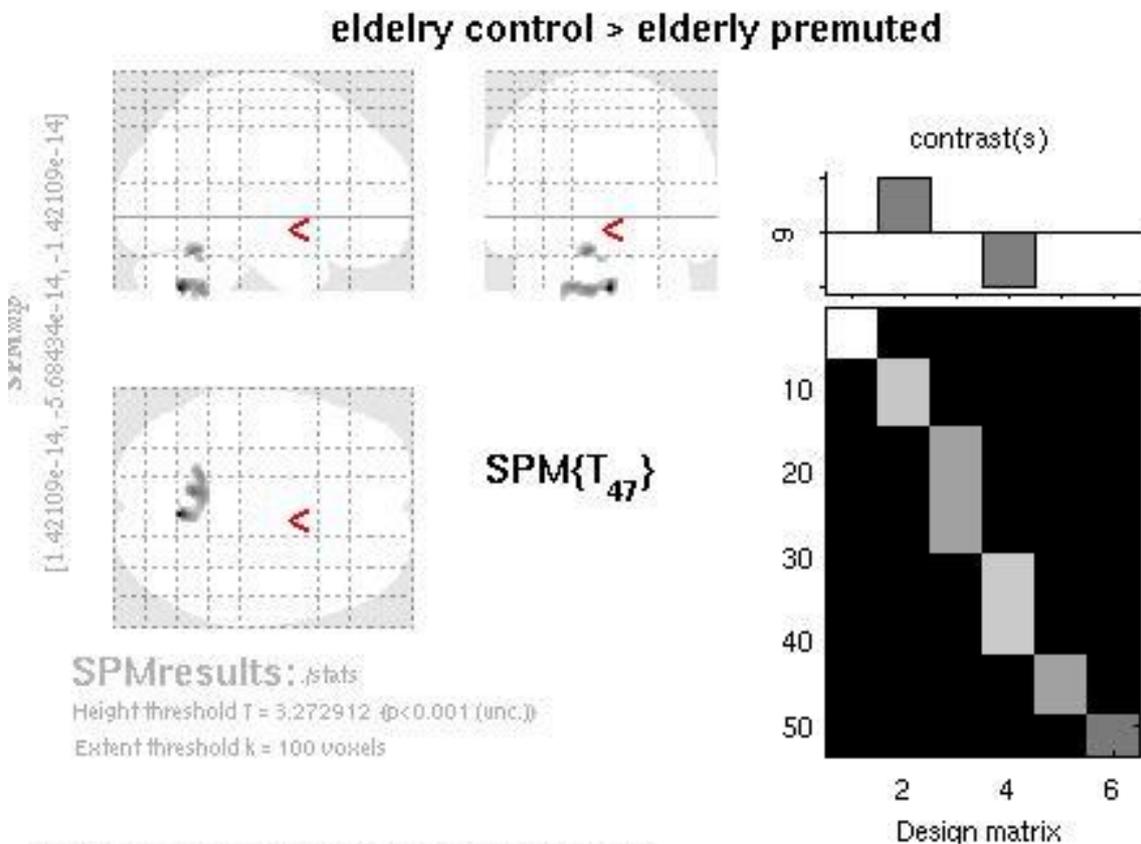
A continuación, se muestra un ejemplo de las áreas de adelgazamiento cortical que predominan en lóbulos frontales, existentes en los pacientes con FXTAS comparado con los pacientes premutados (postprocesado con FreeSurfer). Se marca de color azul aquellas áreas que muestran una reducción del grosor cortical con una $p < 0,01$.



Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

-Las **alteraciones volumétricas cerebrales** (postprocesado con Voxel Based Morphometry-VBM):

Se muestra un ejemplo en la comparativa entre los premutados y los controles sanos, todos ellos mayores de 50 años. Los pacientes premutados muestran una reducción de volumen significativa en tronco cerebral, correspondiendo a los pedúnculos cerebelosos, así como una pérdida de volumen en los hemisferios cerebelosos ($p < 0,001$).



Statistics: p-values adjusted for search volume

set-level		cluster-level				peak-level					mm mm mm		
D	C	D _{FWE-CF}	Q _{FJK-CF}	K _E	D _{JTCF}	D _{FWE-CF}	Q _{FJK-CF}	T	Z _{max}	D _{JTCF}			
0.2053		0.124	0.231	1975	0.058	0.298	0.860	4.05	3.73	0.000	4	-63	-40
						0.665	0.860	3.60	3.36	0.000	-8	-50	-41
						0.679	0.860	3.58	3.35	0.000	-17	-50	-39
		0.518	0.636	503	0.318	0.600	0.860	3.67	3.42	0.000	-8	-54	-20
		0.784	0.888	106	0.666	0.790	0.872	3.45	3.24	0.001	-1	-51	-23

-Las alteraciones en la espectroscopía con RM presentes en el córtex prefrontal medial y en los hipocampos.

