

FMRP y las neuroliginas: la influencia de la actividad sensorial en las dinámicas del neurodesarrollo

FMRP and Neuroligins: The Influence of Sensory Activity on Neurodevelopment Dynamics

Recibido: 23/12/2019 | Aceptado: 13/04/2020

ELISA VIVEROS ARAQUE^a

Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad
Icesi, Cali, Colombia

LINA VANESSA BECERRA HERNÁNDEZ

Departamento de Ciencias Básicas de la Salud,
Pontificia Universidad Javeriana, sede Cali, Colombia

JULIANA RENGIFO GÓMEZ

Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad
Icesi, Cali, Colombia

RESUMEN

El síndrome de frágil X (SFX) es la principal causa hereditaria de discapacidad cognitiva y la causa hereditaria conocida más común en los trastornos del espectro autista (TEA). En este síndrome se afecta la expresión de la proteína de retardo mental del cromosoma X frágil (FMRP), reguladora de la traducción de ARN. La FMRP participa en el refinamiento de los circuitos neuronales durante el desarrollo. Las fallas en su función coinciden con la aparición de circuitos neuronales sobreabundantes en espinas dendríticas inmaduras y con pérdida de la plasticidad sináptica. Por otra parte, las neuroliginas (Nlg) que se han encontrado mutadas en algunos pacientes con TEA son proteínas de adhesión neuronal postsináptica. Estas proteínas ayudan a la especialización y la maduración dendrítica, y su mutación coincide con alteraciones en la transmisión sináptica. Dado que FMRP y Nlg son proteínas necesarias para los procesos de eliminación y maduración sináptica afectados tanto en FXS como en TEA, en esta revisión se recopila y examina la evidencia de los principales hallazgos sobre estas proteínas, su relación y su modulación dependiente de la actividad generada por la experiencia sensorial. Además, se destaca la *Drosophila melanogaster* como el organismo de las emergentes investigaciones en este campo.

^a Autora de correspondencia: elisaviverosaraque@outlook.com

Cómo citar: Viveros Araque E, Becerra Hernández L, Rengifo Gómez J. FMRP y las neuroliginas: la influencia de la actividad sensorial en las dinámicas del neurodesarrollo. Univ. Med. 2020;61(4). <https://doi.org/10.11144/Javeriana.umed61-4.fmrp>

Palabras clave

desarrollo dependiente de actividad; proteína de retardo mental del cromosoma X frágil (FMRP); neuroliginas; autismo; síndrome de frágil X (SFX).

ABSTRACT

Fragile X syndrome (SFX) is the leading inherited cause of cognitive disability and the most common inherited known cause in Autism Spectrum Disorders (ASD). In this syndrome, the expression of the Fragile X Mental Retardation Protein (FMRP), an RNA-binding protein that functions as a negative regulator of translation, is affected. FMRP

participates in the synaptic refinement of neuronal circuits during development. Failures in its function coincide with the appearance of neuronal circuits overabundant in immature dendritic spines and with loss of synaptic plasticity. On the other hand, Neuroligins (NLgs), which have been found to be mutated in some patients with ASDs, are postsynaptic neuronal adhesion proteins. These proteins help in the dendritic specialization and maturation, and their mutation coincides with alterations in synaptic transmission. Since FMRP and NLgs are proteins necessary for the processes of synaptic elimination and maturation, both affected in FXS and ASDs, in this review we collect and examine the evidence of the main findings on these proteins, their relationship and their modulation dependent on the electrical activity generated by sensory experience. In addition, we highlight *Drosophila melanogaster* as the animal model of the emerging research in this field.

Keywords

activity-dependent development; fragile X mental retardation protein (FMRP); neuroligins; autism; fragile X syndrome (SFX).

Introducción

El síndrome de frágil X (SFX) es la forma más frecuente de discapacidad cognitiva hereditaria (1). Lo ocasiona una mutación en el gen FMR1 del cromosoma X, en la cual al comienzo del gen ocurre una expansión en las repeticiones del trinucleótido CGG, que impide la correcta expresión de la proteína codificada: la proteína del retardo mental frágil X (FMRP) (2). Las diferentes manifestaciones clínicas están sujetas al número de repeticiones de este trinucleótido: las personas que tienen de 55 a 200 repeticiones presentan una mutación parcial, y aquellas que poseen más de 200 repeticiones presentan una mutación completa (3). Se estima que alrededor del mundo aproximadamente 1 de cada 4000 hombres y 1 de cada 6000 mujeres padece SFX, al presentar la mutación completa (4,5). El estimado para las mutaciones parciales es 1 por cada 130-200 hombres y 1 por cada 250-450 mujeres (6). En Colombia, lastimosamente, no se tiene un estimado de la cantidad de personas con el SFX; sin embargo, en un estudio de 1999 en Ricaurte (Valle del Cauca, Colombia), un municipio cuya población en ese momento era alrededor de 1024 habitantes y donde se observaba una alta aparición de casos de retardo mental, se encontró que de las 42

personas prescritas con retardo mental 19 fueron diagnosticadas con el SFX. Estos datos revelaron una prevalencia de 1 en 38 hombres y 1 en 100 mujeres, que excede por mucho las estadísticas mundiales y que convirtieron al poblado en un foco endémico para este síndrome (1).

La mutación en el gen FMR1, parcial o completa, se traduce respectivamente al plano celular como la poca o nula producción de FMRP (7). Los síntomas presentados varían en un amplio rango según el sexo y el grado de la mutación. Los más comunes son la discapacidad cognitiva, los problemas de aprendizaje, el autismo, la hiperactividad, la ansiedad y los movimientos impulsivos. Existen otros síndromes relacionados con el SFX, observados incluso en las mutaciones parciales y que abarcan desde complicaciones gastrointestinales, trastornos oculares, problemas del sueño, obesidad (8), ataxia y temblor, neuropatía periférica, parkinsonismo (9) e insuficiencia ovárica, que produce menopausia prematura y disminución de la fertilidad en las afectadas (10).

El SFX es la causa genética conocida más común asociada con los trastornos del espectro autista (TEA) (11,12). Se calcula que, aproximadamente, entre el 20% y el 60% de las personas con SFX cumplen los criterios para TEA (13). Recientemente, los TEA se han consolidado en el mundo como un problema de salud pública, tanto que en Estados Unidos se ha encontrado que al menos 1 de cada 68 niños desarrolla alguno de estos trastornos. Los TEA se consideran uno de los padecimientos más devastadores en la niñez no solo por su morbilidad, sino por el impacto emocional en la familia y el costo al sistema de salud de Estados Unidos (236-262 miles de millones de dólares anualmente) (14). En los pacientes con TEA se presenta déficit en el aprendizaje, falta de reconocimiento del lenguaje, irritabilidad y perturbaciones innatas del contacto afectivo y la socialización, incluso con la familia (15). En Colombia, hasta hoy, no existen censos que aporten información estadística sobre esta problemática.

La sinaptogénesis o construcción de sinapsis tiene su apogeo en etapas tempranas del desarrollo del embrión; mientras que en la etapa posnatal, conocida como *periodo crítico*, unas sinapsis se fortalecen y maduran en tanto se eliminan otras. La eliminación de sinapsis, conocida como poda sináptica, es necesaria para las sinapsis inapropiadas o aquellas cuya maduración no fue estimulada por falta de actividad, y que se tornan ineficaces. Los TEA y el SFX coinciden en presentar trastornos en el periodo crítico del desarrollo neuronal, con conexiones sinápticas que se constituyen defectuosamente, transmisión sináptica poco modulada, un desbalance entre señales excitatorias e inhibitorias y alteración en los sistemas de plasticidad sináptica (16).

Las funciones de la proteína FMRP, cuya producción se ve afectada en el SFX, incluyen el transporte de ARNm a la sinapsis desde el soma e incluso desde el núcleo y la regulación de la síntesis de proteínas implicadas en el ensamblaje y funcionamiento de las sinapsis, ya sea por unión a sus transcritos o por bloqueo a las subunidades ribosomales que los traducen (17). Los defectos en la expresión de FMRP coinciden con la presencia de circuitos neuronales aberrantes, ya que hay demasiadas sinapsis, muchas de ellas inmaduras y con una morfología anormal, con sobreproducción de proteínas y con toxicidad causada por acumulación de ARNm (18).

Las neuroliginas (Nlg), por otro lado, son proteínas de adhesión celular que, además de conectar en la sinapsis las membranas de las dos neuronas, ayudan a consolidar las conexiones neuronales que se forman con la experiencia sensorial (19). En el TEA se han detectado mutaciones en la proteína Nlg que afectan la citoarquitectura funcional de la sinapsis con implicaciones en la actividad de las conexiones neuronales (16). Existen estudios que relacionan la ausencia de FMRP con la expresión anormal de Nlg1 y con déficits en el comportamiento social en ratones, y hay estudios en cultivos *in vitro* de inmunoprecipitación de ARNm que han encontrado FMRP unida a Nlg 2 (20,21). Sin embargo, aún falta mucho por entender sobre las

bases moleculares de este vínculo y su posible conexión en el desarrollo de estas enfermedades.

