

# ΑΛΛΟΙΩΣΗ ΤΗΣ ΣΥΝΑΠΤΙΚΗΣ ΙΣΧΥΣ ΣΤΟΝ ΑΥΤΙΣΜΟ

ΠΜΣ Βιολογική Τεχνολογία  
Μοριακή φυσιολογία και νευροβιολογία  
Παναγιώτα Μούζουρα  
ΑΜ.1021052

Εξαρτώμενες από την ηλικία ελλείψεις στην μακροχρόνια ενδυνάμωση στο Προμετωπιαίο Φλοιό σε ποντίκι με απουσία το *Fmr1* γονίδιο μοντελοποιώντας το σύνδρομο του εύθραστου X

OXFORD

Cerebral Cortex, May 2016;26: 2084–2092

doi: 10.1093/cercor/bhv031

Advance Access Publication Date: 5 March 2015

Original Article

ORIGINAL ARTICLE

## Age-Dependent Long-Term Potentiation Deficits in the Prefrontal Cortex of the *Fmr1* Knockout Mouse Model of Fragile X Syndrome

Henry G. S. Martin<sup>1,2,3</sup>, Olivier Lassalle<sup>1,2,3</sup>, Jonathan T. Brown<sup>4</sup>, and Olivier J. Manzoni<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>INSERM U901, Marseille 13009, France, <sup>2</sup>INMED, Marseille 13009, France, <sup>3</sup>Université de Aix-Marseille, UMRS901, Marseille, France, and <sup>4</sup>Institute of Biomedical and Clinical Sciences, University of Exeter Medical School, University of Exeter, Exeter, UK

Address correspondence to Olivier Manzoni, INSERM U901, INMED, Marseille 13009, France. Email: [olivier.manzoni@inserm.fr](mailto:olivier.manzoni@inserm.fr)

### Abstract

The most common inherited monogenetic cause of intellectual disability is Fragile X syndrome (FXS). The clinical symptoms of FXS evolve with age during adulthood; however, neurophysiological data exploring this phenomenon are limited. The *Fmr1* knockout (*Fmr1* KO) mouse models FXS, but studies in these mice of prefrontal cortex (PFC) function are underrepresented, and aging linked data are absent. We studied synaptic physiology and activity-dependent synaptic plasticity in the medial PFC of *Fmr1* KO mice from 2 to 12 months. In young adult *Fmr1* KO mice, NMDA receptor (NMDAR)-mediated long-term potentiation (LTP) is intact; however, in 12-month-old mice this LTP is impaired. In parallel, there was an increase in the AMPAR/NMDAR ratio and a concomitant decrease of synaptic NMDAR currents in 12-month-old *Fmr1* KO mice. We found that acute pharmacological blockade of mGlu<sub>5</sub> receptor in 12-month-old *Fmr1* KO mice restored a normal AMPAR/NMDAR ratio and LTP. Taken together, the data reveal an age-dependent deficit in LTP in *Fmr1* KO mice, which may correlate to some of the complex age-related deficits in FXS.

**Key words:** Fragile X, LTP, mGlu receptor, NMDA receptor, synaptic plasticity



## Abstract

The most common inherited monogenetic cause of intellectual disability is Fragile X syndrome (FXS). The clinical symptoms of FXS evolve with age during adulthood; however, neurophysiological data exploring this phenomenon are limited. The *Fmr1* knockout (*Fmr1* KO) mouse models FXS, but studies in these mice of prefrontal cortex (PFC) function are underrepresented, and aging linked data are absent. We studied synaptic physiology and activity-dependent synaptic plasticity in the medial PFC of *Fmr1* KO mice from 2 to 12 months. In young adult *Fmr1* KO mice, NMDA receptor (NMDAR)-mediated long-term potentiation (LTP) is intact; however, in 12-month-old mice this LTP is impaired. In parallel, there was an increase in the AMPAR/NMDAR ratio and a concomitant decrease of synaptic NMDAR currents in 12-month-old *Fmr1* KO mice. We found that acute pharmacological blockade of mGlu<sub>5</sub> receptor in 12-month-old *Fmr1* KO mice restored a normal AMPAR/NMDAR ratio and LTP. Taken together, the data reveal an age-dependent deficit in LTP in *Fmr1* KO mice, which may correlate to some of the complex age-related deficits in FXS.