La comparativa entre los diferentes metabolitos del estudio espectroscópico por RM mostraron una reducción de la ratio Inositol/Creatina ($p=0,23$) y de la ratio N-Acetil-Aspartato/Creatina ($p=0,10$) en el córtex prefrontal al comparar los sujetos con FXTAS vs controles sanos, lo que traduce gliosis y pérdida de la integridad neuronal a este nivel. Ambas ratios se correlacionaban con los resultados en el test de Boston. No se observaron otras correlaciones significativas entre las concentraciones del resto de metabolitos y la neuropsicología.

De entre todas las técnicas de postprocesado de imagen realizadas (análisis del grosor cortical, volumetría cerebral, análisis de la sustancia blanca, etc) hemos focalizado el estudio y la presente tesis en las alteraciones morfológicas y de la señal globales del estudio RM craneal convencional, y posteriormente, de forma específica, en las alteraciones morfológicas y estructurales del hipocampo, dado que es donde hemos encontrado las diferencias más interesantes entre premutados con y sin FXTAS y los controles sanos.

Los estudios de RM muestran un patrón de pérdida de volumen cerebral, cerebeloso y del tronco cerebral, además de alteración de la señal en la sustancia blanca periventricular, en pedúnculos cerebelosos medios y en el tronco. Adicionalmente, se ha observado una alteración del cuerpo caloso tanto por la pérdida de volumen como por la hiperseñal que puede presentarse en los sujetos premutados asintomáticos, aunque con una frecuencia que parece superar el 50% en los pacientes con FXTAS. También se ha encontrado la presencia de una ligera hiperseñal lateral putaminal, inespecífica y de dudoso significado.

En cuanto a la neuropsicología, el dominio cognitivo que mostró un patrón más claro de deterioro cognitivo de controles mayores a premutados y FXTAS fue el test de Rey de memoria verbal inmediata y de largo plazo. Además, el test de memoria de largo plazo se comportó como predictor independiente de diagnóstico de FXTAS y de pérdida de volumen hipocampal.

Los **estudios volumétricos hipocampales** en los sujetos premutados con memoria normal mostraron un aumento del volumen hipocampal global en todas las subregiones hipocampales, excepto en la fimbria y la fisura hipocampal, por lo esto podría indicar la existencia de una pérdida de volumen en ambas subregiones en fases preclínicas.

Los pacientes con FXTAS, mostraban una pérdida de volumen hipocampal global con respecto a los premutados y controles, aunque esta no llegaba al nivel de significación cuando se comparaban FXTAS y controles. Esto parece ser debido a que la progresión del volumen a lo largo del espectro clínico de la premutación sigue un patrón en forma de U invertida, en la cual existe un aumento de volumen previo a la pérdida, que también podría traducir un mecanismo plástico de compensación funcional. Sin embargo, entre FXTAS y controles, el análisis de forma sí que mostraba diferencias en la superficie hipocampal que predominan en las subregiones CA2-3, CA4-DG, presubiculum y el subiculum de ambos lados, tanto al compararla con premutados y controles, por lo que la alteración de la forma hipocampal precede a los cambios de volumen.

El conjunto de alteraciones tempranas previas al deterioro cognitivo en FXTAS, probablemente podrían ser debidas a la interconurrencia de un proceso neurodegenerativo y del neurodesarrollo.

No se encontraron correlaciones entre los volúmenes hipocampales, las repeticiones de tripletes, la cantidad de ARNm ni de FRMP.

9. CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES

Las conclusiones de nuestro trabajo son las siguientes:

En cuanto a la valoración clínica, neurológica y neuropsicológica, el dominio que mostró un patrón más claro de deterioro cognitivo de controles mayores a premutados y FXTAS fue el RAVLT inmediata y de largo plazo. El test de memoria a largo plazo se comportó como predictor independiente de diagnóstico de FXTAS y de pérdida de volumen hipocampal.

El análisis visual de los estudios RM craneales muestra alteraciones inespecíficas, pero que, en su conjunto y un contexto clínico adecuado, pueden sugerir la enfermedad. Se destaca la presencia de hiperseñal y adelgazamiento del cuerpo calloso como nuevo criterio propuesto para incluir dentro de los criterios radiológicos mayores de FXTAS y se describe la presencia de hiperseñal putaminal lateral como otro hallazgo no relacionado hasta la fecha con la enfermedad.

Los estudios volumétricos hipocampales en los sujetos premutados con memoria normal mostraron un aumento de volumen hipocampal global de todas las subregiones hipocampales, excepto en la fimbria y la fisura hipocampal, por lo que en estas dos subregiones podrían sufrir una pérdida de volumen hipocampal en fases preclínicas, considerándolas como biomarcadores de conversión a FXTAS.

