

susceptibles, los que contienen una isla CpG en el promotor, la metilación de la citosina favorece un estado represivo de la cromatina que previene la unión de los factores de transcripción. Las enzimas ADN metiltransferasas transfieren un grupo metilo de la S-adenosilmetionina al carbono 5 de la citosina en las secuencias CG. Se ha descrito un grupo de proteínas que reconocen a las citosinas metiladas y reclutan al correpresor y las desacetilasas de las histonas. La pérdida del grupo acetilo de las histonas produce la compactación de la cromatina. El síndrome X frágil se debe, en la mayoría de los casos, a la expansión por encima de un umbral de las repeticiones CGG del primer exón del gen FMR1. Por causas no bien conocidas estas expansiones se acompañan de la metilación del promotor y como consecuencia del silencio del gen. Conclusiones. La metilación del ADN etiqueta a los genes de forma que la misma secuencia de bases puede tener repercusiones fenotípicas diferentes. La metilación aberrante de los genes es causa de diversas patologías como el síndrome X frágil. El conocimiento de los mecanismos de represión de la expresión genética por metilación y el estudio de agentes que haga reversible el proceso son importantes para el tratamiento de dichas enfermedades. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S57-62]

**Palabras clave.** Complejo represor. Expansión de tripletes. Expresión genética. Gen FMR1. Metilación del ADN. Síndrome X frágil.

tíveis, os que possuem uma ilha CpG no promotor, a metilação da citosina favorece um estado repressivo da cromatina que previne a união dos factores de transcrição. As enzimas ADN metiltransferase transferem um grupo metilo da S-adenosilmetionina ao carbono 5 da citosina nas sequências CG. Foi descrito um grupo de proteínas que reconhecem as citosinas metiladas e recrutam o co-repressor e as desacetilasas das histonas. A perda do grupo acetilo das histonas produz a compactação da cromatina. A síndrome X frágil deve-se, na maioria dos casos, à expansão acima citada, de um limiar das repetições CGG do primeiro exão do gene FMR1. Por causas desconhecidas estas expansões são acompanhadas pela metilação do promotor e por consequência pelo silêncio do gene. Conclusões. A metilação do ADN rotula os genes para que a mesma sequência de bases possa ter repercussões fenotípicas diferentes. A metilação aberrante dos genes é a causa de diversas patologias, como a síndrome X frágil. O conhecimento dos mecanismos de repressão da expressão genética por metilação e o estudo de agentes que torna reversível o processo, são importantes para o tratamento das referidas doenças.. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S57-62]

**Palavras chave.** Complexo repressor. Expansão de tripletos. Expressão genética. Gene FMR1. Metilação do ADN. Síndrome X frágil.

## Investigación terapéutica: reactivación del gen *FMR1* causante del síndrome X frágil

P. Chiurazzi<sup>a</sup>, G. Neri<sup>b</sup>

EXPERIMENTAL THERAPY:  
REACTIVATION OF THE FMR1 GENE INVOLVED IN FRAGILE X SYNDROME

**Summary.** Fragile X syndrome represents the most common inherited cause of mental retardation worldwide. Fragile X belongs to a large group of more than 200 mental retardation conditions caused by mutations in X-linked genes (XLMR), that have a collective frequency of up to 1 in 1000 males. Fragile X syndrome is also unique because it was the first genetic condition caused—in the overwhelming majority of cases—by the expansion of an unstable CGG repeat, becoming the prototype of a growing list of inherited disorders due to the instability of trinucleotide repeats. Ten years after the cloning of the FMR1 gene involved in fragile X syndrome, we still don't know all the molecular players that allow the destabilization of the CGG repeat located close to the gene's CpG island. However, the finding of a founder effect in fragile X syndrome indicates that only few of the unstable repeats eventually reached the pathological range. The line of research was aimed at understanding what happens after the fragile X mutation has reached a pathological size. What we showed with our 'reactivation' experiments is that the size of the CGG expansion per se does not cause the silencing of the FMR1 gene: it's the methylation that is added to the expansion that leads to the transcriptional block. Thus, by studying the 'reactivation' of fragile X full mutations, we try to learn more about their 'inactivation' and—hopefully—about possible ways of preventing or 'reverting' their inactivation in fragile X children. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S62-5]

