



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΥ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ X: ΝΕΟΤΕΡΑ
ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ»

ΕΥΣΤΑΘΙΟΥ ΔΑΝΑΗ

ΙΑΤΡΟΣ, ΕΙΔΙΚΕΥΟΜΕΝΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ Γ.Ν.Θ.ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΟΥ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΙΩΑΝΝΑ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,
επιβλέπουσα

ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ,
σύμβουλος/συνεπιβλέπουσα

ΤΖΕΤΗ ΜΑΡΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΕΚΠΑ, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2023



**UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”**

**MASTER’S THESIS
«FRAGILE X SYNDROME: NEW THERAPEUTIC STRATEGIES»**

EFSTATHIOU DANAI

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	1
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ABSTRACT.....	5
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
1.1. Συχνότητα-Επιπολασμός-Επιδημιολογία του Συνδρόμου Εύθραυστου X	6
1.2. Τρόπος Κληρονόμησης του Συνδρόμου Εύθραυστου X	6
1.3. Κλινικές εκδηλώσεις του Συνδρόμου Εύθραυστου X	7
1.4. Μοριακή αιτιολογία- FMR1 γονίδιο	9
1.5. Πρωτεΐνη FMRP	11
1.5.1. Απώλεια λειτουργίας της πρωτεΐνης FMRP στο FXS- Ζωικό μοντέλο	11
1.5.2. Κυτταρική λειτουργία και σηματοδότηση	14
1.5.2.1. Το γλουταμινικό και η υπόθεση του μεταβοτροπικού υποδοχέα γλουταμικού του FXS	15
1.5.2.2. Σηματοδότηση επαγόμενη από το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) στο FXS	16
2. ΝΕΟΤΕΡΑ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΥ X	19
2.1. Μεταβοτροπικοί ανταγωνιστές του υποδοχέα 5 του γλουταμικού	19
2.1.1. Basimglurant/ RO4917523	19
2.1.2. Mavoglurant/AFQ056	20
2.2. Τροποποιητές του γ-αμινοβουτυρικού οξέος	21
2.2.1. Gaboxadol/ OV101	21
2.2.2. Ganaxoxone	22
2.2.3. Arbaclofen/ STX209	22
2.2.4. Acamprosate	23
2.3. Αναστολέας φωσφοδιεστεράσης-4D (PDE4D) BPN14770	24
2.4. Κανναβιδιόλη (CBD)	25
2.4.1 ZYN002	26
2.5. Μινοκυκλίνη	27
2.6. Λοβαστατίνη	28

2.7.	Μετφορμίνη	29
2.8.	Τροφινετίδη / NNZ-2566	31
2.9.	Μπλαρκαμεσίνη / Anavex 2-73	32
2.10.	Τα πεπτίδια στη θεραπεία του συνδρόμου εύθραυστου Χ	33
2.11.	Τα μη κωδικοποιητικά RNA (ncRNAs) στη θεραπεία του συνδρόμου του Εύθραυστου Χ.....	34
2.12.	Η γονιδιακή θεραπεία στο σύνδρομο εύθραυστου Χ	35
3.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	36
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	37

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με την ευκαιρία παρουσίασης της διπλωματικής μου εργασίας, η οποία εκπονήθηκε στο πλαίσιο της φοίτησής μου στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Γενετική του ανθρώπου-Γενετική Συμβουλευτική», του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, επιθυμώ να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους που συνέβαλαν άμεσα ή έμμεσα στην ολοκλήρωσή της και κατά συνέπεια στην ολοκλήρωση των μεταπτυχιακών σπουδών μου. Αρχικά, ευχαριστώ θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κ. Παπαθανασίου Ιωάννα για τη διακριτική και πολύτιμη καθοδήγησή της όσον αφορά την περάτωση της συγκεκριμένης εργασίας, την εμπιστοσύνη και την εκτίμηση που μου έδειξε, η οποία με τις καίριες επισημάνσεις της με βοήθησε ουσιαστικά στη συγγραφή της παρούσας διπλωματικής εργασίας. Επίσης, ευχαριστώ θερμά την καθηγήτρια, κ.Τζέζου Ασπασία και την καθηγήτρια, κ.Τζέτη Μαρία για τις εποικοδομητικές τους υποδείξεις και την πολύτιμη συμβολή τους στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας, ως μέλη της τριμελούς επιτροπής. Ακόμη, δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του Μεταπτυχιακού Προγράμματος, οι οποίοι με βοήθησαν να διευρύνω τις γνώσεις μου στα θεματικά πεδία που διδάσκουν με κατάρτιση και συνέπεια. Τέλος, νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω τους γονείς μου Γεώργιο και Παρασκευή, καθώς και την αδερφή μου Ευανθία, για την αγάπη, την κατανόηση, την ηθική συμπαράσταση και υποστήριξή τους, χωρίς τις οποίες δεν θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το Σύνδρομο Εύθραυστου X (FXS) είναι η συχνότερη αιτία μονογονιδιακής κληρονομικής νοητικής υστέρησης και η σημαντικότερη γνωστή αιτία αυτισμού παγκοσμίως, που οφείλεται σε αύξηση των επαναλήψεων κυτοσίνης γουανίνης γουανίνης (>200 CGG) στην 5' αμετάφραστη περιοχή του γονιδίου *Fragile X Mental Retardation 1 (FMR1)*, η οποία έχει ως αποτέλεσμα τη μεταγραφική σίγασή του και επακόλουθη μείωση ή απουσία της πρωτεΐνης FMRP που παράγεται από αυτό. Εκτός από τη νοητική υστέρηση και τον αυτισμό, τα κλινικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου περιλαμβάνουν προβλήματα συμπεριφοράς (υπερκινητικότητα, επιθετικότητα, αγχώδης διαταραχή), γλωσσικά ελλείμματα και άτυπα σωματικά χαρακτηριστικά. Η πρόοδος στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας του FXS έχει εντοπίσει μια σειρά από μονοπάτια που είναι απορρυθμισμένα επί απουσίας της FMRP και επομένως είναι μονοπάτια που μπορούν να στοχευθούν με νέα φάρμακα. Δεν υπάρχουν ακόμη εγκεκριμένες θεραπείες για το FXS και η κλινική αντιμετώπιση επικεντρώνεται στη συμπτωματική θεραπεία των συμπεριφορικών προβλημάτων. Εδώ συζητάμε διάφορες θεραπείες που στοχεύουν στα σηματοδοτικά μονοπάτια που επηρεάζονται στο FXS, τα νεότερα δεδομένα της χρήσης πεπτιδίων και των μη κωδικών RNA στην αντιμετώπιση του συνδρόμου εύθραυστου X καθώς και τη γονιδιακή θεραπεία ως την πιο πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για τη θεραπεία του FXS. Με την πρόοδο της επιστήμης το μέλλον φαίνεται λαμπρό για νέες θεραπείες.

Λέξεις- Κλειδιά:

Σύνδρομο εύθραυστου X, FXS, *FMR1* γονίδιο, FMRP, διαταραχή αυτιστικού φάσματος, θεραπεία, θεραπευτική, κλινική διαχείριση, νοητική αναπηρία

ABSTRACT

Fragile X Syndrome (FXS) is the most common cause of monogenic inherited mental retardation and the most important known cause of autism worldwide. An increase in cytosine guanine guanine repeats (>200 CGG) in the 5' untranslated region of the *Fragile X Mental Retardation 1 gene (FMR1)* results in its transcriptional silencing and subsequent reduction or absence of the FMRP protein. In addition to mental retardation and autism, clinical features of the syndrome include behavioral problems (hyperactivity, aggression, anxiety disorder), language deficits, and atypical physical characteristics. Advances in understanding the pathophysiology of FXS have identified a number of pathways that are dysregulated in the absence of FMRP and therefore they are pathways that can be targeted by new drugs. There are still no approved treatments for FXS and clinical management focuses on the symptomatic treatment of behavioral problems. Here we discuss various therapies targeting the signaling pathways affected in FXS, new data on the use of peptides and noncoding RNA in the treatment of fragile X syndrome, and gene therapy as the most promising approach to treating FXS. With the advancement of science, the future looks bright for new treatments.

Key words: fragile X syndrome, FXS, *FMR1 gene*, FMRP, autism spectrum disorder, treatment, therapeutics, clinical management, Intellectual Disability

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Συχνότητα-Επιπολασμός-Επιδημιολογία του Συνδρόμου Εύθραυστου X

Η ονομασία του Συνδρόμου Εύθραυστου X ή αλλιώς Σύνδρομο Martin-Bell (1) προήλθε όταν μετά από τη μικροσκόπηση υψηλής ανάλυσης διαπιστώθηκε μία εύθραυστη θέση (FRAXA) στο άπω τμήμα του μακρού σκέλους του X χρωμοσώματος στη θέση Xq27.3 (1). Είναι η συχνότερη αιτία μονογονιδιακής κληρονομικής νοητικής υστέρησης κυρίως σε άρρενα άτομα και η δεύτερη αιτία νοητικής υστέρησης μετά το σύνδρομο Down, ενώ αποτελεί τη σημαντικότερη γνωστή αιτία αυτισμού παγκοσμίως (2)(3).

Εμφανίζεται σε περίπου 1 στους 4000 άνδρες και σε 1 στις 8000 γυναίκες (φορείς μεταλλάξεων). Η ακριβής συχνότητα, ωστόσο, είναι άγνωστη. Η συχνότητα εμφάνισης θηλυκών φορέων προ-μεταλλάξεων εκτιμάται ότι είναι 1/130-250, ενώ η συχνότητα εμφάνισης ανδρών φορέων προμεταλλάξεων είναι περίπου 1/250-800. Το προσδόκιμο ζωής είναι χαμηλότερο από τον γενικό πληθυσμό (4).

1.2 Τρόπος Κληρονόμησης του Συνδρόμου Εύθραυστου X

Το Σύνδρομο Εύθραυστου X είναι συνδεδεμένο με το χρωμόσωμα X και κληρονομείται με το φυλοσύνδετο επικρατή χαρακτήρα με μεταβλητή εκφραστικότητα και ατελή διεισδυτικότητα (2). Ωστόσο, λόγω της αδρανοποίησης του χρωμοσώματος X στα θηλυκά άτομα και της γενετικής επίσπευσης, η κληρονομικότητα του συνδρόμου δεν ακολουθεί την τυπική κυρίαρχη φυλοσύνδετη κληρονομικότητα (Παράδοξο του Sherman). Σύμφωνα με αυτό, παρουσιάζεται αυξημένη διεισδυτικότητα καθώς το μεταλλαγμένο γονίδιο μεταβιβάζεται στις επόμενες γενιές. Έτσι, ο κίνδυνος μεταβίβασης αλλά και επέκτασης της μετάλλαξης και εκδήλωσης των συμπτωμάτων του FXS εξαρτάται σημαντικά από τη θέση του ατόμου στο γενεαλογικό δέντρο και αυξάνεται στις επόμενες γενιές (4). Τα θήλεα άτομα με πλήρεις μεταλλάξεις του γονιδίου *FMR1* έχουν πιο ήπιο φαινότυπο από τα άρρενα ως αποτέλεσμα της μεταβλητότητας στην αδρανοποίηση του X χρωμοσώματος (3).

1.3 Κλινικές εκδηλώσεις του Συνδρόμου Εύθραυστου X

Γενικά, το σύνδρομο εύθραυστου X εκδηλώνεται με μία ποικιλία νευροσυμπεριφορικών καταστάσεων. Αυτές οι εκδηλώσεις μπορούν να χωριστούν περαιτέρω σε σωματικές, ψυχολογικές και αναπτυξιολογικές (5). Όσον αφορά τις σωματικές εκδηλώσεις, πάνω από το 80% των ατόμων με FXS έχουν τυπικά φυσικά χαρακτηριστικά (6), όπως μακρύ και στενό πρόσωπο, αφεστώτα ώτα, θολωτή υπερώα (6) και προέχουσα κάτω γνάθο, ωστόσο το πρόσωπο συνήθως δεν είναι δυσμορφικό (7). Επίσης, συχνά εμφανίζουν χαλαρό συνδετικό ιστό, επειδή τα ινίδια ελαστίνης είναι λιγότερο αναπτυγμένα επί απουσίας της FMRP (8). Στην παιδική ηλικία, οι μετακαρποφαλαγγικές αρθρώσεις των δακτύλων εμφανίζουν υπερέκταση και οι αντίχειρες είναι συνήθως υπερευλίστοι. Τα κάτω άκρα εμφανίζουν συνήθως πλατυποδία στα περισσότερα άτομα, ενώ στα άρρενα άτομα κατά τη διάρκεια ή μετά την εφηβεία, παρατηρείται μακροορχιδισμός (5). Προβλήματα συνδετικού ιστού όπως η ανεπάρκεια μιτροειδούς βαλβίδας, το ανεύρισμα στην αορτική ρίζα, οι κήλες και τα εξαρθήματα αρθρώσεων είναι πιο συχνά στο FXS παρά στο γενικό πληθυσμό (7). Επιπρόσθετα, ο στραβισμός και τα επαναλαμβανόμενα επεισόδια οξείας μέσης ωτίτιδας αποτελούν κοινά προβλήματα που εμφανίζονται κατά την παιδική ηλικία (5,7). Τα φυσικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου συνήθως δεν είναι εμφανή κατά τη γέννηση, καθώς τα νεογνά με FXS συχνά δεν έχουν κλινικά σημεία εκτός από υποτονία, η οποία είναι συχνή (9).

Ωστόσο, σημαντικότερες είναι οι ψυχολογικές και αναπτυξιολογικές εκδηλώσεις του συνδρόμου, οι οποίες τόσο στα άρρενα όσο και στα θήλεα άτομα εμφανίζονται συνήθως κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας. Όσον αφορά την αναπτυξιολογικές εκδηλώσεις, η νοητική υστέρηση, η καθυστέρηση του λόγου και της ομιλίας και οι μειωμένες κινητικές δεξιότητες, αποτελούν τα κυριότερα προβλήματα μάθησης και κοινωνικής προσαρμογής. Η κλινική εκδήλωση του συνδρόμου ποικίλει ανάλογα με το φύλο. Τα άρρενα άτομα επηρεάζονται γενικά περισσότερο, ενώ τα θήλεα τείνουν να παρουσιάζουν λιγότερο σοβαρό φαινότυπο λόγω της αντισταθμιστικής ενεργοποίησης του μη επηρεασμένου χρωμοσώματος X (10). Περίπου το 15% των ανδρών με FXS έχουν IQ πάνω από 70 ενώ ο μέσος δείκτης νοημοσύνης των ανδρών με FXS στην ενήλικη ζωή είναι 40. Ωστόσο, οι γυναίκες επηρεάζονται λιγότερο διανοητικά και περίπου το 30% έχει IQ στο φυσιολογικό εύρος και το 70% έχει δείκτη νοημοσύνης που βρίσκεται στο κατώτερο φυσιολογικό εύρος ή στο εύρος ήπιας διαταραχής (11,12).

Η αγχώδης διαταραχή και η διαταραχή ελλειμματικής προσοχής και υπερκινητικότητας (ΔΕΠΥ) είναι οι πιο διαδεδομένες ψυχολογικές/ψυχιατρικές εκδηλώσεις του συνδρόμου, αν και οι ιδεοψυχαναγκαστικές διαταραχές όπως η υπερφαγία/παχυσαρκία και η επιθετικότητα είναι επίσης κοινές. Υπάρχει μία στενή συσχέτιση ανάμεσα στο σύνδρομο εύθραυστου X, τη διαταραχή αυτιστικού φάσματος (ΔΑΦ) και τη ΔΕΠΥ (5,13–15). Πάνω από το 60% των αγοριών με FXS διαγιγνώσκονται με ΔΕΠΥ, ΔΑΦ ή και τα δύο. Με βάση αναφορές από προηγούμενες μελέτες, περίπου το 40-67% των ανδρών και το 20-23% των γυναικών με FXS διαγιγνώσκονται με ΔΑΦ (16,17). Επιπλέον, μεταξύ των ατόμων με FXS που δεν πληρούν τα κριτήρια για τη διάγνωση της ΔΑΦ, έως και το 90% μπορεί να εμφανίσει κάποια μορφή συμπτωμάτων συμπεριφοράς που σχετίζονται με ΔΑΦ, όπως στερεοτυπικές κινήσεις χεριών, δάγκωμα χεριών ή αποφυγή οπτικής επαφής (10). Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό διάκρισης μεταξύ της ΔΑΦ που σχετίζεται με το FXS και της ιδιοπαθούς ΔΑΦ είναι η αυξημένη αγχώδης διαταραχή σε άτομα με FXS. Όσο πιο έντονο είναι το άγχος, τόσο πιο πιθανό είναι το παιδί να έχει ΔΑΦ (18). Το FXS είναι η κύρια γνωστή γενετική αιτία της ΔΑΦ. Ωστόσο, μόνο το 20% των περιπτώσεων αυτισμού αναγνωρίζονται ως αποτέλεσμα μονογονιδιακών μεταλλάξεων και μόνο το 2 έως 6% οφείλεται σε μετάλλαξη του γονιδίου *FMR1* (5,16). Τα άτομα που επηρεάζονται και από τις δύο νοσηρότητες, όπως συμβαίνει στο 50 έως 60 % των αγοριών και στο 20 % των κοριτσιών με FXS, έχουν πιο σοβαρή εμπλοκή τόσο σε γνωστικά όσο και γλωσσικά ελλείμματα και προβλήματα συμπεριφοράς (10). Ελεγχόμενες κλινικές δοκιμές έχουν δείξει ότι, αν και το FXS και η ΔΑΦ μοιράζονται κοινά ψυχιατρικά συμπτώματα, τα προσβεβλημένα άτομα δεν ανταποκρίνονται με την ίδια αποτελεσματικότητα σε συγκεκριμένες θεραπείες (19,20), γεγονός που υποδηλώνει ότι τα ίδια συμπτώματα προέρχονται από διαφορετικούς μηχανισμούς.

Εκτός από τις αλλαγές συμπεριφοράς και τα προβλήματα μάθησης και κοινωνικής προσαρμογής, περίπου το 16% των αγοριών και το 5% των κοριτσιών με FXS εμφανίζει επιληπτικές κρίσεις, οι οποίες είναι πιο διαδεδομένες όταν συνυπάρχει ΔΑΦ, συνήθως τα πρώτα 5 χρόνια της ζωής (5,21). Εάν οι κρίσεις εντοπιστούν νωρίς, ένα αντιεπιληπτικό σκεύασμα συνήθως είναι αρκετό για να τις ελέγχει, αν και με την εμφάνιση επαναλαμβανόμενων πολλαπλών επιληπτικών κρίσεων, καθίσταται πιο δύσκολο να ελεγχθούν (7). Επιπρόσθετα, περίπου 30% εμφανίζει κάποια γαστρεντερική δυσλειτουργία, συμπεριλαμβανομένης της γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης (5), καθώς και διαταραχές ύπνου, συνήθως στα πρώτα 3 έως 5 χρόνια της ζωής σε άτομα με FXS (5,7).