Los pacientes con FXTAS, mostraban una pérdida de volumen hipocampal con respecto a los premutados y controles, aunque no significativa con respecto a los controles. Sin embargo, el análisis de forma sí que mostraba diferencias en la superficie hipocampal que predominan en las subregiones CA2-3, CA4-DG, presubiculum y el subiculum de ambos lados, tanto al compararla con los premutados como con los controles, por lo que parece plausible que la alteración de la forma precede a la pérdida de volumen.

Correlación entre los cambios estructurales cerebrales y el deterioro cognitivo en el FXTAS

El volumen hipocampal a lo largo del espectro clínico de la premutación parece seguir un patrón en U invertida. Las alteraciones tempranas previas al deterioro cognitivo en FXTAS, probablemente podrían ser debidas a la interconurrencia de un proceso neurodegenerativo y del neurodesarrollo.

No se encontraron correlaciones entre los volúmenes hipocampales, las repeticiones de tripletes, la cantidad de ARNm ni de FRMP.

10. BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Oostra BA, Willemsen R. FMR1: a gene with three faces. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1790(6):467-77.
2. Richards RI, Sutherland GR. Dynamic mutations: a new class of mutations causing human disease. *Cell* 1992; 70(5):709-12.
3. Jacquemont S, Hagerman RJ, Hagerman PJ, Leehey M. Fragile-X syndrome and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: two faces of FMR1. *Lancet Neurology* 2007; 6:45-55.
4. Fernandez-Carvajal I, Lopez Posadas B, Pan R, Raske C, Hagerman PJ, Tassone F. Expansion of an FMR1 grey-zone allele to a full mutation in two generations. *J Mol Diagn* 2009; 11(4):306-10.
5. Hall D, Tassone F, Klepitskaya O, Leehey M. Fragile X-Associated tremor ataxia syndrome in FMR1 gray zone allele carriers. *Mov Disord.* 2012; 27(2): 296-300
6. Glass IA. X linked mental retardation. *J Med Genet* 1991; 28(6):361-71.
7. Oberle I, Rousseau F, Heitz D, Kretz C, Devys D, Hanauer A, et al. Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science* 1991; 252(5009):1097-102.
8. Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* 1991; 65(5):905-14.
9. Richards RI, Holman K, Kozman H, Kremer E, Lynch M, Pritchard M, et al. Fragile X syndrome: genetic localisation by linkage mapping of two microsatellite repeats FRAXAC1 and FRAXAC2 which immediately flank the fragile site. *J Med Genet* 1991; 28(12):818-23.
10. Stevenson RE, Schwartz CE. Clinical and molecular contributions to the understanding of X-linked mental retardation. *Cytogenet Genome Res* 2002; 99(1-4):265-75.
11. Mirkin SM. Expandable DNA repeats and human disease. *Nature* 2007 ; 447(7147):932-40.

12. Nolin SL, Brown WT, Glicksman A, Houck GE, Jr., Gargano AD, Sullivan A, et al. Expansion of the fragile X CGG repeat in females with premutation or intermediate alleles. *Am J Hum Genet* 2003; 72(2):454-64.
13. Sobesky WE, Pennington BF, Porter D, Hull CE, Hagerman RJ. Emotional and neurocognitive deficits in fragile X. *Am J Med Genet* 1994; 51(4):378-85.
14. Al-Hinti JT, Nagan N, Harik SI. Fragile X premutation in a woman with cognitive impairment, tremor, and history of premature ovarian failure. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2007; 21(3):262-4.
15. Berry-Kravis E, Abrams L, Coffey SM, Hall DA, Greco C, Gane LW, et al. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: clinical features, genetics, and testing guidelines. *Mov Disord* 2007; 22(14):2018-30, quiz 140.
16. Seritan AL, Nguyen DV, Farias ST, Hinton L, Grigsby J, Bourgeois JA, et al. Dementia in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS): comparison with Alzheimer's disease. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; 147B(7):1138-44.
17. Hagerman RJ, Leehey M, Heinrichs W, Tassone F, Wilson R, Hills J, et al. Intention tremor, parkinsonism, and generalized brain atrophy in male carriers of fragile X. *Neurology* 2001; 57(1):127-30.
18. Tassone F, Hagerman RJ, Taylor AK, Gane LW, Godfrey TE, Hagerman PJ. Elevated levels of FMR1 mRNA in carrier males: a new mechanism of involvement in the fragile-X syndrome. *Am J Hum Genet* 2000; 66(1):6-15.
19. Hagerman RJ, Hagerman PJ. Fragile X syndrome: a model of gene-brain-behaviour relationships. *Rev Neurol* 2001; 33 Suppl 1:S51-7.
20. Leehey MA. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: clinical phenotype, diagnosis, and treatment. *J Investig Med* 2009; 57(8):830-6.
21. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey MA, Hall DA, Levine RA, Brunberg JA, et al. Penetrance of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in a premutation carrier population. *JAMA* 2004; 291(4):460-9.
22. Hagerman PJ, Hagerman RJ. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2004; 10(1):25-30.
23. Berry-Kravis E, Potanos K, Weinberg D, Zhou L, Goetz CG. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome in sisters related to X-inactivation. *Ann Neurol* 2005; 57(1):144-7.
24. Hagerman RJ, Leavitt BR, Farzin F, Jacquemont S, Greco CM, Brunberg JA, et al. Fragile-X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in females with the FMR1 premutation. *Am J Hum Genet* 2004; 74(5):1051-6.