## Introduction

Fragile X syndrome (FXS) is a major form of inherited intellectual disability (ID) caused by the transcriptional silencing of the gene *FMR1*. The disorder is characterized by a series of physical, cognitive, and emotional symptoms that include social deficits and a diminished ability to learn. Frequently found comorbid with other complex neurological disorders, including attention deficit hyperactivity disorder, epilepsy, and anxiety (Bailey et al. 2008), FXS is also the principal monogenetic cause of autism spectrum disorders.

The *FMR1* gene product, fragile X mental retardation protein (FMRP), is an mRNA-binding protein, which is absent in the FXS

# ΝΕΥΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΑΥΤΙΣΜΟΥ-ΗΛΙΚΙΑ

Ποντίκια με έλλειψη Fmr1

2 μηνών

12 μηνών

Ποντίκια αγρίου τύπου

2 μηνών

12 μηνών

Μελέτη συναπτικής πλαστικότητας στο προμετωπιαίο φλοιό ώστε να επιβεβαιώσουν την **ΥΠΟΘΕΣΗ** της νευροβιολογικής αλλαγής σε συνάρτηση με τον χρόνο.

# FMR1 ΓΟΝΙΔΙΟ-FMR ΠΡΩΤΕΪΝΗ

- Συντηρημένο γονίδιο
- Κωδικοποιεί την FMR πρωτεΐνη
- Βρίσκεται στους δενδρίτες των νευρώνων
- Δρα κατασταλτικά στην μετάφραση γονιδίων που σχετίζονται με την συναπτική λειτουργία

Άρα εμπλέκεται στην συναπτική πλαστικότητα

- Ρυθμίζεται από την δραστηριότητα της σύναψης

# ΣΥΝΑΠΤΙΚΗ ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

```
graph TD; A[ΣΥΝΑΠΤΙΚΗ ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ] --> B[LTD : Long-Term Depression (μακροχρόνια καταστολή)]; A --> C[LTP : Long-Term Potentiation (μακροχρόνια ενδυνάμωση)];
```

LTD : Long-Term Depression  
(μακροχρόνια καταστολή)

LTP : Long-Term Potentiation  
(μακροχρόνια ενδυνάμωση)

# LONG-TERM DEPRESSION

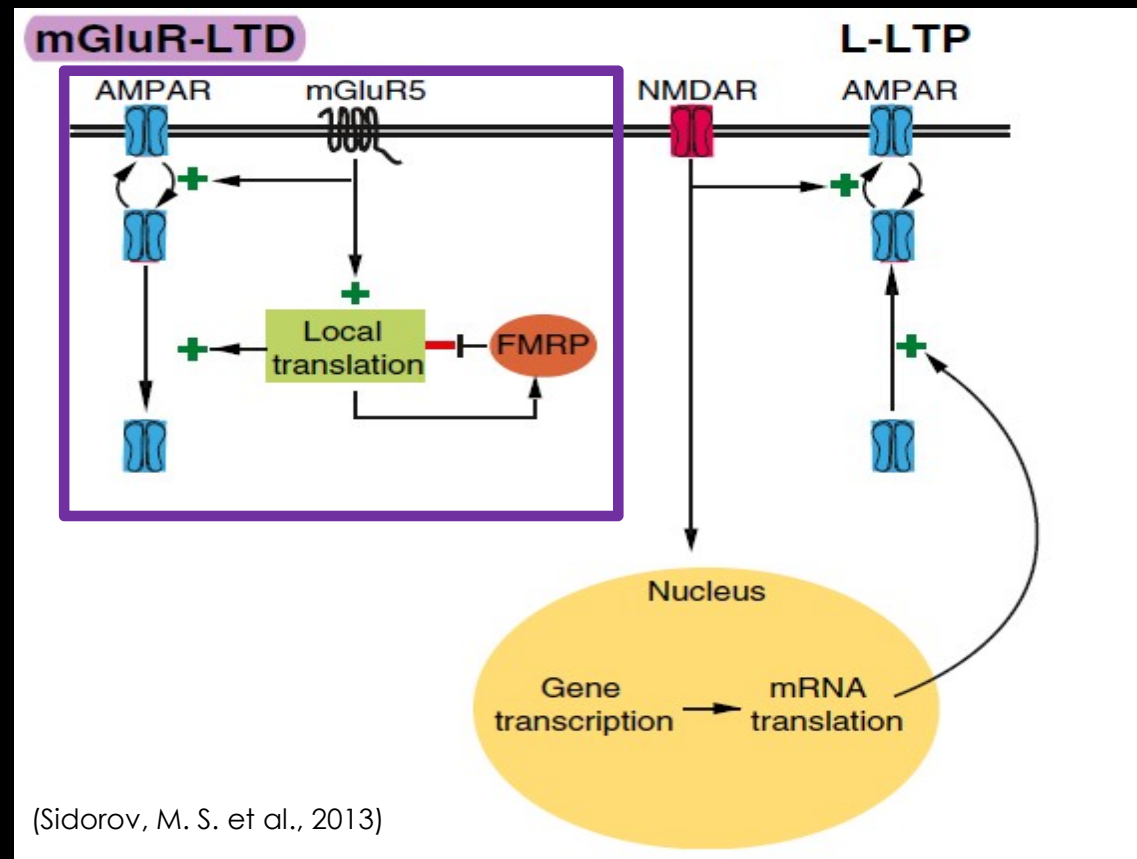
Ο mGlu υποδοχέας ενεργοποιεί πρωτεΐνες για την ενδοκυττάρωση των AMPA υποδοχέων.