1.4 Μοριακή αιτιολογία - FMR1 γονίδιο

Το Σύνδρομο Εύθραυστου X οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο *FMR1* που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη FMRP, η οποία είναι απαραίτητη για τη συναπτική πλαστικότητα και αρχιτεκτονική του εγκεφάλου, πτυχές της νευρικής λειτουργίας. Το *FMR1* γονίδιο εδράζεται στο άπω τμήμα του μακρού σκέλους q του X χρωμοσώματος, στη χρωμοσωμική θέση Xq27.3. Περιέχει 17 εξόνια και 40 kb γονιδιωματικού DNA και μεταγράφει ένα mRNA 3,9 kb. Η μεταφρασμένη πρωτεΐνη ονομάζεται «Fragile X Mental Retardation Protein» (FMRP) και είναι απαραίτητη από τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης και σε όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου σε ποικίλες διεργασίες (22).

Το γονίδιο ταυτοποιήθηκε το 1991 με κλωνοποίηση θέσης (23) και χαρακτηρίζεται από την παρουσία μιας πολυμορφικής τρινουκλεοτιδικής επανάληψης CGG στην 5' αμετάφραστη περιοχή του υποκινητή που ελέγχει τη λειτουργία του γονιδίου (23,24). Η επέκταση αυτής της τρινουκλεοτιδικής αλληλουχίας οδηγεί στο FXS. Η επανάληψη των τρινουκλεοτιδικών CGG είναι μια δυναμική μετάλλαξη που αλλάζει κατά τη μεταβίβαση, καθώς παρατηρείται αύξηση του αριθμού των επαναλήψεων από τη μία γενιά στην επόμενη. Σε αντίθεση με τις στατικές μεταλλάξεις, οι οποίες περιορίζονται στα σωματικά κύτταρα και μεταδίδονται σταθερά στους απογόνους, η επανάληψη των τρινουκλεοτιδικών CGG αποτελεί μία διαδικασία κατά την οποία η μετάλλαξη συνεχίζεται μεταξύ των ιστών και μεταξύ των γενεών (25). Η μεταβλητότητα στον αριθμό των τρινουκλεοτιδικών επαναλήψεων CGG έχει ως αποτέλεσμα να διακρίνουμε τέσσερις τύπους αλληλόμορφων. Τα φυσιολογικά αλληλόμορφα στο γενικό πληθυσμό έχουν έναν αριθμό επαναλήψεων CGG, που κυμαίνεται από 5 έως 54, με μέσο όρο τις 30 επαναλήψεις. Τα αλληλόμορφα που φέρουν 6 έως 44 CGG επαναλήψεις θεωρούνται φυσιολογικά και παραμένουν σταθερά κατά τη μεταβίβαση, ενώ τα αλληλόμορφα που περιέχουν 45 έως 54 CGG επαναλήψεις θεωρούνται εντός του ανώτερου φυσιολογικού εύρους, ωστόσο, αποτελούν τη γκρίζα (ή ενδιάμεση) ζώνη, και μπορεί να είναι σταθερά ή ελαφρώς ασταθή, εάν δεν υπάρχουν παρεμβολές τρινουκλεοτιδίων AGG. Είναι πρόδρομοι αλληλόμορφων προμετάλλαξης καθώς υπάρχει η πιθανότητα μετατροπής τους σε προμεταλλαγμένο αλληλόμορφο κατά τη μετάδοση στις επόμενες γενιές, πιθανώς λόγω πατρικής και μητρικής μειωτικής αστάθειας (26). Τα αλληλόμορφα που έχουν έναν αριθμό επαναλήψεων CGG που κυμαίνεται από 55 έως 200 ονομάζονται αλληλόμορφα προμετάλλαξης, είναι ασταθή και έχουν ισχυρή τάση να μετατρέπονται σε αλληλόμορφα πλήρους μετάλλαξης (25). Αυτό μπορεί να προκύψει ακόμη και με αλληλόμορφα τόσο μικρά όσο 56 CGG επαναλήψεων (27). Ο κίνδυνος μετάδοσης της πλήρους μετάλλαξης στην

επόμενη γενιά είναι ανάλογος του μεγέθους των τρινουκλεοτιδικών επαναλήψεων CGG (αυξάνεται όσο αυξάνει το μέγεθος) (26) και αντιστρόφως ανάλογος με τον αριθμό των AGG τρινουκλεοτιδίων που παρεμβάλλονται στις επαναλήψεις CGG (28). Η παρουσία AGG τρινουκλεοτιδικών παρεμβολών και το μήκος των CGG επαναλήψεων μπορεί επομένως να καθορίσει καλύτερα τον κίνδυνο μετάδοσης της πλήρους μετάλλαξης από τη μητέρα φορέα προμετάλλαξης στους απογόνους. Τέλος, τα αλληλόμορφα που έχουν πάνω από 200 επαναλήψεις CGG είναι πλήρως μεταλλαγμένα και είναι υπεύθυνα για την εκδήλωση του συνδρόμου.

Η παρουσία πλήρους μετάλλαξης του *FMR1* γονιδίου (>200 CGG επαναλήψεις) συμπίπτει με την υπερμεθυλίωση τόσο του υποκινητή όσο και των ίδιων των επαναλήψεων. Οι δύο αυτοί παράγοντες αποτελούν τη μοριακή βάση του συνδρόμου. Η υπερμεθυλίωση απενεργοποιεί το γονίδιο, εμποδίζει τη μεταγραφή, με αποτέλεσμα τη μη παραγωγή της κωδικοποιούμενης FMRP πρωτεΐνης (25). Η μεταγραφική αποσιώπηση του γονιδίου είναι συνέπεια μάλλον πολύπλοκων επιγενετικών τροποποιήσεων (29). Εκτός από την υπερμεθυλίωση, τα πλήρως μεταλλαγμένα αλληλόμορφα εμφανίζουν αποακετυλίωση των αμινοτελικών ουρών των ιστονών H3 και H4 (30). Αυτές οι επιγενετικές αλλαγές προάγουν μια ετεροχρωματική διαμόρφωση που αποκλείει τη δέσμευση συγκεκριμένων παραγόντων μεταγραφής (31), απενεργοποιώντας έτσι την έκφραση γονιδίου και την παραγωγή της πρωτεΐνης (32).

Οι εκδηλώσεις του συνδρόμου FXS ποικίλλουν ανάλογα με το φύλο και την παρουσία ενός μωσαϊκισμού. Όσον αφορά το φύλο, τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου εύθραυστου X είναι πιο μεταβλητά στις γυναίκες, λόγω της αδρανοποίησης του X χρωμοσώματος. Έτσι, τα αρσενικά άτομα με την πλήρη μετάλλαξη επηρεάζονται πάντα, ενώ για τα θήλεα άτομα με την πλήρη μετάλλαξη, το ποσοστό εμφάνισης του συνδρόμου ανέρχεται μόνο στο 30-50% (25). Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει τον βαθμό προσβολής από το σύνδρομο είναι ο μωσαϊκισμός, δηλαδή η παραλλαγή του γονιδίου στα διαφορετικά κύτταρα του σώματος. Υπάρχουν δύο τύποι μωσαϊκισμού στο σύνδρομο εύθραυστου X. Ο πρώτος αφορά στον αριθμό των CGG επαναλήψεων, όπου κάποιοι άνθρωποι εμφανίζουν φυσιολογικά αλληλόμορφα σε ορισμένα κύτταρα και αλληλόμορφα με προμετάλλαξη του *FMR1* γονιδίου σε άλλα κύτταρα. Ο δεύτερος τύπος αφορά στη μεθυλίωση του DNA, όπου κάποια κύτταρα έχουν μεθυλιωμένα αλληλόμορφα του *FMR1* γονιδίου και κάποια άλλα μη μεθυλιωμένα αλληλόμορφα (25). Αυτοί οι μωσαϊκισμοί επιτρέπουν την έκφραση μερικής FMRP πρωτεΐνης και σε ορισμένες περιπτώσεις, έχουν σχετιστεί με ηπιότερη μορφή νοητικής υστέρησης (33).

Στο 98% των περιπτώσεων, η αιτία του συνδρόμου είναι η αύξηση του αριθμού των CGG επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών και η μεθυλίωσή του και είναι πάντα κληρονομούμενη. Αντίθετα, σημειακές μεταλλάξεις ή διαγραφές που επηρεάζουν το γονίδιο *FMR1* ευθύνονται για έως και 1-2% των περιπτώσεων του συνδρόμου. Αυτές οι μεταλλάξεις μπορεί να είναι de novo ή κληρονομούμενες από τη μητέρα φορέα (25,34).

1.5 Πρωτεΐνη FMRP

Η FMRP είναι η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το *FMR1* γονίδιο και είναι ο κύριος πρωτεϊνικός ρυθμιστής της μετάφρασης πολλών μορίων RNA που εμπλέκονται στη συναπτική πλαστικότητα (35), η οποία είναι σημαντική για τη μάθηση και τη μνήμη, ενεργοποιώντας ή καταστέλλοντας τη μετάφραση. Ο ρόλος της στις συνάψεις και τη φυσιολογική ανάπτυξη των δενδριτών είναι θεμελιώδης. Εντοπίζεται στον εγκέφαλο και στα ανώριμα γεννητικά κύτταρα (σπερματογόνια) και εκφράζεται από τα πρώιμα στάδια της εμβρυικής ανάπτυξης και στην υπόλοιπη ζωή (26).

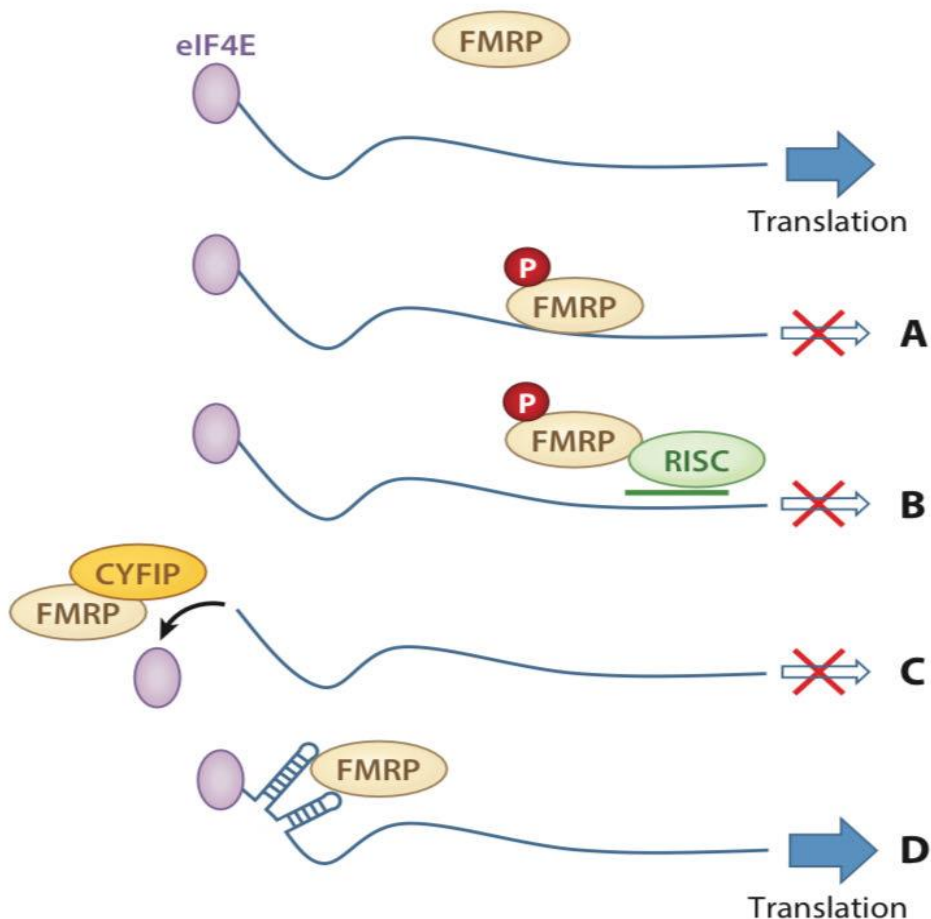
Πρόκειται για μία πρωτεΐνη που προσδένεται επιλεκτικά στο RNA με κυρίαρχο ρόλο τη ρύθμιση μεγάλου αριθμού mRNAs στους μετασυναπτικούς νευρώνες. Συναντάται κυρίως στο κυτταρόπλασμα αλλά και στον πυρήνα (36), ωστόσο, η κυτταροπλασματική της λειτουργία είναι αυτή που έχει εξεταστεί εκτενέστερα. Συνδέεται με τα πολυριβωσώματα του ενδοπλασματικού δικτύου, με ελεύθερα ριβωσώματα, στους δενδρίτες και στον νευράξονα (4). Αποτελεί μεταφορέα των μορίων mRNAs από τον πυρήνα και κατά μήκος του νευρώνα και όπου είναι απαραίτητα, ενώ αναστέλλει τη μετάφραση αυτών μέχρι να φτάσει το σωστό σήμα (37–40).

1.5.1. Απώλεια λειτουργίας της πρωτεΐνης FMRP στο FXS - Ζωικό μοντέλο

Η απώλεια της πρωτεΐνης από τον νευρώνα επηρεάζει τη μετάδοση ηλεκτρικών σημάτων στον εγκέφαλο προκαλώντας πλήθος νευρολογικών διαταραχών και την εκδήλωση φυσικών συμπτωμάτων και διαταραχών συμπεριφοράς. Συνολικά, η απουσία της FMRP αλλάζει τη συναπτική πλαστικότητα στον εγκέφαλο, γεγονός πολύ σημαντικό στην παθογένεση του FXS. Η ανεπάρκεια της FMRP οδηγεί σε αυξημένη πρωτεϊνοσύνθεση επηρεάζοντας πολλά μονοπάτια σηματοδότησης, όπως το μονοπάτι των μεταβοτροπικών υποδοχέων του γλουταμινικού (mGluR)

(41,42), τον υποδοχέα του α-αμινο-3-υδροξυ-5-μεθυλ-4-ισοξαζολικού προπιονικού οξέος (AMPA) (43), τον καταρράκτη της εξωκυτταρικής σηματοδοτικής κινάσης (ERK1/2) (44–46), της μεταλλοπρωτεϊνάσης 9 (MMP-9) (47–49), τον εγκεφαλικό νευροτροφικό παράγοντα BDNF (50,51) και το σηματοδοτικό μονοπάτι mTOR (52,53). Επιπλέον, λειτουργική βλάβη στον υποδοχέα του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) και στο ενδοκανναβινοειδές σύστημα έχουν επίσης διαπιστωθεί στο FXS (54–56). Ως εκ τούτου, στην παθογένεση του FXS, η έλλειψη FMRP οδηγεί σε αυξημένη πρωτεϊνοσύνθεση με άμεση επίδραση στη δυσγενεσία των δενδριτικών ακάνθων και σε γνωστικές αναπηρίες, που προκαλούν την πλειοψηφία των συμπτωμάτων του συνδρόμου.

Η FMRP αναστέλλει την έναρξη μετάφρασης μέσω των αλληλεπιδράσεών της με τον ευκαρυωτικό παράγοντα έναρξης μετάφρασης 4E(eIF4E) και την κυτταροπλασματική FMR1 αλληλεπιδρούσα πρωτεΐνη 1 (CYFIP)(57–61). Ο παράγοντας eIF4E είναι η πρωτεΐνη που δεσμεύει το 5' άκρο που είναι γνωστό ότι ενεργοποιείται από την αλληλεπίδραση με την πρωτεΐνη του ικριώματος eIF4G (Ευκαρυωτικός Παράγοντας Έναρξης μετάφρασης 4G) ή αναστέλλεται από τη δέσμευση 4E πρωτεϊνών (4E-BPs), οι οποίες είναι μια καλά χαρακτηρισμένη ομάδα πρωτεϊνών που καταστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεση (62,63). Οι 4E-BP πρωτεΐνες και ο eIF4G παράγοντας ανταγωνίζονται για την ίδια θέση δέσμευσης στην επιφάνεια του eIF4E. Έτσι, οι 4E-BPs πρωτεΐνες αναστέλλουν τον σχηματισμό συμπλόκου eIF4E-eIF4G απομονώνοντας το μη δεσμευμένο eIF4E (64,65). Το CYFIP1 ανήκει στην οικογένεια 4E-BPs. Στους νευρώνες, κυρίως στις συνάψεις, το ανασταλτικό σύμπλεγμα FMRP-CYFIP1-eIF4E ρυθμίζει τη σύνθεση πρωτεϊνών κατά τη συναπτική δραστηριότητα, διαδραματίζοντας κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της μακροπρόθεσμης πλαστικότητας στις συνάψεις (59,66). Επιπλέον, το συμπλοκο CYFIP1 CYFIP2 είναι το ίδιο ικανό να αλληλεπιδρά με την FMRP και με τις πρωτεΐνες FXR1P/2P που σχετίζονται με την FMRP, οι οποίες είναι κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες που μοιράζονται με την FMRP τις λειτουργικές περιοχές που προωθούν τον ομο- και τον ετερομερισμό (67).



Εικόνα 1. Μηχανισμοί με τους οποίους η πρωτεΐνη του *FMR1* (FMRP) ρυθμίζει την έκφραση πρωτεΐνης. Η σύνδεση της φωσφορυλιωμένης μορφής του FMRP σε πολυάριθμα αγγελιαφόρα RNA-στόχους (mRNAs) εμποδίζει τη φάση επιμήκυνσης της μετάφρασης. Αυτή η διαδικασία είναι είτε άμεση (μηχανισμός A) είτε έμμεση μέσω των αλληλεπιδράσεών της με το σύμπλεγμα RISC και τα microRNA (πράσινη ράβδος, μηχανισμός B). Η FMRP αναστέλλει επίσης τη μετάφραση δεσμεύοντας την κυτταροπλασματική πρωτεΐνη 1 που αλληλεπιδρά με το *FMR1* (CYFIP), με μετατόπιση από το σύμπλεγμα του παράγοντα έναρξης, του ευκαρυωτικού παράγοντα έναρξης 4E (eIF4E), από το 5' άκρο των mRNAs, ως απόκριση σε διάφορα μεταβολικά σήματα (μηχανισμός C). Η FMRP μπορεί επίσης να διεγείρει τη μετάφραση μέσω της αλληλεπίδρασής της με δομημένα τμήματα της 5' αμετάφραστης περιοχής συγκεκριμένων mRNAs (μηχανισμός D). Εκτός από την άμεση τροποποίηση της μετάφρασης μέσω των μηχανισμών A-D, η FMRP μπορεί να ρυθμίσει την έκφραση των πρωτεϊνών έμμεσα μέσω της αλληλεπίδρασής της με πρωτεΐνες χρωματίνης, ρυθμίζοντας έτσι την έκφραση συγκεκριμένων mRNAs.

