

**ALTERACIONES EN EL PROCESO DE PODA SINÁPTICA
INVOLUCRADOS EN EL DESARROLLO DE AUTISMO Y SÍNDROME
DEL FRÁGIL X**

VÍCTOR ANDRÉS MÁRQUEZ PÉREZ

**UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
SANTIAGO DE CALI
2017**

**ALTERACIONES EN EL PROCESO DE PODA SINÁPTICA
INVOLUCRADOS EN EL DESARROLLO DE AUTISMO Y SÍNDROME
DEL FRÁGIL X**

VÍCTOR ANDRÉS MÁRQUEZ PÉREZ

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
PREGADO EN QUÍMICA FARMACÉUTICA**

DIRECTOR: JULIANA RENGIFO GÓMEZ, Ph.D.

**UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
SANTIAGO DE CALI
2017**



Aprobado por

Juliana Rengifo G., Ph.D
Directora del proyecto

Álvaro Barrera O., Ph.D
Evaluador

AGRADECIMIENTOS

Primero que todo, agradecer a Dios por permitirme cursar satisfactoriamente todas mis materias durante estos 5 años de gran esfuerzo, a mí mamá, mi tía y mi abuela, quienes me brindaron su apoyo emocional y económico incondicional durante estos años; sin ellas, no hubiese podido llegar a este gran momento de mi carrera. También debo mencionar a mi profesor de baloncesto Jorge Cárdenas, quién fue como el papá que nunca tuve durante todos estos años.

Adicionalmente, agradezco inmensamente a mi tutora Juliana Rengifo, quién me brindó la oportunidad de trabajar con ella y me acompañó durante este año para la finalización de mi proyecto.

Tabla de contenido	
RESUMEN DEL PROYECTO.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.....	10
2.1. Planteamiento de la pregunta o problema de investigación	10
2.2. OBJETIVOS	11
2.2.1. Objetivo general	11
2.2.2. Objetivos específicos	11
3. METODOLOGÍA.....	11
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
4.1. Capítulos	12
4.1.1. Capítulo I. Poda Sináptica en el desarrollo del cerebro animal	12
4.1.2. Capítulo II. Alteraciones Neurológicas asociadas al proceso de poda sináptica.....	26
5. CONCLUSIONES	34
6. RECOMENDACIONES.....	35
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

Lista de figuras

Figura 1 Comportamiento de la densidad de espinas dendríticas durante la infancia.	14
Figura 2 Período crítico en el proceso de poda sináptica de la corteza visual.	15
Figura 3 Alteraciones en procesos asociados a TEA.	28
Figura 4 Vías de señalización y posibles tratamientos asociados con desordenes del espectro autista (DEA).	30

RESUMEN DEL PROYECTO

Los desórdenes neurológicos son afecciones del cerebro que afectan a las neuronas y sus sinapsis. El proceso de poda sináptica, consiste en la eliminación de sinapsis ineficientes o innecesarias presentes en el cerebro, de esta manera este proceso juega un rol muy importante en el correcto desarrollo neuronal, debido a que éste se da, desde etapas tempranas (nacimiento) hasta la adolescencia cuando el cerebro alcanza una maduración considerable. Un descontrol o falla en este proceso puede afectar de manera considerable el neurodesarrollo normal de los individuos y animales afectados. Mediante estudios realizados alrededor del mundo, se han encontrado como candidatos responsables de estos trastornos, varias proteínas o factores genéticos que al estar alterados o mutados generan una falla en el proceso de poda sináptica.

Alteraciones en proteínas como mTOR (mammal target of rapamycin) o FMRP (fragile X mental retardation protein) están asociadas a desórdenes neurológicos como los trastornos del espectro autista (TEA), síndrome de Asperger o el síndrome del frágil X. Las investigaciones han sido realizadas en biomodelos como moscas y gatos, en los cuales se ha tenido en cuenta tanto las mutaciones como los factores externos (ambientales). De esta manera se pretende determinar una causa concreta del fallo en el proceso de poda sináptica, y a pesar de que hay muchas vías de señalización y proteínas identificados como importantes, estos conocimientos de ciencia básica no han impactado la terapéutica en estas enfermedades neurodegenerativas.

Esta monografía hace una recopilación del conocimiento actual de ciencia básica en cuanto a los mecanismos moleculares del proceso fisiológico de poda y maduración sináptica en el sistema nervioso, que al estar afectados impiden un desarrollo normal del cerebro animal. Con este trabajo investigativo se enriquecen los conocimientos actuales en Colombia sobre las bases moleculares de los desórdenes neurológicos de autismo y síndrome de frágil X debidos a fallas presentadas en el proceso de poda sináptica.

Palabras clave: poda sináptica, plasticidad neuronal, trastornos neuronales, desórdenes del espectro autista, síndrome del frágil X.

ABSTRACT

Neurological disorders are brain conditions that affect neurons and their synapses. The process of synaptic pruning consists in the elimination of inefficient or unnecessary synapses present in the brain, in this way this process plays a very important role in the correct neuronal development, because it occurs, from early stages (birth) to the adolescence when the brain reaches a considerable maturation. A lack of control or failure in this process can significantly affect the normal neurodevelopment of affected individuals and animals. Through studies conducted around the world, have been found as candidates responsible for these disorders, several proteins or genetic factors that are altered or mutated generate a failure in the process of synaptic pruning.

Alterations in proteins such as mTOR (mammal target of rapamycin) or FMRP (fragile X mental retardation protein) are associated with neurological disorders such as autism spectrum disorders (ASD), Asperger's syndrome or the fragile X syndrome. The investigations have been carried out in biomodels such as flies and cats, in which both mutations and external (environmental) factors have been taken into account. In this way it is intended to determine a specific cause of failure in the synaptic pruning process, and although there are many signaling pathways and proteins identified as important, this knowledge of basic science has not impacted the therapeutic in these neurodegenerative diseases.

This monograph makes a compilation of the current knowledge of basic science regarding the molecular mechanisms of the physiological process of pruning and synaptic maturation in the nervous system, which, being affected, prevent a normal development of the animal brain. With this research work the current knowledge in Colombia on the molecular basis of the neurological disorders of autism and fragile X syndrome due to failures presented in the synaptic pruning process is enriched.

Key words: synaptic pruning, neuronal plasticity, neuronal disorders, autistic spectrum disorders, fragile X syndrome.

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo del cerebro en los seres vivos posee diversos mecanismos para establecer conexiones adecuadas que contribuirán al correcto desarrollo de actividades como la percepción, el lenguaje, el pensamiento, la conciencia, el aprendizaje y la memoria. Los circuitos neuronales en un comienzo, se ensamblan a través de eventos progresivos que incluyen la migración celular, el crecimiento neuronal, el reconocimiento del objetivo y la sinaptogénesis (Deppmann et al., 2008). Las habilidades por parte de las neuronas para generar una integración de las redes neuronales, depende del tamaño y de la forma de la ramificación dendrítica. Por otra parte los eventos regresivos abarcan una variedad de procesos tales como la eliminación de sinapsis, la restricción de la espina dendrítica y la poda axonal y dendrítica, los cuales desempeñan un papel fundamental en el proceso de refinamiento neuronal (Petrinovic et al., 2013).

El cerebro humano en su constante desarrollo, se adapta a los nuevos estímulos ambientales mediante un proceso adaptativo neuronal dependiente de la actividad, la cual ha sido la adaptación más investigada (Fauth & Tetzlaff, 2016). Sin embargo, también se ha hallado que el proceso de poda sináptica, el cual consiste en la eliminación de las conexiones sinápticas ineficientes en el cerebro, desempeña un rol fundamental en el proceso de maduración. La interrupción del proceso de poda, conlleva a un subdesarrollo cerebral ocasionado por la imposibilidad del cerebro de madurar completamente y a trastornos neurológicos que se manifiestan desde edades tempranas debido al exceso de conexiones neuronales innecesarias (D., Simkin, 2006). Sin embargo, estudios realizados en roedores y primates, mostró que en la corteza prefrontal se presentaba una poda de axones que tiene como finalidad la refinación del cerebro. De esta manera los investigadores hallaron que una poda excesiva durante la adolescencia está relacionada con el comienzo temprano de la esquizofrenia (Cressman et al., 2012).

El proceso de poda sináptica puede ser entendido de una forma más sencilla si se imagina una ciudad con una calle especial para cada una de las casas o apartamentos presentes en ella, sería algo muy complejo y difícil debido a que cada casa tendría un camino para llegar a cada una de las otras casas de la ciudad. Pero esto, se soluciona creando autopistas que comunican a las casas unas con otras, sin necesidad de poseer un camino para cada una de ellas. Así funciona la poda sináptica, eliminando las conexiones ineficientes o poco utilizadas por el cerebro, para darle prioridad a las de mayor uso o las que poseen una mayor intensidad y fuerza, para generar un

refinamiento cerebral que posteriormente le dará un mejor funcionamiento al cerebro.

Actualmente, los estudios realizados en este campo están encaminados a obtener resultados y explicaciones válidas acerca de los procesos moleculares para poder llegar a impactar la terapéutica y dar un mejor tratamiento a las personas que padecen trastornos neurológicos como el autismo o el síndrome del frágil X. Estos estudios se comentarán a lo largo del documento y son realizados en biomodelos como moscas o ratones debido a que presentan cierta homología genética con los seres humanos.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

2.1. Planteamiento de la pregunta o problema de investigación

Muchos de los trastornos neurológicos que padecen las personas alrededor del mundo, aún no poseen una descripción molecular definida como tal, y por lo tanto, no han impactado la terapéutica. Por ejemplo, el autismo es un trastorno del neurodesarrollo caracterizado por la alteración de la interacción social, de la comunicación (tanto verbal como no verbal) y el comportamiento restringido y repetitivo (T., Torrelo, 2015). En gran medida, la causa del autismo es de carácter heredable, pero la causa incluye tanto factores ambientales como susceptibilidad genética. Al ser un trastorno neurológico, éste afecta el procesamiento de la información en el cerebro que depende de cómo las células nerviosas y sus sinapsis se conectan y organizan (Yenkoyan, Grigoryan, Fereshetyan, & Yepremyan, 2017).