Μείωση της διέγερσης της σύναψης (αποδυνάμωση) !

↓ **ΟΜΩΣ**

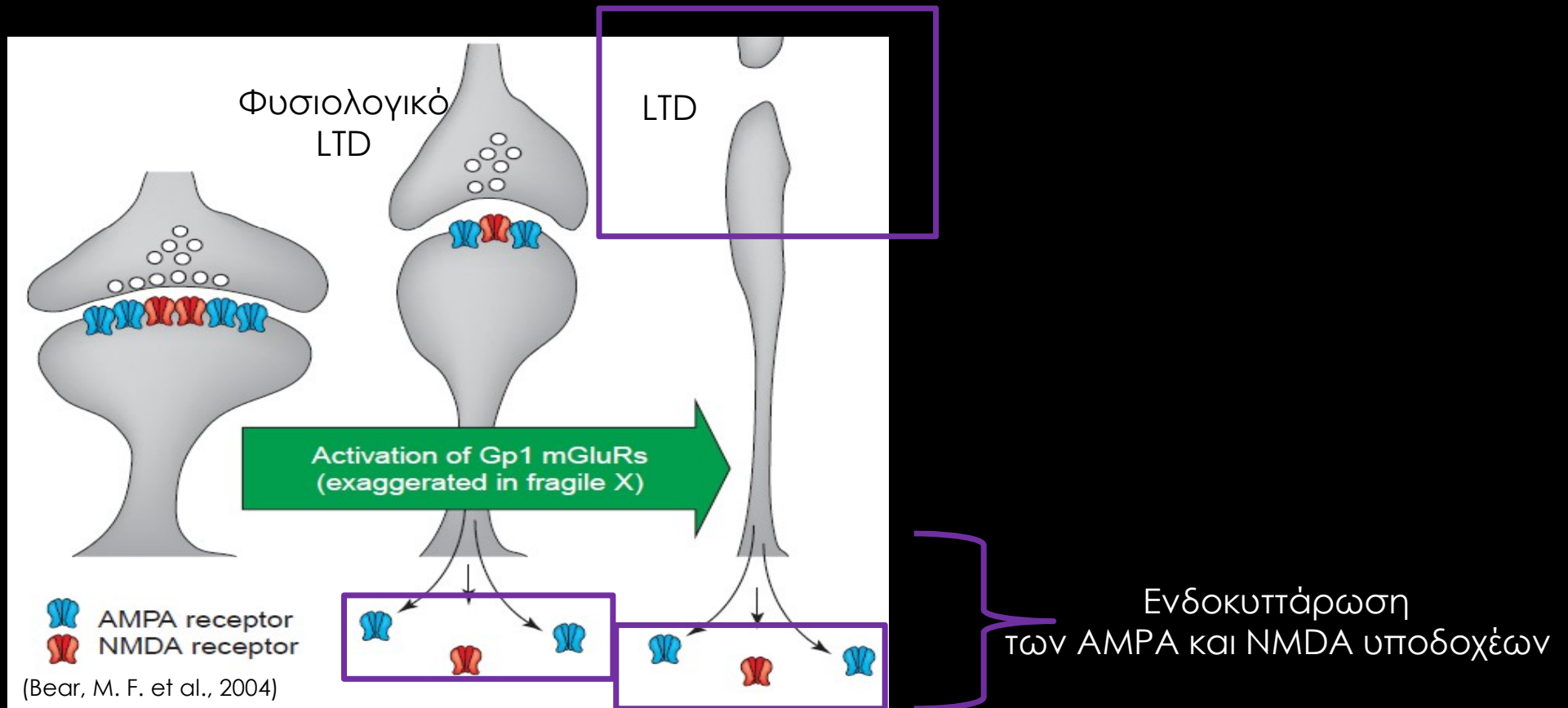
Εκφράζεται η **FMRP** και έτσι αναστέλλεται η καταστολή της σύναψης.