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι πολλά από όσα μάθαμε για τη λειτουργία του FMRP, συμπεριλαμβανομένων των οδών που επηρεάζονται από την πρωτεΐνη, τους μηχανισμούς δράσης της (βλ. Εικόνα 1) και τις δυνατότητες διαφόρων θεραπευτικών παρεμβάσεων, έχουν ληφθεί μέσω της χρήσης ζωικών μοντέλων. Το πιο σημαντικό είναι τα διάφορα μοντέλα ποντικού *Fmr1* knockout (KO). Το 1994 δημιουργήθηκε το μοντέλο του FMR1 knockout ποντικού (KO FMR1) στο οποίο διαγράφηκε ένα τμήμα του γονιδίου ώστε να μιμηθεί την απώλεια της έκφρασης της FMRP στο FXS (68,69). Αυτά τα ποντίκια είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μοντέλο ασθένειας του συνδρόμου του εύθραυστου X με ισχυρή δομή και εγκυρότητα με φαινότυπο που αντανakλά πολλά από τα βιοχημικά, ανατομικά, νευροφυσιολογικά και συμπεριφορικά χαρακτηριστικά της ανθρώπινης διαταραχής (70,71). Από τότε, τα KO FMR1 ποντίκια αλλά και άλλα ζωικά μοντέλα έχουν χαρακτηριστεί εκτενώς και σε συνδυασμό με περαιτέρω *in vitro* μελέτες της λειτουργίας της FMRP, παρέχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με πιθανούς ρόλους της FMRP στον εγκέφαλο καθώς και στην παθοφυσιολογία της FXS. Η περισσότερη μελετημένη λειτουργία της FMRP, που βασίζεται στις μελέτες του μοντέλου ποντικού FMR1 KO (69), είναι ως μεταφραστικός αναστολέας, ενώ οι περαιτέρω *in vitro* μελέτες έχουν αποδείξει ότι μπορεί να λειτουργήσει ως αναστολέας της μετάφρασης του δικού της mRNA (72) ελέγχοντας τα δικά της τοπικά επίπεδα πρωτεΐνης (73). Στοιχεία από KO FMR1 ποντίκια και από ανθρώπινες μεταθανάτιες βιοψίες εγκεφάλου έδειξαν αυξημένη ποσότητα και μήκος δενδριτικών ακάνθων, με ανώριμο προφίλ (74–76).

Ένα σημαντικό μάθημα που αντλήθηκε είναι ότι η FMRP επηρεάζει πολλές πρωτεΐνες και μονοπάτια και είναι εξαιρετικά απίθανο οποιαδήποτε μεμονωμένη στοχευμένη θεραπεία να μπορεί να αναστρέψει το πλήθος των αλλαγών που προκαλεί η απουσία FMRP στον εγκέφαλο. Εξαίρεση αποτελεί μια παρέμβαση που ενισχύει την ίδια την FMRP ή αντικαθιστά την FMRP μέσω γονιδιακής θεραπείας, αλλά αυτό δεν είναι ακόμη δυνατό στο FXS.

1.5.2 Κυτταρική λειτουργία και σηματοδότηση

Η απουσία FMRP πρωτεΐνης έχει βαθύ αντίκτυπο σε διάφορα νευρωνικά μονοπάτια. Οι πιο σημαντικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στο σύνδρομο εύθραυστου X είναι το μονοπάτι των μεταβοτροπικών υποδοχέων γλουταμινικού οξέος της ομάδας 1 (group 1 metabotropic glutamate receptor, mGluR), η σηματοδότηση επαγόμενη από το γ-αμινοβουτυρικό

οξύ (GABA signaling), η διαταραχή του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος σηματοδότησης, η διαταραχή της λειτουργίας καναλιών ιόντων και η αύξηση του πολυμερισμού των ινιδίων της ακτίνης, από τους οποίους η γλουταμινεργική και η GABA οδός είναι οι πιο εντατικά μελετημένοι.

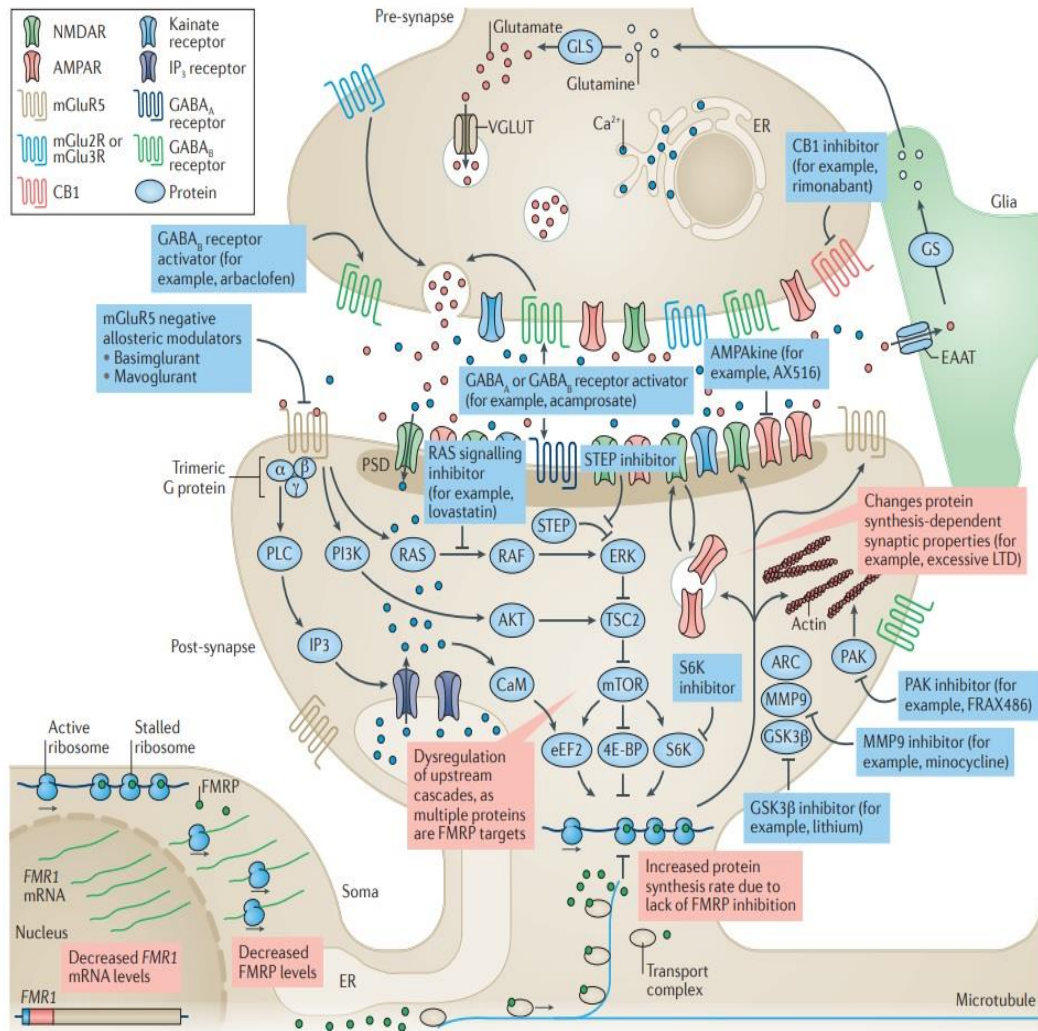
1.5.2.1 Το γλουταμινικό και η υπόθεση του μεταβοτροπικού υποδοχέα γλουταμικού του FXS

Το γλουταμινικό είναι ο κυρίαρχος διεγερτικός νευροδιαβιβαστής στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), που δρα μέσω ιοντοτροπικών υποδοχέων (δηλαδή N-μεθυλ-D-ασπαρτικού (NMDA)-, α-αμινο-3-υδροξυ-5-μεθυ-4-ισοαζολοπροπιονικού οξέος (AMPA)- και καϊνικού τύπου κανάλια ιόντων με πύλη γλουταμικού) και μεταβοτροπικών (mGlu) υποδοχέων (77). Οι mGlu είναι υποδοχείς συζευγμένοι με πρωτεΐνη G (GPCR) που χωρίζονται σε τρεις υποομάδες με βάση τις ομοιότητες αλληλουχίας και τη σύζευξη δεύτερου αγγελιοφόρου (78,79), με την Ομάδα 1 (mGlu1, 5) να συζεύγνυται μέσω Gao/q, την Ομάδα 2 (mGlu2, 3) και την Ομάδα 3 (mGlu4, 6, 7, 8), που διαμορφώνουν τα επίπεδα κυκλικής AMP (cAMP), να συζεύγνυται μέσω Gai και Gas, αντίστοιχα. Η ενεργοποίηση του mGlu5 οδηγεί σε ενεργοποίηση Gao/q, ενδοκυτταρική κινητοποίηση Ca^{2+} και διέγερση του PLCb και του PI3K (80). Τα μεταγενέστερα συμβάντα σηματοδότησης περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση της σηματοδότησης mTOR και S6K που ρυθμίζουν τη μετάφραση της συναπτικής πρωτεΐνης και τις μεταγραφικές αλλαγές (βλ. Εικόνα 2). Αυτά είναι ζωτικής σημασίας για βασικές συναπτικές λειτουργίες όπως η μακροχρόνια ενίσχυση (LTP) και η μακροχρόνια κατάθλιψη (LTD) (81). Στη νευροφυσιολογία η LTD είναι μία από τις πολλές διαδικασίες που χρησιμεύουν στην επιλεκτική αποδυνάμωση συγκεκριμένων συνάψεων προκειμένου να γίνει εποικοδομητική χρήση της συναπτικής ενίσχυσης που προκαλείται από την LTP. Αυτό είναι απαραίτητο διότι, εάν επιτραπεί να συνεχίσουν να αυξάνονται σε ισχύ, οι συνάψεις θα έφταναν τελικά σε ένα ανώτατο επίπεδο απόδοσης, το οποίο θα εμπόδιζε την κωδικοποίηση νέων πληροφοριών. Τόσο η LTD όσο και η LTP είναι μορφές συναπτικής πλαστικότητας. Ο υποδοχέας mGlu5 εκφράζεται άφθονα σε πολλές περιοχές του εγκεφάλου συμπεριλαμβανομένου του φλοιού, του ιππόκαμπου και του ραβδωτού σώματος αλλά και στην αμυγδαλή, όπου εντοπίζεται σε νευρώνες κυρίως μετασυναπτικά (82,83), καθώς και σε γλοιακά κύτταρα (84). Ένας από τους φαινότυπους που παρατηρούνται στο KO FMR1 μοντέλο ποντικού είναι ότι ενισχύεται μια ειδική μορφή ιπποκάμπου LTD που εξαρτάται από τη βιοσύνθεση πρωτεϊνών που προκαλείται από σύντομη εφαρμογή του αγωνιστή του υποδοχέα mGlu της ομάδας 1 διυδροξυφαινυλογλυκίνης (DHPG) (85). Επιπλέον, ανακαλύφθηκε ότι η διέγερση των

συναπτονευροσωμάτων με DHPG ενεργοποιεί την πρωτεϊνική σύνθεση της FMRP (86). Συνδυάζοντας αυτές τις παρατηρήσεις, ο Mark Bear και οι συνεργάτες του διατύπωσαν αυτό που είναι τώρα γνωστό ως «Θεωρία mGlu του FXS» (41), υπονοώντας μια αιτιώδη σύνδεση μεταξύ του mGlu5 και της νόσου, οδηγώντας στην πρόταση ότι οι αναστολείς mGlu5 θα μπορούσαν να είναι θεραπευτικοί.

1.5.2.2. Σηματοδότηση επαγόμενη από το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) στο FXS

Το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA) είναι ο κυρίαρχος ανασταλτικός νευροδιαβιβαστής στον εγκέφαλο. Η φυσιολογική δράση του GABA οφείλεται στην ύπαρξη ειδικών υποδοχέων που δεσμεύουν το GABA στο μετασυναπτικό ή προσυναπτικό άκρο. Οι υποδοχείς GABA είναι άφθονοι στον εγκέφαλο και θεωρούνται υπεύθυνοι για την πλειοψηφία της ανασταλτικής μετάδοσης. Οι υποδοχείς αυτοί χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία είναι οι GABA_A οι οποίοι είναι μετασυναπτικοί και υπεύθυνοι για την κλασική ανασταλτική δράση του (87) και η σύνθεσή τους επάγεται σε μεγάλο βαθμό από το ίδιο το GABA (88). Ο υποδοχέας GABA_A είναι ένας πενταμερής διάυλος ιόντων που είναι διαπερατός στα ιόντα Cl⁻. Η ανασταλτική δράση του GABA συνίσταται στην ενεργοποίηση των καναλιών Cl⁻. Η ταχεία αλλαγή της μηχανικής διαπερατότητας ως προς το Cl⁻, έχει ως αποτέλεσμα την υπερπόλωση της μεμβράνης. Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνεται από ηλεκτροφυσιολογικά πειράματα (90). Ο υποδοχέας αποτελείται από 5 από τις 19 πιθανές υπομονάδες, συμπεριλαμβανομένων των α₁₋₆, β₁₋₃, γ₁₋₃, δ, ε, θ, π και ρ₁₋₃, έντεκα από τις οποίες αποτελούν το 95% όλων των υποδοχέων (89). Η στοιχειομετρία είναι μη τυχαία και ευνοεί τους υποδοχείς που περιέχουν 2α, 2β και μία από τις υπομονάδες γ, δ, ε ή π, αλλά παρατηρούνται εξαιρέσεις σε αυτόν τον κανόνα. Η σύνθεση της υπομονάδας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την περιοχή του εγκεφάλου και επηρεάζει σημαντικά την ευαισθησία στο φάρμακο. Οι υποδοχείς GABA_A είναι οι κύριοι ανασταλτικοί υποδοχείς νευροδιαβιβαστών στον εγκέφαλο των θηλαστικών, που εμπλέκονται στο άγχος, την κατάθλιψη, την επιληψία, την αϋπνία, τη μάθηση και τη μνήμη, διαδικασίες που διαταράσσονται σε ασθενείς με σύνδρομο εύθραυστου X (90). Τα τελευταία χρόνια, έχει γίνει ολοένα και πιο σαφές ότι τόσο η έκφραση του υποδοχέα GABA_A όσο και η σηματοδότηση που προκαλείται από αυτόν επηρεάζονται από την απουσία FMRP (91–93).



Εικόνα 2: Στόχοι φαρμάκων στο σύνδρομο εύθραυστου Χ υπό διερεύνηση.

Η δεύτερη κατηγορία είναι οι GABA_B, οι οποίοι στη νωτιαία χορδή παίζουν ρόλο στην ρύθμιση της ροής Ca²⁺ στο προσυναπτικό τμήμα συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνες (96–105). Ο υποδοχέας GABA_B αποτελείται από ένα ετεροδιμερές υπομονάδων R1 και R2. Έχει αναφερθεί επίσης ότι οι GABA_B υποδοχείς εντοπίζονται στο ΚΝΣ μετασυναπτικά και στην περίπτωση αυτή ρυθμίζουν την ροή K⁺ (87). Η ανασταλτική δράση αυτού του μεταβοτροπικού υποδοχέα προκαλείται μέσω της ενεργοποίησης του διαύλου K⁺ και του αποκλεισμού των καναλιών Ca²⁺. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα GABA_B μειώνει την προσυναπτική απελευθέρωση γλουταμικού και προκαλεί υπερπόλωση των μετασυναπτικών νευρώνων με την ενεργοποίηση των διαύλων K⁺ που ενεργοποιούνται από την πρωτεΐνη G (GIRKs), μειώνοντας έτσι συλλογικά τη

γλουταμινεργική σηματοδότηση στις διεγερτικές συνάψεις (94). Σε ασθενείς με FXS, μια μειωμένη απελευθέρωση GABA στους προσυναπτικούς υποδοχείς GABA_B μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μειωμένη αναστολή της διάχυσης νευροδιαβιβαστών, η οποία αντίστροφα ενεργοποιεί το μονοπάτι των μεταβοτροπικών υποδοχέων γλουταμινικού οξέος της ομάδας 1 (mGluR) (95). Ένας μηχανισμός ρύθμισης της απελευθέρωσης GABA περιλαμβάνει τη σύνθεση και κινητοποίηση ενδοκανναβινοειδών. Η ενεργοποίηση των mGluR της Ομάδας I επιτρέπει την κινητοποίηση των ενδοκανναβινοειδών στον μετασυναπτικό νευρώνα και ρυθμίζει αρνητικά την απελευθέρωση GABA μέσω ενός μηχανισμού που είναι γνωστός ως επαγόμενη από εκπόλωση καταστολή της αναστολής (DSI) (96). Επομένως, λαμβάνοντας υπόψη την κινητοποίηση ενδοκανναβινοειδών στο FXS, αναφέρεται ότι οι αλλαγές στη σηματοδότηση του ενδοκανναβινοειδούς συστήματος θα μπορούσαν να συμβάλουν στη γνωστική δυσλειτουργία που σχετίζεται με το FXS (97). Ακόμη, σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις κανναβινοειδών θα μπορούσαν να επηρεάσουν τις νευροψυχιατρικές διαταραχές μέσω της αναστολής της δραστηριότητας της μονοαμινοξειδάσης (98).

Η δυσλειτουργία του συστήματος GABA είναι ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα του FXS, ωστόσο οι υποκείμενοι μηχανισμοί παραμένουν ελάχιστα κατανοητοί. Το σύστημα GABA ενεπλάκη για πρώτη φορά στην παθογένεση του FXS με βάση μελέτες της έκφρασης του υποδοχέα GABA_A σε ποντικούς Fmr1 KO. Σύμφωνα με τις μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο ζωικό αυτό μοντέλο, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στην έκφραση διαφόρων υποομάδων του υποδοχέα GABA_A (56) καθώς και μειωμένη έκφραση της υπομονάδας β (η μόνη υπομονάδα που αναλύθηκε) του υποδοχέα GABA_A σε επίπεδο πρωτεΐνης σε περιοχές του εγκεφάλου που σχετίζονται με τη συμπεριφορά, όπως είναι ο φλοιός και ο ιππόκαμπος, και σε περιοχές που σχετίζονται με την κινητικότητα, όπως ο διεγκέφαλος και το εγκεφαλικό στέλεχος FMR1 KO ποντικών χρησιμοποιώντας ανάλυση western blot (99). Οι ηλεκτροφυσιολογικές καταγραφές υπέδειξαν μειωμένη αποτελεσματικότητα του συστήματος GABA στον ιππόκαμπο του εύθραυστου X ποντικού (100) και παρατηρήθηκαν ανατομικά ελαττώματα σε νεοφλοιώδη ανασταλτικά κυκλώματα GABA (101). Και τα δύο ευρήματα οφείλονται δυνητικά στις λειτουργικές συνέπειες ενός μειωμένου επιπέδου πρωτεΐνης. Σύμφωνα με μία πρόσφατη μελέτη των Dengetal, η FMRP αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα GABA_A και ρυθμίζει τη δραστηριότητα ενός καναλιού του (102). Συγκεκριμένα, η FMRP ρυθμίζει το αυθόρμητο άνοιγμα του GABA_A μέσω της διαμόρφωσης της μονοκαναλικής αγωγιμότητας και ελέγχει την τονική αναστολή για

να διασφαλίσει την ακριβή ενσωμάτωση του σήματος στα οδοντωτά κοκκώδη κύτταρα (GCs) του ιπποκάμπου. Κατά συνέπεια, η απώλεια FMRP σε μοντέλα ποντικών οδηγεί σε απορρύθμιση αυτής της κρίσιμης σηματοδότησης εξαρτώμενης από τον GABA_A υποδοχέα, με αποτέλεσμα μειωμένη δραστηριότητα του αυθόρμητου ανοίγματος GABA_A υποδοχέα, μειωμένη τονική αναστολή και λιγότερο ακριβή ενσωμάτωση σήματος των οδοντωτών κοκκωδών κυττάρων GC.