Además del autismo, el síndrome del frágil X, otro trastorno sin un establecimiento molecular muy claro, tiene una incidencia de 1 en 1500 varones y 1 en 2500 en mujeres (Gómez & Carrizosa, 2008). Esta patología, es la causa más común de retraso mental de carácter hereditario y la segunda causa de retraso mental de etiología genética, después del síndrome de Down. En esta afección, el cromosoma X se ve involucrado de manera que las personas que la padecen presentan problemas de inteligencia, que hacen referencia a las limitaciones de aprendizaje y adaptación por parte de las personas que la padecen, así como también, de discapacidades en afecciones emocionales, sociales, del habla y del lenguaje (Hoeft et al., 2010).

Actualmente en diferentes centros de investigaciones alrededor del mundo, se están llevando investigaciones sobre estas alteraciones neuronales en el área de neurociencias, para intentar darle una explicación a la causa de este desorden neurológico y así mismo brindar estrategias terapéuticas para mejorar su estilo de vida. En Colombia, son muy pocas las investigaciones

encaminadas a los trastornos neurológicos, debido en parte a la baja disponibilidad de recursos públicos destinados a la investigación básica.

Con este proyecto se busca generar una recopilación bibliográfica acerca del conocimiento actual sobre el fenómeno fisiológico de la poda sináptica basándose en los estudios realizados alrededor del mundo sobre las técnicas y desarrollo en la mejora de dichos trastornos. Posteriormente, con esta información se podrán empezar a realizar las investigaciones experimentales básicas en los desórdenes neurológicos asociados al proceso fisiológico de poda sináptica con el objetivo a largo plazo de enriquecer la terapéutica en estos desórdenes.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1. Objetivo general

Describir el estado del arte del conocimiento actual, sobre las alteraciones en el proceso de poda sináptica, implicadas en el desarrollo de trastornos neurológicos: autismo y síndrome del frágil X.

2.2.2. Objetivos específicos

- Describir el estado del arte del conocimiento con respecto al proceso fisiológico de poda sináptica en el desarrollo cerebral animal.
- Revisión de las alteraciones en el proceso de poda sináptica relacionadas con los trastornos neurológicos de autismo y síndrome del frágil X.

3. METODOLOGÍA

Para la escritura de esta monografía se recibió una capacitación en el manejo de bases de datos, para así poder realizar de manera efectiva la consulta de los artículos de revisión, tesis y demás escritos donde haya información relacionada con el tema de interés. La universidad Icesi brinda una gran variedad de bases de datos que contienen la información suficiente para poder realizar una revisión bibliográfica enriquecedora. Al ingresar a las diferentes bases de datos como PubMed o ScienceDirect se realizaron búsquedas de manera efectiva haciendo uso de los diferentes filtros que brindan estas bases, tales como: año de publicación, autores, tipo de escrito,

entre otros. Al realizar la búsqueda, esta estuvo enfocada a la mayor recopilación de información relacionada con el tema del presente proyecto.

A continuación se presentará un ejemplo de cómo se realizó la búsqueda a lo largo de todo el proyecto. Al ingresar a la base de datos se escribió en la barra de búsqueda palabras claves debido a que de esta manera sería más probable que se encontrara más información en comparación si se escribiera una oración. Al obtener todos los resultados se puede realizar un filtro para 'refinar' los resultados obtenidos y que de esta manera se reduzcan los resultados que en un inicio pueden ser del orden de los miles. Cabe mencionar que en los resultados obtenidos también aparece una especie de algoritmo el cual sirve para posteriormente realizar búsquedas más precisas.

Por ejemplo al realizar la búsqueda en PubMed utilizando las palabras claves 'synaptic pruning' se hallaron 45257 resultados, pero al realizar varios filtros se puede quedar con 15-20 resultados que son más precisos y guardan una mayor relación con el tema de interés. El algoritmo obtenido al realizar esta búsqueda fue el siguiente:

```
"Neuronal plasticity"[MeSH Terms] OR ("neuronal"[All Fields] AND "plasticity"[All Fields]) OR "neuronal plasticity"[All Fields] OR ("synaptic"[All Fields] AND "pruning"[All Fields]) OR "synaptic pruning"[All Fields]
```

Al tener los artículos seleccionados de la manera comentada anteriormente, se realizó una revisión minuciosa para comenzar a extraer la información más relevante de cada resultado y poco a poco ir redactando la monografía, la cual está dividida en 2 capítulos (satisfaciendo los objetivos específicos propuestos). Los avances en la redacción se presentaron a la tutora para tener un escrito de mayor calidad que pudiera cumplir con el objetivo general del presente proyecto.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Capítulos

4.1.1. Capítulo I. Poda Sináptica en el desarrollo del cerebro animal

4.1.1.1. Subcapítulo I. Generalidades del desarrollo del cerebro en los seres vivos

El cerebro es un órgano que compone al sistema nervioso central (SNC) de todos los seres vivos. Los seres humanos al llegar a su etapa adulta poseen un cerebro de aproximadamente 1.3 kilogramos, mientras que el cerebro de un delfín alcanza un peso de 1.0 kilogramos, y el de un gorila

aproximadamente 0.45 kilogramos. Su desarrollo comienza desde mucho antes de que el ser vivo nazca, este periodo se denomina etapa prenatal y compone una de las fases más importantes en el desarrollo cerebral animal debido a que, es ahí cuando se forman las neuronas y las conexiones entre las neuronas. Este importante desarrollo comienza 30 días después de la fecundación, en esta etapa el feto ya posee lo que será el cerebro y la médula espinal (Jensen, 2004).

Inicialmente, las neuronas se forman en el tubo neuronal del feto y posteriormente se van distribuyendo mediante un proceso de migración celular en el que las neuronas se desplazan a posiciones particulares y entablan conexiones específicas para llegar a conformar todo el cerebro. Una vez establecidas en una zona específica del cerebro, estas comienzan a especializarse para luego realizar las funciones cerebrales (Bayona Rodríguez, 2012). La mayor parte de las neuronas surgen entre el cuarto y séptimo mes de gestación y comienzan a establecer las conexiones neuronales que en el futuro, les permitirá tener un medio por el cual puedan enviar y recibir mensajes químicos, los cuales a su vez, serán impulsos nerviosos. Este fenómeno se denomina sinapsis y desempeña un papel fundamental en el desarrollo del ser vivo a lo largo de toda su vida, ya que las funciones, como por ejemplo, las cognitivas, motoras, lingüísticas y de memoria, dependerán del proceso de cómo las neuronas desempeñan la sinapsis entre sí y las redes neuronales conformadas (Jensen, 2004).

Desde el nacimiento, el cerebro humano está compuesto por aproximadamente 100 billones de neuronas presentes en la corteza (Graham, 2001). Durante etapas tempranas del desarrollo, entre la infancia y la adolescencia, el tamaño y el peso del cerebro aumentan significativamente hasta 5 veces su tamaño. Este incremento en la densidad, no contribuye a la creación de un gran número de nuevas neuronas, sino más bien a un incremento exponencial en el crecimiento sináptico conocido como sinaptogénesis exuberante (SE) (Huttenlocher y Drabholkar, 1998). En la infancia, cada neurona promedia alrededor de 2.500 sinapsis y en el pico de la SE (alrededor de los 2-3 años) este número incrementa a 15.000. Poco después de este periodo de crecimiento sináptico, la red neuronal experimenta una disminución de la densidad sináptica, ya que las conexiones neuronales que se utilizan con menor frecuencia, son eliminadas (Graham, 2001).

El desarrollo posnatal sináptico en la corteza cerebral de los mamíferos es un proceso dinámico que involucra la formación y eliminación/poda de sinapsis. La formación de sinapsis supera a los procesos de poda en edades tempranas, produciendo de esta forma sinapsis excitatorias excesivas que son esenciales para el ensamblaje de circuitos neuronales. De forma congruente, la densidad de las espinas dendríticas alcanza su punto crítico en la primera infancia y

luego, se alcanza un pronunciado declive durante la última etapa de infancia; y en el espacio de tiempo, entre la adolescencia y la adultez, se da una selección y maduración de las sinapsis y los circuitos neuronales (Ver Figura 1) (Tang et al., 2014).

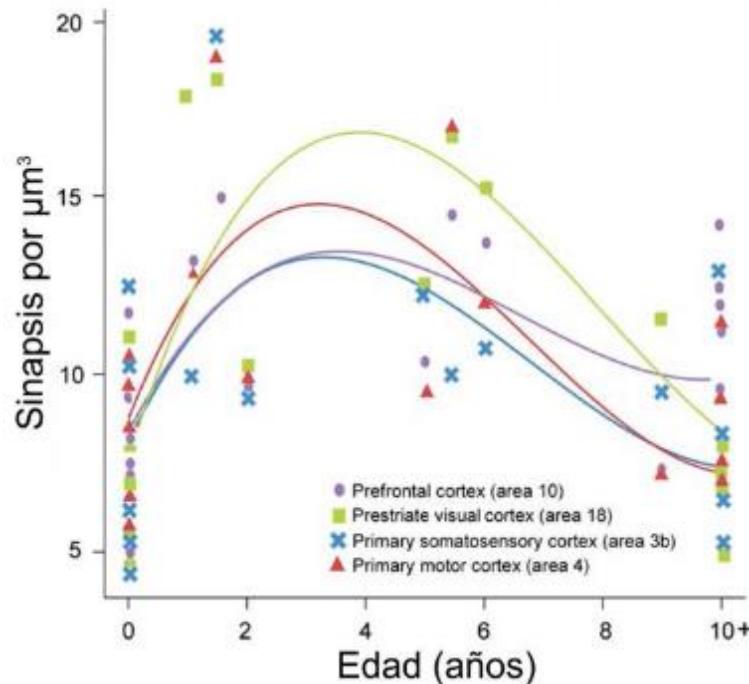


Figura 1 **Comportamiento de la densidad de espinas dendríticas durante la infancia.** Tomado de (Sinaptogénesis y desarrollo. Bianchi et. al 2013)

Cabe mencionar que hay dos tipos de células cerebrales: las neuronas y las neuroglías. Aunque el 90% de estas células cerebrales son neuroglías, el 10% restante hace referencia a las neuronas, las cuales son más conocidas. Las neuroglías tienen como función la formación de la barrera hematoencefálica, transporte de nutrientes y la regulación del sistema inmunitario; las neuronas se encargan de tratar la información y transportar las señales químicas y eléctricas en todas las direcciones (sinapsis), y estas están constituidas por un cuerpo celular compacto compuesto por dendritas y axones. Un adulto sano posee la misma cantidad de neuronas que un niño de 2 años (100 billones de neuronas), sin embargo, estas células se pueden perder diariamente ya sea por enfermedad, decadencia o mal uso asociado al consumo de sustancias exógenas dañinas, como lo son el alcohol y las drogas. Aproximadamente se pueden perder entre 10.000 y 100.000 neuronas diarias, aun así se necesitarían siglos para perder todas las neuronas del cerebro (Jensen,. 2004).