En el presente artículo se pretende dar una visión general de las relaciones entre Nlg, FMRP y la actividad sensorial, tanto en el campo fisiológico como en el comportamental, con el que se intenta también esbozar el panorama molecular de las principales enfermedades relacionadas con dichas proteínas. Finalmente, se pretende describir la *Drosophila melanogaster* como uno de los organismos modelos más prácticos para iniciar investigaciones en este campo (22).

Síndrome de frágil X

El SFX, también conocido como el síndrome de Martin-Bell, es una enfermedad de gran interés debido, primero, a que representa la segunda causa mundial conocida de discapacidad cognitiva después del síndrome de Down; segundo, a que es la forma más frecuente de discapacidad cognitiva heredada, y, tercero, a que es la causa genética conocida más común de los TEA (11,23,24).

El SFX es causado por una mutación en el brazo largo del cromosoma X, en la región Xq27.3 en el gen *FMR1*. Esta mutación consiste en una expansión repetitiva de más de 55 veces del trinucleótido CGG que se encuentran al comienzo de este gen en la región no traducida 5' (2). El SFX puede ocurrir también por la delección parcial o total del gen *FMR1*. La expansión del trinucleótido puede clasificarse en dos tipos de mutación: las personas que tienen de 55 a 200 repeticiones y presentan una mutación parcial, y aquellas que poseen más de 200 repeticiones y evidencian una mutación completa (3).

Las diferentes manifestaciones clínicas de dicho síndrome están sujetas al número de repeticiones de este trinucleótido. Las repeticiones en la premutación permiten fabricar el transcrito del gen *FMR1*, pero dicho transcrito tiende a acumularse y se traduce muy poco; la acumulación de transcritos se vuelve entonces tóxica, ya que estos forman

agregados intranucleares en las que pueden estar implicadas varias proteínas de unión a ARN que aumentan su afinidad por estos transcritos al aumentar las repeticiones de CGG (25-27). Las premutaciones de frágil X producen insuficiencia ovárica primaria, ansiedad, trastorno del sueño y síndrome de ataxia/temblor asociado al frágil X. Por otro lado, el efecto directo de la mutación es la no producción de la FMRP, debido a que las repeticiones CGG llevan al bloqueo de la unión de los factores de transcripción, ya sea por la hipermetilación en estas bases o por la conformación errónea de la cromatina. (7,24,28).

Esta mutación se transmite a la descendencia siguiendo, más o menos, los patrones de herencia genética de enfermedades ligadas al cromosoma X. Esta alteración de repeticiones trinucleotídica se replica, también, en la gametogénesis de los portadores y se trasmite a la descendencia por un mecanismo aún no dilucidado completamente. No obstante, se plantea que la razón por la cual los mecanismos de reparación del ADN no corrigen dichas repeticiones es que estas bases forman estructuras como bucles y horquillas que limitan el acceso a estas. Durante la meiosis, las repeticiones de CGG tienden a expandirse, especialmente en la ovogénesis. Sin embargo, solo hasta cuando se excedan las 200 repeticiones se presentará el síndrome; esta es la razón por la cual esta enfermedad no sigue rigurosamente el típico patrón de herencia ligada al X (17,25).

Se estima que alrededor del mundo aproximadamente 1 de cada 4000 hombres y 1 de cada 6000 mujeres padece SFX al presentar la mutación completa (4,5). El estimado para las mutaciones parciales es 1 por cada 130-200 hombres y 1 por cada 250-450 mujeres (24,29). Las personas con SFX, además de mostrar rasgos físicos característicos como orejas grandes, cara alargada, estrabismo y testículos grandes, presentan discapacidad intelectual, alto déficit de atención (prevalencia del 80 %), problemas en el lenguaje, ansiedad e hiperactividad (incidencia del 66 %) (30). Una de las comorbilidades más asociadas a FXS es la epilepsia, además, de que casi el 90 % de los niños que sufren SFX tienen características autistas o sufren algún trastorno autista (3,14).

En términos morfológicos, algunos estudios revelan que el volumen de los lóbulos corticales frontales y temporales en pacientes con SFX es menor que en pacientes sanos, y lo contrario ocurre con los lóbulos parietal y occipital, donde son significativamente mayores en SFX. Se muestra, además, gran tamaño del núcleo caudado, y la reducción del tamaño del vermis cerebeloso posterior, la amígdala y el giro temporal superior en pacientes con SFX (31,32). Histológicamente, las neuronas piramidales de la corteza cerebral de gran parte de estos pacientes muestran un mayor número de espinas dendríticas, que además son inmaduras y dismorfogénicas, lo que supone problemas en la plasticidad sináptica (33).

La proteína FMRP abunda en neuronas, comparada con su expresión en otros tejidos, y su función es la unión al 4 % del ARNm participando tanto en su transporte como en el control de la traducción de estos. La proteína FMRP es clave para la poda y la maduración de las sinapsis y por lo tanto para la apropiada función de los circuitos neuronales (3,34).

Trastornos del espectro autista

Por otro lado, los TEA son una condición que abarca un conjunto de trastornos comportamentales, cuyo origen proviene de una falla en el neurodesarrollo temprano del cerebro que puede ser producto de múltiples condiciones poligenéticas, como variación del número de copias de algunos genes, aneuploidías y mutaciones puntuales en genes específicos, además de condiciones epigenéticas (3,35), cuyas manifestaciones clave son interacción social anormal, déficit en el lenguaje verbal y no verbal, intereses poco usuales y conductas repetitivas. Estos síntomas pueden tener déficits tan leves que se traslapan con el desarrollo normal o pueden ser tan severos que causan en la persona un daño intelectual profundo. Esta gran variabilidad es lo que hace difícil su diagnóstico y tratamiento (35,36).

En condiciones normales, los circuitos neuronales cuentan con alrededor de un 80 %

de sinapsis excitatorias y un 20 % de sinapsis inhibitorias (37). Esta proporción, aproximada y muy general, se encuentra en desbalance en los circuitos neuronales en el SFX y en los TEA. En ellos, según la hipótesis más aceptada, aunque todavía en discusión (38), se pierde el balance normal de sinapsis excitatorias a inhibitorias, lo que genera una hiperexcitabilidad en la neurotransmisión en general y la incapacidad para inhibirla. Estas anormalidades se asocian con problemas de ansiedad, aprendizaje, memoria y plasticidad dependiente de actividad en los pacientes (39,40).

Ya que entre el 15 % y el 60 % de las personas con SFX sufre en algún grado de TEA (13) y que ambas patologías exhiben inmadurez de las sinapsis, alta densidad de espinas dendríticas y un desbalance entre sinapsis excitatorias/inhibitorias (41), es importante estudiar en ellas las deficiencias que se presentan en los procesos de construcción de sinapsis (o sinaptogénesis) y de eliminación, conocido como poda sináptica.

Sinaptogénesis, poda sináptica y eliminación dependiente de actividad

El desarrollo del sistema nervioso es un proceso complejo que inicia con la proliferación de las neuronas y su migración a posiciones particulares. A este primer proceso complejo le sigue la etapa de la sinaptogénesis en la que, usando el cono de crecimiento axónico, la neurona busca y reconoce su dendrita objetivo. La sinaptogénesis se divide en *fase inicial de reconocimiento*, donde hay un contacto superficial entre las dos neuronas; la *fase inductiva*, en la cual por medio de proteínas de adhesión celular se afianza esta unión; *fase de especialización*, en que gracias a la activación de cascadas de señalización celular se diferencia la membrana postsináptica de la presináptica y se define la sinapsis como excitatoria o inhibitoria, y *fase de maduración*, donde se consolida la expresión de todas las proteínas necesarias en la sinapsis, como las proteínas necesarias para la exocitosis de las vesículas con los neurotransmisores, las

proteínas que reclutan los receptores sinápticos y las proteínas de soporte del citoesqueleto (42,43).

Sin embargo, durante el desarrollo del sistema nervioso no todas las sinapsis formadas llegarán a la fase de maduración, muchas iniciarán la *fase de eliminación*. Se cree que la experiencia sensorial y la actividad eléctrica que esta produce en los circuitos neuronales es determinante en el momento de seleccionar cuáles sinapsis maduran y cuáles son eliminadas. Los circuitos neuronales que fueron activados al captar una experiencia se hacen más fuertes y tienden a crear más conexiones sinápticas; mientras que aquellas sinapsis que no se usaron o que fueron generadas en puntos incorrectos se hacen más débiles y son eliminadas (42,43).