2. ΝΕΟΤΕΡΑ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΥΘΡΑΥΣΤΟΥ X

Τα ζωικά μοντέλα έχουν συμβάλλει σημαντικά στη χρήση στοχευμένων θεραπειών που μπορούν να αντιστρέψουν τις νευροβιολογικές ανωμαλίες που προκαλούνται από την έλλειψη της FMRP πρωτεΐνης στο σύνδρομο εύθραυστου X. Εδώ θα συζητηθούν ορισμένες θεραπείες που είναι επί του παρόντος διαθέσιμες εκτός εγκεκριμένων ενδείξεων για τη θεραπεία του συνδρόμου εύθραυστου X μαζί με τα δεδομένα που υποστηρίζουν τις θεραπευτικές τους δυνατότητες. Ενώ πολλά άλλα φάρμακα όπως διεγερτικά, άλφα αγωνιστές και άτυπα αντιψυχωσικά μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά για τη θεραπεία των προβλημάτων συμπεριφοράς που παρατηρούνται στο FXS, αυτή η συζήτηση θα περιοριστεί στους τροποποιητές των νευροβιολογικών μονοπατιών που επηρεάζονται στο FXS και υπάρχουν ενδείξεις ότι τα προβλήματα αντιστρέφονται τουλάχιστον εν μέρει (103). Τόσο το σηματοδοτικό μονοπάτι των μεταβοτροπικών υποδοχέων γλουταμινικού οξέος της ομάδας 1 (group 1 metabotropic glutamate receptor, mGluR) όσο και η σηματοδότηση που επάγεται από το γ-αμινοβουτυρικό οξύ έχουν μελετηθεί εκτενώς όχι μόνο σε προκλινικές αλλά και σε κλινικές δοκιμές.

2.1. Μεταβοτροπικοί ανταγωνιστές του υποδοχέα 5 του γλουταμινικού

2.1.1. Basimglurant/ RO4917523

Το Basimglurant είναι ένας νέος αρνητικός αλλοστερικός ρυθμιστής mGluR5, ο οποίος έχει μελετηθεί σε ζωικά μοντέλα και έχει διαπιστωθεί ότι βελτίωσε το άγχος (104). Μια μελέτη σε FMR1 KO ποντίκια χρησιμοποιώντας CTEP, έναν εκλεκτικό αναστολέα mGluR5 και ένα στενό χημικό ανάλογο του basimglurant, έδειξε βελτιώσεις στην LTD και τη σύνθεση πρωτεϊνών (105). Τα αποτελέσματα από προκλινικές δοκιμές που χρησιμοποιούν

το CTEP (105,106) έθεσαν τα θεμέλια για μία κλινική δοκιμή φάσης II σε ενήλικες και έφηβους ασθενείς με FXS ηλικίας 14-50 ετών και σε παιδιά ηλικίας 5-13 ετών (107,108). Πρόκειται για μια τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο (placebo) κλινική μελέτη, που δοκιμάζει δύο δόσεις basimglurant σε περίοδο θεραπείας 12 εβδομάδων σε άνδρες και γυναίκες ασθενείς. Αυτή η μελέτη ήταν η πρώτη που αξιολόγησε την αποτελεσματικότητα του basimglurant, αξιολογώντας την κοινωνική αποφυγή, την υπερκινητικότητα και άλλα συμπτώματα συμπεριφοράς και βρέθηκε να είναι αναποτελεσματικό στη θεραπεία ενηλίκων και εφήβων με FXS σε σχέση με το εικονικό φάρμακο, καθώς μεγαλύτερη βελτίωση παρατηρήθηκε στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Επιπλέον, λόγω της παρουσίας ανεπιθύμητων ενεργειών όπως παραισθήσεις/ψύχωση σε τρεις συμμετέχοντες, διεξήχθη το συμπέρασμα ότι το basimglurant δεν έδειξε σημαντικό όφελος σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Με βάση τη νευροαναπτυξιακή φύση του FXS και τον μηχανισμό δράσης του basimglurant, έχει προταθεί η υπόθεση ότι η θεραπεία με mGluR5 σε νεότερους ασθενείς μπορεί να βοηθήσει στην αναστροφή των ελλειμμάτων και στην πρόληψη περαιτέρω προσβολής που προκαλείται από την έλλειψη FMRP κατά την ανάπτυξη και ωρίμανση του εγκεφάλου (109). Έτσι, είναι πιθανό οι φαρμακολογικές παρεμβάσεις να είναι πιο αποτελεσματικές σε πολύ πρώιμες ηλικίες, όταν εξακολουθεί να εμφανίζεται μεγαλύτερος βαθμός ανάπτυξης που σχετίζεται με τη νευρωνική πλαστικότητα.

2.1.2. Mavoglurant/AFQ056

Το Mavoglurant, το οποίο είναι ένας μη ανταγωνιστικός ανταγωνιστής mGluR5, αξιολογήθηκε για τη θεραπεία συμπτωμάτων συμπεριφοράς στο FXS. Κλινικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε εφήβους και ενήλικες πάσχοντες από το σύνδρομο εύθραυστου X δεν έδειξαν όφελος του mavoglurant έναντι του εικονικού φαρμάκου όσον αφορά τη συμπεριφορά, χωρίς όμως να έχει μελετηθεί η σκέψη και η μάθηση (110,111). Ωστόσο, ερώτημα παραμένει κατά πόσο διεξήχθησαν με το βέλτιστο αντικειμενικό τρόπο ή στην πιο κατάλληλη ηλικιακή ομάδα. Οι μελλοντικές κλινικές δοκιμές θα μπορούσαν να απαιτούν μεγαλύτερη διάρκεια θεραπείας και την έναρξη αυτής σε έναν νεότερο πληθυσμό με μεγαλύτερη πλαστικότητα. Επίσης, θα μπορούσαν να δίνουν έμφαση στον εντοπισμό νέων δεικτών για την καλύτερη αξιολόγηση της συμπεριφοράς και των γνωστικών οφελών ή ενός

τροποποιημένου σχεδίου δοκιμής για την αξιολόγηση της νευροπλαστικότητας μέσω της ενσωμάτωσης μαθησιακών παρεμβάσεων, με στόχο την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου. Στις ανωτέρω προοπτικές βασίζεται και μία κλινική μελέτη (clinicaltrials/NCT02920892, FX-LEARNstudy) που βρίσκεται σε εξέλιξη και τα αποτελέσματα της οποίας δεν έχουν ακόμα δημοσιευθεί. Πρόκειται για μια πολυκεντρική τυχαιοποιημένη ελεγχόμενη δοκιμή παιδιών ηλικίας 3 έως 6 ετών. Κάθε ασθενής μελετάται για 21 μήνες, συμπεριλαμβανομένων περιόδων θεραπείας με mavoglurant ή/και εικονικό φάρμακο, και για αρκετούς μήνες κατά τη διάρκεια της μελέτης, όλοι λαμβάνουν ένα πρότυπο μάθησης με γνωστή αποτελεσματικότητα στο FXS, τη Γλωσσική Παρέμβαση που εφαρμόζεται από τους γονείς (PILI) (112,113). Επιπλέον, ποσοτικά μέτρα αποτελέσματος χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του φαρμάκου.

2.2. Τροποποιητές του γ-αμινοβουτυρικού οξέος

2.2.1. Gaboxadol/ OV101

Το Gaboxadol, ή αλλιώς OV101 ή 4,5,6,7-τετραϋδροϊσοξαζολο(5,4-c)πυριδιν-3-όλη (THIP) είναι ένας εκλεκτικός αγωνιστής του GABA υποδοχέα. *In vitro* μελέτες έχουν δείξει ότι το Gaboxadol συνδέεται εκλεκτικά στην εξωσυναπτική δ-υπομονάδα του υποδοχέα GABA_A. Σύμφωνα με μελέτες που διενεργήθηκαν σε FMR1 KO ποντίκια, διαπιστώθηκε ότι το OV101 ομαλοποίησε διαταραχές συμπεριφοράς που παρατηρήθηκαν στο ζωικό μοντέλο του ποντικού και αποτελούν κλινικά συμπτώματα του FXS. Σε αυτά περιλαμβάνονται η υπερκινητικότητα, η αγχώδης διαταραχή, η εκδήλωση επιθετικών συμπεριφορών, η ευερεθιστότητα και οι στερεοτυπικές κινήσεις (114), που έχουν συσχετιστεί με μειωμένη έκφραση της υπομονάδας δ του υποδοχέα GABA_A και ανεπαρκή τονική GABA αναστολή (115–117). Συγκεκριμένα, μετά τη χορήγηση θεραπείας με μικρή δόση OV101 στα KO FMR1 ποντίκια διαπιστώθηκε ομαλοποίηση όλων των ανωτέρω συμπεριφορών (114), γεγονός που παρέχει ισχυρές ενδείξεις ότι η ενίσχυση των εξωσυναπτικών υποδοχέων GABA_A από το OV101 μπορεί να είναι επωφέλης σε άτομα με FXS καθώς συμβάλλει στην αναστροφή αυτών των συμπεριφορών.

Σε μία πρόσφατη διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη φάσης 2^α, το OV101 φάνηκε να είναι ασφαλές και καλά ανεκτό στους συνολικά 23 συμμετέχοντες (13 έφηβους και 10 ενήλικους άνδρες) ηλικίας 13–22 ετών με FXS. Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ένα αρχικό ενθαρρυντικό σήμα για την αποτελεσματικότητα του OV101 σε άτομα με FXS (118). Ωστόσο, λόγω της απουσίας εικονικού φαρμάκου ελέγχου (placebo) και του μικρού μεγέθους του δείγματος κρίνεται απαραίτητη η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων σε μια μεγαλύτερη, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο και σε πιο κατάλληλη ηλικιακή ομάδα μελέτη.

2.2.2. Ganaxolone

Η Ganaxolone είναι ένας συνθετικός αλλοστερικός ρυθμιστής του στεροειδούς αλλοπρεγνανολόνης και ένας θετικός αλλοστερικός ρυθμιστής στον υποδοχέα GABA_A. Σύμφωνα με μελέτες που διενεργήθηκαν σε KO FMR1 ποντίκια, διαπιστώθηκε ότι η Ganaxolone ομαλοποίησε τις επαναλαμβανόμενες και στερεοτυπικές συμπεριφορές καθώς και τις επιληπτικές κρίσεις (119,120). Τα θετικά αποτελέσματα στα ζωικά μοντέλα των FMR1 KO ποντικών, οδήγησαν σε μια τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή διασταυρούμενη δοκιμή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο (placebo), που περιελάμβανε 51 παιδιά ηλικίας 6-17 ετών με FXS, η οποία όμως δεν έδειξε καμία στατιστικά σημαντική βελτίωση της έκβασης (121). Ωστόσο, μια post hoc ανάλυση έδειξε ότι τα πιο αγχώδη παιδιά καθώς και εκείνα τα παιδιά με χαμηλότερο IQ επωφελήθηκαν από τη ganaxolone, με σημαντικές βελτιώσεις στα συμπτώματα άγχους, κατάθλιψης και διάθεσης και υπερκινητικότητας, σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο (121).

2.2.3. Arbaclofen/ STX209

Το arbaclofen ή STX209 είναι ένας εκλεκτικός αγωνιστής του υποδοχέα GABA_B που είναι το R-εναντιομερές της ρακεμικής βακλοφένης. Υπάρχουν 3 μονοπάτια που βελτιώνονται με το arbaclofen. Πρώτον, η διέγερση των προσυναπτικών υποδοχέων GABA_B αναστέλλει την απελευθέρωση γλουταμικού οξέος, μειώνοντας έτσι την οδό mGluR5. Δεύτερον, η διέγερση των υποδοχέων GABA βελτιώνει επίσης την αναστολή που ρυθμίζεται αρνητικά σε πολλές μορφές ΔΑΦ και τρίτον, το arbaclofen ενισχύει την ενεργοποίηση του καναλιού K, η οποία μπορεί επίσης να ρυθμιστεί αρνητικά σε πολλές μορφές ΔΑΦ (122). Σύμφωνα με

μελέτες που διενεργήθηκαν σε KO FMR1 ποντίκια, διαπιστώθηκε ότι το arbaclofen μείωσε τη νευρωνική υπερδιέγερση, γεγονός που συνέβαλε στη μείωση της πιθανότητας εμφάνισης επιληπτικών κρίσεων και στη βελτίωση των νευρωνικών ανωμαλιών (123). Τα θετικά αποτελέσματα στα ζωικά μοντέλα των KO FMR1 ποντικών, οδήγησαν σε δοκιμές σε ανθρώπους με FXS (19), που αρχικά έδειξαν βελτίωση των συμπτωμάτων σε εκείνα τα άτομα με ΔΑΦ και FXS, γεγονός που οδήγησε σε δύο άλλες ελεγχόμενες δοκιμές με εικονικό φάρμακο φάσης 3 χρησιμοποιώντας ευέλικτη δοσολογία σε ενήλικες και έφηβους (ηλικίας 12-50 ετών) και σταθερή δόση σε παιδιά (ηλικίας 5-11 ετών) με FXS (124). Ωστόσο, η μελέτη στους ενήλικες δεν έδειξε όφελος για το arbaclofen έναντι του εικονικού φαρμάκου για κανένα μέτρο. Αντίθετα, στην παιδιατρική δοκιμή, η ομάδα της υψηλότερης δόσης arbaclofen έδειξε όφελος έναντι του εικονικού φαρμάκου όσον αφορά στην ευερεθιστότητα, την κοινωνική αποφυγή και την υπερκινητικότητα. Το arbaclofen έχει γίνει καλά ανεκτό ακόμη και σε υψηλότερες δόσεις, επομένως περαιτέρω μελέτες μπορεί να ρίξουν φως σε στοχευμένες θεραπείες.

2.2.4. Acamprosate

Το Acamprosate είναι ένα άλας ασβεστίου του N-ακετυλομοταυρινικού και ένας αγωνιστής GABA, με δράση τόσο στους υποδοχείς GABA_A όσο και GABA_B. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης του δεν είναι πλήρως κατανοητός, αλλά ίσως να επιδρά σε πολλαπλούς υποδοχείς με πιθανό ανταγωνισμό των mGluR5 υποδοχέων (125,126). Είναι μια ένωση που χρησιμοποιείται κυρίως για την πρόληψη των υποτροπών στη θεραπεία της εξάρτησης από το αλκοόλ (127). Σύμφωνα με μελέτες που διενεργήθηκαν σε KO FMR1 ποντίκια, διαπιστώθηκε ότι το acamprosate βελτίωσε τις συμπεριφορές άγχους, την υπερκινητικότητα και κάποια ηλεκτροφυσιολογική και μοριακή παθολογία που παρατηρήθηκε στο FXS (140). Τα θετικά αποτελέσματα στα ζωικά μοντέλα των KO FMR1 ποντικών, οδήγησαν σε δοκιμές σε ανθρώπους με FXS, οι οποίες έδειξαν βελτιωμένη γλωσσική επικοινωνία, αλλά και βελτίωση σε πολλαπλές ακόμη κατηγορίες συμπεριφοράς, προσοχής και υπερκινητικότητας (128,129). Το Acamprosate βρέθηκε ότι είναι ασφαλές για όλα τα άτομα και βρέθηκε ότι σταθεροποιεί τα αυξημένα επίπεδα της διαλυτής πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (sAPP) και sAPP-άλφα, αύξηση που παρατηρείται έντονα στη ΔΑΦ, αλλά και του BDNF(130–132), γι' αυτό και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πιθανοί βιοδείκτες για την αξιολόγηση της

ανταπόκρισης στη θεραπεία σε μελλοντικές ερευνητικές μελέτες. Επί του παρόντος, βρίσκονται σε εξέλιξη τρεις δοκιμές του acamprosate, τα αποτελέσματα των οποίων αναμένονται (clinicaltrials.gov; NCT01911455 , NCT01300923, NCT02998151).

2.3. Αναστολέας φωσφοδιεστεράσης-4D (PDE4D) BPN14770

Το BPN14770 είναι ένας αρνητικός αλλοστερικός διαμορφωτής της φωσφοδιεστεράσης-4D (PDE4D) (133). Τα επίπεδα cAMP είναι γνωστό ότι είναι χαμηλά σε άτομα με FXS. Έχει προταθεί ότι η αναστολή του PDE4D μπορεί να αποτρέψει την αποικοδόμηση του cAMP, η οποία μειώνεται παρουσία ανεπάρκειας FMRP (134–136). Το BPN14770 αναστέλλει το ένζυμο PDE4D που διασπά το cAMP έτσι ώστε τα επίπεδα του cAMP να αυξάνονται με τη χρήση αυτού του φαρμάκου. Σε μια προκλινική μελέτη που διεξήχθη σε ενήλικα αρσενικά ποντίκια FMR1 KO, το BPN14770 βελτίωσε σημαντικά τους φαινοτύπους συμπεριφοράς (παρατηρήθηκε μειωμένη υπερδιέγερση, αυξημένη συχνότητα κοινωνικής αλληλεπίδρασης και βελτιωμένη φυσική συμπεριφορά) (133). Η χορήγηση μεμονωμένων δόσεων BPN14770 αύξησε το cAMP του εγκεφάλου και τη μακροχρόνια ενίσχυση (LTP), ανέστρεψε τη βραχυπρόθεσμη εξασθένηση της μνήμης και βελτίωσε τη μακροπρόθεσμη μνήμη (137). Τα ευεργετικά αποτελέσματα σε προκλινικές μελέτες σε ζωικά μοντέλα οδήγησαν σε μία πρόσφατη τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, διασταυρούμενη μελέτη σε 30 ενήλικες με FXS ηλικίας 18 έως 41 ετών, φάσης 2, διάρκειας 24 εβδομάδων (138). Σύμφωνα με αυτή τη μελέτη, παρατηρήθηκε ότι πρόκειται για ένα καλά ανεκτό και ασφαλές φάρμακο χωρίς σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο, με σημαντικά γνωστικά οφέλη αλλά και οφέλη στην καθημερινή λειτουργία. Αυτή είναι η πρώτη μελέτη που έδειξε γνωστικές βελτιώσεις σε ενήλικες με FXS, επομένως το πεδίο ενεργοποιείται για περισσότερες μελέτες αυτής της ένωσης. Επί του παρόντος, πραγματοποιείται μια τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη που αποτελείται από δύο μέρη - την υψηλή και χαμηλή δόση BPN14770 - σε άρρενες εφήβους ηλικίας 12 έως < 18 ετών με σύνδρομο εύθραυστου X (NCT05163808) καθώς και περαιτέρω μελέτες σε ενήλικες (NCT05367960, NCT05358886).