25. Hessler D, Tassone F, Loesch DZ, Berry-Kravis E, Leehey MA, Gane LW, et al. Abnormal elevation of FMR1 mRNA is associated with psychological symptoms in individuals with the fragile X premutation. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005; 139B(1):115-21.
26. Hagerman PJ, Hagerman RJ. The fragile-X premutation: a maturing perspective. *Am J Hum Genet* 2004; 74(5):805-16.
27. Rousseau F, Rouillard P, Morel ML, Khandjian EW, Morgan K. Prevalence of carriers of premutation-size alleles of the FMR1 gene--and implications for the population genetics of the fragile X syndrome. *Am J Hum Genet* 1995; 57(5):1006-18.
28. Berkenstadt M, Ries-Levavi L, Cuckle H, Peleg L, Barkai G. Preconceptional and prenatal screening for fragile X syndrome: experience with 40,000 tests. *Prenat Diagn* 2007; 27(11):991-4.
29. Toledano-Alhadeef H, Basel-Vanagaite L, Magal N, Davidov B, Ehrlich S, Drasinover V, et al. Fragile-X carrier screening and the prevalence of premutation and full-mutation carriers in Israel. *Am J Hum Genet* 2001 ; 69(2):351-60.
30. Tzeng CC, Tsai LP, Hwu WL, Lin SJ, Chao MC, Jong YJ, et al. Prevalence of the FMR1 mutation in Taiwan assessed by large-scale screening of newborn boys and analysis of DXS548-FRAXAC1 haplotype. *Am J Med Genet A* 2005; 133A(1):37-43.
31. Pessoa R, Berkenstadt M, Cuckle H, Gak E, Peleg L, Frydman M, et al. Screening for fragile X syndrome in women of reproductive age. *Prenat Diagn* 2000; 20(8):611-4.
32. Rodriguez-Revenga L, Gomez-Anson B, Munoz E, Jimenez D, Santos M, Tintore M, et al. FXTAS in spanish patients with ataxia: support for female FMR1 premutation screening. *Mol Neurobiol* 2007; 35(3):324-8.
33. Rodriguez-Revenga L, Santos MM, Sanchez A, Pujol M, Gomez-Anson B, Badenas C, et al. Screening for FXTAS in 95 Spanish patients negative for Huntington disease. *Genet Test* 2008; 12(1):135-8.
34. Rodriguez-Revenga L, Madrigal I, Pagonabarraga J, Xuncla M, Badenas C, Kulisevsky J, et al. Penetrance of FMR1 premutation associated pathologies in fragile X syndrome families. *Eur J Hum Genet* 2009; 17(10):1359-62.
35. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey M, Grigsby J, Zhang L, Brunberg JA, et al. Fragile X premutation tremor/ataxia syndrome: molecular, clinical, and neuroimaging correlates. *Am J Hum Genet* 2003; 72(4):869-78.