En los animales, el refinamiento o remodelación de los circuitos neuronales generado por estos procesos de eliminación o poda sináptica y cimentación de nuevas conexiones se maximiza en la ventana del desarrollo que corresponde con el periodo posnatal (que en humanos corresponde a la niñez y a la adolescencia) y se reduce drásticamente cuando se llega a la madurez (22). A lo largo de la vida de los animales, las sinapsis que no fueron eliminadas y que, por el contrario, maduraron, pueden cambiar la fortaleza de su respuesta eléctrica dependiendo de la experiencia obtenida en la interacción con el ambiente; a esto se le llama *plasticidad neuronal* (16,44,45).

La poda sináptica dependiente de actividad es un proceso fundamental para este tipo de proceso. Los mecanismos moleculares encargados de eliminar una sinapsis (ya sea porque es incorrecta o porque no se usó para alguna actividad) aún no son totalmente claros. Sin embargo, hay evidencia que implica directamente a la proteína FMRP en este proceso de poda (46).

Las dos formas principales de plasticidad sináptica en el cerebro son la potenciación a largo plazo (LTP) y la depresión a largo plazo (LTD) (47). La LTD es el mecanismo dependiente de actividad por el cual algunas sinapsis son eliminadas. Ocurre especialmente cuando se estimula la membrana postsináptica con baja intensidad por largos periodos o

cuando el potencial de acción de la neurona presináptica ocurre después de que inicie el potencial postsináptico excitador (EPSP). Independientemente de la razón, este mecanismo es sobre todo glutamatérgico. Al unirse el glutamato a los receptores ionotrópicos AMPA, estos abren el poro de su canal y permiten la entrada de cationes (sodio y potasio) al interior de la membrana postsináptica, lo que vuelve el potencial de membrana más positivo, despolarizándola e incitando a que los receptores ionotrópicos NMDA sean desbloqueados del ion magnesio, que obstruye el poro de su canal. Una vez ocurre este desbloqueo de magnesio por la despolarización de membrana, ingresa un influjo de iones de sodio y, especialmente, de calcio por los receptores NMDA que es importante para los procesos de plasticidad sináptica, aprendizaje y memoria, ya que la cantidad de calcio ingresado depende de la fuerza de la señal eléctrica recibida y de la temporalidad del potencial de acción recibido por la membrana presináptica (si este potencial presináptico precede o, por el contrario, sigue al EPSP) (48-53).

Si el EPSP es fuerte y ocurre después de la despolarización de la membrana presináptica, dicha concentración de calcio dentro de las células será suficiente para activar ciertas cinasas que ayudarán a que se expongan en la membrana más receptores AMPA con más permeabilidad, lo que aumenta la señal eléctrica y, por lo tanto, vuelve más fuerte aquellas sinapsis, un proceso denominado LTP. Por el contrario, si el potencial de acción recibido es débil y muy frecuente o el EPSP ocurre antes de la activación del potencial de acción presináptico, el influjo de calcio recibido es poco y no activará cinasas; más bien activará fosfatasa que provocarán la internalización, por endocitosis, de los receptores AMPA, cuya consecuencia es que, cada vez más, la membrana postsináptica sea menos sensible al glutamato y su estimulación sea más difícil, proceso que corresponde al LTD (48-53).

Sin embargo, existe un mecanismo para la LTD que no es mediado por receptores NMDA, sino por los receptores metabotrópicos de glutamato mGluR, especialmente los receptores 1 y 5. Por lo general, la estimulación prolongada de estos

receptores conduce a la cascada de acople a proteína G, que lleva a la activación de la proteína fosfolipasa C (PLC); esto lleva a la activación de fosfoinosítidol 3 y, finalmente, a la liberación de calcio intracelular. Las señales de calcio activan a las proteínas cinasas que se desplazan a la densidad postsináptica y activan a las proteínas que promueven la traducción de transcritos, de los cuales muchos de ellos, una vez traducidos, promueven la internalización de los receptores AMPA. Algunos ejemplos de estos son las proteínas Step, Map1b, Arc y APP. Las cascadas de señalización más estudiadas para la LTD es la ERK 1/2 y la mTOR, las cuales conducen al aumento de traducción de proteínas para la internalización de los receptores AMPA o a la activación de proteólisis por calpaína. También se activa la vía Ras-MEK-JNK que lleva a la activación de factores de transcripción. Cuando sucede la internalización de receptores ionotrópicos de glutamato mediada por mGluR, este proceso es prácticamente irreversible, lo que lleva casi indefectiblemente a la eliminación de la sinapsis afectada (48-51). Se ha planteado que estas cascadas celulares, de alguna manera, se relacionan con la proteína FMRP, la cual se postula como modulador del proceso (54).

Proteína de retardo mental asociada a frágil X

La FMRP es una proteína de unión a ARN mensajero (ARNm) que participa en su transporte y estabilización desde el núcleo al citoplasma y del citoplasma a la región sináptica y que además controla negativamente su traducción (55). Esta proteína se encuentra en todos los tejidos del cuerpo, pero sobreabunda en los tejidos cerebrales y en los testículos y los ovarios. En las células, la mayoría de esta proteína se encuentra a nivel citoplasmático, aunque una parte de ella se ubica en el núcleo. La FMRP es cuantiosa en neuronas, pero también se puede encontrar en astrocitos, oligodendrocitos y en la microglía (56). Tanto en murinos como en *Drosophila*, así como en los humanos, esta

proteína tiene varias isoformas, lo que da cuenta de su versatilidad en cada uno de los tejidos (25).

La FMRP posee en su estructura varios dominios de unión al ARN mensajero: dos dominios Tudor (que también están implicados en las interacciones proteína-proteína), dos dominios KH y un dominio RGG. Gracias a estos, la FMRP se puede unir a las estructuras secundarias que forman sus ARN diana. Por ejemplo, se describe que se une a la región G-quadruplex de los ARNm de una manera tridimensional o que sus dominios pueden interactuar con las regiones ricas en uracilo. Otras interacciones que se predicen para los dominios KH —y que se han demostrado solamente *in vitro*— es la asociación de la FMRP a las estructuras de bucle y algunas horquillas de ARN, denominadas *kissing stem-loop* (25,57).

Sin embargo, este tipo de uniones directas de la FMRP con el ARNm no son las únicas que se plantean como mecanismo por el cual la FMRP es capaz de bloquear la traducción de transcritos. Se ha propuesto que la unión de la FMRP al ARNm, en sus estructuras secundarias, ayuda a estabilizar a este ácido nucleico y además puede generar un impedimento estérico para que sea traducido por polirribosomas en la fase de elongación. También se ha postulado que la FMRP puede impedir físicamente la unión de los factores iniciadores de la traducción del ARNm a la caperuza 5-prima (25,57).

Adicionalmente, se ha descubierto que la FMRP puede unirse directamente a los ribosomas y estancarlos o detener la traducción del transcrito que están llevando a cabo. En este caso, se ha propuesto que la FMRP bloquea la iniciación y el alargamiento de la traducción y la translocación ribosomal uniéndose a la subunidad 80S (21,25,58). Otra forma en la que se ha descrito que la FMRP puede disminuir la traducción de las proteínas es la unión a micro-ARN, ya que estimula la formación del Complejo de Silenciamiento Inducido, el cual cumple con silenciar el ARNm diana. Algunos ejemplos de esto se dan para los transcritos de NR2A, que es una subunidad del receptor NMDA, y para los transcritos de la proteína PSD-95 (59,60).

Se ha postulado que la FMRP también inhibe la traducción de ciertos ARNm de manera indirecta, al unirse a proteínas reguladoras de inhibidores de la traducción. Una de estas es la proteína citoplasmática 1 de interacción con FMRP (CYFIP), que se une a la proteína de unión al factor de iniciación de la traducción eucariota 4E-1 (4E-BP1), la cual bloquea el ensamblaje del complejo de iniciación de la traducción al unirse al factor de iniciación de la traducción eucariota 4E (eIF4E) (25,57,61).

Además de estas funciones en el citoplasma y las dendritas, la proteína FMRP también se ha asociado a funciones en el núcleo. Las isoformas 6 y 12 se han localizado en los cuerpos de Cajal en cultivo de células humanas (62). La FMRP tiene una señal de exportación de núcleo y una señal de localización celular en sus dominios; además, se une a la proteína factor de exportación de ARN nuclear Tap/NXF1, lo que le permitiría hacer el transporte extranuclear de los transcritos y una función de chaperona en el transporte de mRNA al citoplasma (63). Otros estudios describen la unión de FMRP a la cromatina como respuesta a daños en el ADN a través de la unión de su dominio Tudor a las histonas, postulándola incluso como una proteína prosupervivencia en células HeLa (64).

La FMRP también es modulable por modificaciones postraduccionales como fosforilación, metilación, N-glicosilación o amidación (65), siendo las dos primeras modificaciones las más estudiadas. La fosforilación de FMRP es realizada por varias cinasas como caseína cinasa-2 (CK2) y proteína S6 cinasa 1 (S6K1) y también es modulada por la proteína fosfatasa 2 (PP-2), que la desfosforila. La fosforilación en la serina 500 en humanos es necesaria para la unión de esta proteína a polirribosomas (25,66,67). En cuanto a la metilación, la FMRP tiene regiones ricas en arginina y lisinas, especialmente en los motivos RGG, que son el sustrato potencial de las proteínas arginina metiltransferasas. Se ha observado que al metilarse, la FMRP reduce su capacidad de interacción con el ARNm (68).