(Sidorov, M. S. et al., 2013)



# ΑΠΟΥΣΙΑ ΤΗΣ FMRP ΣΤΟΝ ΑΥΤΙΣΜΟ





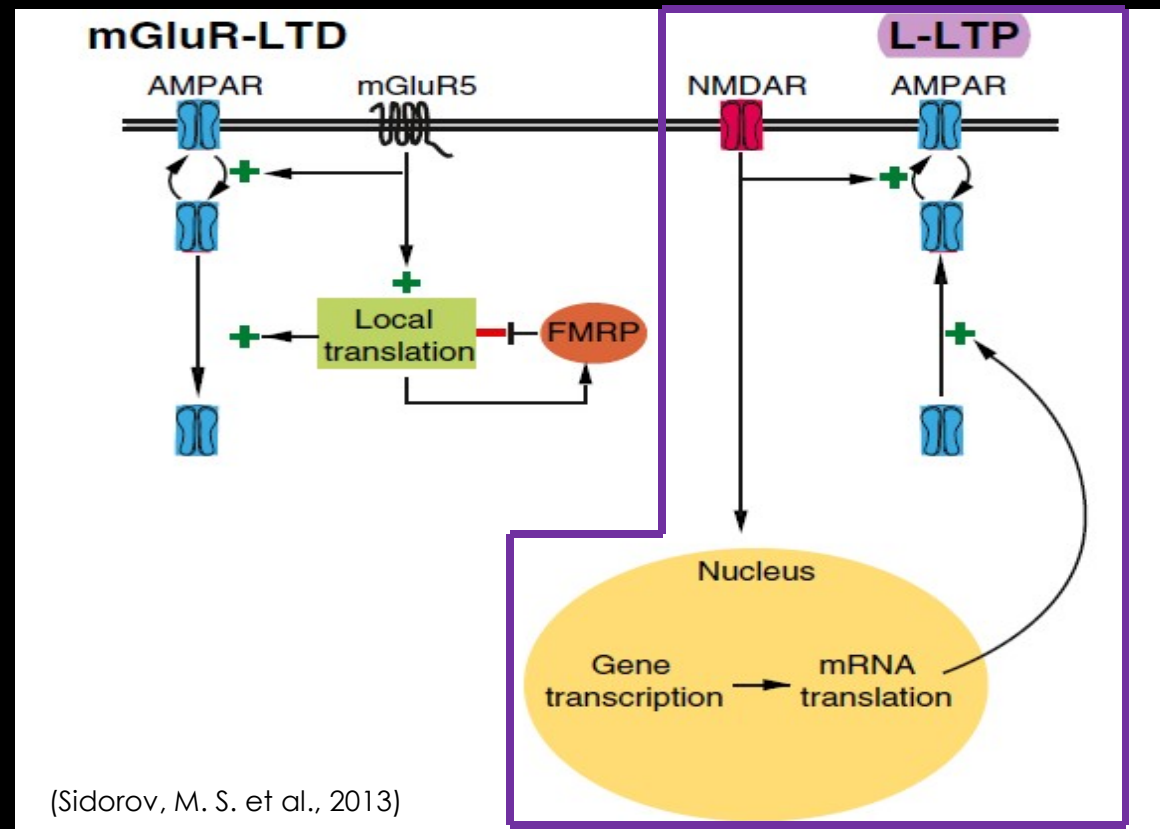
# LONG-TERM POTENTIATION

Ο NMDA υποδοχέας προκαλεί είσοδο ασβεστίου και έτσι ενεργοποιείται η έκφραση των AMPA υποδοχέων.