36. Leehey MA, Munhoz RP, Lang AE, Brunberg JA, Grigsby J, Greco C, et al. The fragile X premutation presenting as essential tremor. *Arch Neurol* 2003 ; 60(1):117-21.
37. Yachnis AT, Roth HL, Heilman KM. Fragile X dementia Parkinsonism Syndrome (FXDPS). *Cogn Behav Neurol* 2010; 23(1):39-43.
38. Gokden M, Al-Hinti JT, Harik SI. Peripheral nervous system pathology in fragile X tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Neuropathology* 2009; 29(3):280-4.
39. Louis E, Moskowitz C, Friez M, Amaya M, Vonsattel JP. Parkinsonism, dysautonomia, and intranuclear inclusions in a fragile X carrier: a clinical-pathological study. *Mov Disord* 2006; 21(3):420-5.
40. Hagerman RJ, Coffey SM, Maselli R, Soontarapornchai K, Brunberg JA, Leehey MA, et al. Neuropathy as a presenting feature in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Am J Med Genet A* 2007; 143A(19):2256-60.
41. Berry-Kravis E, Goetz CG, Leehey MA, Hagerman RJ, Zhang L, Li L, et al. Neuropathic features in fragile X premutation carriers. *Am J Med Genet* ; 143(1):19-26.
42. Bacalman S, Farzin F, Bourgeois JA, Cogswell J, Goodlin-Jones BL, Gane LW, et al. Psychiatric phenotype of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in males: newly described fronto-subcortical dementia. *J Clin Psychiatry* 2006; 67(1):87-94.
43. Grigsby J, Brega AG, Engle K, Leehey MA, Hagerman RJ, Tassone F, et al. Cognitive profile of fragile X premutation carriers with and without fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Neuropsychology* 2008; 22(1):48-60.
44. Sulkowski GM, Kaufman LM. Oculomotor abnormalities in a patient with fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *J AAPOS* 2008; 12(2):195-6.
45. Macpherson J, Waghorn A, Hammans S, Jacobs P. Observation of an excess of fragile-X premutations in a population of males referred with spinocerebellar ataxia. *Hum Genet* 2003; 112(5-6):619-20.
46. Horvath J, Burkhard PR, Morris M, Bottani A, Moix I, Delavelle J. Expanding the phenotype of fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: a new female case. *Mov Disord* 2007; 22(11):1677-8.
47. Jacquemont S, Orrico A, Galli L, Sahota PK, Brunberg JA, Anichini C, et al. Spastic paraparesis, cerebellar ataxia, and intention tremor: a severe variant of FXTAS? *J Med Genet* 2005; 42(2):e14.

48. Peters N, Kamm C, Asmus F, Holinski-Feder E, Kraft E, Dichgans M, et al. Intrafamilial variability in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Mov Disord* 2006; 21(1):98-102.
49. Kamm C, Healy DG, Quinn NP, Wullner U, Moller JC, Schols L, et al. The fragile X tremor ataxia syndrome in the differential diagnosis of multiple system atrophy: data from the EMSA Study Group. *Brain* 2005; 128(Pt 8):1855-60.
50. Goncalves MR, Capelli LP, Nitrini R, Barbosa ER, Porto CS, Lucato LT, et al. Atypical clinical course of FXTAS: rapidly progressive dementia as the major symptom. *Neurology* 2007; 68(21):1864-6.
51. Capelli LP, Goncalves MR, Kok F, Leite CC, Nitrini R, Barbosa ER, et al. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: intrafamilial variability and the size of the FMR1 premutation CGG repeat. *Mov Disord* 2007; 22(6):866-70.
52. Greco CM, Hagerman RJ, Tassone F, Chudley AE, Del Bigio MR, Jacquemont S, et al. Neuronal intranuclear inclusions in a new cerebellar tremor/ataxia syndrome among fragile X carriers. *Brain* 2002; 125(Pt 8):1760-71.
53. Storey E, Billimoria P. Increased T2 signal in the middle cerebellar peduncles on MRI is not specific for fragile X premutation syndrome. *J Clin Neurosci* 2005; 12(1):42-3.
54. Bhattacharya K, Saadia D, Eisenkraft B, Yahr M, Olanow W, Drayer B et al. Brain Magnetic Resonance Imaging in Multiple-System Atrophy and Parkinson Disease: A Diagnostic Algorithm. *Arch Neurol* 2002; 59(5):835-842.
55. Jacquemont S., Hagerman RJ, Berry-Kravis EM., Grigsby J, Leehey MA. et al. Fragile X Premutation Carriers: Characteristic MR Imaging Findings of Adult Male Patients with Progressive Cerebellar and Cognitive Dysfunction. *Brunberg J, AJNR Am J Neuroradiol* 2002; 23:1757-1766.
56. Ngai S, Tang YM, Du L, Stuckey S. Hyperintensity of the middle cerebellar peduncles on fluid-attenuated inversion recovery imaging: variation with age and implications for the diagnosis of multiple system atrophy. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006; 27(10):2146-8.
57. Apartis E, Blancher A, Meissner WG, Guyant-Maréchal L, Maltête D, De Broucker T, et al. FXTAS: new insights and the need for revised diagnostic criteria. *Neurology* 2012; 79(18):1898-907.
58. Greco CM, Hagerman RJ, Tassone F, Chudley AE, Del Bigio MR, Jacquemont S, et al. Neuronal intranuclear inclusions in a new cerebellar tremor/ataxia syndrome among fragile X carriers. *Brain* 2002; 125(Pt 8):1760-71.