2.4. Κανναβιδιόλη (CBD)

Η κανναβιδιόλη (CBD) είναι ένα φυτοκανναβινοειδές που βρίσκεται στη μαριχουάνα. Αν και υπάρχουν εκατοντάδες φυτοκανναβινοειδή στη μαριχουάνα, η CBD είναι η δεύτερη πιο κοινή μετά τη δέλτα-9-τετραϋδροκανναβινόλη (THC) που έχει ψυχοτρόπες ιδιότητες και δε συνιστάται στα παιδιά. Η CBD είναι το μη ψυχοτρόπο συστατικό της μαριχουάνας και υπάρχουν πολυάριθμα θεραπευτικά αποτελέσματα αυτού του φαρμάκου, συμπεριλαμβανομένων αναλγητικών, αντιφλεγμονωδών, αντιοξειδωτικών, αντιεμετικών, αγχολυτικών, αντιψυχωσικών και αντιεπιληπτικών παραγόντων (139,140). Η CBD έχει τόσο νευροτροποποιητικά όσο και νευροπροστατευτικά αποτελέσματα μέσω ενός αριθμού μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένου του αποκλεισμού της νευροφλεγμονής και της ενίσχυσης των αντιφλεγμονωδών μονοπατιών, της βελτίωσης της μιτοχονδριακής λειτουργίας, της ενίσχυσης του αγωνιστή GABA_A, της διέγερσης των υποδοχέων 5HT_{1A} και της ενίσχυσης των επιπέδων ανανδαμίδης (AEA) (141–144).

Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα έχει δύο υποδοχείς, τον CB1 που βρίσκεται κυρίως στο ΚΝΣ και τον CB2 που βρίσκεται σε όλο το σώμα και το ανοσοποιητικό σύστημα. Οι κύριοι ενδογενείς συνδέτες για τους υποδοχείς CB1 και CB2 ονομάζονται ενδοκανναβινοειδή (ECs) και περιλαμβάνουν την ανανδαμίδα AEA και την 2-αραχιδονοϋλογλυκερόλη (2-AG). Τα ECs ρυθμίζουν τη συναπτική μετάδοση σε όλο το ΚΝΣ, δίνοντας ευρεία επίδραση στη γνωστική λειτουργία και τη συμπεριφορά. Τα ECs συντίθενται και απελευθερώνονται από μετασυναπτικά, δεσμευμένα σε μεμβράνη φωσφολιπίδια ως απόκριση στη νευρωνική σηματοδότηση και δρουν ως οπισθοδρομικά μόρια σηματοδότησης κατά μήκος της συναπτικής σχισμής για να διεγείρουν τους υποδοχείς CB1 στο προσυναπτικό τερματικό και μπορούν να αναστείλουν την απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών από το προσυναπτικό τερματικό. Τα ένζυμα που λειτουργούν στη σύνθεση του 2-AG περιλαμβάνουν τη φωσφολιπάση C και τη διακυλογλυκερολική λιπάση (DAGL).

Τα προκλινικά στοιχεία δείχνουν ότι η ανεπάρκεια FMRP ενισχύει την εξαρτώμενη από το mGluR1 κινητοποίηση ενδοκανναβινοειδών και τις επακόλουθες συναπτικές επιδράσεις (97,145,146). Το ενδοκανναβινοειδές σύστημα απορρυθμίζεται και δεν είναι σε θέση να διατηρήσει την ισορροπία των ανασταλτικών και διεγερτικών νευροδιαβιβαστών, η οποία γίνεται μέσω μετασυναπτικής απελευθέρωσης AEA και 2-AG για τη διέγερση των προσυναπτικών υποδοχέων CB1 που εμφανίζονται σε όλο το ΚΝΣ. Η CBD μπορεί να αυξήσει

τη διαθεσιμότητα 2-AG για να σηματοδοτήσει τον υποδοχέα CB1, αποτρέπει την εσωτερίκευση των υποδοχέων CB1 και αποκαθιστά τη μεμβρανική έκφραση αυτών των υποδοχέων, αυξάνει τα επίπεδα AEA μειώνοντας την πρόσβασή του στην καταβολική οδό, δεσμεύει τον υποδοχέα 5HT1A με αποτελεσματικότητα αγωνιστή και είναι μερικός αγωνιστής ντοπαμίνης. Η CBD έχει επίσης αποδειχθεί ότι δρα ως θετικός αλλοστερικός ρυθμιστής στους υποδοχείς GABA_A. Η ικανότητα της CBD να ενισχύει τα επίπεδα ενδοκανναβινοειδών και να διευκολύνει τη μετάδοση μέσω της οδού GABA μπορεί να βοηθήσει στη βελτίωση της ισορροπίας στην ανασταλτική και διεγερτική μετάδοση και κατ' επέκταση στην αποκατάσταση της νευρωνικής λειτουργίας και της συναπτικής πλαστικότητας σε ασθενείς με ΔΑΦ και FXS ακόμη και όταν δεν υπάρχει επιληψία. Λόγω της δράσης αγωνιστή GABA, η CBD φαίνεται πως βελτιώνει το άγχος (147) και εξουδετερώνει τις ψυχωτικές επιδράσεις της THC (148). Όλα αυτά τα αποτελέσματα βοηθούν στην αποκατάσταση της ισορροπίας στα διεγερτικά και ανασταλτικά μονοπάτια και στη βελτίωση της συμπεριφοράς στα ζωικά μοντέλα τόσο με FXS όσο και με ΔΑΦ που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με CBD (149–151).

2.4.1 ZYN002

Ένα τοπικό τζελ CBD, με την ονομασία ZYN002, που δεν περιέχει THC, το ψυχοτρόπο συστατικό της μαριχουάνας, έχει υποβληθεί σε δοκιμές στο FXS. Η πρώτη κλινική δοκιμή του τοπικού τζελ, ήταν μια ανοιχτή μελέτη 12 εβδομάδων σε 20 παιδιά με FXS (152). Αυτή η ανοιχτή μελέτη φάσης 1/2 αξιολόγησε την ασφάλεια, την ανεκτικότητα και την αποτελεσματικότητα της διαδερμικής αλοιφής ZYN002, και έδειξε σημαντικά οφέλη σε πολλαπλές συμπεριφορές, όπως τα συμπτώματα άγχους, υπερκινητικότητας, επιθετικότητας και ΔΕΠΥ σε παιδιά με FXS, χωρίς σημαντικές παρενέργειες. Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν σε μια διεθνή πολυκεντρική ελεγχόμενη δοκιμή φάσης 3 σε 212 παιδιά ηλικίας 3 έως 18 ετών με FXS, διάρκειας 12 εβδομάδων (CONNECT-FX), η οποία έδειξε ότι το ZYN002 ήταν ασφαλές και καλά ανεκτό σε ασθενείς με FXS και έδειξε σημαντικά οφέλη αποτελεσματικότητας σε ασθενείς με $\geq 90\%$ μεθυλίωση του γονιδίου *FMR1*, στους οποίους η γονιδιακή σίγαση είναι πιο πιθανή, και η κλινική εκδήλωση του FXS είναι συνήθως πιο σοβαρή (149). Για να κερδίσει την έγκριση του FDA, ωστόσο, μια άλλη τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, πολυκεντρική μελέτη (RECONNECT) (NCT04977986) διάρκειας θεραπείας έως και 18 εβδομάδων σε ασθενείς ηλικίας 3 έως < 23

ετών διεξάγεται για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας της κανναβιδιόλης που χορηγείται ως ZYN002 για τη θεραπεία παιδιών, εφήβων και νεαρών ενηλίκων ασθενών με Σύνδρομο Εύθραυστου X (FXS), με εστίαση σε εκείνα τα άτομα που έχουν μεθυλιωμένα γονίδια με πλήρη μετάλλαξη. Αυτά τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η CBD μπορεί να είναι χρήσιμη για την πλειοψηφία των ασθενών με FXS, ιδιαίτερα για αυτούς που φέρουν πλήρως μεθυλιωμένα γονίδια και τα αποτελέσματά της αναμένονται στο τέλος του 2023 (153). Επιπλέον, αυτή τη στιγμή διεξάγεται, στο στάδιο στρατολόγησης ασθενών, μία ακόμη ανοιχτή πολυκεντρική μελέτη, για την αξιολόγηση της μακροπρόθεσμης ασφάλειας και ανεκτικότητας του ZYN002, σε άνδρες και γυναίκες ασθενείς, ηλικίας 3 έως 18 ετών με FXS, διάρκειας θεραπείας έως και 72 μήνες (NCT03802799). Η CBD πιθανότατα θα είναι χρήσιμη για άλλες νευροαναπτυξιακές διαταραχές, συμπεριλαμβανομένης της ΔΑΦ, και τέτοιες μελέτες βρίσκονται επί του παρόντος σε εξέλιξη.

2.5. Μινοκυκλίνη

Η μινοκυκλίνη είναι ένα ημισυνθετικό παράγωγο τετρακυκλίνης δεύτερης γενιάς με μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής και λιπόφιλα χαρακτηριστικά που του επιτρέπουν να διασχίζει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (154,155). Εκτός από τις αντιβιοτικές της δράσεις, η μινοκυκλίνη έχει επίσης κεντρικές αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, προσδίδοντας νευροπροστατευτικές ιδιότητες. Έχει επίσης διερευνηθεί ως θεραπεία σε μοντέλα ζώων με FXS λόγω της αναστολής της δραστηριότητας της MMP-9 (47), τα επίπεδα της οποίας είναι πολύ υψηλά στο FXS. Η FMRP αναστέλλει τη μετάφραση της MMP-9, με αποτέλεσμα η έλλειψη FMRP να οδηγεί σε αυξημένη δραστηριότητα της MMP-9, η οποία αλλάζει τη συναπτική πλαστικότητα και ευθύνεται για ορισμένες από τις γνωστικές και συμπεριφορικές βλάβες στο FXS. Οι πρώιμες προκλινικές μελέτες στο μοντέλο FMR1 KO ποντικού και στη μύγα *Drosophila* (*dfmr*) έδειξαν ότι η μινοκυκλίνη βελτίωσε τις συναπτικές συνδέσεις, τη δομή του εγκεφάλου και τη συμπεριφορά (47,156). Αυτά τα πολλά υποσχόμενα προκλινικά δεδομένα οδήγησαν σε μια τυχαιοποιημένη διασταυρούμενη κλινική μελέτη που διεξήχθη σε μία ομάδα παιδιατρικών ασθενών με FXS, ηλικίας 3,5–16 ετών, διάρκειας τριών μηνών (157). Οι ασθενείς που έλαβαν μινοκυκλίνη παρουσίασαν βελτίωση στη συμπεριφορά, τη διάθεση και την αγχώδη διαταραχή σε σχέση με όσους έλαβαν το εικονικό φάρμακο. Η θεραπεία για 3 μήνες φάνηκε να είναι ασφαλής και καλά ανεκτή. Ωστόσο, ενδείκνυνται μεγαλύτερες δοκιμές

για την περαιτέρω αξιολόγηση των οφελών, των ανεπιθύμητων ενεργειών και των παραγόντων που σχετίζονται με την κλινική ανταπόκριση στη μينوκυκλίνη.

2.6. Λοβαστατίνη

Η λοβαστατίνη είναι ένας αναστολέας της αναγωγής του 3-υδροξυ-3-μεθυλγλουταρυλικού συνένζυμου Α (HMG-CoA) που χρησιμοποιείται στη θεραπεία της υπερλιπιδαιμίας και της υπερχοληστερολαιμίας και έχει επιδείξει επιδράσεις στην ενδοκυττάρια σηματοδότηση, αναστέλλοντας την οδό ενεργοποίησης του RAS-MAPK-ERK1/2 (158) και επομένως την LTD του mGluR, η οποία ενισχύεται στο FXS. Οι μελέτες σε ποντίκια FMRP KO έδειξαν ότι η λοβαστατίνη ανέστειλε το Ras, μείωσε την αύξηση της βασικής ενεργοποίησης ERK, μείωσε τη σύνθεση πρωτεϊνών και βελτίωσε τις επιληπτικές κρίσεις (159), οι οποίες είναι λειτουργική συνέπεια της αυξημένης πρωτεϊνικής σύνθεσης στο FXS, συμβάλλοντας θετικά και σε άλλα βασικά χαρακτηριστικά του FXS (160). Για άλλη μια φορά, οι μελέτες σε ζώα οδήγησαν σε δοκιμές σε ανθρώπους με FXS και σε μια ανοιχτή μελέτη σε 15 άτομα με FXS ηλικίας 6 έως 31 ετών σε διάστημα 12 εβδομάδων, η οποία έδειξε σημαντικές βελτιώσεις στη συμπεριφορά και στις προσαρμοστικές δεξιότητες, όπως η επικοινωνία, οι ικανότητες διαβίωσης και η κοινωνικοποίηση (161), ενώ φάνηκε να είναι καλά ανεκτή με παροδικές και ήπιες ανεπιθύμητες ενέργειες. Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν σε μια τυχαιοποιημένη, διπλά-τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο δοκιμή λοβαστατίνης σε παιδιά 10 έως 17 ετών. Και στις δύο ομάδες ασθενών παραδόθηκε επίσης, η γλωσσική παρέμβαση που εφαρμόζεται από τους γονείς (PILI) στο σπίτι τους για 12 εβδομάδες με 4 δραστηριότητες την εβδομάδα (162). Στον γονέα ή τον κηδεμόνα δόθηκαν λεπτομερείς στρατηγικές γλωσσικής διευκόλυνσης ενώ αλληλεπιδρούν με τα παιδιά τους κατά τη διάρκεια μιας κοινής δραστηριότητας αφήγησης (113,163). Παραδόξως, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όσοι έλαβαν εικονικό φάρμακο συν PILI τα πήγαν εξίσου καλά με εκείνους που έλαβαν λοβαστατίνη συν PILI (162), γεγονός που αποδεικνύει ότι μια εντατική γλωσσική παρέμβαση μπορεί να είναι εξίσου ισχυρή με μια στοχευμένη φαρμακευτική θεραπεία. Ακόμη, πρόσφατα οι Champigny et al (164) δημοσίευσαν τα αποτελέσματα της πρώτης δοκιμής για το FXS που συνδυάζει δύο φάρμακα που τροποποιούν τη νόσο, τη λοβαστατίνη και τη μينوκυκλίνη, τα οποία έχουν και τα δύο θετικά αποτελέσματα όταν χρησιμοποιούνται ανεξάρτητα. Πρόκειται για μία ανοιχτή κλινική δοκιμή πιλοτικής φάσης 2, στην οποία οι ασθενείς με FXS

τυχαιοποιήθηκαν αρχικά για να λάβουν, σε τιτλοποίηση δύο σταδίων, είτε λοβαστατίνη είτε μινοκυκλίνη για 8 εβδομάδες, ακολουθούμενη από διπλή θεραπεία με λοβαστατίνη 40 mg και μινοκυκλίνη 100 mg για 12 εβδομάδες. Οι κλινικές αξιολογήσεις πραγματοποιήθηκαν κατά την έναρξη, την εβδομάδα 8, 12 και 20 (12 εβδομάδες συνδυασμένης θεραπείας) καθώς και την εβδομάδα 24 (4 εβδομάδες μετά την ολοκλήρωση της δοκιμής). Ο συνδυασμός λοβαστατίνης και μινοκυκλίνης φάνηκε να είναι ασφαλής σε άτομα με FXS και να βελτιώνει αρκετά στοιχεία της συμπεριφοράς. Αυτά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα θέτουν το έδαφος για μεγαλύτερες κλινικές δοκιμές για να επιβεβαιωθούν τα ευεργετικά αποτελέσματα της συνδυασμένης θεραπείας.

2.7. Μετοφορμίνη

Η μετοφορμίνη είναι ένα διγουανίδιο με αντι-υπεργλυκαιμικές ιδιότητες, που διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και χρησιμοποιείται στη θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ) αλλά και για την απώλεια σωματικού βάρους (165). Ο μηχανισμός δράσης της μετοφορμίνης περιλαμβάνει τόσο εξαρτώμενα από την AMP ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση (AMPK) όσο και ανεξάρτητα από την AMPK σηματοδοτικά μονοπάτια (165,166). Η μετοφορμίνη ενεργοποιεί την AMPK, η οποία διεγείρει τα μιτοχόνδρια και αναστέλλει τα μονοπάτια mTOR και MEK-ERK, που ενισχύονται και τα δύο στο FXS (167) λόγω της απώλειας της FMRP. Μειώνει τη γλυκόζη στο αίμα διεγείροντας την περιφερική πρόσληψη γλυκόζης και αναστέλλοντας την ηπατική γλυκονεογένεση. Η μείωση της γλυκόζης αναστέλλει τον υποδοχέα ινσουλίνης που ενισχύεται στο FXS (167,168).

Προκλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η μετοφορμίνη βελτιώνει τα βασικά ελλείμματα σε ζωικά μοντέλα FXS. Μία μελέτη σε FMR1 KO ενήλικα μοντέλα ποντικών έδειξε ότι η μετοφορμίνη διόρθωσε πολλά φαινοτυπικά ελλείμματα, όπως οι επαναλαμβανόμενες συμπεριφορές, ο μακροορχιδισμός και κοινωνικά ελλείμματα (169). Η βελτίωση της κοινωνικής και γνωστικής συμπεριφοράς σε αυτά τα μοντέλα οφείλεται στην αναστολή του mTOR μονοπατιού μέσω της AMPK. Μία ακόμη πρόσφατη προκλινική μελέτη έδειξε ότι η μετοφορμίνη καταστέλλει την αυξημένη προσυναπτική απελευθέρωση των νευρώνων FMR1-KO και αναστέλλει την αυξημένη συσσώρευση της πρωτεΐνης της ενεργούς ζώνης Munc18-1, η οποία θεωρείται ότι μεταφράζεται τοπικά στις προσυνάψεις. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η μετοφορμίνη διορθώνει τόσο μετασυναπτικούς όσο και προσυναπτικούς

φαινότυπους αναστέλλοντας την υπερβολική μετάφραση στους νευρώνες FXS, παρέχοντας έτσι μια πιθανή θεραπεία στο FXS (170).