Las sinapsis son conexiones entre neuronas que transmiten mensajes químicos. Cuando un individuo aprende nueva información y habilidades, las sinapsis se hacen más fuertes mediante un proceso denominado

neurogénesis. La acción de eliminar/debilitar las sinapsis irrelevantes e ineficientes durante este periodo de desarrollo, se conoce como *poda sináptica*. Este proceso puede ser visto como un mecanismo de aprendizaje donde la “poda” o eliminación de las sinapsis depende de las respuestas de las neuronas a los factores ambientales y estímulos externos (Craik y Bialystokb, 2006). Los procesos de SE y poda sináptica en etapas de desarrollo del cerebro se han asociado con el “periodo crítico” de un individuo; un momento donde este es altamente receptivo a estímulos ambientales y por lo tanto, pueden ocurrir eventos relacionados con desórdenes en el aprendizaje o en el comportamiento (Ver Figura 2).

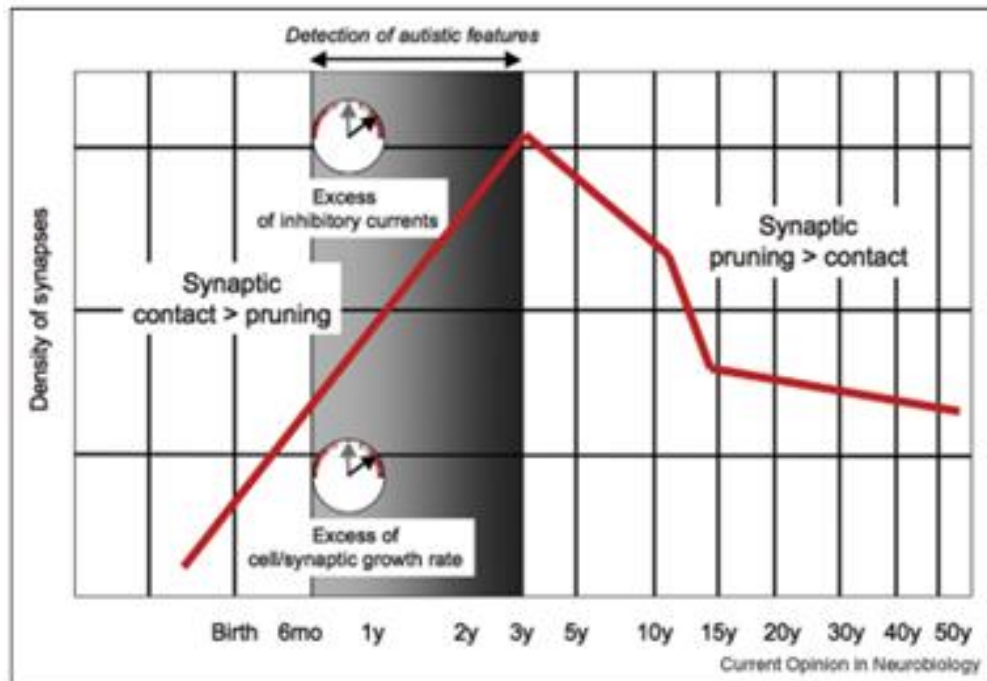


Figura 2 **Período crítico en el proceso de poda sináptica de la corteza visual.** Tomado de Nature neuroscience (Desai et al., 2002).

La plasticidad neuronal es una característica única y adaptativa del sistema nervioso que permite a las neuronas reorganizar sus interacciones sinápticas en respuesta a una estimulación intrínseca o extrínseca. Además esculpe la formación de sinapsis y participa en el mantenimiento circuitos neuronales funcionales. La plasticidad sináptica es la forma más importante de la plasticidad neuronal y desempeña un papel crítico durante el desarrollo que permite la formación de la conectividad neural precisa a través del proceso de poda sináptica (Chaudhury, Sharma, Kumar, Nag, & Wadhwa, 2016). Esta plasticidad se presenta durante el desarrollo del SNC de los seres vivos y continúa durante toda la vida debido a que así se optimiza el desempeño del cerebro en labores como las de adaptarse o aprender, debido a que la

plasticidad sináptica es la base molecular del aprendizaje (Gelaye, Rondon, Araya, & A, 2016).

4.1.1.2. Subcapítulo II. Consideraciones generales del mecanismo de refinamiento neuronal: Poda Sináptica

La eliminación de las sinapsis y la poda axonal están generalmente en el sistema nervioso central (SNC), aunque también se han observado en el sistema nervioso periférico (SNP). A pesar de que no está claro por qué se da el proceso de SE, se cree que es debido a la disponibilidad limitada de señales únicas para establecer una red de circuitos maduros y específicos. Debido a la cantidad de recursos limitados, se realiza un ajuste fino mediante un refinamiento de las conexiones neuronales. Otra hipótesis que se plantean los investigadores acerca del por qué se establecen más conexiones de las que se necesitan, es porque el objetivo final del cerebro en el desarrollo, es permitir la escultura dependiente de la actividad de los circuitos neuronales y el refinamiento de las conexiones a través de la competencia. Por último, estas conexiones exuberantes pueden desempeñar funciones fisiológicas o estructurales durante el desarrollo temprano, pero aun así deben de ser refinadas o eliminadas antes de la adultez (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

La etapa final del desarrollo del cerebro en los seres vivos, está asociada con la generación y maduración de sinapsis neuronales, no obstante, al mismo tiempo que se da esta etapa se presenta un máximo en la eliminación de sinapsis (poda sináptica), que se ha planteado como una crucial explicación para la maduración de las conexiones sinápticas restantes (Neniskyte y Gross, 2017). La investigación realizada por Berbel e Innocenti en el cuerpo caloso de gatos utilizando un microscopio electrónico y luz, arrojó que las células gliales tienen un papel clave en el proceso de poda sináptica en varias partes del sistema nervioso (Valentino & Jones, 1982). De manera similar, los estudios anatómicos post-mortem sugieren que la poda sináptica deficiente o excesiva podría estar ocasionando enfermedades como autismo, esquizofrenia o epilepsia (Neniskyte y Gross, 2017).

Ahora bien, existen dos tipos básicos de poda axónica: la poda de ramas cortas del axón terminal y la poda genéticamente predeterminada de los axones largos. La primera, normalmente incluye la integración de factores ambientales como el sostenimiento trófico o la actividad neuronal e igualmente, varios ejemplos de este proceso se presentan en el SNP. Los axones sensitivos y simpáticos compiten por el apoyo neurotrófico, el cual, es proporcionado mediante señales enviadas por las células diana; esta competencia es reforzada por la presencia de señales de castigo que penalizan aún más a los axones perdedores, provocando finalmente su

eliminación. En la mayoría de las ocasiones, la poda de axones sensoriales y simpáticos está acompañada por el mecanismo de apoptosis. Cabe resaltar que los axones motores también compiten por la ocupación de la unión neuromuscular (UNM), la cual es mediada por la actividad neuronal. Después de un espacio de tiempo de competición, las fibras musculares individuales terminan inervadas por un único axón motor (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

Por un lado, proceso de poda corta del axón colateral, está presente durante el desarrollo del SNC y se da cuando se produce un refinamiento en el circuito de la fibra trepadora del cerebelo. Este, es un proceso que depende en gran parte de la actividad neuronal y se presenta de manera similar al de la UNM. En un comienzo, múltiples fibras trepadoras inervan una sola célula de Purkinje, empero, durante las primeras etapas post-natales, sólo una fibra trepadora permanece unida con cada célula de Purkinje y se transloca al árbol dendrítico de Purkinje, mientras que los axones de las fibras trepadoras que estaban en las células de Purkinje, se pierden (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

Por otra parte, un ejemplo de la poda estereotipada a gran escala, se encuentra en todo el desarrollo del SNC, y dichos procesos de poda se pueden subdividir en dos tipos basados en observaciones anatómicas e histológicas: eliminación de tipo degenerativo, en la que los axones se fragmentan durante el proceso de refinamiento; y la poda de retracción, en la cual los axones retroceden sin esparcir fragmentos axónicos. En mamíferos se da la de tipo degenerativo en el proceso de eliminación de las proyecciones retinoculares (McLaughlin, Torborg, Feller, & O'Leary, 2003) y el mecanismo de retracción, se da en el SNC de roedores en la poda del tracto infrapiramidal del hipocampo, durante el desarrollo post-natal. Más adelante se describirán con más detalle estos tipos de eliminación de sinapsis y también los mecanismos que subyacen a estos eventos regresivos.

Por último, ¿Se debe considerar la eliminación sináptica un proceso distinto al de la poda axónica? Estudios histológicos realizados en biomodelos con algún tipo de enfermedad neurológica, revelan una fuerte relación entre estos dos procesos. La poda del axón es casi siempre precedida por la eliminación de las sinapsis, por ejemplo, durante la poda del tracto infrapiramidal (TIP) de los roedores, se eliminan las sinapsis distales antes de la retracción axonal del TIP. A pesar, de los estudios adelantados hasta ahora, aún no se conoce con exactitud si ambos procesos se presentan de manera secuencial o si por el contrario están intrínsecamente vinculados y controlados por los mismos mecanismos moleculares (Lin & Koleske, 2011).