**Key words.** Cellular models. Fragile X syndrome. Gene reactivation. Research. Treatment.

### INTRODUCCIÓN

El síndrome X frágil (SXF) es causado por la mutación del gen *FMR1*, localizado en el brazo largo (banda q27.3) del cromosoma X. La aparición de individuos afectados por esta enfermedad pasa necesariamente por la falta o inactividad de la función proteica que codifica el gen, la proteína conocida como FMRP. Su ausencia se debe a la inhibición de la transcripción del gen por metilación del promotor, por lo que tampoco aparece en las

células de los pacientes con mutación completa y metilada del ARNm. El gen existe y se piensa que sería funcional si pudiera transcribirse, ya que la secuencia de la proteína que codifica no cambia por la variación en el número de tripletes, pues la zona CGG se localiza fuera de la secuencia codificante para la proteína FMRP [1,2].

La posibilidad de reactivar el gen se intuye como una forma de terapia para este síndrome, siempre que encontremos el modo

Recibido: 20.09.01. Aceptado: 08.10.01.

<sup>a</sup>Department of Pediatrics, University Hospital. Messina. <sup>b</sup>Institute of Medical Genetics. Catholic University. Rome, Italy.

Correspondencia: Dr. Pietro Chiurazzi. Laboratory of Molecular Genetics. Department of Pediatrics. University Hospital. Via Consolare Valeria. 98100

Messina, Italia. E-mail: pietrosmile@yahoo.com

Agradecimientos. El Dr. Chiurazzi desea expresar su gratitud a su amiga y colega de investigación, la Dra. Yolanda de Diego Otero, quien ha hecho posible esta publicación.

© 2001, REVISTA DENEUROLOGÍA

de hacerlo sin afectar otros genes inactivos fisiológicamente por metilación. La investigación actual se centra en encontrar las vías de reactivación más efectivas que permitan un tratamiento de los pacientes con el síndrome.

## INACTIVACIÓN Y REACTIVACIÓN DE LAS MUTACIONES COMPLETAS X FRÁGILES

El proceso mutacional para explicar este síndrome, con los datos que hoy se conocen, nos remontaría a un suceso ocurrido probablemente mucho tiempo atrás, que generaría lo que podríamos llamar promutaciones. Varias generaciones después de una desestabilización inicial, de forma progresiva o súbita, algunas promutaciones saldrán del grupo de alelos con riesgo (zona gris) y se convertirán en premutaciones. De dos a seis veces el tamaño normal no es suficiente para causar patología, aunque ya se observa un aumento de la transcripción del ARNm del *FMR1* [3,4], posiblemente para compensar una deficiencia en la traducción del ARNm expandido en el intervalo de premutación [5].

Posiblemente por distintos medios en los que fallan los mecanismos de replicación fiel del ADN, la premutación se convierte en una mutación completa, con expansiones que provocan la metilación e inactivación de las repeticiones CGG y de la isla CpG que regula la expresión del gen *FMR1*. La metilación es necesariamente un paso de la represión transcripcional que sufre el gen *FMR1* cuando el número de tripletes alcanza el margen de mutación. Se ha comprobado que el tratamiento de líneas celulares de pacientes afectados por SXF, tratadas con compuestos como 5-azadeoxicitidina (5-azadC), reactiva la expresión del ARNm del *FMR1*; a su vez, se puede detectar la presencia de proteína FMRP tras el tratamiento.

Las repeticiones CGG expandidas en las mutaciones completas representan un elemento parásito desde una perspectiva genómica, y su metilación es probable que contribuya a la estabilización [6-8]. También otros tripletes CGG susceptibles de expandirse sufren metilación cuando alcanzan un margen crítico, como es el caso de FRAXE, FRAXF, FRA16A y, posiblemente, FRA11B [9-12]. Todos se comportan de forma similar y coinciden con regiones de replicación tardía [13].

Se sabe que la metilación de la isla CpG es suficiente para inhibir la unión de los factores de transcripción, necesarios para iniciar el proceso [14]. También se observa que actúan como captadores de complejos multiproteicos que contienen, entre otras, proteínas de acetilasa de las histonas (proteínas que estructuran el ADN en cromatina). Las modificaciones de las histonas por deacetilación, defosforilación y demetilación afectan la estructura de la cromatina induciendo la activación e inactivación de los genes [15].