Se ha encontrado un pico en la expresión de la FMRP en la ventana del desarrollo

dependiente de actividad en ratones y moscas (69,70) y consecuentemente se ha reportado que su activación/inactivación es dependiente de la experiencia sensorial (55,71). Por ejemplo, la FMRP está asociada a los gránulos neuronales que son complejos de proteínas y ARN encargados de llevar a los transcritos desde el soma neuronal hasta las dendritas, donde se lleva a cabo la sinapsis. El ARNm transportado en estas estructuras es traduccionalmente silencioso en el sentido de que su traducción está reprimida en el recorrido y es activado con estímulos neuronales. Se cree que, en el caso de los estímulos glutamatérgicos, la FMRP es desfosforilada en estos gránulos y también metilada en su dominio RGG y, por lo tanto, la traducción de los transcritos es activada (72).

Una hipótesis del mecanismo de participación de la FMRP en el refinamiento o remodelación de los circuitos neuronales es que la supresión de la traducción de proteínas (generada por FMRP) es regulada por la necesidad de la presencia de dichas proteínas en la sinapsis, necesidad que es dependiente de la actividad. En ausencia de FMRP podría existir una traducción excesiva y, por lo tanto, una presencia descomunal de proteínas en la sinapsis que son ineficientes y pueden resultar tóxicas (46). Se ha comprobado que la FMRP regula la traducción de los ARNm que codifican para un gran número de proteínas de la sinapsis como las neurexinas, la PSD-95, algunas subunidades de receptores NMDA y AMPA y la proteína asociada a los microtúbulos 1B (MAP1B). La FMRP, además, regula la traducción de proteínas implicadas en la plasticidad neuronal como la proteína p0071 (en la modulación del citoesqueleto de actina) y la proteína TRF2 (cuya función es el transporte de ARNm a axones maduros para promover el crecimiento axonal) (73-76). La FMRP participa en la activación de la familia de factores de transcripción de factores potenciadores de miocitos 2 (MEF2), los cuales, vía calmodulina/calmodulina cinasa II, eliminan sinapsis robustamente. La FMRP también modula la producción de proteínas implicadas en la regulación de depresión neuronal a largo plazo (LTD), que involucra los receptores

metabotrópicos de glutamato (mGluR) 1 y 5 y está relacionada con la plasticidad neuronal y que dependen de la síntesis proteica *de novo*. La ausencia de FMRP, por ejemplo, se ha relacionado con una exagerada LTD en las neuronas glutamatérgicas (55,77,78).

En la LTD mediada por los mGLUR se ha postulado que la participación de la FMRP es de vital importancia para explicar los cambios de las espinas dendríticas y de las sinapsis vistos en el SFX y los TEA. Se ha planteado que la estimulación de los receptores de glutamato, por medio de la proteína adaptadora HOMER, inicia la cascada mTOR, la cual incluye la activación de una serie de cinasas (PIKE, PIK3, Akt, mTOR, S6K1). Así, se promueve la fosforilación de FMRP, activándola y llevando a una disminución en la traducción. Cuando hay mutaciones en la FMRP, hay una excesiva traducción de proteínas, incluso cuando el mGLUR no está activado, por lo que se produce LTD mantenida (25,79). También se ha demostrado que la ERK es desfosforilada rápidamente en ratones KO para *fmr1* cuando los mGLUR son estimulados, ya que, al parecer, en ausencia de FMRP se produce una activación aberrante de las fosfatasa. Por ejemplo, la proteína fosfatasa 2 y la tirosina fosfatasa están hiperactivadas en este tipo de mutación (80,81).

De esta forma, la ausencia de FMRP lleva a una sobreabundancia de espinas dendríticas que permanecen, en su mayoría, inmaduras y no entran en el proceso de poda sináptica o dendrítica, sino que permanecen en un estado de debilidad que incluso puede tomar morfología filopodial (54,82).

Neuroliginas

Las moléculas de adhesión neuronal sináptica son las proteínas que conectan las membranas celulares de las neuronas implicadas en la sinapsis. Además de formar el marco estructural que define la hendidura sináptica, estas son específicas para cada fase de la sinaptogénesis e incluso para cada tipo de membrana sea pre- o postsináptica. El deterioro funcional de alguna de

estas moléculas es perjudicial para la función de la sinapsis (83). Dentro de este conjunto están las Nlg, que participan en el complejo de adhesión neurexina-neurologina, fundamental en la fase de *especialización sináptica*.

La Nlg es una proteína transmembrana postsináptica que, con su dominio extracelular, se une a su contraparte presináptica, la proteína neurexina. Ambas proteínas tienen una región PDZ en su dominio citoplasmático que les permite unirse a proteínas del andamiaje celular que se anclan al citoesqueleto de actina y les permite congregarse a la densidad sináptica (19,84). Estas proteínas promueven la especialización, sea pre- o postsináptica, de la neurona en la que se encuentran. Existen cuatro miembros en esta familia: las Nlg 1, 2, 3 y 4. En el caso de la 1 hay evidencia de que su dominio PDZ recluta las proteínas necesarias para el ensamblaje de los receptores inotrópicos o metabotrópicos de glutamato en la membrana postsináptica (85,86). Al contrario, se plantea que la Nlg 2 participa exclusivamente en sinapsis inhibitorias en el cerebro, debido a que recluta las proteínas que reúnen las subunidades de los receptores para GABA y glicina, independientemente de su dominio PDZ (85,87).

Ampliando la información anterior, se ha establecido que el dominio de densidad postsináptica de la Nlg1 se une principalmente a la proteína de densidad postsináptica PSD-95 y a la proteína “molécula de andamiaje sináptico” (S-SCAM), las cuales pueden unirse a los receptores NMDA y AMPA y reclutarlos en la membrana postsináptica. Por su parte, la Nlg2 se une a la proteína de andamiaje gefirina y a la proteína colibistina, que ayudan a reclutar a los receptores gabaérgicos de las sinapsis inhibitorias (85,88).

Las Nlg tienen una distribución específica en el cerebro: Nlg 1 se expresa exclusivamente dentro de las sinapsis excitatorias glutamatérgicas (inotrópicas y metabotrópicas) y Nlg 2, por el contrario, preferentemente en las sinapsis inhibitorias gabaérgicas o colinérgicas. La Nlg 3 es capaz de localizarse en ambos tipos de sinapsis y la distribución de la Nlg 4 es,

en su mayoría, en sinapsis glicinérgicas; pero también se ha observado en sinapsis gabaérgicas, preponderantemente en la médula espinal y la retina (83,85).

Es importante aclarar que, aunque las Nlg son importantes para la especialización de la sinapsis, de ellas no depende la formación de estas, ya que en ratones triple KO para Nlg 1, 2 y 3 se demostró que se construían sinapsis, sin alteraciones en su número. No obstante, estas sinapsis presentaban problemas en su maduración y transmisión eléctrica, así como en la LTP (89). En ratones se ha encontrado que mutaciones en las Nlg 2 llevan a un decrecimiento en las transmisiones gabaérgicas postsinápticas y, por lo tanto, a una alteración en la inhibición (90,91).

Las Nlg forman homodímeros o heterodímeros obligatorios para cumplir su función (Nlg1-Nlg1; Nlg1-Nlg3; Nlg2-Nlg2; Nlg2-Nlg3) o, a veces, agrupaciones de al menos 4 entidades. Con este tipo de arreglos se cree que estas combinaciones aportan a la diversidad sináptica en el cerebro. Cabe resaltar que las Nlg son entregadas a la membrana postsináptica por tráfico vesicular y que ya en estas vesículas se cree que viajan dimerizadas (85,92).

Las Nlg pueden sufrir cambios postraduccionales y, a su vez, estas modificaciones pueden ser promovidas por la actividad sináptica. La Nlg1 es susceptible de ser fosforilada en su treonina 739 por calmodulina cinasa 2, lo que la hace más propensa a escisión o a que disminuya su expresión en la superficie de la membrana postsináptica. Otra modificación interesante es la fosforilación casi constante de Nlg1 en su tirosina 782, la cual impide la interacción de esta proteína con gefirina. Se ha postulado que esta interacción se promueve justo en el momento en el que la Nlg1 se une con la neurexina 1. También se han descrito fosforilaciones en Nlg2 que modulan su disposición a la asociación con gefirina. Se ha descrito también que las Nlg pueden ser glicosiladas y que esta modificación ayuda a la especialización de la proteína en su tipo de sinapsis y que cuando esta modificación postraducciona es alterada, también lo hace la especificidad de la sinapsis (85,93,94).