4.1.1.3. Subcapítulo III. Mecanismos moleculares subyacentes al proceso de poda sináptica

El mecanismo molecular de poda sináptica puede producirse por diversos factores intrínsecos y extrínsecos, aunque, estos mecanismos deben de estar estrictamente regulados, para generar una precisa organización del cableado neuronal y no llegar a producir efectos adversos que se traducirán en trastornos neurológicos. Conforme fueron pasando los años, las investigaciones en esta área se intensificaron, permitiendo establecer diferentes tipos de mecanismos moleculares que subyacen a estos procesos implicados en el desarrollo del cerebro de los seres vivos. Las investigaciones genéticas y bioquímicas, establecen que la activación de las caspasas proapoptóticas, la estimulación de la señal de la vía repulsiva, la vía del proteosoma-ubiquitina y la actividad neuronal como mecanismos moleculares se relacionan directamente con el proceso de refinamiento neuronal en el cerebro de los seres vivos (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

4.1.1.3.1 Influencia de la señalización de vías de autodestrucción

Las neuronas ejecutan uno de dos procesos críticos de autodestrucción para formar de manera adecuada el sistema nervioso durante el desarrollo: la apoptosis, que destruye toda la neurona, y la degeneración del axón, que elimina las ramas innecesarias del axón para así refinar las redes neuronales presentes en el cerebro. Entretanto que la apoptosis neuronal se produce durante el desarrollo, la vía apoptótica se vuelve altamente restringida cuando las neuronas ya se han integrado al sistema nervioso como tal, esto les permite a las neuronas sobrevivir durante toda la vida del ser vivo. En cambio, la poda selectiva de los axones es clave no sólo para el establecimiento de circuitos específicos durante el desarrollo, sino también para permitir la plasticidad neuronal en el sistema nervioso adulto. Pese a que los axones se destruyen durante ambos procesos, aún no se ha corroborado si la misma vía media estos dos procesos (Nayak, Roth, & McGavern, 2014).

La cascada de las caspasas, la cual participa en el proceso de poda de axones y eliminación de sinapsis, tiene un rol muy importante. Éstas son las reguladoras integrales del proceso de apoptosis; el cual hace referencia a una muerte celular programada, y pueden ser activadas por una variedad de estímulos que conllevan a las vías de muerte celular (Riccomagno y Kolodkin, 2015). Las caspasas están dentro de la familia de las proteasas, la “C” de su nombre busca establecer un mecanismo de cisteína proteasa, y “aspasa” se refiere a su capacidad de escindirse después del ácido aspártico, una característica distintiva de esta familia de proteasas. Las cascadas de

señalización apoptótica confluyen y activan Bax, un miembro proapoptótico de la familia Bcl-2, dando como resultado la liberación de citocromo c (Cyt c) de las mitocondrias (Denault & Salvesen, 2002).

El Cyt c liberado se une al factor activador de la proteasa apoptótica 1 (Apaf-1) el cual recluta la procaspasa 9 para formar el apoptosoma. La activación automática de la caspasa 9 conlleva a la escisión y activación de la caspasa 3, dando como resultado final la muerte celular. La activación de estas caspasas en las neuronas está estrictamente regulada por el inhibidor de la proteína apoptótica ligado a X (XIAP), que se une e inhibe las caspasas 9 y 3. Cualquier relación entre la apoptosis neuronal y la degeneración axonal específica fue en un comienzo, descartada debido a la falta de la detección de la caspasa 3 activa en los axones de degeneración y a la incapacidad de esta caspasa para proteger los axones. Sin embargo, un estudio reveló que existe una relación significativa entre estas dos vías. Por ejemplo, se ha demostrado que las proteínas de la familia Bcl-2 modulan la degeneración del axón mediante la deficiencia de Bax o la expresión excesiva de la proteína antiapoptótica (Bcl-XL) (Nayak, Roth, & McGavern, 2014).

La privación del factor de crecimiento nervioso (FCN) induce la apoptosis en las neuronas dando como resultado, la degeneración del soma y el axón (Nayak, Roth, & McGavern, 2014). El receptor huérfano DR6, se une a la proteína precursora amiloidea (proteína integral de membrana que participa como regulador frente a la sinapsis y plasticidad neuronal) para regular la poda de degeneración en el SNP y el SNC. La misma activación de una vía de señalización dependiente de caspasa, se observa cuando tanto los axones sensoriales como los simpáticos, están privados de factores neurotróficos (proteínas que favorecen la supervivencia de las neuronas). La poda de tipo degenerativo requiere una señalización apoptótica clásica, la cual consta de la proteína X asociada al factor apoptótico Bcl2 (Bax) y de la activación de las caspasas 9, 6 y 3. En contraste con la apoptosis, este evento de señalización no requiere una proteasa apoptótica asociada al factor de activación 1 (APAF1). Por extraño que parezca, aunque las caspasas están implicadas en la muerte celular y en la poda de degeneración, éstas son innecesarias para la degeneración axonal inducida por lesión, y conocida como degeneración Walleriana (WD) (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

4.1.1.3.2 Influencia de la señalización de vía tróficas

En el proceso del desarrollo neuronal, la competencia por el apoyo neurotrófico es un determinante clave para el montaje de circuitos y refinamiento del SNP. Después de diversos estudios, se estableció la hipótesis de que las neuronas compiten por factores limitados de

supervivencia. Las neuronas 'ganadoras' logran adquirir una ventaja que les permite sobrevivir, mientras que las neuronas que no logran ganar dichos factores, pierden en un comienzo sus axones por degeneración y posteriormente mueren. Las Neurotrofinas, son una familia de proteínas que favorecen la supervivencia de las neuronas y también pueden denominarse como factores neurotróficos, los cuales señalizan a través de receptores específicos de tirosina-quinasa y son conocidas por participar en la formación del cableado neuronal del SNC y el SNP (Harrington, A. & Ginty, D. 2013).

La poda inducida por la degeneración axonal se encarga del modelamiento de las conexiones axonales exuberantes y es requerida para el desarrollo adecuado de los circuitos en el sistema nervioso de insectos a mamíferos. Esta degeneración axonal se parece a la degeneración Walleriana inducida por lesión, la cual consiste en el proceso que resulta cuando una fibra nerviosa es cortada o aplastada, en donde la parte del axón separada del cuerpo celular de la neurona se degenera de manera distal a la herida. Por otra parte, el sistema ubiquitina-proteasoma (SUP) es esencial para el desarrollo y la degeneración del axón, además de ser otro ejemplo de otra ruta de autodestrucción celular (Hoopfer et al., 2006).

En la remodelación del cuerpo de hongo (CH) en los cerebros de las pupas de *Drosophila*, se presenta la activación del SUP. Todo este proceso es dependiente de la hormona ecdisoma y requiere un SUP funcional, ya que se ha demostrado mediante estudios en biomodelos, que la ausencia de la enzima activadora de ubiquitina (E1) o dos de las subunidades proteosómicas producen efectos severos en la poda axonal. Además se concluyó mediante este estudio realizado durante la metamorfosis de *Drosophila* que la ligasa E3 posee una relación con la vía de InR/PI3K/TOR durante el mecanismo de poda sináptica (Wong et al., 2013).

Pese a que muchos de los efectores moleculares utilizados durante la poda axonal son empleados también para la poda dendrítica, existen algunas diferencias destacadas entre ambos procesos. Por ejemplo, la inactivación de las vías de señalización de PI3K/TOR es necesaria para el corte de las dendritas en el cuerpo de las pupas de *Drosophila* en desarrollo, pero no para la poda de los axones del CH. Algunas de estas diferencias se pueden deber a las características intrínsecas de cada tipo de neurona. Sin embargo, son las diferencias en las polaridades de los microtúbulos entre los compartimentos dendríticos y axonales las que provocan diferencias en el proceso de señalización durante el proceso de poda para axones y dendritas. Análisis ultraestructurales mediante microscopía electrónica han arrojado que los axones de vertebrados maduros contienen microtúbulos que están orientados exclusivamente con extremos positivos que se proyectan fuera del soma, mientras que las dendritas poseen microtúbulos con una polaridad mixta. No es raro, que aunque muchos eventos de señalización de la poda

dendrítica y axonal se compartan, aun así hay diferencias que reflejan una estructura y composición citoesquelética única para axones y dendritas (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

4.1.1.3.3 Influencia de las vías de señalización de la vía repulsiva

Entender cómo los receptores de la guía del axón transmiten señales para permitir decisiones precisas que son llevadas a cabo en el desarrollo neuronal de los seres vivos, es fundamental para dar explicación a los diferentes procesos implicados en el refinamiento celular (Bashaw & Klein, 2010). En etapas tempranas del desarrollo neuronal, los axones son guiados en el medio extracelular mediante señales atractivas y repulsivas. Estas señales participan tanto en el proceso de desarrollo, como en la adultez, y además se encargan de controlar una gran cantidad de sucesos de orientación celular, cómo la migración celular o el refinamiento de circuitos. Sin embargo, es de nuestro interés la función de las señales de repulsión durante la poda axónica y la eliminación de sinapsis. Existen dos familias de 'proteínas repelentes' que poseen un papel fundamental en los procesos posteriores de refinamiento y maduración del circuito, estas son: Semaforinas y Efrinas (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

La semaforina desempeña su trabajo de señalización durante el inicio del proceso de ensamblaje de circuitos en vertebrados e invertebrados, y hasta ahora se han realizado diversos estudios en esta familia de proteínas, que permiten conocer con mayor detalle todo su proceso de señalización. Estas proteínas, se expresan en diversas partes del SNC mucho después de que los axones se hayan establecido. Esto abre la posibilidad a la hipótesis de que esta familia de proteínas tenga un rol importante en el proceso de refinamiento y maduración cerebral en los seres vivos. Por ejemplo, la semaforina 3F participa en la limitación de la poda axónica y la sinapsis en varias regiones cerebrales (Bagri, Cheng, Yaron, Pleasure, & Tessier-Lavigne, 2003). Esta proteína posee dominios citoplasmáticos a los que se unen proteínas activadoras que regulan su función en el proceso de modelamiento neuronal.