Αύξηση της διέγερσης της σύναψης (ενδυναμωση) !

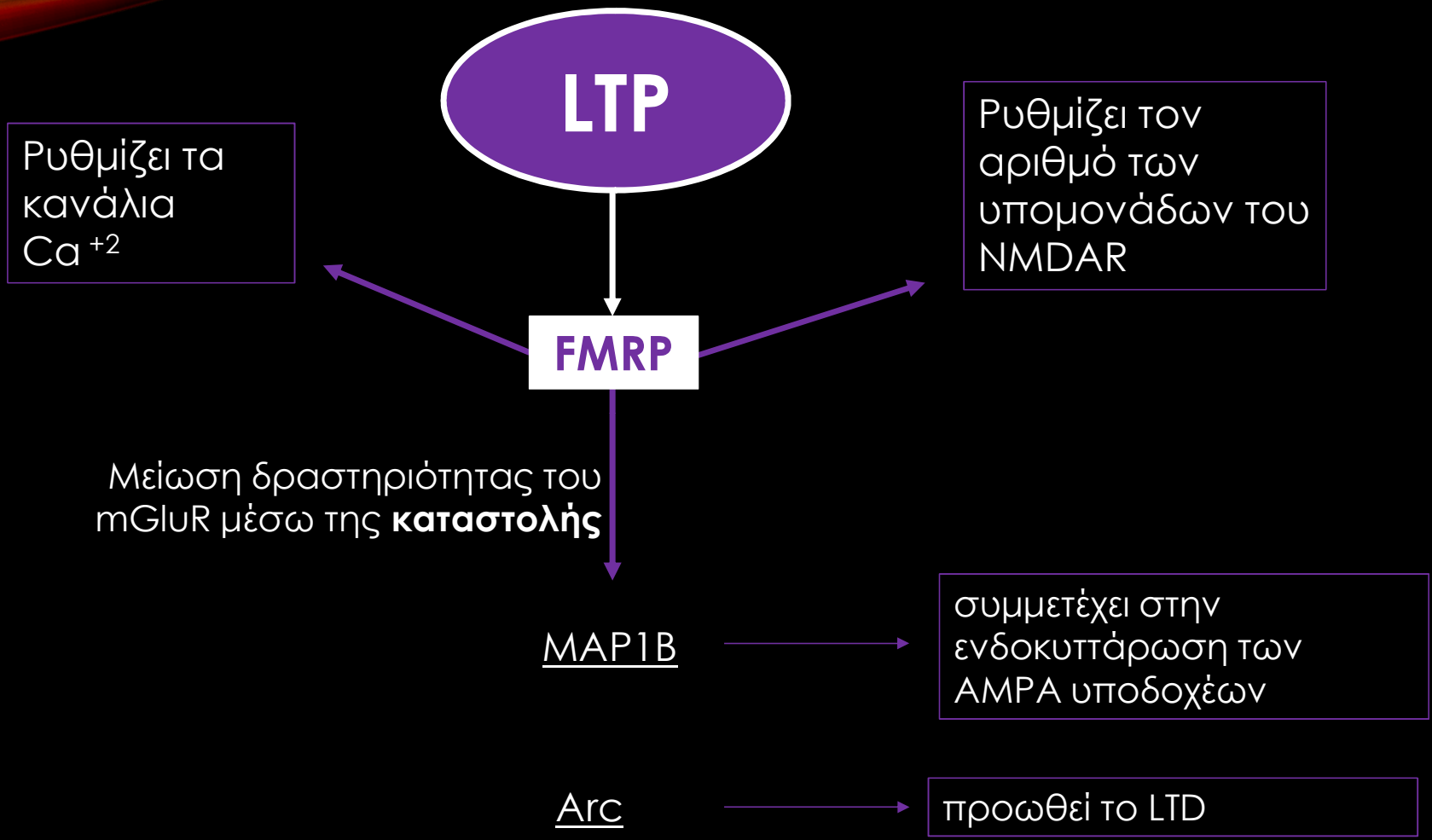
➤ Η **FMRP** επηρεάζει την έκφραση των καναλιών  $Ca^{+2}$  και ρυθμίζει τον αριθμό των υπομονάδων του NMDAR.