La deacetilación de las proteínas histonas, por sí misma, no induce la reactivación, pero se observa que tiene un gran efecto sinérgico cuando se utiliza junto con 5-azadC. Cuando se ha conseguido la demetilación, la deacetilación induce un incremento en los niveles de transcripción de forma geométrica. Previamente, habíamos observado que los niveles de reactivación conseguidos con 5-azadC se correlacionan inversamente con el tamaño de las expansiones CGG [16]. También hemos encontrado que la demetilación del promotor regulador de la transcripción con 5-azadC se observa en una proporción pequeña de células después de tres días de tratamiento; tras ocho días, la mayoría de las células presentan el promotor demetilado. Hemos propuesto que, aunque el promotor del gen *FMR1* esté demetilado, todavía no es posible la transcripción debido a la metilación de la zona CGG. Por el contrario,

la transcripción es posible si el promotor está metilado y la zona de tripletes CGG no lo está, como se ha comprobado en un paciente con una premutación con un promotor parcialmente metilado, en el que se detectaba producción de proteína. Se puede concluir que el promotor del *FMR1* inactivo no es tan inaccesible como en principio se pensó, porque al menos algunos factores de transcripción pueden reconocer y unirse a las zonas específicas, induciendo la transcripción del gen *FMR1* en una parte de las células [17].

## FUTURO EN LA INVESTIGACIÓN DEL SXF

Hace 10 años que se clonó el gen *FMR1* y se descubrió un nuevo mecanismo de mutación genética con las repeticiones de tripletes inestables [1]. En el año 2001 todavía hay muchas preguntas que quedan por contestar:

- ¿Qué mecanismos han permitido exactamente la inestabilidad a pequeña escala a lo largo de generaciones, y cuándo son activos?
- ¿Qué mecanismos –si son diferentes– pueden provocar que una premutación se expanda a mutación completa de forma tan acusada en una sola generación?
- ¿Cuándo y en qué células tiene lugar el paso de premutación a mutación completa?
- ¿Cómo y cuándo una mutación completa pasa a estar metilada?
- ¿Conseguiremos con éxito una demetilación permanente o se remetilará en células somáticas?

Se han obtenido respuestas parciales a estas preguntas, pero aún queda por hacer una gran parte de los trabajos experimentales. Con respecto a los mecanismos de inestabilidad a pequeña escala, se ha propuesto un fallo con salto en la replicación como una posible explicación [18]; dependería de la longitud de los tripletes CGG que se quieren replicar y de la intersección de tripletes estabilizadores, como los AGG, cada cierto número de CGG [19].

Recientemente se han tenido evidencias en estudios sobre modelos de ratón, que muestran cómo incluso sin replicación puede existir inestabilidad, posiblemente ligada a los mecanismos de reparación ligados a la transcripción [20]. Recientemente se ha creado un modelo de ratón, con una premutación de 98 repeticiones CGG en el gen *FMR1*, y sobre él podrán realizarse experimentos que contesten a este tipo de cuestiones [21].

No se han observado grandes expansiones de premutación a mutación en los modelos de ratón, y se piensa que los mecanismos por los que suceden estas amplificaciones tan acusadas en el número de CGG son distintos a los que generan la inestabilidad a pequeña escala. Para explicar los grandes cambios en el número de tripletes se ha propuesto la formación de estructuras en horquilla en los nuevos fragmentos de Okazaki que se forman al replicar la zona de tripletes CGG del gen *FMR1*. Otra propuesta es que, tras la rotura de la doble hélice, se suceden apareamientos erróneos e invasión de la secuencia donadora por la nueva hebra que se está sintetizando, permitiendo que la maquinaria de síntesis de ADN replique más de una vez las repeticiones [22]. Si la reparación por conversión génica necesita de una copia homóloga en el otro cromosoma X, ello explicaría por qué mujeres portadoras de una premutación tienen sólo hijos, con una mutación completa y por qué varones con premutación tienen sólo hijas con premutación. Otra explicación a esta desviación por el sexo podría deberse a que la premutación pasaría a mutación completa en la línea germinal –que da lugar a las células reproductoras–, pero mecanismos de selección sólo activos durante la gametogénesis po-

drían eliminar las espermatogonias (células reproductoras masculinas) con unos CGG por encima de la premutación [23]. Entonces, durante la embriogénesis, sólo podrían ocurrir variaciones en el intervalo de tamaño de los CGG de mutación completa y, eventualmente, reducciones de tamaño [24].