Se han encontrado mutaciones en los cromosomas que codifican para las Nlg en algunos pacientes con TEA. Dichas mutaciones se han asociado con el desequilibrio excitatorio/inhibitorio característico del autismo y la epilepsia, donde se encuentran conexiones cerebrales menos inhibidas (16,95). En ratones, la sobreexpresión y la eliminación de las Nlg lleva a daños en la interacción social, la comunicación, comportamientos repetitivos, ansiedad y problemas de aprendizaje y memoria (96,97). En *Drosophila*, el KO de *dnlg2* produce una disminución en los botones sinápticos, desarrollo aberrante de las uniones neuromusculares (NMJ) y una transmisión sináptica afectada. En pacientes con TEA se ha encontrado una mutación en Nlg3, 10 mutaciones en Nlg4 y diferentes deleciones en el cromosoma X, algunas de las cuales afectan el locus que codifica para Nlg4 (94,98). Estas mutaciones se han inducido en modelos animales murinos y se ha encontrado que afectan el tráfico de los receptores AMPA (93).

Existen estudios que relacionan la ausencia de FMRP con la expresión anormal de la Nlg1 y con déficits en el comportamiento social en ratones (20). Para reforzar esta relación, hace poco se comprobó que la FMRP se une a los ARNm de las Nlg 1, 2 y 3 en la sinapsis, y que regula negativamente su traducción en sinaptoneurosomas y en cultivos neuronales de ratón. Incluso se ha descrito que cuando se estimulan los receptores NMDA hay una mayor asociación de Nlg a los polirribosomas, donde se potencia la traducción de estas proteínas, pero también existe una escisión proteolítica de las Nlg 1 y 3, que ya se encuentran en la membrana, por lo que se ha propuesto de manera más contundente que las Nlg y su asociación con la FMRP son dependientes de la estimulación sensorial. En el estudio de Chmielewska et al. (99) se ha demostrado además que en ratones KO para *fmr1*, la cantidad de Nlg 1 y 3 expresadas en la membrana postsináptica aumenta como consecuencia de una elevada traducción de estas.

Se han realizado experimentos en los que se induce LTP y LTD en neuronas del hipocampo en ratones y se ha mostrado un incremento y un

decrecimiento, respectivamente, de la aparición de Nlg 1 y 3 en la superficie de la membrana postsináptica. De esta manera, se plantea que la expresión de estas proteínas en la membrana celular es regulada por la actividad sináptica y también que su función aumenta o disminuye dependiendo de los estímulos aplicados (88).

***Drosophila melanogaster* como modelo animal para el estudio de patologías relacionadas con FMRP y neuroliginas**

A pesar de que no existe ningún modelo animal que pueda replicar en sus genes el desarrollo de la expansión CGG en la región no traducida de sus ortólogos para el gen FMR1, en *Drosophila* existe un gen ortólogo al FMR1 humano (*dFMR1*), con dominios idénticos en un 75% y con una similaridad del 85% que, incluso bioquímicamente y en cascadas celulares, se iguala a la función de la FMRP humana (25,100,101). La FMRP se encuentra principalmente en el cerebro de la mosca y la mutación para silenciar o escindir el gen *dFMR1* asegura la calidad del fenotipo deseado y asemeja el fenómeno del síndrome apreciado en mamíferos, desde su vía molecular hasta el desempeño comportamental, como lo han demostrado los resultados de las pruebas de memoria a largo plazo, el comportamiento de cortejo y el ritmo circadiano que han resultado alterados (102-104).

Las uniones neuromusculares de *Drosophila* son sinapsis glutamatérgicas de neuronas motoras con paredes musculares que han servido para evidenciar fenómenos como la plasticidad neuronal y la transmisión sináptica, y donde la ausencia de FMRP ha producido un número de excesivo de ramificaciones, botones sinápticos y una falta de focalización axonal (105). Igualmente, en el cuerpo de la seta (un gran circuito de neuronas que controlan el aprendizaje y la memoria olfatorio en la mosca) se ha descrito que las mutaciones que llevan a la eliminación de la FMRP cambian su remodelamiento y morfología en las dendritas y los axones de las neuronas que lo componen. Más aún, en

los individuos KO de *dfmr1* se han reportado alteraciones en la relación de aversión y atracción de olores que se vinculan a las modificaciones en las neuronas del glomérulo olfatorio. En el glomérulo resulta existiendo menos inhibición gabaérgica en las interneuronas que lo conectan a otros lóbulos del cerebro de la mosca (106).

La ventana restrictiva del desarrollo en este organismo comienza desde el final de la etapa de larva y abarca la etapa de pupa, la eclosión y la etapa de adulto-joven sumando un total de aproximadamente dos semanas (70). En esta ventana restrictiva se refinan los circuitos sensoriales que dan cuenta del proceso de aprendizaje y de plasticidad en el cerebro de la mosca y, por lo tanto, pueden dar bases robustas para entender a nivel molecular estos procesos en el cerebro humano (22).

En la *Drosophila melanogaster* se han descubierto proteínas importantes para comprender las bases moleculares del SFX. Recientemente, en este modelo se postuló que la proteína Wnd-DLK (Wallenda/cremallera doble de leucina cinasa), la cual es ortóloga de la MAPK3 (MAP cinasa 3, una proteína cuya vía se activa agudamente como respuesta a daños neuronales y crónicamente en enfermedades neurodegenerativas), es un factor importante para los perjuicios causados en el SFX. En este estudio se determinó que dFMRP se une a Wnd y regula su traducción, limitando su expresión proteica. Por otro lado, en el mutante para dFRM1 *nullse* encontró que los niveles de Wnd están anormalmente elevados, produciendo en las moscas adultas una morfología irregular del cerebro, déficits en los comportamientos motores, de aprendizaje, de memoria y de sueño, al igual que los que se han encontrado en ratones *knockout* para este gen. Adicionalmente, se han encontrado defectos en las uniones neuromusculares en larvas mutadas en dFRM1. Al aplicarle inhibidores orales de mamíferos para Wnd/DLK a este organismo modelo invertebrado, se ha vuelto a recuperar el normotipo en la morfología y transmisión sináptica y en el comportamiento de las moscas y larvas, postulando la inhibición de la vía MAP

cinasa-Wnd/DLK como una posible estrategia terapéutica contra los efectos de SFX (107).

El genoma de *Drosophila melanogaster* también codifica para cuatro tipos de Nlg. Estas, sin embargo, se ubican de forma diferente a los humanos y a los murinos. En *Drosophila* las Nlg 1 y 3 (DNlg1 y 3) se encuentra preferentemente en uniones neuromusculares; mientras que la Nlg 2 (DNlg2) se ubica tanto en uniones neuromusculares como en el sistema nervioso central (de manera abundante en el cuerpo de la seta y en el complejo central), y la Nlg 4 (DNlg4) se postula que se ubica en las grandes neuronas del reloj ventral de las moscas (108-110).

Se ha encontrado que en *Drosophila*, la DNlg 1, 2 y 3 actúan tanto en terminales pre- como postsinápticas, de una manera preferentemente excitatoria. En cambio, la DNlg4 se ha relacionado con sinapsis gabaérgicas. De esta manera, se puede decir que estos 4 genes de *Drosophila* no tienen una similaridad funcional exacta con la de los 4 genes de Nlg mamíferos. No obstante, en su función más general (la de unir y especializar las sinapsis) sí se encuentra una correspondencia con su papel en mamíferos (106,111).

Consecuentemente con lo anterior, se ha reportado en *Drosophila melanogaster* que las mutaciones en DNlg2 reducen el árbol axonal, los botones sinápticos y alteran los niveles de transmisores liberados en las uniones neuromusculares (109,112). También se ha encontrado que las mutaciones en DNlg 1 y 3 llevan a una reducción de la maduración sináptica, de los botones sinápticos en las uniones neuromusculares y a problemas en la diferenciación sináptica (45,109,110). Adicionalmente, se ha comprobado que la ausencia de DNlg 2 y 4 altera las interacciones sociales de las moscas (111).

Al ser *Drosophila* un organismo pequeño, fácil de manipular y cruzar genéticamente, con una tasa reproductiva alta y con una homología casi del 75 % con los genes humanos, es un organismo ideal para iniciar este tipo de estudios en laboratorios en países en vías de desarrollo, sin el temor de no poder traducir los hallazgos a mamíferos. En este organismo se pueden resolver

futuras preguntas como: ¿pueden los estímulos sensoriales premeditados ayudar a alterar o modificar la relación FMRP-Nlg en el cerebro? ¿Puede el ARN de interferencia modificar la unión de FMRP a Nlg dependiendo de la LTD o la LTP? ¿Puede la FMRP llegar a modular no solo la traducción de Nlg, sino también su transcripción, como una regulación epigenética? Preguntas como estas revelan lo mucho que falta por ser estudiado; pero lo cierto es que *Drosophila* es un excelente modelo para empezar a resolver dichos interrogantes.

Conflictos de interés

Declaramos que no existe un conflicto de interés para ninguno de los autores en esta revisión de tema.