Por otra parte, una segunda familia de proteínas repulsivas: las efrinas; participan de manera activa en el proceso de poda axonal y refinamientos del SNC. Las efrinas funcionan como ligandos para los receptores Eph, los cuales son de señalización directa y también como receptores para Ephs que desencadena una señalización reversa. Estos dos tipos de señalización juegan papeles decisivos en el proceso de establecimiento y refinamiento del circuito retinociliar. Las células ganglionares de la retina (CGR) son el único tipo de células que proyecta axones al cerebro. En un inicio los axones del CGR se extienden a lo largo del colículo superior hasta llegar a inervar su

objetivo, posteriormente en el desarrollo del sistema visual, se crea un contra gradiente de efrinas que dirigen la poda axonal degenerativa similar a la poda de fragmentación para la formación del mapa topográfico cerebral (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

4.1.1.3.4 Influencia de la señalización activada por actividad neuronal

Ahora bien, la actividad neuronal desempeña un rol importante en el proceso de modelamiento del cableado neuronal, debido a que ésta puede desencadenar cambios en una sola sinapsis; provocando que se fortalezca o debilite las conexiones individuales. Además, también puede actuar como un poderoso regulador de la organización y función general del circuito en el contexto de redes neuronales complejas. En el cerebelo maduro, una única fibra trepadora formará cientos de sinapsis en la dendrita proximal de la CP, haciendo que la conexión fibra trepadora-célula de Purkinje sea una de las conexiones excitatorias más fuertes en el SNC (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

Las espinas dendríticas son una estructura clave en la plasticidad neuronal. El mejoramiento de la actividad neuronal se asocia comúnmente al aumento en el tamaño y la densidad de la columna vertebral. Las dendritas de las CP se caracterizan por poseer un compartimento proximal y otro distal, los cuales son incididos por las fibras trepadoras (FT) y fibras paralelas (FP), respectivamente. Las espinas en diferentes compartimentos dendríticos se crean o mantienen independientemente del nivel de la tasa de activación de las CP. Por lo tanto, las CP proporcionan un modelo donde las espinas en diferentes compartimentos de la misma neurona están reguladas de manera diferente por la actividad de sus aferentes locales. Además, la actividad eléctrica también es esencial para mantener la inervación completa de la fibra trepadora (Bravin, Morando, Vercelli, Rossi, y Strata, 1999).

La actividad neuronal es la principal fuerza motriz para esculpir la conectividad en el sistema de fibras trepadoras (FTs). La actividad presináptica de la FT seguida de la entrada de Ca^{+2} en la CP y la activación de la señalización dependiente de Ca^{+2} , conforman eventos clave durante las primeras fases de la poda sináptica de la FT (Riccomagno y Kolodkin, 2015). Después de la extensión de los axones de las fibras trepadoras a lo largo de las dendritas de la CP a la que está más fuertemente conectado, comienza la fase inicial de eliminación de sinapsis en la que las sinapsis somáticas formadas por FTs se eliminan de forma no selectiva. Este proceso es acompañado de una mayor extensión distal de las ramas axónicas de la FT más fuerte. Se tiene entonces como resultado, una eliminación de las conexiones más débiles de las FTs debido a que estas, sólo han establecido conexión con el soma de la CP (Hashimoto, Ichikawa, Kitamura, Watanabe, y Kano, 2009).

Después de la segunda semana posnatal en mamíferos, comienza una segunda fase de refinamiento de sinapsis de la FT, que depende de la inervación normal de la fibra paralela (FP) de las CP. Las FP son los axones bifurcados de las células granulares cerebelosas y se encargan de inervar las dendritas de las CP distales. La eliminación de las FT en esta última etapa, está impulsada por la competencia heterotípica con las FP. Estudios revelan, que la formación normal de las sinapsis entre FP-CP es esencial para la eliminación de las sinapsis de las FT, debido a que cuando no se produce este contacto, se produce una deficiente eliminación de los circuitos. La inervación de FP-CP actúa de dos formas para impulsar esta última fase de la poda de las FT: primero, restringe la inervación de FT transinápticamente a través de un proceso dependiente de Cerebelin-1 (Cbln1)/receptor de glutamato $\delta 2$ (GluR $\delta 2$); y segundo, activa una cascada de señalización metabotrópica de glutamato, receptor 1 (mGluR1), en las CP que impulsa la eliminación perisomática de las sinapsis en las FT (Hashimoto et al., 2009).

A pesar de que se ha realizado un especial énfasis en la identificación de los factores que actúan en las células de Purkinje postsinápticas regulando la poda de las FT, aún se sabe muy poco acerca de los mecanismos moleculares que dirigen a las FTs presinápticas a podar. Sin embargo, una señal producida por la CP en respuesta a la activación de mGluR1, se ha propuesto como explicación del desencadenamiento de la eliminación no selectiva de las sinapsis de las FTs perisomáticas durante la segunda fase de poda (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

Trabajos recientes destacan la participación importante de Sema7A, una semaforina ligada a GPI. En dicho estudio se evaluó la señalización retrograda de la Sema7A para observar que implicancia tiene esta proteína en el proceso de poda sináptica. Además se comparó la diferencia en la regulación en el proceso de poda de las dos semaforinas (3A y 7A), en el cual se encontró que tienen funciones opuestas en las diferentes etapas del proceso. La inhibición de esta proteína en las CP, o en sus receptores PlexinC1 y $\beta 1$ -Integrina en las FTs, produce una eliminación deficiente de las FTs durante la última fase de refinamiento. Otra semaforina, Sema3A, aparentemente actúa de manera opuesta al estabilizar las sinapsis de las FTs. Estos datos revelan la existencia de una diafonía esencial entre la actividad neuronal y las señales de guía de repulsión durante el refinamiento del circuito cerebral (Uesaka et al., 2014).

4.1.1.4. Subcapítulo IV. Papel de la glía durante la poda sináptica

La importancia de las células gliales que actúan como fagocitos para los axones fragmentados y los restos celulares durante la poda axonal, están bien establecidos debido al impacto que han tenido los estudios experimentales en esta área. La primera indicación de que las células gliales están involucradas en la poda sináptica fue un estudio que utilizó microscopía electrónica para examinar el cuerpo caloso en desarrollo en gatos. Ahí, la remodelación axonal a gran escala en el desarrollo embrionario y postnatal temprano se acompañó de la actividad fagocítica de microglia y astrocitos, que arrojó que estas células contribuyen a la eliminación de axones. Desde entonces, la eliminación de sinapsis por células gliales se ha demostrado en diversos sistemas modelo, que van desde las sinapsis periféricas en las uniones neuromusculares (UNM) hasta las sinapsis en la corteza, el hipocampo, el tálamo y el cerebelo (Neniskyte & Gross, 2017).

Se ha sugerido, que la poda sináptica dependiente de las células gliales contribuye tanto a la fase primaria del refinamiento del circuito cerebral (3 semanas en ratones) como a una segunda fase que se presenta durante la adolescencia en mamíferos (3 a 8 semanas en ratones). La fase principal de la poda sináptica asegura la formación adecuada de circuitos sensoriales; como lo son aquellos que procesan información táctil, visual y auditiva, y circuitos ejecutivos; como los comportamientos y los procesos incluidos en la regulación de la memoria. Por el contrario, la poda en la adolescencia es más pronunciada en las regiones cerebrales, como en la corteza prefrontal, debido a que estas zonas requieren una gran remodelación para lograr un comportamiento completamente guiado internamente, un control de los impulsos y una planificación de los objetivos por ejemplo (Neniskyte & Gross, 2017).

Recientemente, ha quedado claro que las células gliales participan de manera instructiva durante los episodios de poda axonal y sinapsis. Por lo menos, dos diferentes tipos de células gliales, astrocitos y microglia, participan activamente en la eliminación de sinapsis y la poda de axones en el SNC de mamíferos. Una región del SNC donde la participación de células gliales durante la poda se ha estudiado en detalle, es el sistema retinogenuculado. Durante el desarrollo postnatal temprano, los axones de las células ganglionares de la retina forman sinapsis transitorias con neuronas de retransmisión en el núcleo geniculado lateral dorsal del tálamo. Sin embargo muchas de estas sinapsis se eliminan, y los axones restantes elaboran ramificaciones antes de que el mamífero abra los ojos. Este proceso de refinamiento está regulado por TGF- β , la cual es secretada por los astrocitos. Curiosamente, la activación de la microglia también podría ser esencial en el adulto, para proporcionar neuroprotección y modular la

plasticidad sináptica a través de la regulación del receptor AMPA y el número de espinas dendríticas (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

A continuación se describirá como se presenta la relación entre la glía y la poda sináptica en una estructura que ha sido ampliamente estudiada debido a su simpleza y fácil accesibilidad y manipulación, las uniones neuromusculares (UNM). Estas estructuras sufren una poda sináptica durante el desarrollo para transformar la conectividad inicial de muchos a uno en la conectividad uno a uno que se encuentra en el organismo maduro. Durante el desarrollo embrionario del ratón, las placas motoras se inervan cada una con aproximadamente diez entradas sinápticas de diferentes neuronas motoras. En la primera y segunda semanas postnatales, las placas terminales con inervaciones múltiples pierden entradas sinápticas para convertirse en inervadas de forma única o escasa. Durante la eliminación sináptica, algunas sinapsis se fortalecen y otras se debilitan, mediante un proceso el cual se cree que es impulsado por la competencia de recursos postsinápticos. En última instancia, la UNM madura está inervado por una sola neurona motora que exhibe una alta eficacia sináptica. Curiosamente, las células cercanas de Schwann rodean las entradas sinápticas durante el refinamiento de la UNM y absorben y fagocitan el material sináptico podado. El engrosamiento por células de Schwann se asocia con la activación de señales apoptóticas en sitios postsinápticos de sinapsis de UNM asociadas (Neniskyte & Gross, 2017).

Además, se ha demostrado que las células de Schwann exhiben picos intracelulares de Ca^{+2} en respuesta al neurotransmisor acetilcolina liberado de las neuronas motoras. Es picos, decodifican la eficacia sináptica de cada terminal en función de los niveles de la emisión del transmisor presináptico y, por lo tanto, se plantea que desempeñan un papel importante en la determinación de lo que debe fagocitarse selectivamente posterior a su entrada. Estos hallazgos sugieren que las células de Schwann responden activamente a la actividad neuronal para seleccionar las neuronas motoras débiles para engullirlas y luego eliminarlas (Neniskyte & Gross, 2017).

Recientemente, se ha demostrado que los astrocitos envuelven activamente a las sinapsis en el núcleo geniculado lateral (NGL). Este modo de refinamiento del circuito depende de la actividad neuronal y requiere vías fagocíticas dependientes de Megf10 y MERTK. Peculiarmente, Megf10 es un ortólogo de Draper que, es esencial para la poda del cuerpo de hongo (en *Drosophila*) dependiente de astrocitos. Los astrocitos deficientes de estas proteínas, muestran una disminución de la actividad de engullimiento in vitro. La interrupción de estas vías fagocíticas conduce a una superabundancia de sinapsis funcionales. En adultos los astrocitos también engullen las sinapsis corticales, lo que sugiere que la eliminación de sinapsis podría ser un evento

generalizado. En general, estos estudios destacan la importancia de las células gliales para esculpir los circuitos neuronales durante el desarrollo. En el SNC de los mamíferos, los dos tipos de células que desempeñan papeles esenciales durante la remodelación de los axones y el refinamiento de las sinapsis son los astrocitos y la microglía. Curiosamente, los astrocitos participan en el refinamiento del axón tanto en vertebrados como en invertebrados, lo que sugiere otra conservación mecánica de la poda del proceso neuronal (Riccomagno y Kolodkin, 2015).