Saber exactamente cuándo y por qué se metila una mutación completa puede ser relevante para encontrar la forma de interferir este proceso y prevenirlo. Sin embargo, estudios como el que se lleva a cabo en varones normales con mutaciones completas no metiladas, pueden ayudar a comprender si la metilación *de novo* en las mutaciones completas puede tener lugar sólo en un período restringido en el desarrollo embrionario temprano [25,26]. Autopsias de estos individuos tras su fallecimiento permitirían conocer si la normalidad en su inteligencia se debe a una premutación en el tejido nervioso, lo que se explicaría como un caso de mosaicismo de tejido.

Para entender científicamente todo este proceso de metilación-demetilación es necesario mejorar el conocimiento que tenemos sobre los mecanismos y 'maquinarias' celulares que lo llevan a cabo. Sólo se ha descrito una metil-transferasa de mantenimiento y dos metil-transferasas *de novo*, pero aún no es seguro que la metilación *de novo* no esté ausente en las células somáticas del individuo adulto. Esta última información resulta fundamental para conseguir una demetilación efectiva de las mutaciones completas. La ausencia de remetilación permitiría un posible trata-

miento para los pacientes afectados con este tipo de abordaje terapéutico. En líneas somáticas en cultivo se ha observado que no presentan remetilación cuando se estudia una mutación completa no metilada, lo que apoya la idea del tratamiento por demetilación del gen *FMR1* en los pacientes [8].

Cuando se considera un tratamiento farmacológico basado en la reactivación por demetilación, también debe considerarse el impacto de este tratamiento sobre el resto de genes en el genoma del individuo. Aun así, la reactivación del gen *FMR1* totalmente mutado permanece como una alternativa atractiva a otras posibilidades propuestas, entre ellas la terapia genética—introduciendo copia funcional del gen *FMR1* en las células nerviosas del cerebro de los pacientes—o la restitución de la proteína FMRP—producida *in vitro* con una secuencia que la dirija a las células diana [27].