59. Tassone F, Iwahashi C, Hagerman PJ. FMR1 RNA within the intranuclear inclusions of fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *RNA Biol* 2004; 1(2):103-5.
60. Iwahashi CK, Yasui DH, An HJ, Greco CM, Tassone F, Nannan K, et al. Protein composition of the intranuclear inclusions of FXTAS. *Brain* 2006; 129(Pt 1):256-71.
61. Hagerman PJ, Hagerman RJ. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2004; 10(1):25-30.
62. Greco CM, Berman RF, Martin RM, Tassone F, Schwartz PH, Chang A, et al. Neuropathology of fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Brain* 2006; 129(Pt 1):243-55.
63. Tassone F, Hagerman RJ, Garcia-Arocena D, Khandjian EW, Greco CM, Hagerman PJ. Intranuclear inclusions in neural cells with premutation alleles in fragile X associated tremor/ataxia syndrome. *J Med Genet* 2004; 41(4):e43.
64. Greco CM, Soontrapornchai K, Wirojanan J, Gould JE, Hagerman PJ, Hagerman RJ. Testicular and pituitary inclusion formation in fragile X associated tremor/ataxia syndrome. *J Urol* 2007; 177(4):1434-7.
65. Chen Y, Tassone F, Berman RF, Hagerman PJ, Hagerman RJ, Willemsen R, et al. Murine hippocampal neurons expressing Fmr1 gene premutations show early developmental deficits and late degeneration. *Hum Mol Genet* 2010; 19(1):196-208.
66. Cornish, K.M., Li, L., Kogan, C.S., Jacquemont, S., Turk, J., Dalton, A., et al. Age-dependent cognitive changes in carriers of the fragile X syndrome. *Cortex* 2008; 44, 628-636.
67. Roberts, J., Bailey, D., Mankowski, J., Ford, A., Sideris, J., Weisenfeld, L., Heath, T.M. and Golden, R. (2009) Mood and anxiety disorders in females with the FMR1 premutation. *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet* 2009; 150B, 130-139.
68. Cornish KM, Kogan CS, Li L, Turk J, Jacquemont S, Hagerman RJ. Lifespan changes in working memory in fragile X premutation males. *Brain Cogn* 2009; 69(3):551-8.
69. Leehey MA, Berry-Kravis E, Min SJ, Hall DA, Rice CD, Zhang L, et al. Progression of tremor and ataxia in male carriers of the FMR1 premutation. *Mov Disord* 2007; 22: 203-6.
70. Cohen S, Masyn K, Adams J, Hessl D, Rivera S, Tassone F, et al. Molecular and imaging correlates of the fragile X-associated tremor/ ataxia syndrome. *Neurology* 2006; 67: 1426-31.

71. Adams JS, Adams PE, Nguyen D, Brunberg JA, Tassone F, Zhang W, et al. Volumetric brain changes in females with fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Neurology* 2007; 69: 851-9.
72. Berry-Kravis E, Goetz CG, Leehey MA, Hagerman RJ, Zhang L, Li L, et al. Neuropathic features in fragile X premutation carriers. *Am J Med Gene* 2007; 143: 19-26.
73. Soontarapornchai K, Maselli R, Fenton-Farrell G, Tassone F, Hagerman PJ, Hessel D, et al. Abnormal nerve conduction features in fragile X premutation carriers. *Arch Neurol* 2008; 65: 495-8.
74. Tassone F, Adams J, Berry-Kravis EM, Cohen SS, Brusco A, Leehey MA, et al. CGG repeat length correlates with age of onset of motor signs of the fragile X-associated tremor/ataxia syndrome (FXTAS). *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144B(4):566-9.
75. Brunberg JA, Jacquemont S, Hagerman RJ, Berry-Kravis EM, Grigsby J, Leethey MA, et al. Fragile X premutation carriers: characteristic MR imaging findings of adult male patients with progressive cerebellar and cognitive dysfunction. *Am J Neuroradiol* 2002; 23:1757-66.
76. Jacquemont S, Hagerman RJ, Leehey M, Grigsby J, Zhang L, Brunberg JA, et al. Fragile X premutation tremor/ataxia syndrome: molecular, clinical, and neuroimaging correlates. *Am J Hum Genet* 2003; 72(4):869-78.
77. Jacquemont S, Farzin F, Hall D, Leehey M, Grigsby J, Zhang L, et al. Aging in individuals with the FMR1 mutation. *Am J Ment Retard* 2004; 109:154-64.
78. Li F. Shi F. Pu X. Li, T. Jiang S. Xie, Y. Wang. Hippocampal Shape Analysis of Alzheimer Disease Based on Machine Learning Methods. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28:1339-45.
79. McKeown, A. Uthama, Rafeef Abugharbieh, S. Palmer, M. Lewis, X. Huang. Shape (but not volume) changes in the Thalami in parkinson's disease. *BMC Neurol.* 2008; 8:8.
80. Gerig G et al. Shape analysis of the ventricles using SPHARM, Proceedings of the IEEE Workshop on Mathematical Methods in Biomedical Image Analysis, 2001.
81. Adams PE, Adams JS, Nguyen DV, Hessel D, Brunberg JA, Tassone F, et al. Psychological Symptoms Correlate With Reduced Hippocampal Volume in Fragile X Premutation Carriers. *Am J Med Genet* 2010. 153B:775-785.
82. Koldewyn K, Hessel D, Adams, J et al. Reduced Hippocampal Activation During Recall is Associated with Elevated FMR1 mRNA and Psychiatric

Symptoms in Men with the Fragile X Premutation. *Brain Imaging Behav.* 2008; 2(2):105-116.