Referencias

1. Saldarriaga W, Tassone F, González-Teshima LY, Forero-Forero JV, Ayala-Zapata S, Hagerman R. Fragile X syndrome. *Colomb Médica* (Cali, Colomb) [internet]. 2014;45(4):190-8. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4350386&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
2. Verkerk AJMH, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu Y-H, 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* [internet]. 1991 May;65(5):905-14. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/009286749190397H>
3. Devitt N, Gallagher L, Reilly R. Autism Spectrum Disorder (ASD) and Fragile X Syndrome (FXS): two overlapping disorders reviewed through electroencephalography—what can be interpreted from the available information? *Brain Sci* [internet]. 2015 Mar 27;5(2):92-117. Disponible en: <http://www.mdpi.com/2076-3425/5/2/92/>
4. Hagerman PJ. The fragile X prevalence paradox. *J Med Genet* [internet]. 2008 Aug;45(8):498-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18413371>
5. Fernandez-Carvajal I, Walichiewicz P, Xiaosen X, Pan R, Hagerman PJ, Tassone F. Screening for expanded alleles of the FMR1 gene in blood spots from newborn males in a Spanish population. *J Mol Diagn* [internet]. 2009;11(4):324-9. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2710709&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
6. Crawford DC, Acuña JM, Sherman SL. FMR1 and the fragile X syndrome: human genome epidemiology review. *Genet Med* [internet]. 2015 Mar 20;3(5):359-71. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25792328>
7. Verheij C, Bakker CE, de Graaff E, Keulemans J, Willemsen R, Verkerk a J, et al. Characterization and localization of the FMR-1 gene product associated with fragile X syndrome. *Nature* [internet]. 1993 Jun 24;363(6431):722-4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8515814>
8. Kidd SA, Lachiewicz A, Barbouth D, Blitz RK, Delahunty C, McBrien D, et al. Fragile X syndrome: a review of associated medical problems. *Pediatrics*. 2014 Nov;134(5):995-1005. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-4301>
9. Leehey MA. Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: clinical phenotype, diagnosis, and treatment. *J Investig Med*. 2009;57(9):830-6.

10. De Caro JJ, Dominguez C, Sherman SL. Reproductive health of adolescent girls who carry the FMR1 premutation: expected phenotype based on current knowledge of fragile X-associated primary ovarian insufficiency. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1135:99-111.
11. Abbeduto L, McDuffie A, Thurman AJ. The fragile x syndrome-autism comorbidity: What do we really know? *Front Genet.* 2014;5(SEP):1-10.
12. McDuffie A, Abbeduto L, Lewis P, Kover S, Kim JS, Weber A, et al. Autism spectrum disorder in children and adolescents with fragile X syndrome: Within-syndrome differences and age-related changes. *Am J Intellect Dev Disabil.* 2010;115(4):307-26.
13. Budimirovic DB, Kaufmann WE. What can we learn about autism from studying fragile X syndrome? *Dev Neurosci.* 2011;33(5):379-94.
14. Christensen DL, Baio J, Braun KVN, Bilder D, Charles J, Constantino JN, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years - autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2012. *MMWR Surveill Summ* [internet]. 2016;65(3):1-23. Disponible en: <http://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/ss/ss6503a1.htm>
15. DiCicco-Bloom E, Lord C, Zwaigenbaum L, Courchesne E, Dager SR, Schmitz C, et al. The Developmental neurobiology of autism spectrum disorder. *J Neurosci.* 2006;26(26):6897-906. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1712-06.2006>
16. García-Peñas JJ, Domínguez-Carral J, Pereira-Bezánilla E. Alteraciones de la sinaptogenesis en el autismo. *Rev Neurol.* 2012;54(Supl 1):41-50.
17. Jin P. Understanding the molecular basis of fragile X syndrome. *Hum Mol Genet.* 2000 Apr 1;9(6):901-8. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.6.901>
18. Comery T a, Harris JB, Willems PJ, Oostra B a, Irwin S a, Weiler IJ, et al. Abnormal dendritic spines in fragile X knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94(May):5401-4.
19. Craig AM, Kang Y. Neurexin-neuroigin signaling in synapse development. *Curr Opin Neurobiol.* 2007;17(1):43-52.
20. Dahlhaus R, El-Husseini A. Altered neuroigin expression is involved in social deficits in a mouse model of the fragile X syndrome. *Behav Brain Res.* 2010 Mar;208(1):96-105. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2009.11.019>
21. Darnell JC, Van Driesche SJ, Zhang C, Hung KYS, Mele A, Fraser CE, et al. FMRP stalls ribosomal translocation on mRNAs linked to synaptic function and autism. *Cell.* 2011 Jul 22;146(2):247-61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.013>
22. Doll CA, Broadie K. Impaired activity-dependent neural circuit assembly and refinement in autism spectrum disorder genetic models. *Front Cell Neurosci.* 2014;8(February):30. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00030>
23. Niu M, Han Y, Dy ABC, Du J, Jin H, Qin J, et al. Autism symptoms in fragile X syndrome. *J Child Neurol.* 2017 Sep;32(10):903-9.
24. Ciaccio C, Fontana L, Milani D, Tabano S, Miozzo M, Esposito S. Fragile X syndrome: a review of clinical and molecular diagnoses. *Ital J Pediatr.* 2017 Dec 19;43(1):39. <https://doi.org/10.1186/s13052-017-0355-y>
25. Santoro MR, Bray SM, Warren ST. Molecular Mechanisms of Fragile X Syndrome: A Twenty-Year Perspective. *Annu Rev Pathol Mech Dis.*

- 2012 Feb 28;7(1):219-45. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-pa-thol-011811-132457>
26. Hagerman R, Hagerman P. Advances in clinical and molecular understanding of the FMR1 premutation and fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Lancet Neurol*. 2013 Aug;12(8):786-98. [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70125-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70125-X)
27. Tassone F, Hagerman PJ, Hagerman RJ. Fragile X Premutation. *J Neurodev Disord*. 2014;6(1):22. <https://doi.org/10.1186/1866-1955-6-22>
28. Coffee B, Zhang F, Warren ST, Reines D. Acetylated histones are associated with FMR1 in normal but not fragile X-syndrome cells. *Nat Genet*. 1999 May;22(1):98-101. <https://doi.org/10.1038/8807>
29. Crawford H, Moss J, Anderson GM, Oliver C, McCleery JP. Implicit discrimination of basic facial expressions of positive/negative emotion in fragile X syndrome and autism spectrum disorder. *Am J Intellect Dev Disabil*. 2015 Jul;120(4):328-45. <https://doi.org/10.1352/1944-7558-120.4.328>
30. Tejada MI. Síndrome X frágil: libro de consulta para familias y profesionales. Vol. 140. Madrid: Real Patronato sobre Discapacidad; 2006.
31. Gothelf D, Furfaro JA, Hoeft F, Eckert MA, Hall SS, O'Hara R, et al. Neuroanatomy of fragile X syndrome is associated with aberrant behavior and the fragile X mental retardation protein (FMRP). *Ann Neurol*. 2008 Jan;63(1):40-51. <https://doi.org/10.1002/ana.21243>
32. Olmos-Serrano JL, Corbin JG. Amygdala regulation of fear and emotionality in fragile X syndrome. *Dev Neurosci [internet]*. 2011;33(5):365-78. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/329424>
33. McCann RF, Ross DA. A fragile balance: dendritic spines, learning, and memory. *Biol Psychiatry*. 2017 Jul;82(2):e11-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.05.020>
34. Bardoni B, Mandel J-L. Advances in understanding of fragile X pathogenesis and FMRP function, and in identification of X linked mental retardation genes. *Curr Opin Genet Dev*. 2002 Jun;12(3):284-93. [https://doi.org/10.1016/s0959-437x\(02\)00300-3](https://doi.org/10.1016/s0959-437x(02)00300-3)
35. Muhle RA, Reed HE, Stratigos KA, Veenstra-VanderWeele J. The emerging clinical neuroscience of autism spectrum disorder a review. *JAMA Psychiatry*. 2018;75(5):514-23.
36. Rapin I, Tuchman RF. Autism: definition, neurobiology, screening, diagnosis. *Pediatr Clin North Am*. 2008 Oct;55(5):1129-46, viii. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2008.07.005>
37. Mishra J, Fellous J-M, Sejnowski TJ. Selective attention through phase relationship of excitatory and inhibitory input synchrony in a model cortical neuron. *Neural Networks [internet]*. 2006 Nov;19(9):1329-46. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1003063/>
38. Nelson SB, Valakh V. Review Excitatory / Inhibitory Balance and Circuit Homeostasis in Autism Spectrum Disorders. *Neuron [internet]*. 2015;87(4):684-98. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2015.07.033>
39. Paluszkiwicz SM, Olmos-Serrano JL, Corbin JG, Huntsman MM. Impaired inhibitory control of cortical synchronization in fragile X syndrome. *J Neurophysiol*. 2011;106(July 2011):2264-72.