4.1.2. Capítulo II. Alteraciones Neurológicas asociadas al proceso de poda sináptica

4.1.2.1. Subcapítulo I. Alteración neurológica: Autismo

En los seres humanos, la poda axonal y sináptica se produce en dos etapas principales: La primera, durante los primeros dos años después del nacimiento, y la segunda durante la adolescencia. Esta segunda etapa, es un momento de refinamiento extenso del SNC, y precisamente coincide con la reactividad emocional. Es por tanto, un periodo de desarrollo en el que los síntomas de muchos trastornos neurológicos se manifiestan (Riccomagno y Kolodkin, 2015). El autismo es un trastorno del desarrollo neurológico infantil, que al igual que otros síndromes como el retraso mental, el autismo tiene muchas etiologías y debe de considerarse no como un solo trastorno, sino más bien como un 'conjunto' de trastornos comunes. El autismo afecta al 0.7% de los niños y se caracteriza por déficit en la comunicación social, ausencia o retraso en el lenguaje y comportamientos estereotipados y repetitivos. Más allá de esta definición unificadora, se encuentra un espectro de trastornos o condiciones, que van desde discapacidades graves hasta rasgos de la personalidad leves (Huttenlocher & Drabholkar, 1998).

El trastorno del espectro autista (TEA), se diagnostica generalmente en los 3 primeros años de vida, un periodo que coincide con la fase inicial de sinaptogénesis cortical en humanos. Los factores genéticos y ambientales han sido implicados en la fisiopatología del TEA, pero los substratos fisiológicos subyacentes siguen siendo poco claros. Más adelante se describirán los estudios postmortem que avalan las hipótesis planteadas por los investigadores acerca del TEA. Los niños con esta patología muestran un tamaño cerebral normal al nacer, pero aumentan significativamente el tamaño cerebral durante el primer año de vida, y este aumento en el volumen se asocia a una sobreabundancia de neuronas corticales y activación excesiva de la microglía cercana (Neniskyte & Gross, 2017).

Niños y adolescentes con autismo tienen gran cantidad de sinapsis en el cerebro, este exceso se debe a una desaceleración en el proceso normal de “poda” del cerebro durante el desarrollo, según un estudio realizado por neurocientíficos del Centro Médico de la Universidad de Columbia (CUMC) (Incontro et al., Asensio, C., Edwards, & Nicoll, 2002) Sinapsis excesivas pueden tener profundos efectos sobre el funcionamiento del cerebro. Durante el desarrollo normal del cerebro, en la infancia se produce una formación rápida de sinapsis particularmente en la corteza, una región implicada en los comportamientos autistas. La poda elimina alrededor de la mitad de estas sinapsis corticales durante la adolescencia tardía. Se sabe que las sinapsis se ven afectadas por muchos genes relacionados con el autismo, y algunos investigadores han planteado la hipótesis de que las personas con autismo pueden tener más sinapsis (Bowling & Klann, 2014).

Para evaluar esta hipótesis los profesores de CUMC examinaron cerebros de niños con autismo los cuales fallecieron por otras causas. 13 cerebros eran de niños de 9 años y 13 eran de niños de 13 años, estos se compararon con 22 cerebros de niños sanos. Los profesores midieron la densidad sináptica en porciones del cerebro, hallando una mayor concentración de sinapsis en los cerebros de los niños con autismo debido a la deficiencia del proceso de poda sináptica (Bowling & Klann, 2014).

La importancia de la glía para los déficits de poda propuestos en el TEA, se basa principalmente en datos transcriptómicos. El análisis de red de coexpresión génica del tejido cerebral postmortem identificó una regulación positiva de un módulo enriquecido para genes inmunes y marcadores gliales en la corteza, junto con una regulación a la baja de un módulo que contiene genes sinápticos, en comparación con individuos que se desarrollan normalmente. Curiosamente, los genes en el módulo inmuno-gliales mostraron un enriquecimiento considerablemente menor para las mutaciones relacionadas con TEA que los que se encuentran en el módulo sináptico. Este hallazgo puede ser interpretado como un indicio de que la regulación positiva del módulo inmuno-glial podría ser secundario a los cambios sinápticos generados genéticamente. Otra interpretación alternativa, podría ser, que los patógenos ambientales podrían actuar a través de genes inmuno-gliales para desencadenar el TEA en individuos genéticamente susceptibles. Los patógenos ambientales pueden reprogramar la expresión génica a través de mecanismos epigenéticos, y un estudio en individuos con TEA, reveló una disminución de la metilación del ADN en partes del genoma asociada con la función inmune, incluso en genes implicados en la poda sináptica por microglía (Ver figura 1) (Neniskyte & Gross, 2017).

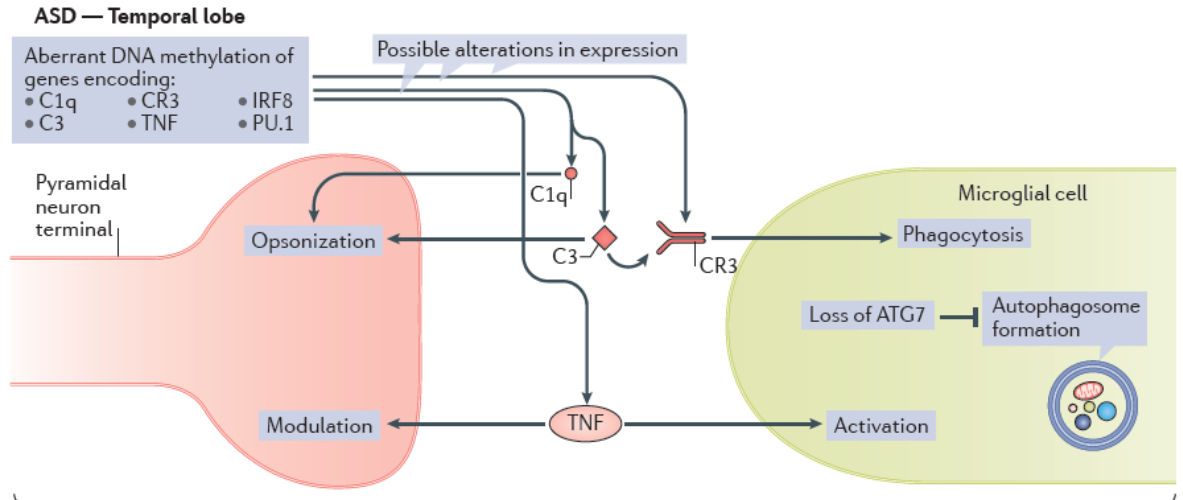


Figura 3 Alteraciones en procesos asociados a TEA. El trastorno del espectro autista se asocia con una disminución de la metilación del ADN y una expresión excesiva de varios genes implicados en la poda sináptica dependiente de células gliales, incluidos los que codifican las opsoninas complementarias C1q y C3, factor de necrosis tumoral (FNT) y los factores de transcripción para la activación microglial, factor regulador de interferón 8 (IRF8) y PU.1. Los ratones que carecen de ATG7 (requerida para la formación de autofagosomas) específicamente en microglia presentan algunas características similares al TEA, que incluyen el reconocimiento social y los déficits de la interacción social. En general, las personas que padecen del TEA exhiben menos poda en regiones tales como, el lóbulo temporal en comparación con las personas con un desarrollo típico. Tomado de (Neniskyte & Gross, 2017).

Actualmente, se conoce que el desarrollo posnatal sináptico en la corteza cerebral de mamíferos es un proceso dinámico que involucra la formación concurrente de sinapsis y la eliminación/poda de las mismas. La formación de sinapsis excede al proceso de poda en edades tempranas, produciendo sinapsis excitatorias excesivas que son esenciales para el ensamblaje de circuitos neuronales. Mientras que los casos de TEA muestran una sorprendente heterogeneidad genética y clínica, son muchos los casos de este tipo de desorden neurológico que son causados por mutaciones en genes que codifican cierto tipo de receptores presentes en los mamíferos, Los receptores de mamíferos blanco de rapamicina (mTOR). Estos receptores integran la señalización de varias proteínas reguladoras en el proceso de poda sináptica. Dichas proteínas son SHANK3, FMRP y mGluR1/5 (Tang et al., 2014).

Usando biomodelos (ratones), los investigadores hallaron que los problemas de la poda sináptica estaban asociados a un defecto en la proteína mTOR (*mammals target of rapamycin*). Cuando mTOR estaba sobreactivada,

encontraron que las células del cerebro perdían la habilidad de autofagia. Sin esta habilidad los cerebros de los ratones eran 'podados' deficientemente y por lo tanto contenían un exceso de sinapsis. Actualmente las investigaciones están enfocadas a la restauración de dicha autofagia mediante la administración de un fármaco denominado Rapamicina, el cual inhibe a mTOR. Estos receptores pueden ser una explicación para los desórdenes neurológicos asociados al proceso de la poda sináptica pero también se adelantan otras investigaciones donde están implicadas otras proteínas y genes asociados a dichos desórdenes (Tang et al., 2014).

La autofagia ha sido implicada en la remodelación sináptica de invertebrados como *Drosophila*, pero aún el papel en el desarrollo sináptico de mamíferos no ha sido explorado. Se plantea la hipótesis, de que la autofagia remodela la maduración de sinapsis y que la deficiencia producida por una sobreactivación de mTOR contribuye a la patología del TEA. Estudios realizados han arrojado una mayor densidad en la columna vertebral de dendritas basales de las neuronas piramidales de la capa V en pacientes con TEA que en los controles, esto se asoció con un defecto en la poda sináptica neta en la columna vertebral producto de una sobreactivación de mTOR y una mala autofagia (Tang et al., 2014).

Por último, a pesar de que el TEA presenta un elevado porcentaje de heredabilidad, también muestra síntomas clínicos heterogéneos, lo que ha dificultado la identificación de factores de susceptibilidad genética comunes. A pesar de los muchos estudios genéticos realizados, aún no se ha podido establecer variantes genéticas constantes comunes que aumentan el riesgo de padecer el TEA o alguno de los otros trastornos claramente genéticos como lo son la esclerosis tuberosa o las rasopatías. Sin embargo, se ha hallado que la mutación de FMRP, es la causa genética conocida de mayor Como el autismo no puede verse como una enfermedad única, sino más bien como una manifestación conductual de decenas o quizás cientos de trastornos genéticos genómicos, se ha estimado que hay más de 500 loci genéticos distintos que pueden estar relacionados con el TEA (Ver imagen 4) (Ragini et al., 2011).