Τα αποτελέσματα των μελετών σε ζωικά μοντέλα με FXS ενθάρρυναν τις κλινικές μελέτες ασθενών με FXS, πρώτα σε εκείνους που εμφάνιζαν παχυσαρκία, συχνά με τον φαινότυπο Prader-Willi του FXS, με τα πρώτα κλινικά δεδομένα της αποτελεσματικότητας της μετορμίνης στο FXS να λαμβάνονται το 2017 (171). Σύμφωνα με αυτή τη μελέτη, επτά ασθενείς ηλικίας 4 έως 60 ετών με FXS υποβλήθηκαν κλινικά σε θεραπεία με μετορμίνη για τουλάχιστον 6 μήνες. Τα κλινικά δεδομένα έδειξαν ότι η μετορμίνη ήταν καλά ανεκτή σε ασθενείς με FXS, ακόμη και σε ένα παιδί 4 ετών. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν βελτιώσεις τόσο στη συμπεριφορά όσο και στον μεταβολισμό. Οι ασθενείς με FXS όχι μόνο είχαν βελτιωμένο βάρος και διατροφικές συνήθειες αλλά παρουσίασαν επίσης θετικές αλλαγές συμπεριφοράς σε τομείς όπως η ευερεθιστότητα, η υπερκινητικότητα, η κοινωνική αποφυγή και η επιθετικότητα. Παράλληλα, ενθαρρυντική ήταν και η ανατροφοδότηση από την οικογένεια σχετικά με βελτιώσεις στις γλωσσικές ικανότητες και στις δεξιότητες συνομιλίας (171). Μία πρόσθετη ανοιχτή κλινική μελέτη διενεργήθηκε σε εννέα παιδιά με FXS ηλικίας μεταξύ 2 και 7 ετών, τα οποία έλαβαν θεραπεία με μετορμίνη και παρακολούθηθηκαν για αλλαγές συμπεριφοράς και μεταβολισμού. Οι αναφορές των γονέων και οι αναπτυξιακές δοκιμές πριν και μετά τη μετορμίνη έδειξαν ότι υπήρξαν βελτιώσεις στη γλωσσική ανάπτυξη και συμπεριφορά (όπως λήθαργος και στερεοτυπία) στους περισσότερους ασθενείς. Αυτή η έκθεση αποκάλυψε την ανάγκη για μια ελεγχόμενη δοκιμή της μετορμίνης σε παιδιά με FXS κάτω των 7 ετών των οποίων οι εγκεφαλοι βρίσκονται σε ένα κρίσιμο αναπτυξιακό στάδιο και έτσι μπορεί να έχουν μεγαλύτερο βαθμό κλινικού οφέλους από τη μετορμίνη σε σύγκριση με τους μεγαλύτερους ασθενείς (172). Ακόμη, μεμονωμένες μελέτες περιστατικών έχουν δείξει απουσία μακροορχιδισμού μετά από 2 χρόνια μετορμίνης σε έναν έφηβο 14 ετών και βελτίωση στο IQ δύο ενήλικων ανδρών με FXS μετά από θεραπεία με μετορμίνη για περισσότερο από ένα χρόνο (173).

Μία πρόσφατη μελέτη, που δημοσιεύθηκε το 2020, συμπεριέλαβε δεκαεπτά συμμετέχοντες με FXS, 12 άνδρες και 5 γυναίκες, που έλαβαν κλινική θεραπεία με μετορμίνη ώστε να αξιολογήσει την ικανότητα των μοριακών βιοδεικτών να προβλέπουν φαινοτυπικές υποομάδες, τη σοβαρότητα των συμπτωμάτων και την ανταπόκριση στη θεραπεία με μετορμίνη σε ασθενείς με FXS που έλαβαν κλινική θεραπεία. Για τον σκοπό αυτό,

δοκιμάστηκε ειδικά μια συστοιχία πρωτεϊνών που αποτελείται από εξοκινάση 1 (HK1), RAS (όλες οι ισομορφές) και μεταλλοπρωτεϊνάση μήτρας 9 (MMP9) που προηγουμένως είχε αποδειχθεί ότι ήταν απορρυθμισμένες στο μοντέλο FMR1 KO ποντικού και σε δείγματα αίματος από ασθενή με FXS. Η διαταραχή στην αφθονία έκφρασης αυτών των πρωτεϊνών κανονικοποιήθηκε και συσχετίστηκε με σημαντική αυτοαναφερόμενη βελτίωση των κλινικών φαινοτύπων σε ένα υποσύνολο συμμετεχόντων με FXS. Τα προκαταρκτικά ευρήματα υποδηλώνουν ότι αυτές οι πρωτεΐνες έχουν ισχυρή μοριακή σχέση με την παθολογία του FXS, γεγονός που θα μπορούσε να τις κάνει χρήσιμους μοριακούς βιοδείκτες για αυτό το σύνδρομο και τις στοχευμένες θεραπείες του (174).

Μία ακόμη ανοιχτή μελέτη που περιελάμβανε 15 ασθενείς με FXS ηλικίας από 17 έως 44, που λάμβαναν 500 mg μετοφομίνης δύο φορές/ημερησίως σε περίοδο θεραπείας 9 εβδομάδων έδειξε ότι η θεραπεία με μετοφομίνη ήταν καλά ανεκτή και ασφαλής σε νορμογλυκαιμικούς ασθενείς με FXS και ανέδειξε τις δυνατότητες αυτού του φαρμάκου στην τροποποίηση της μεσολαβούμενης από το GABA αναστολής, χαρακτηριστικό της παθοφυσιολογίας του FXS (175).

Αποτελέσματα από την πρώτη τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη της μετοφομίνης (NCT03479476) η οποία αξιολογεί τόσο την ασφάλεια όσο και την αποτελεσματικότητα της μετοφομίνης στη θεραπεία γλωσσικών ελλειμμάτων και προβλημάτων συμπεριφοράς σε άτομα ηλικίας 6 και 40 ετών με FXS θα είναι διαθέσιμη το προσεχές χρονικό διάστημα. Επιπλέον, αυτή τη στιγμή διενεργούνται δύο ανοιχτές μελέτες για τη μετοφομίνη (NCT05120505, NCT03862950) σε παιδιά και παιδιά και ενήλικες με FXS αντίστοιχα. Η μετοφομίνη φαίνεται να είναι ισχυρός υποψήφιος για μια νέα στοχευμένη θεραπεία για το FXS.

2.8. Τροφινετίδη / NNZ-2566

Η Τροφινετίδη είναι ένα συνθετικό ανάλογο του αμινοτελικού τριπεπτιδίου του IGF-1 και έχει μελετηθεί εκτενώς ως θεραπεία για το σύνδρομο Rett (176,177). Μία προκλινική μελέτη της τροφινετίδης σε FMR1 KO ποντικούς, έδειξε ότι τα μεταλλαγμένα ποντίκια που δεν υποβλήθηκαν σε θεραπεία εμφάνισαν υπερκινητικότητα, δυσλειτουργία κοινωνικής συμπεριφοράς, μακροορχιδισμό, μειωμένα επίπεδα εγκεφαλικού IGF-1 και υπερενεργοποίηση

κινασών που ρυθμίζονται από εξωκυττάριο σήμα και Akt, δηλαδή τα ενδοκυτταρικά μόρια σηματοδότησης που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα. Στο μοντέλο ποντικού FMRP KO του FXS, η τροφινετίδη έδειξε βελτιώσεις στη σηματοδότηση MEK-ERK, τη νευρωνική δομή και την κοινωνική αναγνώριση, που οδηγούν σε βελτιώσεις στη συμπεριφορά και τη μορφολογία του FXS (178).

Αυτές οι προκαταρκτικές μελέτες οδήγησαν σε μια πολυκεντρική, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο φάσης 2 παράλληλη ομαδική μελέτη της ασφάλειας και της ανεκτικότητας της από του στόματος χορηγούμενης τροφινετίδης σε 72 έφηβους και ενήλικες άνδρες με FXS διάρκειας 28 ημερών (179). Οι ασθενείς κατανεμήθηκαν τυχαία σε αναλογία 1:1:1 σε 35 ή 70 mg/kg τροφινετίδη ή εικονικό φάρμακο δύο φορές την ημέρα για 28 ημέρες και η αποτελεσματικότητα φάνηκε στην ομάδα της υψηλότερης δόσης σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι η θεραπεία με τροφινετίδη μπορεί να προσφέρει κλινικά σημαντική βελτίωση στα βασικά συμπτώματα του συνδρόμου εύθραυστου X.

2.9 Μπλαρκαμεσίνη / Anavex 2-73

Η μπλαρκαμεσίνη είναι ένας αγωνιστής του υποδοχέα σίγμα-1 (S1R) που δρα μεταξύ του ενδοπλασματικού δικτύου και της μιτοχονδριακής μεμβράνης για να ομαλοποιήσει τη ρύθμιση του ασβεστίου, το οξειδωτικό στρες και τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που παρατηρείται σε πολλές μορφές ΔΑΦ. Μελέτες έχουν δείξει ότι είναι ασφαλής και αποτελεσματική σε ασθενείς με σύνδρομο Rett (180), νόσο του Alzheimer και άλλες συναπτικές νευροεκφυλιστικές και νευροαναπτυξιακές διαταραχές (181,182). Η χορήγηση της μπλακαμεσίνης σε FMR1 KO ποντίκια για 2 εβδομάδες οδήγησε σε βελτίωση πολλαπλών συμπεριφορών (υπερκινητικότητα, άγχος, επίμονη συμπεριφορά, συνειρμική μάθηση) και ομαλοποίηση των ανεπαρκών επιπέδων του BDNF στον ιππόκαμπο (183). Τα παρόντα ευρήματα των προκλινικών δοκιμών υποστηρίζουν τη βιωσιμότητα του S1R ως θεραπευτικού στόχου στο FXS και το κλινικό δυναμικό της μπλακαμεσίνης στο FXS και άλλες νευροαναπτυξιακές διαταραχές.

2.10 Πεπτίδια στη θεραπεία του συνδρόμου εύθραυστου Χ

Την τελευταία δεκαετία, σοβαρές παθολογικές καταστάσεις αντιμετωπίζονται με πεπτίδια, ενώ τα κύρια πεδία στα οποία αναπτύσσονται επί του παρόντος θεραπευτικά πεπτίδια είναι η ογκολογία, οι μεταβολικές ασθένειες και οι φλεγμονές (184). Ωστόσο, αυτού του είδους η προσέγγιση δεν έχει εφαρμοστεί ποτέ στο σύνδρομο εύθραυστου Χ για την αποκατάσταση της ανισορροπίας στη σύνθεση πρωτεϊνών. Τα πεπτίδια αντιπροσωπεύουν μια ελκυστική φαρμακευτική πηγή λόγω των εξαιρετικών ιδιοτήτων τους, δηλαδή της υψηλής εκλεκτικότητας, της ασφάλειας, της ανεκτικότητας και της χαμηλότερης πολυπλοκότητας σύνθεσης που με τη σειρά της οδηγεί σε χαμηλότερο κόστος παραγωγής σε σύγκριση με άλλα φαρμακευτικά μόρια (185–187). Ωστόσο, τα πεπτίδια γενικά, και επομένως η πιθανή εφαρμογή τους έναντι του συνδρόμου εύθραυστου Χ, έχουν αρκετές αδυναμίες που είναι απαραίτητο να συζητηθούν. Η κακή *in vivo* σταθερότητα, η μη διαπερατότητα της μεμβράνης και η τοξικότητα θεωρούνται ευρέως ως κύρια μειονεκτήματα στην τεχνολογία πεπτιδίων. Αρκετές από αυτές τις πτυχές έχουν διευθετηθεί επιτυχώς τα τελευταία χρόνια μέσω των νέων τεχνολογιών που είναι διαθέσιμες στον τομέα του σχεδιασμού πεπτιδίων: νέα εργαλεία βιοπληροφορικής σε συνδυασμό με άλλες προσεγγίσεις όπως ο εικονικός έλεγχος, ο σχεδιασμός φαρμάκων βάσει δομής, ο έλεγχος υψηλής απόδοσης και χημικές στρατηγικές παρέχουν μια ολοκληρωμένη φαρμακολογική περιγραφή των υποτιθέμενων πεπτιδίων, βελτιώνοντας τα χημικά και φυσικά χαρακτηριστικά τους (186–188). Επιπλέον, η θεραπεία νευροαναπτυξιακών διαταραχών, όπως το σύνδρομο εύθραυστου Χ, απαιτεί τη μεταφορά μορίων στον εγκέφαλο, διαπερνώντας τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, γεγονός που θα μπορούσε να περιορίσει την πρόσβαση των πεπτιδίων στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Από αυτή την άποψη, μια στρατηγική για να ξεπεραστούν αυτά τα ζητήματα θα μπορούσε να είναι η διερεύνηση άλλων μεθόδων χορήγησης φαρμάκων, π.χ. η μη επεμβατική ενδορινική χορήγηση (189). Η άμεση πρόσβαση στο ΚΝΣ επιτρέπει να ξεπεραστούν οι περιορισμοί που σχετίζονται με την αποδόμηση, τα προβλήματα βιοδιαθεσιμότητας και επίσης με πιθανές συστηματικές παρενέργειες που εμφανίζονται εάν υπάρχουν πεπτίδια στα αιμοφόρα αγγεία μετά από ενδοφλέβια χορήγηση. Επιπρόσθετα, έχουν αναπτυχθεί διάφορες στρατηγικές για την ειδική χορήγηση πεπτιδίων σε περιοχές στόχους του ΚΝΣ, όπως οι κυκλοδεξτρίνες (189), με αποτέλεσμα χαμηλότερη δόση πεπτιδίων, μειώνοντας επίσης τα προβλήματα τοξικότητας που έχουν αποδειχθεί στα ευκαρυωτικά κύτταρα (190,191).

Επιπλέον στα πλεονεκτήματα συγκαταλέγεται το γεγονός ότι η θεραπεία με πεπτίδια δεν θα ήταν μια χρόνια παρέμβαση, αλλά αυτά τα μόρια θα χορηγούνταν μόνο σε περιορισμένη χρονική περίοδο κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής των παιδιών με σύνδρομο εύθραυστου X, περίοδος κατά την οποία ο εγκέφαλος αναδιαρθρώνεται ακόμη, για να επιτραπεί ο σωστός σχηματισμός του συναπτικού δικτύου. Ως εκ τούτου, τα πεπτίδια θα μπορούσαν να αντισταθμίσουν την ανεπάρκεια FMRP αποκαθιστώντας την ανισορροπία της πρωτεϊνοσύνθεσης, προτείνοντας μια νέα και πολλά υποσχόμενη στρατηγική για τη θεραπεία του συνδρόμου εύθραυστου X.

2.11 Τα μη κωδικά μόρια RNAs (ncRNAs) στη θεραπεία του συνδρόμου του εύθραυστου X

Ένας από τους πιο υποσχόμενους τομείς για την ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων θεραπείας για το σύνδρομο εύθραυστου X είναι η μελέτη των μη κωδικών μορίων RNAs (ncRNAs). Αν και η χρήση των ncRNAs στη θεραπεία του FXS βρίσκεται ακόμη στο στάδιο της ανάπτυξης, έχει ήδη τεράστιες δυνατότητες, ειδικά λαμβάνοντας υπόψη τη συμμετοχή μικρών και μεγάλων μη κωδικών RNAs στη μεθυλίωση του DNA και στην αναδιαμόρφωση της δομής της χρωματίνης, συμμετέχοντας στη ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων και της σταθερότητας του γονιδιώματος (192). Τα ncRNA, εκτός από το να συμμετέχουν σε νευροβιολογικές διαδρομές που εξαρτώνται από την FMRP, ρυθμίζουν και την έκφρασή της. Πιο συγκεκριμένα, η FMRP εμπλέκεται στην οδό παρεμβολής RNA (RNAi) (193). Οι Jin P. et al, εισήγαγαν δίκλιωνα RNA που περιέχουν περίπου 200 επαναλήψεις CGG σε κύτταρα, τα οποία μπορούν να διασπαστούν από RNAσες. Αυτά τα μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (siRNA) συνδέονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν το σύμπλοκο αποσιώπησης της μεταγραφής γονιδίων (RITS), το οποίο συνδέεται μέσω συμπληρωματικότητας βάσεων σε ομόλογες αλληλουχίες. Το ίδιο σύμπλοκο στρατολογεί ένζυμα τα οποία μεθυλιώνουν τις ιστόνες και καλούνται μεθυλοτρανσφεράσες, οδηγώντας στη δημιουργία ετεροχρωματίνης και στην καταστολή της μεταγραφής του *FMR1* (194). Σε κυτταρικές σειρές ασθενών που δε φέρουν την πλήρη μετάλλαξη, όπως και σε κύτταρα πρότυπων οργανισμών αποδείχθηκε ότι συγκεκριμένα μικρά RNA (miRNA) μειώνουν την έκφραση του mRNA του *FMR1* γονιδίου, κυρίως μέσω δέσμευσής του στην 3' αμετάφραστη περιοχή (195–197). Μια άλλη κατηγορία

μη κωδικών RNA, τα μεγάλα μη κωδικά RNA (lncRNA) έχουν συσχετιστεί με τροποποιήσεις της δομής της χρωματίνης, οι οποίες οδηγούν σε ρύθμιση της μεταγραφής του γονιδίου *FMR1* (192,198,199).

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα μη κωδικά RNA δρουν κυρίως ως αρνητικοί ρυθμιστές της έκφρασης της FMRP. Ως εκ τούτου, οι πιο υποσχόμενες μέθοδοι θεραπείας στο FXS μπορεί να περιλαμβάνουν τη χρήση παραγόντων που αναστέλλουν τη δράση των μικρών RNA και άλλων που μπορούν να μειώσουν το επίπεδο μεθυλίωσης των επαναλήψεων CGG, ωστόσο οι συγκεκριμένες προσεγγίσεις είναι ακόμα υπό διερεύνηση. Και οι δύο προσεγγίσεις μπορεί να επηρεάσουν την κύρια αιτία της νόσου. Έτσι, η μελέτη των μη κωδικών RNA είναι ένας από τους πιο πολλά υποσχόμενους τομείς για την ανάπτυξη αποτελεσματικών μεθόδων θεραπείας στο FXS.