40. Uzunova G, Pallanti S, Hollander E. Excitatory/inhibitory imbalance in autism spectrum disorders: Implications for interventions and therapeutics. *World J Biol Psychiatry*. 2016 Apr;17(3):174-86. <https://doi.org/10.3109/15622975.2015.1085597>
41. Hampson DR, Adusei DC, Pacey LKK. The neurochemical basis for the treatment of autism spectrum disorders and Fragile X syndrome. *Biochem Pharmacol*. 2011 May 1;81(9):1078-86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2011.02.005>
42. Selemon LD. A role for synaptic plasticity in the adolescent development of executive function. *Transl Psychiatry*. 2013 Mar;3(3):e238-e238.
43. Riccomagno MM, Kolodkin AL. Sculpting neural circuits by axon and dendrite pruning. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2015 Nov;31(1):779-805.
44. Garner CC, Zhai RG, Gundelfinger ED, Ziv NE. Molecular mechanisms of CNS synaptogenesis. *Trends Neurosci*. 2002 May;25(5):243-51. [http://dx.doi.org/10.1016/s0166-2236\(02\)02152-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0166-2236(02)02152-5)
45. Melom JE, Littleton JT. Synapse development in health and disease. *Curr Opin Genet Dev*. 2011 Jun;21(3):256-61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gde.2011.01.002>
46. Tessier CR, Broadie K. Activity-dependent modulation of neural circuit synaptic connectivity. *Front Mol Neurosci*. 2009;2(July):8.
47. Citri A, Malenka RC. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*. 2008 Jan 29;33(1):18-41. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301559>
48. Kang SJ, Kaang B-K. Metabotropic glutamate receptor dependent long-term depression in the cortex. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2016;20(6):557. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2016.20.6.557>
49. Lüscher C, Huber KM. Group 1 mGluR-dependent synaptic long-term depression: mechanisms and implications for circuitry and disease. *Neuron*. 2010 Feb;65(4):445-59. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.01.016>
50. Benoist M, Palenzuela R, Rozas C, Rojas P, Tortosa E, Morales B, et al. MAP1B-dependent Rac activation is required for AMPA receptor endocytosis during long-term depression. *EMBO J*. 2013 Jul 23;32(16):2287-99. <https://doi.org/10.1038/emboj.2013.166>
51. Gladding CM, Fitzjohn SM, Molnár E. Metabotropic glutamate receptor-mediated long-term depression: molecular mechanisms. *Pharmacol Rev*. 2009 Dec;61(4):395-412. <https://doi.org/10.1124/pr.109.001735>
52. Collingridge GL, Peineau S, Howland JG, Wang YT. Long-term depression in the CNS. *Nat Rev Neurosci* [internet]. 2010 Jul;11(7):459-73. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nrn2867>
53. Maffei A. Long-term potentiation and long-term depression. En: *Oxford research encyclopedia of neuroscience* [internet]. Oxford: Oxford University Press; 2018. p. 1-31. Disponible en: <https://oxfordre.com/neuroscience/view/10.1093/acrefore/9780190264086.001.001/acrefore-9780190264086-e-148>
54. Bear MF, Huber KM, Warren ST. The mGluR theory of fragile X mental retardation. *Trends Neurosci*. 2004;27(7):370-7.
55. Sidorov MS, Auerbach BD, Bear MF. Fragile X mental retardation protein and synaptic plasticity. 2013;1-11.

56. Gholizadeh S, Halder SK, Hampson DR. Expression of fragile X mental retardation protein in neurons and glia of the developing and adult mouse brain. *Brain Res.* 2015;1596:22-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2014.11.023>
57. D'Annessa I, Cicconardi F, Di Marino D. Handling FMRP and its molecular partners: Structural insights into Fragile X Syndrome. *Prog Biophys Mol Biol.* 2019;141:3-14. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.07.001>
58. Chen E, Sharma MR, Shi X, Agrawal RK, Joseph S. Fragile X Mental retardation protein regulates translation by binding directly to the ribosome. *Mol Cell.* 2014 May;54(3):407-17. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2009.03.011>
59. Kenny P, Ceman S. RNA secondary structure modulates FMRP's bi-functional role in the microRNA pathway. *Int J Mol Sci.* 2016 Jun 22;17(6):985. <https://doi.org/10.3390/ijms17060985>
60. Banerjee A, Ifrim MF, Valdez AN, Raj N, Bassell GJ. Aberrant RNA translation in fragile X syndrome: From FMRP mechanisms to emerging therapeutic strategies. *Brain Res.* 2018 Aug;1693:24-36. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.04.008>
61. Abekhoukh S, Sahin HB, Grossi M, Zongaro S, Maurin T, Madrigal I, et al. New insights into the regulatory function of CYFIP1 in the context of WAVE- and FMRP-containing complexes. *Dis Model Mech.* 2017 Apr 1;10(4):463-74. <https://doi.org/10.1242/dmm.025809>
62. Dury AY, El Fatimy R, Tremblay S, Rose TM, Côté J, De Koninck P, et al. Nuclear fragile X mental retardation protein is localized to cajal bodies. *PLoS Genet.* 2013;9(10).
63. Kim M, Bellini M, Ceman S. Fragile X mental retardation protein FMRP binds mRNAs in the nucleus. *Mol Cell Biol.* 2009;29(1):214-28.
64. Alpatov R, Lesch BJ, Nakamoto-Kinoshita M, Blanco A, Chen S, Stützer A, et al. A Chromatin-dependent role of the fragile X mental retardation protein FMRP in the DNA damage response. *Cell.* 2014 May;157(4):869-81. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.040>
65. Denman RB, Dolzhanskaya N, Sung YJ. Regulating a translational regulator: mechanisms cells use to control the activity of the fragile X mental retardation protein. *Cell Mol Life Sci.* 2004 Jul;61(14):1714-28. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4059-2>
66. Ceman S, O'Donnell WT, Reed M, Patton S, Pohl J, Warren ST. Phosphorylation influences the translation state of FMRP-associated polyribosomes. *Hum Mol Genet.* 2003 Dec 15;12(24):3295-305. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg350>
67. Narayanan U, Nalavadi V, Nakamoto M, Thomas G, Ceman S, Bassell GJ, et al. S6K1 phosphorylates and regulates fragile X mental retardation protein (FMRP) with the neuronal protein synthesis-dependent mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling cascade. *J Biol Chem.* 2008 Jul 4;283(27):18478-82. <https://doi.org/10.1074/jbc.C800055200>
68. Dolzhanskaya N. Methylation regulates the intracellular protein-protein and protein-RNA interactions of FMRP. *J Cell Sci.* 2006 May 1;119(9):1933-46. <https://doi.org/10.1242/jcs.02882>
69. Singh K, Gaur P, Prasad S. Fragile X mental retardation (Fmr-1) gene expression is down regulated in brain of mice during aging.

- Mol Biol Rep [internet]. 2007 Sep;34(3):173-81. <https://doi.org/10.1007/s11033-006-9032-8>
70. Tessier CR, Broadie K. *Drosophila fragile X mental retardation protein developmentally regulates activity-dependent axon pruning. Development.* 2008 Apr;135(8):1547-57. <https://doi.org/10.1242/dev.015867>
71. Irwin SA, Christmon CA, Grossman AW, Galvez R, Kim SH, DeGrush BJ, et al. Fragile X mental retardation protein levels increase following complex environment exposure in rat brain regions undergoing active synaptogenesis. *Neurobiol Learn Mem.* 2005;83(3):180-7.
72. Tsang B, Arsenault J, Vernon RM, Lin H, Sonenberg N, Wang L-Y, et al. Phosphoregulated FMRP phase separation models activity-dependent translation through bidirectional control of mRNA granule formation. *Proc Natl Acad Sci.* 2019 Mar 5;116(10):4218-27. <https://doi.org/10.1073/pnas.1814385116>
73. Iliff AJ, Renoux AJ, Krans A, Usdin KU, Sutton MA, Todd PK. Impaired activity-dependent FMRP translation and enhanced mGluR-dependent LTD in fragile X premutation mice. *Hum Mol Genet.* 2013;22(6):1180-92.
74. Nolze A, Schneider J, Keil R, Lederer M, Hüttelmaier S, Kessels MM, et al. FMRP regulates actin filament organization via the armadillo protein p0071. *RNA.* 2013;19(11):1483-96. <https://doi.org/10.1261/rna.037945.112>
75. Zhang P, Abdelmohsen K, Liu Y, Tominaga-Yamanaka K, Yoon J-H, Ioannis G, et al. Novel RNA- and FMRP-binding protein TRF2-S regulates axonal mRNA transport and presynaptic plasticity. *Nat Commun.* 2015;6:8888. <https://doi.org/10.1038/ncomms9888>
76. Pfeiffer BE, Zang T, Wilkerson JR, Taniguchi M, Maksimova MA, Smith LN, et al. Fragile X mental retardation protein is required for synapse elimination by the activity-dependent transcription factor MEF2. *Neuron.* 2010;66(2):191-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2010.03.017>
77. Waung MW, Huber KM. Protein translation in synaptic plasticity: mGluR-LTD, Fragile X. *Curr Opin Neurobiol.* 2009 Jun;19(3):319-26. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2009.03.011>
78. Cook D, Cameron S a, Jones E V. Fragile X Mental retardation protein: regulator of specific mRNAs or master regulator of global translation? *J Neurosci.* 2010 May 26;30(21):7121-3. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1298-10.2010>
79. Wang H. Fragile X mental retardation protein: from autism to neurodegenerative disease. *Front Cell Neurosci* [internet]. 2015 Feb 12;9(FEB):7. Disponible en: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fncel.2015.00043/abstract>
80. Xing Z, Zeng M, Hu H, Zhang H, Hao Z, Long Y, et al. Fragile X mental retardation protein promotes astrocytoma proliferation via the MEK/ERK signaling pathway. *Oncotarget* [internet]. 2016 Nov 15;7(46):75394-406. Disponible en: <http://www.oncotarget.com/fulltext/12215>
81. Kim SH, Markham JA, Weiler IJ, Greenough WT. Aberrant early-phase ERK inactivation impedes neuronal function in fragile X syndrome. *Proc Natl Acad Sci.* 2008 Mar 18;105(11):4429-34. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800257105>