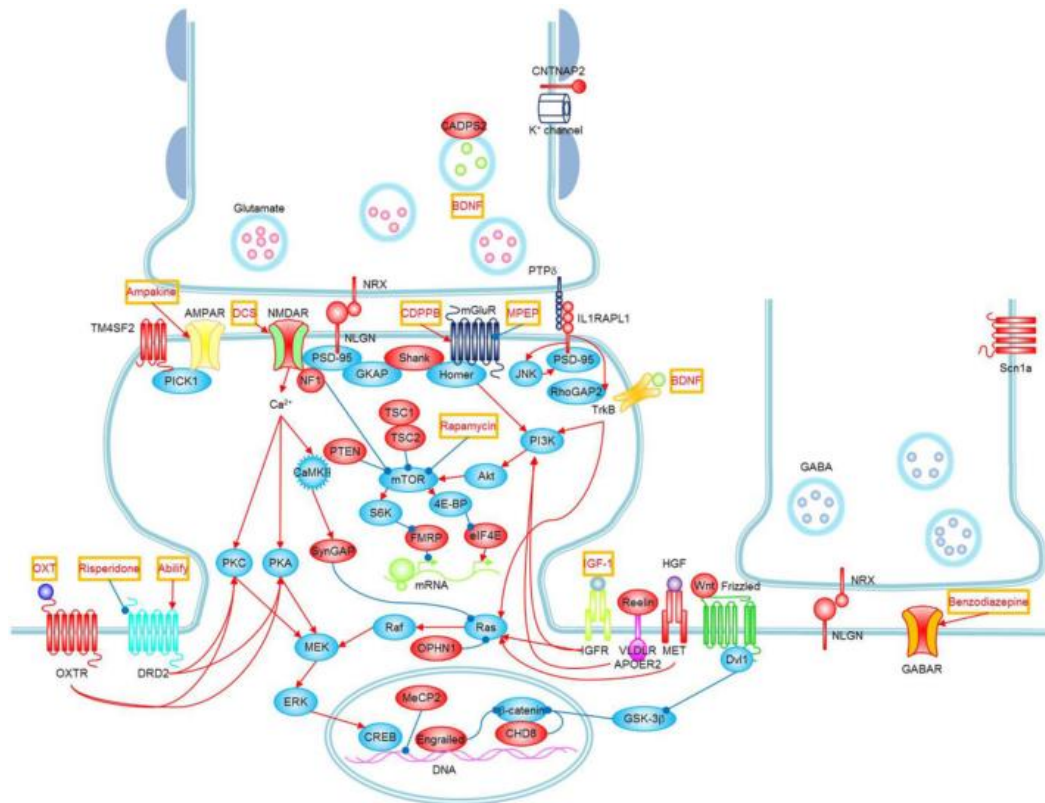


Figura 4 **Vías de señalización y posibles tratamientos asociados con trastornos del espectro autista (DEA).** Las moléculas cuyas mutaciones o polimorfismos están asociados con DEA, están indicados en rojo. Las estimulaciones e inhibiciones se señalan con flechas rojas y azules respectivamente. Los posibles tratamientos y sus moléculas diana se indican mediante textos rojos en recuadros anaranjados. Tomado de (Ragini et al., 2011)

4.1.2.2. Subcapítulo II. Alteración neurológica: Síndrome del frágil X

El síndrome del Frágil X (FraX) es un trastorno heredable del espectro intelectual y autista, es una afección neurológica de amplio espectro con síntomas que van desde la hiperexcitabilidad hasta el retraso mental. La pérdida del producto del gen frágil X de retraso mental 1 (FMR1), el regulador de la traducción de unión a ARNm FMRP, causa una sobreestructura de los procesos dendríticos y axónicos, así como alteraciones funcionales en la plasticidad sináptica que tienen una gran implicancia en la madurez neuronal (Davis & Broadie, 2017). Sin embargo, no está claro si FraX es principalmente una enfermedad del desarrollo, una enfermedad de la plasticidad o ambas. Para abordar este problema, se han realizado diversos estudios utilizando a *Drosophila* como biomodelo para investigar los roles de desarrollo de la proteína dFMRP. La expresión y regulación de dFMRP coincide con una ventana transitoria de desarrollo cerebral tardío. Durante este periodo, dFMRP está regulado positivamente por la actividad de entrada sensorial, y se

requiere para limitar el crecimiento del axón y para la poda dependiente de la actividad eficiente de las ramas de los axones en el centro de aprendizaje/memoria del cuerpo de hongo (CH). Todos estos estudios y análisis, fueron encaminados a demostrar que la dFMRP tiene un papel fundamental en el refinamiento del circuito neural dependiente de la actividad en el desarrollo cerebral tardío (Tessier & Broadie, 2014).

La actividad neuronal a partir de la experiencia sensorial y la señalización metabotrópica del receptor de glutamato aumentan la expresión y función de FMRP. Esta proteína puede reprimir la traducción por asociación con polirribosomas transportados a sitios de traducción sináptica local en respuesta a la neurotransmisión. Las neuronas afectadas por esta patología exhiben una sobre-ramificación axonal. FMRP es necesaria para la plasticidad en sinapsis maduras y se ha llegado a la conclusión de que tiene dos roles distintos a lo largo de la vida: durante el desarrollo para regular la estructuración de los circuitos neuronales y durante la madurez para mantener la plasticidad neuronal (Bongmba, Martinez, Elhardt, Butler, & Tejada-Simon, 2011).

FMRP se expresa en el hipocampo, así como se mencionó anteriormente que en las células de Purkinje se expresaba en el cerebelo. Gran cantidad de datos sugieren que está implicada en la morfogénesis de las dendritas, regulando la síntesis de proteínas de ARNm específicos en respuesta a la estimulación sináptica. La falla en la regulación de la síntesis proteica puede afectar profundamente la morfología de la sinapsis, como se observa en el neocórtex de pacientes con FraX, donde se presenta un aumento la densidad de las espinas dendríticas anormalmente largas, sugiriendo la hipótesis de que probablemente provocó un fallo del proceso de poda sináptica (Bongmba et al., 2011).

Rac1, una proteína de la subfamilia Rho GTPasa, la cual es mejor conocida por su papel en la regulación de la polimerización de actina. Sin embargo, ha sido implicada en el desarrollo neuronal y de la columna vertebral, así como en la formación de sinapsis con parejas apropiadas. Estas anomalías han sido relacionadas en varios trastornos neurológicos como el FraX, donde las neuronas muestran una alta densidad de espinas dendríticas largas, delgadas e inmaduras. Aunque estas afecciones se han correlacionado con las capacidades cognitivas deterioradas en el retraso mental, las causas de estas malformaciones aún no se conocen con exactitud. El FraX, es el tipo más común de retraso mental hereditario causado por la ausencia de la proteína FMRP (Bongmba et al., 2011).

Así, se sugiere entonces que esta proteína podría actuar como un regulador negativo en la síntesis de Rac1. Mantener los niveles de esta GTPasa y facilitar la reorganización del citoesqueleto probablemente conduzca a una morfología neuronal normal durante la plasticidad dependiente de la actividad. Estudios realizados concluyen que la falta de FMRP induce a una sobreactivación de Rac1

en el cerebro y otros órganos de los biomodelos (ratones) que se están alterados en el FraX. En estos animales, la manipulación farmacológica de Rac1 puede proporcionar un vínculo funcional entre la morfología neuronal deficiente, la plasticidad sináptica aberrante y el deterioro cognitivo en el FraX (Bongmba et al., 2011).

La FMRP regula negativamente la traducción de proteínas en el cerebro maduro, pero aún se conoce muy poco acerca de cómo influye en el desarrollo. Las investigaciones realizadas sobre el desarrollo cerebral en *Drosophila* se han centrado en las primeras 48 horas durante la metamorfosis pupal, pero se desconoce lo que sucede en la otra mitad del desarrollo cerebral (Khandjian et al., 2004). El CH es un centro primario de aprendizaje/memoria en el cerebro de *Drosophila*, y por lo tanto, es el foco de los estudios conductuales, estructurales y funcionales. La poda de pequeñas ramas axónicas en las neuronas del CH se produce de forma concomitante con el inicio de su uso, y al mismo tiempo se produce un período de refinamiento para eliminar las conexiones sinápticas débiles o formadas incorrectamente (Margulies, Tully, & Dubnau, 2011).

Esta hipótesis fue comprobada mediante la privación sensorial para bloquear la estimulación externa que debería requerirse para las pruebas dependientes del uso de la conectividad sináptica. Mediante este estudio se llegó a la conclusión de que la expresión de FMRP es elevada en respuesta a la estimulación sensorial y neuronal, es decir que, la actividad de entrada sensorial regula positivamente los niveles de proteína dFMRP (Tessier & Broadie, 2014). Estos estudios arrojan por primera vez, que las neuronas de *Drosophila* experimentan una poda dependiente de la actividad que coincide con el inicio del uso. Además de este estudio, se realizó una evaluación de los mRNA asociados a FMRP haciendo el uso de microarreglos para ver cómo influye la ausencia de esta proteína en el correcto desarrollo del cerebro de *Drosophila* (Brown et al., 2001).

Esta poda está principalmente restringida al proceso final del axón terminal. En ausencia de dFMRP, la poda no ocurre durante la ventana de desarrollo normal. De hecho, el bloqueo de la actividad de entrada sensorial conduce a aumentos adicionales en el número y longitud de la rama del axón en las neuronas nulas dFMR1. Además se concluyó que en la madurez, la estimulación sensorial después de la privación sensorial no induce la poda, probablemente porque el nivel de dFMRP ha descendido demasiado (Tessier & Broadie, 2014).

Se presume entonces, que existe un umbral de dFMRP requerido para una poda eficiente dependiente de la actividad durante el período de uso temprano, que normalmente se define por la ventana de expresión de dFMRP alta. Es importante destacar, que con estos estudios se confirmó que la activación neuronal impulsa bidireccionalmente el proceso de poda mediante la expresión dirigida del canal de

rhodopsina-2 exógeno (CHR2) de puerta cerrada. La activación impulsada por la luz de los canales CHR2 induce la poda de los mismos procesos axónicos pequeños que persisten de manera anormal en el cerebro de *Drosophila* (Tessier & Broadie, 2014).