83. Hashimoto R, Javan AK, Tassone F, Hagerman RJ, Rivera SM. A voxel-based morphometry study of grey matter loss in fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Brain* 2011; 134(Pt 3):863-78.

84. Loesch DZ, Litewka L, Brotchie P, Huggins RM, Tassone F, Cook M. Magnetic resonance imaging study in older fragile X permutation male carriers. *Ann Neurol* 2005; 58:326-30.

85. Selmeczy D, Koldewyn K, Wang JM, Lee A, Harvey D, Hessel DR, et al. Investigation of amygdala volume in men with the fragile X premutation. *Brain Imaging Behav* 2011; 5(4):285-94.

86. Hessel D, Rivera S, Koldewyn K, Cordeiro L, Adams J, et al. Amygdala dysfunction in men with the fragile X premutation. *Brain* 2007; 130:404-416.

87. Sarac H, Henigsberg N, Markeljević J, Pavlisa G, Hof PR, Simić G. Fragile X-premutation tremor/ataxia syndrome (FXTAS) in a young woman: clinical, genetics, MRI and 1H-MR spectroscopy correlates. *Coll Antropol* 2011; 35 Suppl 1:327-32.

88. Ginestroni A, Guerrini L, Della Nave R, Tessa C, Cellini E, Dotti MT, Brunori P, De Stefano N, Piacentini S, Mascalchi M. Morphometry and 1H-MR spectroscopy of the brain stem and cerebellum in three patients with fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28(3):486-8.

89. Juncos JL, Lazarus JT, Graves-Allen E, Shubeck L, Rusin M, Novak G, et al. New clinical findings in the fragile X-associated tremor ataxia syndrome (FXTAS). *Neurogenetics* 2011; 12(2):123-35.

90. Willemsen R, Anar B, De Diego Otero Y, de Vries BB, Hilhorst-Hofstee Y, Smits A, et al. Noninvasive test for fragile X syndrome, using hair root analysis. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 98-03.

91. Folstein MF, Robins LN, Helzer JE. The mini-mental state examination. *Arch Gen Psychiatry* 1983; 40:812.

92. Wechsler D. Wechsler intelligence scale. San Antonio, TX: The Psychological Corporation, 1997.

93. Stroop, J.R., 1935. Studies of interference in serial verbal reactions. *J. Exp Psychol.* 18, 643-662.

94. Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B. The FAB: a frontal assessment battery at bedside. *Neurology* 2000; 55:1621-1626.

95. Schmidt M. Rey Auditory and Verbal Learning Test: A handbook. Los Angeles, CA, 1996.
96. Kaplan EF GH, Weintraub S. The Boston Naming Test. Boston: Kaplan and Goodglass, 1978.
97. Benton AL HK, Varney NR, et al. Contributions to Neuropsychological Assessment. New York: Oxford University Press, 1983.
98. Grace, J., & Malloy, P.F. 2001. Frontal Systems Behavior Scale. Professional manual. Odessa, FL: Psychological Assessment Resources, Inc.
99. Cummings JL, Mega M, Gray K, et al K: The Neuropsychiatric Inventory: comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology* 1994; 44:2308-2314.
100. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* 1983; 67:361-370.
101. Scheltens P, Barkhof F, Leys D, Pruvo JP, Nauta JJP, Vermersch P, et al. A semiquantitative rating scale for the assessment of signal hyperintensities on magnetic resonance imaging. *J Neurol Sci* 1993; 114: 7-12.
102. Segonne F, Dale AM, Busa E, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage* 2004; 22:1060-1075.,
103. Fischl B, Liu A, Dale AM. Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. *IEEE Trans Med Imaging* 2001; 20:70-80.
104. Reuter M, Schmansky NJ, Rosas HD, Fischl B. Within-subject template estimation for unbiased longitudinal image analysis. *Neuroimage* 2012; 61:1402-1418.
105. Pagonabarraga J, Corcuera-Solano I, Vives-Gilabert Y, Llebaria G, García-Sánchez C, Pascual-Sedano B, Delfino M, Kulisevsky J, Gómez-Ansón B. Pattern of regional cortical thinning associated with cognitive deterioration in Parkinson's disease. *PLoS One*. 2013; 8: e54980.
106. Iacono D, Markesbery WR, Gross M, Pletnikova O, Ridow G, Zandi P, Troncoso JC. The Nun study: Clinically silent AD, neuronal hypertrophy, and linguistic skills in early life. *Neurology* 2009; 73: 665-73.
107. Sánchez-Benavides G, Gómez-Ansón B, Sainz A, Vives Y, Delfino M, Peña-Casanova J. Manual validation of FreeSurfer's automated hippocampal segmentation in normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer Disease subjects. *Psychiatry Res* 2010; 181: 219-25.