82. Cruz-Martin A, Crespo M, Portera-Cailliau C. Delayed stabilization of dendritic spines in fragile X mice. *J Neurosci*. 2010 Jun 9;30(23):7793-803. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0577-10.2010>
83. Missler M, Südhof TC, Biederer T. Synaptic cell adhesion. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2012 Apr;4(4):a005694. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005694>
84. Lisé MF, El-Husseini A. The neuroligin and neurexin families: From structure to function at the synapse. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(16):1833-49.
85. Bemben MA, Shipman SL, Nicoll RA, Roche KW. The cellular and molecular landscape of neuroligins. *Trends Neurosci*. 2015 Aug;38(8):496-505. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2015.06.004>
86. Danielson E, Zhang N, Metallo J, Kaleka K, Shin SM, Gerges N, et al. S-SCAM/MAGI-2 Is an essential synaptic scaffolding molecule for the GluA2-containing maintenance pool of AMPA receptors. *J Neurosci*. 2012 May 16;32(20):6967-80. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0025-12.2012>
87. Pouloupoulos A, Aramuni G, Meyer G, Soykan T, Hoon M, Papadopoulos T, et al. Neuroligin 2 drives postsynaptic assembly at perisomatic inhibitory synapses through gephyrin and collybistin. *Neuron*. 2009 Sep 10;63(5):628-42. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.08.023>
88. Hu X, Luo J, Xu J. The interplay between synaptic activity and neuroligin function in the CNS. *Biomed Res Int*. 2015;2015:1-13. <https://doi.org/10.1155/2015/498957>
89. Shaw HS, Salmon CK. Refining the roles of neuroligins in synapse development and function: a reductionist conditional knock-out approach. *J Neurosci*. 2017 Dec 6;37(49):11769-71. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2492-17.2017>
90. Lozano R, Hare EB, Hagerman RJ. Modulation of the GABAergic pathway for the treatment of fragile X syndrome. 2014;1769-79.
91. Verma V, Paul A, Amrapali Vishwanath A, Vaidya B, Clement JP. Understanding intellectual disability and autism spectrum disorders from common mouse models: synapses to behaviour. *Open Biol*. 2019 Jun 28;9(6):180265. <https://doi.org/10.1098/rsob.180265>
92. Pouloupoulos A, Soykan T, Tuffly LP, Hammer M, Varoqueaux F, Brose N. Homodimerization and isoform-specific heterodimerization of neuroligins. *Biochem J* [internet]. 2012 Sep 1;446(2):321-30. Disponible en: <https://portlandpress.com/biochemj/article/446/2/321/46018/Homodimerization-and-isoformspecific>
93. Jeong J, Paskus JD, Roche KW. Posttranslational modifications of neuroligins regulate neuronal and glial signaling. *Curr Opin Neurobiol* [internet]. 2017 Aug;45(5):130-8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938416312148>
94. Marzena Q, Mordalska P, We K. Neuroligins, synapse balance and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rep*. 2014;66(5):830-5. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2014.04.011>
95. Dean C, Dresbach T. Neuroligins and neurexins: linking cell adhesion, synapse formation and cognitive function. *Trends Neurosci* [internet]. 2006 Jan;29(1):21-9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223605003000>

96. Chadman KK, Gong S, Scattoni ML, Boltuck SE, Gandhi SU, Heintz N, et al. Minimal aberrant behavioral phenotypes of neuroligin-3 R451C knockin mice. *Autism Res* [internet]. 2008 Jun;1(3):147-58. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022202X15370834>
97. Blundell J, Blaiss CA, Etherton MR, Espinosa F, Tabuchi K, Walz C, et al. Neuroligin-1 deletion results in impaired spatial memory and increased repetitive behavior. *J Neurosci*. 2010;30(6):2115-29.
98. Zhang B, Gokce O, Hale WD, Brose N, Südhof TC. Autism-associated neuroligin-4 mutation selectively impairs glycinergic synaptic transmission in mouse brainstem synapses. 2018;215(6):1543-53. <https://doi.org/10.1084/jem.20172162>
99. Chmielewska JJ, Kuzniewska B, Milek J, Urbanska K, Dziembowska M. Neuroligin 1, 2, and 3 Regulation at the Synapse: FMRP-Dependent Translation and Activity-Induced Proteolytic Cleavage. *Mol Neurobiol*. 2019;56(4):2741-59.
100. Bakker CE, Oostra BA. Understanding fragile X syndrome: insights from animal models. *Cytogenet Genome Res* [internet]. 2003;100(1-4):111-23. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/72845>
101. Drozd M, Bardoni B, Capovilla M. Modeling Fragile X syndrome in drosophila. *Front Mol Neurosci*. 2018 Apr 16;11(April):1-15. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00124/full>
102. Zhang YQ, Broadie K. Fathoming fragile X in fruit flies. *Trends Genet*. 2005 Jan;21(1):37-45. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2004.11.003>
103. Wan L, Dockendorff TC, Jongens T, Dreyfuss G. Characterization of dFMR1, a *Drosophila melanogaster* homolog of the fragile X mental retardation protein. *Mol Cell Biol*. 2000 Nov;20(22):8536-47. <https://doi.org/10.1128/mcb.20.22.8536-8547.2000>
104. Mosca TJ, Carrillo RA, White BH, Keshishian H. Dissection of synaptic excitability phenotypes by using a dominant-negative Shaker K⁺ channel subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Mar 1;102(9):3477-82. <https://doi.org/10.1073/pnas.0406164102>
105. Tian Y, Zhang ZC, Han J. *Drosophila* studies on autism spectrum disorders. *Neurosci Bull* [internet]. 2017 Dec 9;33(6):737-46. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12264-017-0166-6>
106. Bellosta P, Soldano A. Dissecting the genetics of autism spectrum disorders: a drosophila perspective. *Front Physiol*. 2019 Aug 7;10(JUL):1-8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00987/full>
107. Russo A, DiAntonio A. Wnd/DLK Is a Critical Target of FMRP responsible for neurodevelopmental and behavior defects in the drosophila model of fragile X syndrome. *Cell Rep*. 2019;28(10):2581-2593.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.08.001>
108. Xing G, Gan G, Chen D, Sun M, Yi J, Lv H, et al. *Drosophila* neuroligin3 regulates neuromuscular junction development and synaptic differentiation. *J Biol Chem*. 2014 Nov 14;289(46):31867-77. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.574897>
109. Sun M, Xing G, Yuan L, Gan G, Knight D, With SI, et al. Neuroligin 2 is required for synapse development and function at the *Drosophila* neuromuscular junction. *J Neurosci*. 2011 Jan 12;31(2):687-99. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3854-10.2011>

110. Banovic D, Khorramshahi O, Oswald D, Wichmann C, Riedt T, Fouquet W, et al. *Drosophila* neuroligin 1 promotes growth and postsynaptic differentiation at glutamatergic neuromuscular junctions. *Neuron*. 2010 Jun 10;66(5):724-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2010.05.020>
111. Corthals K, Heukamp AS, Kossen R, Großhennig I, Hahn N, Gras H, et al. Neuroligins Nlg2 and Nlg4 affect social behavior in *Drosophila melanogaster*. *Front Psychiatry*. 2017 Jul 10;8(jul). <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2017.00113/full>
112. Chen Y-C, Lin YQ, Banerjee S, Venken K, Li J, Ismat A, et al. *Drosophila* neuroligin 2 is required presynaptically and postsynaptically for proper synaptic differentiation and synaptic transmission. *J Neurosci*. 2012 Nov 7;32(45):16018-30. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3854-10.2011>