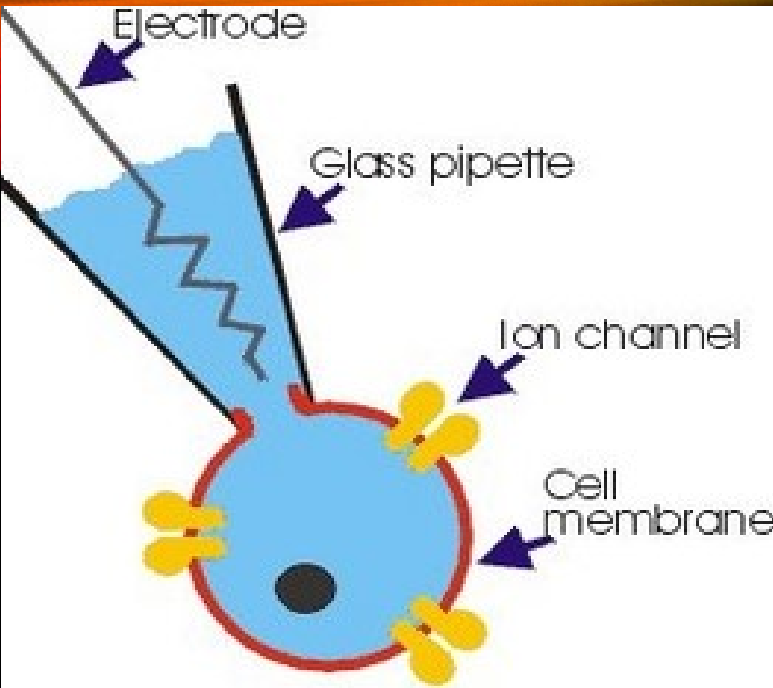
(Sidorov, M. S. et al., 2013)

<https://www.youtube.com/watch?v=-mHgPfXHzJE>





# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΣΥΝΑΠΤΙΚΗΣ ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ



## Ομάδες :

2 ομάδων  
2 μηνών  
2 μηνών  
ηλικίας 2 μηνών  
ηλικίας 12 μηνών

1. Αναισθητοποίηση
2. Θυσία
3. Ηλεκτροφυσιολογία

Διέγειραν τα κύτταρα του προμετωπιαίου φλοιού με ηλεκτρόδιο

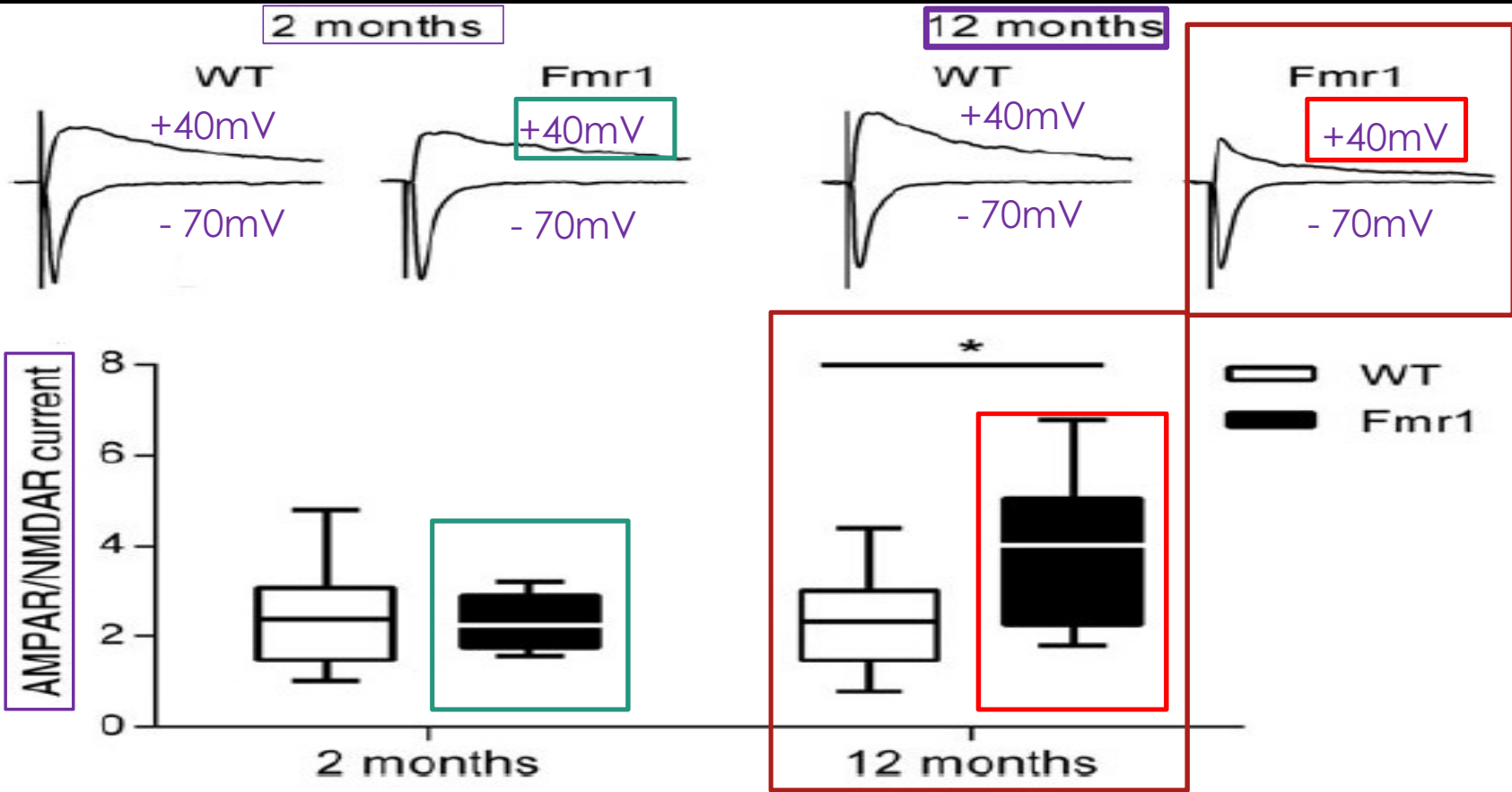
Κατάγραψαν fEPSP (Field Excitatory Postsynaptic Potential) στα κύτταρα του προμετωπιαίου φλοιού.  
A) στο  $0mV$  το δυναμικό ηρεμίας από AMPAR.  
B) στο  $+40mV$  το δυναμικό ενέργειας από NMDAR.  
Κατάγραψαν fEPSP

Υπολογισμός AMPAR / NMDAR



Καταγραφή:  
+40mV NMDAR  
-70mV AMPAR

# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ AMPAR/NMDAR



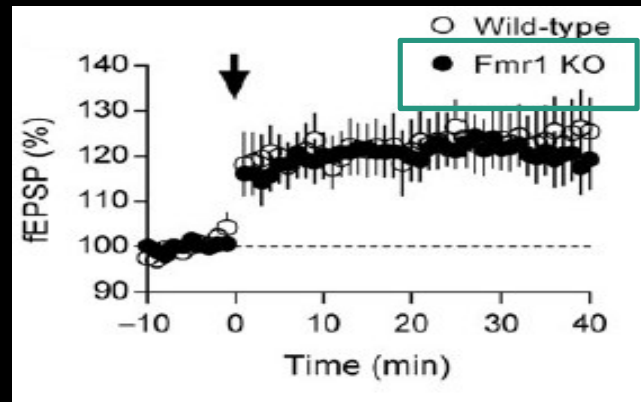
Μείωση NMDAR στα άτομα με ηλικία 12 μηνών που έχουν έλλειψη το Fmr1 γονίδιο.

Αύξηση του λόγου AMPAR/NMDAR στα άτομα με ηλικία 12 μηνών που έχουν έλλειψη το Fmr1 γονίδιο.