108. Lee WH, Lee CC, Shyu WC, Chong PN, Lin SZ. Hyperintense putaminal rim sign is not a hallmark of multiple system atrophy at 3T. *AJNR* 2005; 26(9): 2238-2242.
109. Fujii S, Matsusue E, Kinoshita T, Sugihara S, Ohama E, Ogawa T. Hyperintense Putaminal Rim at 3T Reflects Fewer Ferritin Deposits in the Lateral Marginal Area of the Putamen. *AJNR* 2007; 28(4): 777-781.
110. Arbelaez A, Pajon A, Castillo M. Acute Marchiafava-Bignami disease: MR findings in two patients. *AJNR* 2003; 24:1955-7.
111. Wuerfel J, Sinnecker T, Ringelstein EB, Jarius S, Schwindt W, Niendorf T, et al. Lesion morphology at 7 Tesla MRI differentiates Susac syndrome from multiple sclerosis. *Mult Scler* 2012; 18:1592-9.
112. du Boisgueheneuc F, Levy R, Volle E, Seassau M, Duffau H, Kinkingnehun S, Samson Y, Zhang S, Dubois B. Functions of the left superior frontal gyrus in humans: a lesion study. *Brain* 2006; 129: 3315-28.
113. Konishi S, Nakajima K, Uchida I, Kikyo H, Kameyama M, Miyashita Y. Common inhibitory mechanism in human inferior prefrontal cortex revealed by event-related functional MRI. *Brain* 1999; 122: 981-91.
114. Barch DM, Braver TS, Akbudak E, Conturo T, Ollinger J, Snyder A. Anterior cingulate cortex and response conflict: effects of response modality and processing domain. *Cereb Cortex* 2001; 11: 837-48.
115. Patterson K, Nestor PJ, Rogers TT. Where do you know what you know? The representation of semantic knowledge in the human brain. *Nat Rev Neurosci* 2007; 8: 976-87.
116. Squire LR, Zola-Morgan S. The medial temporal lobe memory system. *Science* 1991; 253:1380-6.
117. Reiss AL, Lee J, Freund L. Neuroanatomy of fragile X syndrome: the temporal lobe. *Neurology* 1994; 44: 1317-24.
118. Wang, J.Y., Hessler, D.H., Hagerman, R.J., Tassone, F., Rivera, S.M. Age-dependent structural connectivity effects in fragile x premutation. *Arch Neurol* 2012; 69: 482-9.
119. Battistella G, Niederhauser J, Fornari E, Hippolyte L, Gronchi Perrin A, Lesca G, et al. Brain structure in asymptomatic FMR1 premutation carriers at risk for fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Neurobiol Aging* 2013; 34:1700-7.
120. Hamseuw et al., 2011 Hamseuw BJ, Van Leemput K, Kavec M, Grandin C, Seron X, Ivanoiu A. Mild cognitive impairment: differential atrophy in the hippocampal subfields. *AJNR Am J Neuroradiol* 2011; 32:1658-61.

121. Eadie BD, Zhang WN, Boehme F, Gil-Mohapel J, Kainer L, Simpson JM, et al. Fmr1 knockout mice show reduced anxiety and alterations in neurogenesis that are specific to the ventral dentate gyrus. *Neurobiol Dis* 2009; 36: 361-73.

122. Sabattoli F, Boccardi M, Galluzi S, Treves A, Thompson PM, Frisoni GB. Hippocampal shape differences in dementia with Lewy Bodies. *Neuroimage* 2008; 41: 699-705.

123. Yassa MA, Stark SM, Bakker A, Albert MS, Gallagher M, Stark CEL. High-resolution structural and functional MRI of hippocampal CA3 and dentate gyrus in patients with amnesic Mild Cognitive Impairment. *Neuroimage* 2010; 51: 1242-52.

124. Frisoni GB, Ganzola R, Canu E, Rüb U, Pizzini FB, Alessandrini F, et al. Mapping local hippocampal changes in Alzheimer's disease and normal ageing with MRI at 3 Tesla. *Brain* 2008; 131: 3266-76.

125. Costafreda SG, Dinov ID, Tu Z, Shi Y, Liu C-Y, Kloszewska I, et al. Automated hippocampal shape analysis predicts the onset of dementia in mild cognitive impairment. *Neuroimage* 2011; 56: 212-9.

126. Apostolova LG, Dutton RA, Dinov ID, Hayashi KM, Toga AW, Cummings JL, et al. Conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. *Arch Neurol* 2006; 63: 693-9.