Todavía deben realizarse numerosas investigaciones para poner a punto estas propuestas como terapia de cura del síndrome. Compensar la ausencia de FMRP en los pacientes con otros tratamientos farmacológicos puede ser un camino, así como el ensayo con L-acetilcarnitina—propuesto como un tratamiento para disminuir el comportamiento hiperactivo y fijar la atención—o bien el uso de compuestos como las AMPA quinas—que estimulan los receptores involucrados en la respuesta LTP en el hipocampo y la memoria [28,29]—. Estos últimos se emplean para la enfermedad de Alzheimer y, a su vez, podrían ser útiles para el tratamiento de la discapacidad intelectual observada en el SXF.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Verkerk AJ, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DPA, 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: 905-14.
- Fu YH, Kuhl DP, Pizzuti A, Pieretti M, Sutcliffe JS, Richards S, et al. Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox. *Cell* 1991; 67: 1047-58.
- Tassone F, Hagerman RJ, Loesch DZ, Lachiewicz A, Taylor AK, Hagerman PJ. Fragile X males with unmethylated, full mutation trinucleotide repeat expansions have elevated levels of *FMR1* messenger RNA. *Am J Med Genet* 2000; 94: 232-6.
- Kenneson A, Zhang F, Hagedorn K, Warren ST. Reduced FMRP and increased *FMR1* transcription is proportionally associated with CGG repeat number in intermediate-length and premutation carriers. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 1449-54.
- Feng Y, Zhang F, Lokey LK, Chastain JL, Lakkis L, Eberhart D, et al. Translational suppression by trinucleotide repeat expansion at *FMR1*. *Science* 1995; 268: 731-4.
- Wohrle D, Schwemmler S, Steinbach P. DNA methylation and triplet repeat stability: new proposals addressing actual questions on the CGG repeat of fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 1996; 64: 266-7.
- Wohrle D, Salat U, Glaser D, Mucke J, Meisel-Stosiek M, Schindler D, et al. Unusual mutations in high functioning fragile X males: apparent instability of expanded unmethylated CGG repeats. *J Med Genet* 1998; 35: 103-11.
- Wohrle D, Salat U, Hameister H, Vogel W, Steinbach P. Demethylation, reactivation and destabilization of human fragile X full-mutation alleles in mouse embryocarcinoma cells. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 504-15.
- Knight SJL, Flannery AV, Hirst MC, Campbell L, Christodoulou Z, Phelps SR, et al. Trinucleotide repeat amplification and hypermethylation of a CpG island in FRAXE mental retardation. *Cell* 1993; 74: 127-34.
- Parrish JE, Oostra BA, Verkerk AJ, Richards CS, Reynolds J, Spikes AS, et al. Isolation of a GCC repeat showing expansion in FRAXF, a fragile site distal to FRAXA and FRAXE. *Nat Genet* 1994; 8: 229-35.
- Nancarrow JK, Kremer E, Holman K, Eyre H, Doggett NA, Le Paslier D, et al. Implications of FRA16A structure for the mechanism of chromosomal fragile site genesis. *Science* 1994; 264: 1938-41.
- Jones C, Penny L, Mattina T, Yu S, Baker E, Voullaire L, et al. Association of a chromosome deletion syndrome with a fragile site within the proto-oncogene CBL2. *Nature* 1995; 376: 145-9.
- Hansen RS, Canfield TK, Lamb MM, Gartler SM, Laird CD. Association of fragile X syndrome with delayed replication of the *FMR1* gene. *Cell* 1993; 73: 1403-9.
- Kumari D, Usdin K. Interaction of the transcription factors USF1, USF2, and alpha-Pal/Nrf-1 with the *FMR1* promoter. Implications for Fragile X mental retardation syndrome. *J Biol Chem* 2001; 276: 4357-64.
- Berger SL. Local or global? *Nature* 2000; 408: 412-4.
- Chiurazzi P, Pomponi MG, Pietrobono R, Bakker CE, Neri G, Oostra BA. Synergistic effect of histone hyperacetylation and DNA demethylation in the reactivation of the *FMR1* gene. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 2317-23.
- Tassone F, Hagerman RJ, Taylor AK, Hagerman PJ. A majority of fragile X males with methylated full mutation alleles have significant levels of *FMR1* messenger RNA. *J Med Genet* 2001; 38: 453-6.
- Richards RI, Sutherland GR. Simple repeat DNA is not replicated simply. *Nat Genet* 1994; 6: 114-6.
- Nolin SL, Houck GE Jr, Gargano AD, Blumstein H, Dobkin CS, Brown WT. *FMR1* CGG-repeat instability in single sperm and lymphocytes of fragile-X premutation males. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 680-8.
- Sinden RS. Origins of instability. *Nature* 2001; 411: 757-8.
- Bontekoe CJ, Bakker CE, Nieuwenhuizen IM, van der Linde H, Lans H, de Lange D, et al. Instability of a (CGG)<sub>98</sub> repeat in the *FMR1* promoter. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 1693-9.
- Richard GF, Paques F. Mini- and microsatellite expansions: the recombination connection. *EMBO Rep* 2000; 1: 122-6.
- Reyniers E, Vits L, de Boule K, van Roy B, van Velzen D, de Graaff E, et al. The full mutation in the *FMR1* gene of male fragile X patients is absent in their sperm. *Nat Genet* 1993; 4: 143-6.
- Chiurazzi P, Kozak L, Neri G. Unstable triplets and their mutational mechanism: size reduction of the CGG repeat vs. germline mosaicism in the fragile X syndrome. *Am J Med Genet* 1994; 51: 517-21.
- Burman RW, Yates PA, Green LD, Jacky PB, Turker MS, Popovich BW. Hypomethylation of an expanded *FMR1* allele is not associated with a global DNA methylation defect. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1375-86.
- Schwemmler S. In vivo footprinting analysis of the *FMR1* gene: proposals concerning gene regulation in high-functioning males. *Am J Med Genet* 1999; 84: 266-7.
- Schwarze SR, Ho A, Vocero-Akbani A, Dowdy SF. In vivo protein transduction: delivery of a biologically active protein into the mouse. *Science* 1999; 285: 1569-72.
- Arai AC, Kessler M, Rogers G, Lynch G. Effects of the potent ampakine CX614 on hippocampal and recombinant AMPA receptors: interactions with cyclothiazide and GYKI 52466. *Mol Pharmacol* 2000; 58: 802-13.
- Lauterborn JC, Lynch G, Vanderklish P, Arai A, Gall CM. Positive modulation of AMPA receptors increases neurotrophin expression by hippocampal and cortical neurons. *J Neurosci* 2000; 20: 8-21.