2. 12 Η γονιδιακή θεραπεία στο Σύνδρομο εύθραυστου X

Η γονιδιακή θεραπεία είναι ένας από τους πιο υποσχόμενους τομείς της σύγχρονης βιοτεχνολογίας και της ιατρικής. Αν και αυτή η θεραπεία δεν είναι διαθέσιμη για χρήση από τους κλινικούς ιατρούς στους ασθενείς τους, συναρπαστικές ερευνητικές μελέτες, ιδιαίτερα μετά την πρόοδο της τεχνολογίας CRISPR/Cas9 έχουν γίνει διαθέσιμες. Η πιθανότητα εισαγωγής ενός φυσιολογικού γονιδίου ή πρωτεΐνης στο ΚΝΣ για τη θεραπεία νευροαναπτυξιακών διαταραχών όπου η μετάλλαξη είναι γνωστή, όπως συμβαίνει και στο σύνδρομο εύθραυστου X, είναι συναρπαστική. Μέχρι σήμερα, πολλές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει κυτταρικά και ζωικά μοντέλα για να καταδείξουν τη δυνατότητα γονιδιακής θεραπείας στη θεραπεία διαφόρων διαταραχών. Επιπλέον, μέθοδοι γονιδιακής θεραπείας εισάγονται επί του παρόντος στην κλινική πράξη, ενώ πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει τις δυνατότητες των τεχνολογιών γονιδιακής θεραπείας για τη θεραπεία του συνδρόμου εύθραυστου X. Πρώιμες μελέτες ανέφεραν ότι η ενίσχυση της έκφρασης της FMRP σε FMR1-KO μοντέλα ποντικών μπορεί να διασώσει ορισμένες πτυχές του φαινοτύπου, όπως ο μακροορχιδισμός, μειώνοντας έτσι το άγχος και την πιθανότητα εμφάνισης επιληπτικών κρίσεων. Για παράδειγμα, ανθρώπινο cDNA του *FMR1* γονιδίου ή ένα τεχνητό χρωμόσωμα ζυμομύκητα που περιέχει ολόκληρο το γονίδιο *FMR1* εισήχθη σε ποντίκια για να προκληθεί

έκφραση FMRP (200–202). Μια στρατηγική που αναπτύχθηκε σε πιο πρόσφατες μελέτες είναι η χρήση ανασυνδυασμένων αδενο-σχετιζόμενων ιών που περιέχουν την κωδικοποιητική αλληλουχία του *FMR1* γονιδίου (203–205).

Η γονιδιακή θεραπεία έχει δημιουργήσει τα πιο ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην επανενεργοποίηση του γονιδίου *FMR1* μέσω της άμεσης επεξεργασίας των επαναλήψεων CGG (206,207) ή της παροχής ενζύμων που επάγουν την απομεθυλίωση (208). Η πιο πρόσφατη τεχνολογία που αναπτύχθηκε για τη γονιδιακή θεραπεία είναι η γονιδιακή επεξεργασία χρησιμοποιώντας CRISPR/Cas9. Η εφαρμογή της τεχνολογίας CRISPR για το σύνδρομο του εύθραυστου X έχει δοκιμαστεί από πολλές ομάδες. Η διαγραφή των επαναλήψεων CGG σε ανθρώπινα επαγόμενα πολυδύναμα βλαστοκύτταρα (iPSCs) που φέρουν πλήρη μετάλλαξη του γονιδίου *FMR1* αποδείχθηκε *in vitro* (206,207). Η αντιστροφή της υπερμεθυλίωσης των επαναλήψεων CGG μέσω dCas9-Tet1/sgRNA είναι μια άλλη προσέγγιση για την επανενεργοποίηση του *FMR1* γονιδίου σε iPSC *in vitro* (208). Το dCas9-Tet1 είναι ένα εργαλείο επεξεργασίας που περιλαμβάνει καταλυτικά απενεργοποιημένο Cas9 (dCas9) και Tet1, ένα ένζυμο που προκαλεί απομεθυλίωση των κυτοσινών. Η στοχευμένη απομεθυλίωση μέσω αυτής της μεθόδου επανενεργοποίησε την έκφραση του *FMR1* γονιδίου και ανέστρεψε την αυθόρμητη υπερδραστηριότητα (208).

Λόγω των υποσχόμενων αποτελεσμάτων σε κυτταρικές σειρές και ζωικά μοντέλα, η κλινική εφαρμογή της επεξεργασίας γονιδιώματος σε ασθενείς με FXS είναι υπό συζήτηση. Το κύριο μέλημα για την επιδίωξη αυτής της προσέγγισης είναι η διασφάλιση μιας ασφαλούς και αποτελεσματικής μεθόδου παροχής στον εγκέφαλο, και αυτό το ζήτημα ήδη αντιμετωπίζεται. Πράγματι, η γονιδιακή θεραπεία για το σύνδρομο εύθραυστου X απαιτεί περαιτέρω έρευνα. Ωστόσο, μεταξύ των προσεγγίσεων για τη θεραπεία του συνδρόμου, η γονιδιακή θεραπεία έχει τις μεγαλύτερες δυνατότητες για την ανάπτυξη αποτελεσματικών φαρμάκων που θα μπορούσαν να θεραπεύσουν το σύνδρομο εύθραυστου X στο εγγύς μέλλον.

3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η γνώση για το σύνδρομο εύθραυστου X έχει αυξηθεί σημαντικά την τελευταία δεκαετία. Παραμένει μεγάλη ανάγκη για ασφαλείς και αποτελεσματικές θεραπείες, ιδιαίτερα για στοχευμένες θεραπείες που ξεπερνούν τη διαχείριση των συμπτωμάτων και στοχεύουν τις παθοφυσιολογικές ανωμαλίες που αποτελούν τη βάση των πιο κοινών

εκδηλώσεων. Σήμερα, υπάρχει ένας αυξανόμενος αριθμός κλινικά διαθέσιμων φαρμάκων για στοχευμένη θεραπεία που μπορεί να αντιστρέψει τις νευροβιολογικές ανωμαλίες όπως τεκμηριώνονται από ζωικά μοντέλα. Αυτές οι στοχευμένες θεραπείες, με τα πολλά υποσχόμενα αποτελέσματά τους σε ζωικά μοντέλα FXS και κλινικές ρυθμίσεις, αναδεικνύονται ως ο ακρογωνιαίος λίθος στη φαρμακολογική θεραπεία του FXS. Εδώ εξετάσαμε αρκετές προσδιοριζόμενες στοχευμένες θεραπείες που είναι διαθέσιμες κλινικά και μπορούν να συνταγογραφηθούν για ασθενείς με FXS. Πολλά από αυτά τα φάρμακα υπόκεινται επί του παρόντος σε τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες δοκιμές, ώστε να τεκμηριωθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητά τους. Για τα άτομα που ξεκινούν τέτοιες θεραπείες νωρίς στη ζωή τους, οι μακροχρόνιες μελέτες παρακολούθησης ελπίζουμε ότι θα δείξουν αντιστροφή πολλών από τα συμπτώματα του FXS. Δεδομένου ότι πολλά μονοπάτια και πρωτεΐνες διαταράσσονται απουσία FMRP, είναι πιθανό ότι ένας συνδυασμός φαρμάκων θα είναι ωφέλιμος σε εκείνους με σύνδρομο εύθραυστου X. Κάποια στιγμή στο μέλλον, είναι πιθανό ότι η θεραπεία με πεπτίδια και οι τεχνικές επεξεργασίας γονιδίων μπορεί επίσης να γίνουν διαθέσιμες για τη θεραπεία του FXS.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Reches A. Fragile X Syndrome: Introduction. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2019 [cited 2023 Jan 29];1942:3–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30900171/>
2. Coleman J, Riley K. Fragile X Syndrome. *Encycl Infant Early Child Dev* [Internet]. 2022 Jun 29 [cited 2022 Aug 14];647–54. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459243/>
3. Fragile X Syndrome - StatPearls - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2022 Aug 14]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459243/>
4. Oostra BA, Willemsen R. FMR1: a gene with three faces. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2009 Jun [cited 2022 Sep 7];1790(6):467–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19233246/>
5. Salcedo-Arellano MJ, Hagerman RJ, Martínez-Cerdeño V. Síndrome X frágil: presentación clínica, patología y tratamiento [Internet]. Vol. 156, *Gaceta medica de Mexico*. Gac Med Mex; 2020 [cited 2022 Apr 28]. p. 60–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32026885/>
6. Protic DD, Aishworiya R, Salcedo-Arellano MJ, Tang SJ, Milisavljevic J, Mitrovic F, et al. Fragile X Syndrome: From Molecular Aspect to Clinical Treatment. *Int J Mol Sci*

- [Internet]. 2022 Feb 1 [cited 2023 Jan 28];23(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35216055/>
7. Hagerman RJ, Hagerman PJ. Fragile X Syndrome: Lessons Learned and What New Treatment Avenues Are on the Horizon. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2022 Jan 6 [cited 2022 Apr 28];62:365–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34499526/>
 8. Ramírez-Cheyne JA, Duque GA, Ayala-Zapata S, Saldarriaga-Gil W, Hagerman P, Hagerman R, et al. Fragile X syndrome and connective tissue dysregulation. *Clin Genet* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2023 Jan 28];95(2):262–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30414172/>
 9. Hinton R, Budimirovic DB, Marschik PB, Talisa VB, Einspieler C, Gipson T, et al. Parental reports on early language and motor milestones in fragile X syndrome with and without autism spectrum disorders. *Dev Neurorehabil* [Internet]. 2013 [cited 2023 Jan 29];16(1):58–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23249372/>
 10. Thurman AJ, McDuffie A, Hagerman R, Abbeduto L. Psychiatric symptoms in boys with fragile X syndrome: a comparison with nonsyndromic autism spectrum disorder. *Res Dev Disabil* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jan 28];35(5):1072–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24629733/>
 11. Mental status of females with an FMR1 gene full mutation - PubMed [Internet]. [cited 2023 Jan 28]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8651263/>
 12. Hagerman RJ, Hagerman PJ. Fragile X Syndrome and Premutation Disorders: New Developments and Treatments Edited by Randi J Hagerman and Paul J Hagerman. London: Mac Keith Press, 2020. £75.00 (Hardback), pp 176. ISBN: 9781911612377. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2023 Jan 28];63(1):119–119. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/dmcn.14726>
 13. Hagerman RJ, Berry-Kravis E, Hazlett HC, Bailey DB, Moine H, Kooy RF, et al. Fragile X syndrome. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2017 Sep 29 [cited 2023 Jan 28];3(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28960184/>
 14. Budimirovic DB, Protic D, Toma AE. Fragile X syndrome: leading the way as the most common monogenic form of autism spectrum disorder and the most translated among neurodevelopmental disorders in clinical trials. *J Clin Genet Genomics* [Internet]. 2017 Nov 7 [cited 2023 Jan 28];1(1). Available from: <https://www.pulsus.com/scholarly-articles/fragile-x-syndrome-leading-the-way-as-the-most-common-monogenic-form-of-autism-spectrum-disorder-and-the-most-translated-among-neu-3841.html>
 15. Budimirovic DB, Kaufmann WE. What can we learn about autism from studying fragile X syndrome? *Dev Neurosci* [Internet]. 2011 Nov [cited 2023 Jan 28];33(5):379–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21893949/>
 16. McDuffie A, Thurman AJ, Hagerman RJ, Abbeduto L. Symptoms of Autism in Males with Fragile X Syndrome: A Comparison to Nonsyndromic ASD Using Current ADI-R Scores. *J Autism Dev Disord* [Internet]. 2015 Jul 19 [cited 2023 Jan 28];45(7):1925–37. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24414079/>

17. Kaufmann WE, Kidd SA, Andrews HF, Budimirovic DB, Esler A, Haas-Givler B, et al. Autism Spectrum Disorder in Fragile X Syndrome: Cooccurring Conditions and Current Treatment. *Pediatrics* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2023 Jan 28];139(Suppl 3):S194–206. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28814540/>
18. Cordeiro L, Ballinger E, Hagerman R, Hessel D. Clinical assessment of DSM-IV anxiety disorders in fragile X syndrome: prevalence and characterization. *J Neurodev Disord* [Internet]. 2011 [cited 2023 Jan 29];3(1):57–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21475730/>
19. Berry-Kravis EM, Hessel D, Rathmell B, Zarevics P, Cherubini M, Walton-Bowen K, et al. Effects of STX209 (arbaclofen) on neurobehavioral function in children and adults with fragile X syndrome: a randomized, controlled, phase 2 trial. *Sci Transl Med* [Internet]. 2012 Sep 19 [cited 2023 Jan 29];4(152). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22993294/>
20. Greiss Hess L, Fitzpatrick SE, Nguyen D V., Chen Y, Gaul KN, Schneider A, et al. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Low-Dose Sertraline in Young Children With Fragile X Syndrome. *J Dev Behav Pediatr* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2023 Jan 29];37(8):619–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27560971/>
21. Berry-Kravis E, Raspa M, Loggin-Hester L, Bishop E, Holiday D, Bailey DB. Seizures in fragile X syndrome: characteristics and comorbid diagnoses. *Am J Intellect Dev Disabil* [Internet]. 2010 Nov [cited 2023 Jan 29];115(6):461–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20945999/>
22. Pieretti M, Zhang F, Fu YH, Warren ST, Oostra BA, Caskey CT, et al. Absence of expression of the FMR-1 gene in fragile X syndrome. *Cell* [Internet]. 1991 Aug 23 [cited 2023 Jan 29];66(4):817–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1878973/>
23. Verkerk AJMH, Pieretti M, Sutcliffe JS, Fu YH, Kuhl DPA, Pizzuti A, et al. Identification of a gene (FMR-1) containing a CGG repeat coincident with a breakpoint cluster region exhibiting length variation in fragile X syndrome. *Cell* [Internet]. 1991 May 31 [cited 2023 Jan 29];65(5):905–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1710175/>
24. Oberlé I, Rousseau F, Heitz D, Kretz C, Devys D, Hanauer A, et al. Instability of a 550-base pair DNA segment and abnormal methylation in fragile X syndrome. *Science* [Internet]. 1991 [cited 2023 Jan 29];252(5009):1097–102. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2031184/>
25. Mila M, Alvarez-Mora MI, Madrigal I, Rodriguez-Revenga L. Fragile X syndrome: An overview and update of the FMR1 gene. *Clin Genet* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2023 Jan 29];93(2):197–205. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28617938/>
26. Nolin SL, Brown WT, Glicksman A, Houck GE, Gargano AD, Sullivan A, et al. Expansion of the fragile X CGG repeat in females with premutation or intermediate alleles. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2003 Feb 1 [cited 2023 Jan 29];72(2):454–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12529854/>
27. Fernandez-Carvajal I, Posadas BL, Pan R, Raske C, Hagerman PJ, Tassone F. Expansion of an FMR1 grey-zone allele to a full mutation in two generations. *J Mol Diagnostics*

- [Internet]. 2009 [cited 2023 Jan 29];11(4):306–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19525339/>
28. Yrigollen CM, Durbin-Johnson B, Gane L, Nelson DL, Hagerman R, Hagerman PJ, et al. AGG interruptions within the maternal FMR1 gene reduce the risk of offspring with fragile X syndrome. *Genet Med* [Internet]. 2012 Aug [cited 2023 Jan 29];14(8):729–36. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22498846/>
 29. Pietrobono R, Tabolacci E, Zalfa F, Zito I, Terracciano A, Moscato U, et al. Molecular dissection of the events leading to inactivation of the FMR1 gene. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2005 Jan 15 [cited 2023 Jan 29];14(2):267–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15563507/>
 30. Tabolacci E, Moscato U, Zalfa F, Bagni C, Chiurazzi P, Neri G. Epigenetic analysis reveals a euchromatic configuration in the FMR1 unmethylated full mutations. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2008 [cited 2023 Jan 30];16(12):1487–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18628788/>
 31. Kumari D, Usdin K. Interaction of the transcription factors USF1, USF2, and alpha - Pal/Nrf-1 with the FMR1 promoter. Implications for Fragile X mental retardation syndrome. *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Feb 9 [cited 2023 Jan 30];276(6):4357–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11058604/>
 32. Coffee B, Zhang F, Warren ST, Reines D. Acetylated histones are associated with FMR1 in normal but not fragile X-syndrome cells. *Nat Genet* [Internet]. 1999 May [cited 2023 Jan 30];22(1):98–101. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10319871/>
 33. Pretto D, Yrigollen CM, Tang HT, Williamson J, Espinal G, Iwahashi CK, et al. Clinical and molecular implications of mosaicism in FMR1 full mutations. *Front Genet* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jan 30];5(SEP). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25278957/>
 34. Myrick LK, Nakamoto-Kinoshita M, Lindor NM, Kirmani S, Cheng X, Warren ST. Fragile X syndrome due to a missense mutation. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2014 Oct 11 [cited 2023 Jan 30];22(10):1185–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24448548/>
 35. Darnell JC, Richter JD. Cytoplasmic RNA-binding proteins and the control of complex brain function. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2012 Aug [cited 2023 Jan 30];4(8). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22723494/>
 36. Willemsen R, Bontekoe C, Tamanini F, Galjaard H, Hoogeveen A, Oostra B. Association of FMRP with ribosomal precursor particles in the nucleolus. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 1996 Aug 5 [cited 2023 Jan 30];225(1):27–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8769090/>
 37. 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* [Internet]. 2011 Jul 22 [cited 2023 Jan 30];146(2):247–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21784246/>

38. Brown V, Jin P, Ceman S, Darnell JC, O'Donnell WT, Tenenbaum SA, et al. Microarray identification of FMRP-associated brain mRNAs and altered mRNA translational profiles in fragile X syndrome. *Cell* [Internet]. 2001 Nov 16 [cited 2023 Jan 30];107(4):477–87. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11719188/>
39. Chen L, Yun SW, Seto J, Liu W, Toth M. The fragile X mental retardation protein binds and regulates a novel class of mRNAs containing u rich target sequences. *Neuroscience* [Internet]. 2003 Sep 15 [cited 2023 Jan 30];120(4):1005–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12927206/>
40. Miyashiro KY, Beckel-Mitchener A, Purk TP, Becker KG, Barret T, Liu L, et al. RNA cargoes associating with FMRP reveal deficits in cellular functioning in Fmr1 null mice. *Neuron* [Internet]. 2003 Feb 6 [cited 2023 Jan 30];37(3):417–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12575950/>
41. Bear MF, Huber KM, Warren ST. The mGluR theory of fragile X mental retardation. *Trends Neurosci* [Internet]. 2004 [cited 2023 Jun 5];27(7):370–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15219735/>
42. Gross C, Berry-Kravis EM, Bassell GJ. Therapeutic strategies in fragile X syndrome: dysregulated mGluR signaling and beyond. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2012 Jan [cited 2023 Jun 5];37(1):178–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21796106/>
43. Cheng GR, Li XY, Xiang YD, Liu D, McClintock SM, Zeng Y. The implication of AMPA receptor in synaptic plasticity impairment and intellectual disability in fragile X syndrome. *Physiol Res* [Internet]. 2017 [cited 2023 Jun 5];66(5):715–27. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28730825/>
44. Soong HK, Markham JA, Weiler IJ, Greenough WT. Aberrant early-phase ERK inactivation impedes neuronal function in fragile X syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2008 Mar 18 [cited 2023 Jun 5];105(11):4429–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18332424/>
45. Matic K, Eninger T, Bardoni B, Davidovic L, Macek B. Quantitative phosphoproteomics of murine Fmr1-KO cell lines provides new insights into FMRP-dependent signal transduction mechanisms. *J Proteome Res* [Internet]. 2014 Oct 3 [cited 2023 Jun 5];13(10):4388–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25168779/>
46. Curia G, Gualtieri F, Bartolomeo R, Vezzali R, Biagini G. Resilience to audiogenic seizures is associated with p-ERK1/2 dephosphorylation in the subiculum of Fmr1 knockout mice. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 2013 Apr 3 [cited 2023 Jun 5];7(APR). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23630463/>
47. Bilousova T V., Dansie L, Ngo M, Aye J, Charles JR, Ethell DW, et al. Minocycline promotes dendritic spine maturation and improves behavioural performance in the fragile X mouse model. *J Med Genet* [Internet]. 2009 Feb [cited 2023 Jun 5];46(2):94–102. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18835858/>
48. Dansie LE, Phommahaxay K, Okusanya AG, Uwadia J, Huang M, Rotschafer SE, et al. Long-lasting effects of minocycline on behavior in young but not adult Fragile X mice.