5. CONCLUSIONES

A lo largo de todo el documento se buscó explicar cómo, la incidencia del mecanismo fisiológico de poda sináptica influye en el correcto desarrollo del cerebro de los seres vivos. Son muchos los procesos moleculares que engloba este mecanismo, sin embargo, en este documento se mencionaron los procesos subyacentes más importantes y más actualizados relacionados con este proceso. Así bien, está claro que la poda sináptica es uno de los procesos, sino el más importante, que tienen los seres vivos para realizar un correcto refinamiento de su cableado neuronal que les permitirá realizar todas las actividades necesarias para su adecuado desarrollo a lo largo de sus vidas.

Es probable que con los avances científicos y los estudios posteriores a este documento llegarán a establecer una base molecular clara y precisa acerca del funcionamiento de este proceso, ya que actualmente se conoce muy poco y de manera incompleta. En un comienzo cuando se estaban planteando los objetivos de este escrito, se pensó en incluir un capítulo en el que se hablara acerca de cómo los descubrimientos moleculares han impactado la terapéutica de estos trastornos (Autismo y Síndrome del frágil X), sin embargo, con el progreso de nuestra investigación llegamos a la conclusión de que el conocimiento sobre los mecanismos moleculares básicos de la poda sináptica no han impactado la terapéutica en estas enfermedades.

6. RECOMENDACIONES

Por lo descrito anteriormente, se debe hacer hincapié en lo importante de realizar investigaciones básicas sobre las causas moleculares del proceso de poda sináptica relacionado con estas enfermedades, con el objetivo de contribuir a largo plazo con la terapéutica actual, debido a que actualmente hay muchas terapias encaminadas a una mejora de la calidad de vida para las personas que padecen estos trastornos, pero basadas en muchos estudios someros o poco concluyentes, y esto al final no impacta la terapéutica como tal, sino que más bien contribuye a la falta de interés investigativo debido a que se cree que las terapias actuales son las más adecuadas cuando sólo resultan ser un cuidado paliativo.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bagri, A., Cheng, H. J., Yaron, A., Pleasure, S. J., & Tessier-Lavigne, M. (2003). Stereotyped pruning of long hippocampal axon branches triggered by retraction inducers of the semaphorin family. *Cell*, 113(3), 285–299. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00267-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00267-8)

Bashaw, G. J., & Klein, R. (2010). Signaling from axon guidance receptors. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), 1–16. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001941>

Bongmba, O. Y. N., Martinez, L. A., Elhardt, M. E., Butler, K., & Tejada-Simon, M. V. (2011). Modulation of dendritic spines and synaptic function by Rac1: A possible link to Fragile X syndrome pathology. *Brain Research*, 1399, 79–95. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.05.020>

Bayona Rodríguez, F. (2012). Desarrollo embrionario del sistema nervioso central y órganos de los sentidos : revisión Embryonic Central Nervous System and Sense Organ Development : Review. *Universitas Odontológica*, 31(66), 125–132.

Bravin, M., Morando, L., Vercelli, A., Rossi, F., & Strata, P. (1999). Control of spine formation by electrical activity in the adult rat cerebellum. *Neurobiology*, 96(February), 1704–1709. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.4.1704>

Brown, V., Jin, P., Ceman, S., Darnell, J. C., O'Donnell, W. T., Tenenbaum, S. A., ... Warren, S. T. (2001). Microarray identification of FMRP-associated brain mRNAs and altered mRNA translational profiles in fragile X syndrome. *Cell*, 107(4), 477–487. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00568-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00568-2)

Chaudhury, S., Sharma, V., Kumar, V., Nag, T. C., & Wadhwa, S. (2016). Activity-dependent synaptic plasticity modulates the critical phase of brain development. *Brain and Development*, 38(4), 355–363. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2015.10.008>

Cressman, V. L., Balaban, J., Steinfeld, S., Shemyakin, A., Parisot, N., & Moore, H. (2012). Pruning During Late Adolescence in the Rat, 518(14), 2693–2709. <https://doi.org/10.1002/cne.22359>. Prefrontal

- Davis, J. K., & Broadie, K. (2017). Multifarious Functions of the Fragile X Mental Retardation Protein. *Trends in Genetics*, 33(10), 703–714. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.07.008>
- Deborah, R., & Simkin, B. D. R. (2006). Developmental Neurobiology of Bipolar Disorder and Substance Use Disorder, 1–5.
- Denault, J. B., & Salvesen, G. S. (2002). Caspases: Keys in the ignition of cell death. *Chemical Reviews*, 102(12), 4489–4499. <https://doi.org/10.1021/cr010183n>
- Fauth, M., & Tetzlaff, C. (2016). Opposing Effects of Neuronal Activity on Structural Plasticity. *Frontiers in Neuroanatomy*, 10(June), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fnana.2016.00075>
- Gelaye, B., Rondon, M., Araya, P. R., & A, P. M. (2016). HHS Public Access, 3(10), 973–982. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)30284-X.Epidemiology](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30284-X.Epidemiology)
- Gómez, N. & Carrizosa J. (2008). Síndrome del frágil X. Revista de pediatría. Disponible en: <https://encolombia.com/medicina/revistas-medicas/pediatria/vp-373/pedi37302-sindromex2/>
- GRAHAM, J. (2001). Children and Brain Development: What We Know About How Children Learn. The University of Maine. (4356), 1-4.
- Harrington, A. W., & Ginty, D. D. (2013). Long-distance retrograde neurotrophic factor signalling in neurons. *Nature Reviews Neuroscience*, 14(3), 177-187. DOI: 10.1038/nrn3253
- Hashimoto, K., Ichikawa, R., Kitamura, K., Watanabe, M., & Kano, M. (2009). Translocation of a “winner” climbing fiber to the Purkinje cell dendrite and subsequent elimination of “losers” from the soma in developing cerebellum. *Neuron*, 63(1), 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.06.008>
- Hoelt, F., Carter, J. C., Lightbody, A. A., Cody Hazlett, H., Piven, J., & Reiss, A. L. (2010). Region-specific alterations in brain development in one- to three-year-old boys with fragile X syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(20), 9335–9339.

<http://doi.org/10.1073/pnas.1002762107>

Hoopfer, E. D., McLaughlin, T., Watts, R. J., Schuldiner, O., O'Leary, D. D. M., & Luo, L. (2006). Wlds Protection Distinguishes Axon Degeneration following Injury from Naturally Occurring Developmental Pruning. *Neuron*, 50(6), 883–895. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.05.013>

HUTTENLOCHER, P., & DRABHOLKAR, A. (1998). Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex. *Journal of Comparative Neurology*. 387(2), 1-3.

Jensen, E. 2004. Cerebro y Aprendizaje. Competencias e implicaciones educativas. [Traducido al Español de Teaching with the brain in mind]. Madrid, España: Narcea.

Khandjian, E. W., Huot, M.-E., Tremblay, S., Davidovic, L., Mazroui, R., & Bardoni, B. (2004). Biochemical evidence for the association of fragile X mental retardation protein with brain polyribosomal ribonucleoparticles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(36), 13357–13362. <https://doi.org/10.1073/pnas.0405398101>

Lin, Y.-C., & Koleske, A. J. (2011). Mechanisms of synapses and dendrite maintenance and their disruption in psychiatric and neurodegenerative disorders. *Annual Review of Neuroscience*, 349–378. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-060909-153204.Mechanisms>

Margulies, C., Tully, T., & Dubnau, J. (2011). NIH Public Access, 15(17), 1–25. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.08.024.Deconstructing>

McLaughlin, T., Torborg, C. L., Feller, M. B., & O'Leary, D. D. M. (2003). Retinotopic map refinement requires spontaneous retinal waves during a brief critical period of development. *Neuron*, 40(6), 1147–1160. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00790-6](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00790-6)

Nayak, D., Roth, T. L., & McGavern, D. B. (2014). HHS Public Access, (2), 367–402. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032713-120240.Microglia>

Neniskyte, U., & Gross, C. T. (2017). Errant gardeners: glial-cell-dependent synaptic pruning and neurodevelopmental disorders. *Nature Reviews Neuroscience*. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.110>

Riccomagno, M. M., & Kolodkin, A. L. (2015). Sculpting Neural Circuits by Axon and Dendrite Pruning. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 31(1), 779–805. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-013038>

Tang, G., Gudsnuk, K., Kuo, S. H., Cotrina, M. L., Rosoklija, G., Sosunov, A., ... Sulzer, D. (2014). Loss of mTOR-Dependent Macroautophagy Causes Autistic-like Synaptic Pruning Deficits. *Neuron*, 83(5), 1131–1143. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.07.040>

Tessier, C. R., & Broadie, K. (2014). Drosophila Fragile X Mental Retardation Protein Developmentally Regulates Activity-Dependent Axon Pruning. *NIH Public Access*, 135(8), 1547–1557. <https://doi.org/10.1242/dev.015867>

Torres Torrelo, T. (2015). Trastorno del espectro autista: bases biológicas, valoración, intervención y diseño de materiales en la Educación Primaria. Retrieved from <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/32993>

Uesaka, N., Uchigashima, M., Mikuni, T., Nakazawa, T., Nakao, H., Hirai, H., ... Kano, M. (2014). Retrograde semaphorin signaling regulates synapse elimination in the developing mouse brain. *Science*, 344(6187), 1020–1023. <https://doi.org/10.1126/science.1252514>

Valentino, K. L., & Jones, E. G. (1982). The early formation of the corpus callosum: a light and electron microscopic study in foetal and neonatal rats. *Journal of Neurocytology*, 11(4), 583–609. <https://doi.org/10.1007/BF01262426>

Wong, J. J. L., Li, S., Lim, E. K. H., Wang, Y., Wang, C., Zhang, H., ... Yu, F. (2013). A Cullin1-Based SCF E3 Ubiquitin Ligase Targets the InR/PI3K/TOR Pathway to Regulate Neuronal Pruning. *PLoS Biology*, 11(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001657>

Yenkoyan, K., Grigoryan, A., Fereshetyan, K., & Yepremyan, D. (2017). Advances in understanding the pathophysiology of autism spectrum disorders. *Behavioural Brain Research*, 331(May), 92–101.

<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.04.038>