# INVESTIGACIÓN TERAPÉUTICA: REACTIVACIÓN DEL GEN FMR1 CAUSANTE DEL SÍNDROME X FRÁGIL

**Resumen.** El síndrome X frágil representa la forma más común de discapacidad intelectual hereditaria en el mundo. Pertenecce a un grupo enorme de más de 200 tipos de retrasos mentales que están causados por mutaciones en genes localizados en el cromosoma X, y que tienen como frecuencia colectiva 1 de cada 1.000 individuos. Este síndrome es también excepcional porque representó la primera enfermedad genética causada por la expansión de una zona inestable de tripletes CGG, por lo que se ha tomado como el prototipo de una lista creciente de enfermedades hereditarias causadas por mutaciones dinámicas, debidas a inestabilidad de repeticiones de tripletes. Diez años después de clonar el gen FMR1, causante del síndrome X frágil, todavía no sabemos todos los sucesos moleculares que tienen lugar para permitir la desestabilización de las repeticiones CGG, localizadas muy cerca de la isla CpG que regula la transcripción del gen FMR1. Sin embargo, encontrar que existe un efecto fundador en este síndrome indica que los cromosomas mutados actuales proceden de un número reducido de cromosomas ancestrales que sufrieron la inestabilidad y que han ido pasando de una generación a la siguiente. La expansión de los tripletes induce una metilación e inactivación del gen FMR1, lo que provoca la ausencia del producto proteico que codifica, la proteína FMRP, en las células de los pacientes afectados. Por ello, investigamos la forma de reactivar el gen FMR1 en las células de los pacientes para conseguir la producción de la proteína, y estudiar si se puede revertir el fenotipo a la normalidad. La reactivación se podría conseguir demetilando la zona reguladora de la transcripción; se observa transcripción del gen FMR1 al tratar las células de pacientes en cultivo, con agentes químicos demetilantes, así como traducción de la proteína. Al estudiar la reactivación de mutaciones completas en células de pacientes intentamos aprender más sobre la inactivación y esperamos que una posible manera de prevenir o revertir la afectación en los pacientes con el síndrome. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S62-5]

**Palabras clave.** Investigación. Modelos celulares. Reactivación genética. Síndrome X frágil. Tratamiento.

# INVESTIGAÇÃO TERAPÊUTICA: REATIVAÇÃO DO GENE FMR1, CAUSA DA SÍNDROMA X FRÁGIL

**Resumo.** A síndrome X frágil representa a forma de incapacidade intelectual hereditária mais comum no mundo. Pertence a um grande grupo de mais de 200 tipos de atrasos mentais causados por mutações em genes localizados no cromossoma X, e que têm como frequência colectiva 1 em cada 1.000 indivíduos. Esta síndrome é excepcional também porque foi a primeira doença genética causada pela expansão de uma zona instável de tripletes CGG, pelo que se tornou como no protótipo de uma lista crescente de doenças hereditárias causadas por mutações dinâmicas, devidas à instabilidade de repetições de tripletes. Dez anos depois de clonar o gene FMR1 causador da síndrome X frágil, ainda não conhecemos todos os sucessos moleculares que têm lugar para permitir a desestabilização das repetições CGG, localizadas muito próximas da ilha CpG que regula a transcrição do gene FMR1. Contudo, encontrar que existe um efeito fundador nesta síndrome, indica que os cromossomas mutados actuais procedem de um número reduzido de cromossomas ancestrais que sofreram a instabilidade e que foram passando de geração em geração. A expansão dos tripletes induz uma metilação e inactivação do gene FMR1, o que provoca a ausência do produto proteico que codifica a proteína FMRP, nas células dos pacientes afectados. Por isso, investigámos a forma de reactivar o gene FMR1 nas células dos doentes para conseguir a produção da proteína, e estudar se é possível reverter o fenotipo para a normalidade. Poder-se-ia conseguir a reactivação desmetilando a zona reguladora da transcrição; observa-se transcrição do gene FMR1 ao tratar culturas de células de doentes, com agentes químicos desmetilantes, assim como tradução da proteína. Ao estudar a reactivação de mutações completas em células de doentes, tentámos aprender mais sobre a inactivação e, esperamos, uma possível maneira de prevenir ou reverter o envolvimento nos doentes com a síndrome. [REV NEUROL 2001; 33 (Supl 1): S62-5]

**Palavras chave.** Investigação. Modelos celulares. Reactivação genética. Síndrome X frágil. Tratamento.