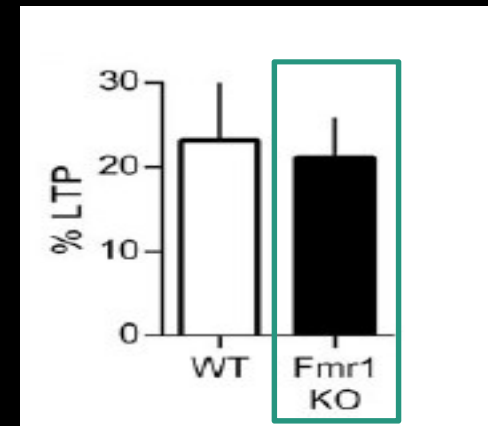
(Martin, H. G. et al., 2015)

# ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ LTP

Ποσοστό πάνω  
από την baseline

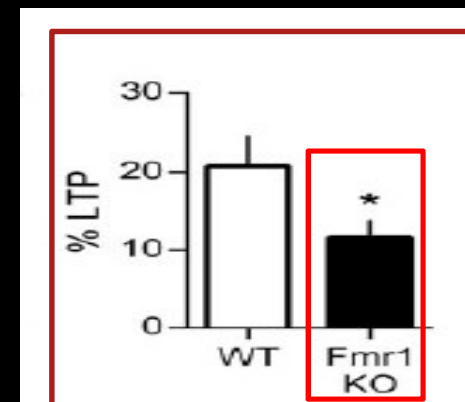
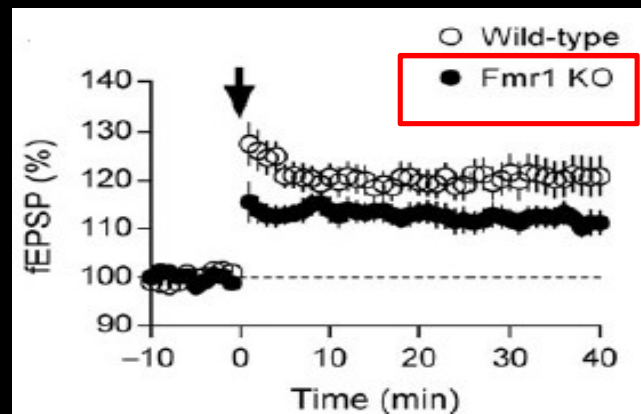


Ποσοστό του LTP



2 μηνών ποντίκια

12 μηνών ποντίκια



Μείωση του LTP στα άτομα με ηλικία 12 μηνών που έχουν έλλειψη το Fmr1 γονίδιο.

# ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Απουσία Fmr1

↓  
Μείωση NMDAR και  $Ca^{+2}$

↓  
Μείωση LTP

Συμβαίνει **ΜΟΝΟ**  
στα 12 μηνών  
άτομα **ΑΡΑ**

↓  
Η αλλαγή στην συναπτική πλαστικότητα εξαρτάται από την ηλικία και επιφέρει κλινικά συμπτώματα.

↓  
Επηρεάζονται οι γλουταμινεργικοί υποδοχείς του μετασυναπτικού νευρώνα

Όπως υπάρχει η ηλικιακή εξάρτηση των κλινικών συμπτωμάτων (μείωση μνήμης και μάθησης) υπάρχει και ηλικιακή εξάρτηση των νευροβιολογικών αλλαγών (συναπτική πλαστικότητα).





## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Martin, H. G., Lassalle, O., Brown, J. T., & Manzioni, O. J. (2015). Age-dependent long-term potentiation deficits in the prefrontal cortex of the Fmr1 knockout mouse model of fragile X syndrome. *Cerebral cortex*, 26(5), 2084-2092.
- Sidorov, M. S., Auerbach, B. D., & Bear, M. F. (2013). Fragile X mental retardation protein and synaptic plasticity. *Molecular brain*, 6(1), 15.
- Bostrom, C. A., Majaess, N. M., Morch, K., White, E., Eadie, B. D., & Christie, B. R. (2013). Rescue of NMDAR-dependent synaptic plasticity in Fmr1 knock-out mice. *Cerebral cortex*, 25(1), 271-279.
- Bear, M. F., Huber, K. M., & Warren, S. T. (2004). The mGluR theory of fragile X mental retardation. *Trends in neurosciences*, 27(7), 370-377.