- Neuroscience [Internet]. 2013 Aug 29 [cited 2023 Jun 5];246:186–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23660195/>
49. Michaluk P, Wawrzyniak M, Alot P, Szczot M, Wyrembek P, Mercik K, et al. Influence of matrix metalloproteinase MMP-9 on dendritic spine morphology. *J Cell Sci* [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2023 Jun 5];124(Pt 19):3369–80. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21896646/>
 50. Kim SW, Cho KJ. Activity-dependent alterations in the sensitivity to BDNF-TrkB signaling may promote excessive dendritic arborization and spinogenesis in fragile X syndrome in order to compensate for compromised postsynaptic activity. *Med Hypotheses* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 5];83(4):429–35. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25113167/>
 51. Castrén M, Lampinen KE, Miettinen R, Koponen E, Sipola I, Bakker CE, et al. BDNF regulates the expression of fragile X mental retardation protein mRNA in the hippocampus. *Neurobiol Dis* [Internet]. 2002 [cited 2023 Jun 5];11(1):221–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12460560/>
 52. Sharma A, Hoeffer CA, Takayasu Y, Miyawaki T, McBride SM, Klann E, et al. Dysregulation of mTOR signaling in fragile X syndrome. *J Neurosci* [Internet]. 2010 Jan 13 [cited 2023 Jun 5];30(2):694–702. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20071534/>
 53. Price TJ, Rashid MH, Millicamps M, Sanoja R, Entrena JM, Cervero F. Decreased nociceptive sensitization in mice lacking the fragile X mental retardation protein: role of mGluR1/5 and mTOR. *J Neurosci* [Internet]. 2007 Dec 19 [cited 2023 Jun 5];27(51):13958–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18094233/>
 54. Centonze D, Rossi S, Mercaldo V, Napoli I, Ciotti MT, De Chiara V, et al. Abnormal striatal GABA transmission in the mouse model for the fragile X syndrome. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2008 May 15 [cited 2023 Jun 5];63(10):963–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18028882/>
 55. Curia G, Papouin T, Séguéla P, Avoli M. Downregulation of tonic GABAergic inhibition in a mouse model of fragile X syndrome. *Cereb Cortex* [Internet]. 2009 Jul [cited 2023 Jun 5];19(7):1515–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18787232/>
 56. D’Hulst C, De Geest N, Reeve SP, Van Dam D, De Deyn PP, Hassan BA, et al. Decreased expression of the GABAA receptor in fragile X syndrome. *Brain Res* [Internet]. 2006 Nov 22 [cited 2023 Jun 5];1121(1):238–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17046729/>
 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* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2023 Jun 16];141:3–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30905341/>
 58. Di Marino D, Achsel T, Lacoux C, Falconi M, Bagni C. Molecular dynamics simulations show how the FMRP Ile304Asn mutation destabilizes the KH2 domain structure and affects its function. *J Biomol Struct Dyn* [Internet]. 2014 Mar 4 [cited 2023 Jun

- 16];32(3):337–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23527791/>
59. Napoli I, Mercaldo V, Boyl PP, Eleuteri B, Zalfa F, De Rubeis S, et al. The fragile X syndrome protein represses activity-dependent translation through CYFIP1, a new 4E-BP. *Cell* [Internet]. 2008 Sep 19 [cited 2023 Jun 16];134(6):1042–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18805096/>
60. Di Marino D, Chillemi G, De Rubeis S, Tramontano A, Achsel T, Bagni C. MD and Docking Studies Reveal That the Functional Switch of CYFIP1 is Mediated by a Butterfly-like Motion. *J Chem Theory Comput* [Internet]. 2015 Apr 20 [cited 2023 Jun 16];11(7):3401–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26575774/>
61. Di Marino D, D’Annessa I, Tancredi H, Bagni C, Gallicchio E. A unique binding mode of the eukaryotic translation initiation factor 4E for guiding the design of novel peptide inhibitors. *Protein Sci* [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2023 Jun 16];24(9):1370–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26013047/>
62. Sonenberg N, Hinnebusch AG. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. *Cell* [Internet]. 2009 Feb 20 [cited 2023 Jun 16];136(4):731–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19239892/>
63. Merrick WC, Pavitt GD. Protein Synthesis Initiation in Eukaryotic Cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2023 Jun 16];10(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29735639/>
64. Gruner S, Weber R, Peter D, Chung MY, Igreja C, Valkov E, et al. Structural motifs in eIF4G and 4E-BPs modulate their binding to eIF4E to regulate translation initiation in yeast. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2018 Jul 27 [cited 2023 Jun 16];46(13):6893–908. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30053226/>
65. Igreja C, Peter D, Weiler C, Izaurralde E. 4E-BPs require non-canonical 4E-binding motifs and a lateral surface of eIF4E to repress translation. *Nat Commun* [Internet]. 2014 Sep 2 [cited 2023 Jun 16];5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25179781/>
66. De Rubeis S, Bagni C. Fragile X mental retardation protein control of neuronal mRNA metabolism: Insights into mRNA stability. *Mol Cell Neurosci* [Internet]. 2010 Jan [cited 2023 Jun 16];43(1):43–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19837168/>
67. Mikiko CS, Siomi H, Sauer WH, Srinivasan S, Nussbaum RL, Dreyfuss G. FXR1, an autosomal homolog of the fragile X mental retardation gene. *EMBO J* [Internet]. 1995 [cited 2023 Jun 16];14(11):2401–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7781595/>
68. Verhell C, De Graaff Graaff E, Bakker CE, Willemsen R, Willems PJ, Meijer N, et al. Characterization of FMR1 proteins isolated from different tissues. *Hum Mol Genet* [Internet]. 1995 May [cited 2023 Jan 30];4(5):895–901. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7633450/>
69. Fmr1 knockout mice: a model to study fragile X mental retardation. The Dutch-Belgian Fragile X Consortium - PubMed [Internet]. [cited 2023 Jan 30]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8033209/>

70. Kooy RF. Of mice and the fragile X syndrome. *Trends Genet* [Internet]. 2003 Mar 1 [cited 2023 Jun 17];19(3):148–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12615009/>
71. Hagerman RJ, Des-Portes V, Gasparini F, Jacquemont S, Gomez-Mancilla B. Translating molecular advances in fragile X syndrome into therapy: a review. *J Clin Psychiatry* [Internet]. 2014 Apr 15 [cited 2023 Jun 17];75(4):e294–307. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24813413/>
72. Lagerbauer B, Ostareck D, Keidel EM, Ostareck-Lederer A, Fischer U. Evidence that fragile X mental retardation protein is a negative regulator of translation. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2001 Feb 15 [cited 2023 Jan 30];10(4):329–38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11157796/>
73. Noto V, Harritty C, Walsh D, Marron K. The impact of FMR1 gene mutations on human reproduction and development: a systematic review. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2023 Jan 30];33(9):1135–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27432256/>
74. Pan F, Aldridge GM, Greenough WT, Gan WB. Dendritic spine instability and insensitivity to modulation by sensory experience in a mouse model of fragile X syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010 Oct 12 [cited 2023 Jun 5];107(41):17768–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20861447/>
75. Hinton VJ, Brown WT, Wisniewski K, Rudelli RD. Analysis of neocortex in three males with the fragile X syndrome. *Am J Med Genet* [Internet]. 1991 [cited 2023 Jun 5];41(3):289–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1724112/>
76. Comery TA, Harris JB, Willems PJ, Oostra BA, Irwin SA, Weiler IJ, et al. Abnormal dendritic spines in fragile X knockout mice: maturation and pruning deficits. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1997 May 13 [cited 2023 Jun 5];94(10):5401–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9144249/>
77. Kew JNC, Kemp JA. Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. *Psychopharmacology (Berl)* [Internet]. 2005 Apr [cited 2023 Jun 17];179(1):4–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15731895/>
78. Swanson CJ, Bures M, Johnson MP, Linden AM, Monn JA, Schoepp DD. Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2005 Feb [cited 2023 Jun 17];4(2):131–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15665858/>
79. Schoepp DD, Jane DE, Monn JA. Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* [Internet]. 1999 [cited 2023 Jun 17];38(10):1431–76. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10530808/>
80. M. Ribeiro F, Paquet M, P. Cregan S, S. G. Ferguson S. Group I metabotropic glutamate receptor signalling and its implication in neurological disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* [Internet]. 2010 Nov 3 [cited 2023 Jun 17];9(5):574–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20632969/>
81. Niswender CM, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology,

- and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2010 Feb 10 [cited 2023 Jun 17];50:295–322. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20055706/>
82. Nusser Z, Mulvihill E, Streit P, Somogyi P. Subsynaptic segregation of metabotropic and ionotropic glutamate receptors as revealed by immunogold localization. *Neuroscience* [Internet]. 1994 [cited 2023 Jun 17];61(3):421–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7969918/>
 83. Luján R, Roberts JDB, Shigemoto R, Ohishi H, Somogyi P. Differential plasma membrane distribution of metabotropic glutamate receptors mGluR1 α , mGluR2 and mGluR5, relative to neurotransmitter release sites. *J Chem Neuroanat* [Internet]. 1997 Oct [cited 2023 Jun 17];13(4):219–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9412905/>
 84. Condorelli DF, Conti F, Gallo V, Kirchhoff F, Seifert G, Steinhäuser C, et al. Expression and functional analysis of glutamate receptors in glial cells. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 1999 [cited 2023 Jun 17];468:49–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10635019/>
 85. Huber KM, Gallagher SM, Warren ST, Bear MF. Altered synaptic plasticity in a mouse model of fragile X mental retardation. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2002 May 28 [cited 2023 Jun 17];99(11):7746–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12032354/>
 86. Weiler IJ, Irwin SA, Klintsova AY, Spencer CM, Brazelton AD, Miyashiro K, et al. Fragile X mental retardation protein is translated near synapses in response to neurotransmitter activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1997 May 13 [cited 2023 Jun 17];94(10):5395–400. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9144248/>
 87. Matsumoto RR. GABA receptors: are cellular differences reflected in function? *Brain Res Brain Res Rev* [Internet]. 1989 [cited 2023 Jun 18];14(3):203–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2553181/>
 88. Meier E, Drejer J, Schousboe A. GABA induces functionally active low-affinity GABA receptors on cultured cerebellar granule cells. *J Neurochem* [Internet]. 1984 [cited 2023 Jun 18];43(6):1737–44. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6149269/>
 89. Sequeira A, Shen K, Gottlieb A, Limon A. Human brain transcriptome analysis finds region- and subject-specific expression signatures of GABAAR subunits. *Commun Biol* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2023 Jun 18];2(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31069263/>
 90. Mihalek RM, Banerjee PK, Korpi ER, Quinlan JJ, Firestone LL, Mi ZP, et al. Attenuated sensitivity to neuroactive steroids in gamma-aminobutyrate type A receptor delta subunit knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1999 Oct 26 [cited 2023 Jun 18];96(22):12905–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10536021/>
 91. D’Hulst C, Kooy RF. The GABAA receptor: a novel target for treatment of fragile X? *Trends Neurosci* [Internet]. 2007 Aug [cited 2023 Jun 18];30(8):425–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17590448/>

92. Paluszkiewicz SM, Martin BS, Huntsman MM. Fragile X syndrome: the GABAergic system and circuit dysfunction. *Dev Neurosci* [Internet]. 2011 Nov [cited 2023 Jun 18];33(5):349–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21934270/>
93. Braat S, Kooy RF. Insights into GABAergic system deficits in fragile X syndrome lead to clinical trials. *Neuropharmacology* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jun 18];88:48–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25016041/>
94. Gassmann M, Bettler B. Regulation of neuronal GABA(B) receptor functions by subunit composition. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2012 Jun [cited 2023 Jun 18];13(6):380–94. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22595784/>
95. Lange MD, Jüngling K, Paulukat L, Vieler M, Gaburro S, Sosulina L, et al. Glutamic acid decarboxylase 65: a link between GABAergic synaptic plasticity in the lateral amygdala and conditioned fear generalization. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2014 [cited 2023 Jun 19];39(9):2211–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24663011/>
96. Varma N, Carlson GC, Ledent C, Alger BE. Metabotropic glutamate receptors drive the endocannabinoid system in hippocampus. *J Neurosci* [Internet]. 2001 [cited 2023 Jun 19];21(24). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11734603/>
97. Zhang L, Alger BE. Enhanced endocannabinoid signaling elevates neuronal excitability in fragile X syndrome. *J Neurosci* [Internet]. 2010 Apr 21 [cited 2023 Jun 19];30(16):5724–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20410124/>
98. Fišar Z. Inhibition of monoamine oxidase activity by cannabinoids. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* [Internet]. 2010 Jun [cited 2023 Jun 19];381(6):563–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20401651/>
99. El Idrissi A, Ding XH, Scalia J, Trenkner E, Brown WT, Dobkin C. Decreased GABA(A) receptor expression in the seizure-prone fragile X mouse. *Neurosci Lett* [Internet]. 2005 Apr 4 [cited 2023 Jun 18];377(3):141–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15755515/>
100. D’Antuono M, Merlo D, Avoli M. Involvement of cholinergic and gabaergic systems in the fragile X knockout mice. *Neuroscience* [Internet]. 2003 Jun 18 [cited 2023 Jun 18];119(1):9–13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12763063/>
101. Selby L, Zhang C, Sun QQ. Major defects in neocortical GABAergic inhibitory circuits in mice lacking the fragile X mental retardation protein. *Neurosci Lett* [Internet]. 2007 Feb 2 [cited 2023 Jun 18];412(3):227–32. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17197085/>
102. Deng PY, Kumar A, Cavalli V, Klyachko VA. FMRP regulates GABAA receptor channel activity to control signal integration in hippocampal granule cells. *Cell Rep* [Internet]. 2022 May 17 [cited 2023 Jun 19];39(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35584668/>
103. Hagerman RJ, Berry-Kravis E, Kaufmann WE, Ono MY, Tartaglia N, Lachiewicz A, et al. Advances in the treatment of fragile X syndrome. *Pediatrics* [Internet]. 2009 Jan [cited 2023 Jun 21];123(1):378–90. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19117905/>

104. Lindemann L, Porter RH, Scharf SH, Kuennecke B, Bruns A, Von Kienlin M, et al. Pharmacology of basimglurant (RO4917523, RG7090), a unique metabotropic glutamate receptor 5 negative allosteric modulator in clinical development for depression. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jun 21];353(1):213–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25665805/>
105. Michalon A, Sidorov M, Ballard TM, Ozmen L, Spooren W, Wettstein JG, et al. Chronic pharmacological mGlu5 inhibition corrects fragile X in adult mice. *Neuron* [Internet]. 2012 Apr 12 [cited 2023 Jun 21];74(1):49–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22500629/>
106. Lindemann L, Jaeschke G, Michalon A, Vieira E, Honer M, Spooren W, et al. CTEP: a novel, potent, long-acting, and orally bioavailable metabotropic glutamate receptor 5 inhibitor. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2011 Nov [cited 2023 Jun 21];339(2):474–86. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21849627/>
107. Berry-Kravis EM, Lindemann L, Jøneh AE, Apostol G, Bear MF, Carpenter RL, et al. Drug development for neurodevelopmental disorders: lessons learned from fragile X syndrome. *Nat Rev Drug Discov* [Internet]. 2018 Mar 28 [cited 2022 Apr 28];17(4):280–98. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29217836/>
108. Youssef EA, Berry-Kravis E, Czech C, Hagerman RJ, Hessel D, Wong CY, et al. Effect of the mGluR5-NAM Basimglurant on Behavior in Adolescents and Adults with Fragile X Syndrome in a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial: FragXis Phase 2 Results. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2023 Jun 21];43(3):503–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28816242/>
109. Krueger DD, Bear MF. Toward fulfilling the promise of molecular medicine in fragile X syndrome. *Annu Rev Med* [Internet]. 2011 Feb 18 [cited 2023 Jun 21];62:411–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21090964/>
110. Bailey DB, Berry-Kravis E, Wheeler A, Raspa M, Merrien F, Ricart J, et al. Mavoglurant in adolescents with fragile X syndrome: analysis of Clinical Global Impression-Improvement source data from a double-blind therapeutic study followed by an open-label, long-term extension study. *J Neurodev Disord* [Internet]. 2016 Dec 15 [cited 2023 Jun 21];8(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26855682/>
111. Berry-Kravis E, Des Portes V, Hagerman R, Jacquemont S, Charles P, Visootsak J, et al. Mavoglurant in fragile X syndrome: Results of two randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Sci Transl Med* [Internet]. 2016 Jan 13 [cited 2023 Jun 21];8(321). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26764156/>
112. Abbeduto L. Presidential Address, 2020-Using Technology to Deliver Services and Supports in Homes, Neighborhoods, and Communities: Evidence and Promise. *Intellect Dev Disabil* [Internet]. 2020 Dec 8 [cited 2023 Jun 21];58(6):525–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33290532/>
113. McDuffie A, Banasik A, Bullard L, Nelson S, Feigles RT, Hagerman R, et al. Distance delivery of a spoken language intervention for school-aged and adolescent boys with fragile X syndrome. *Dev Neurorehabil* [Internet]. 2018 Jan 2 [cited 2023 Jun 21]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30000000/>

- 21];21(1):48–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28956679/>
114. Cogram P, Deacon RMJ, Warner-Schmidt JL, von Schimmelmann MJ, Abrahams BS, During MJ. Gaboxadol Normalizes Behavioral Abnormalities in a Mouse Model of Fragile X Syndrome. *Front Behav Neurosci* [Internet]. 2019 May 22 [cited 2023 Jun 20];13. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31293404/>
 115. Gantois I, Vandesompele J, Speleman F, Reyniers E, D’Hooge R, Severijnen LA, et al. Expression profiling suggests underexpression of the GABA(A) receptor subunit delta in the fragile X knockout mouse model. *Neurobiol Dis* [Internet]. 2006 Feb [cited 2023 Jun 20];21(2):346–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16199166/>
 116. Olmos-Serrano JL, Paluszkievicz SM, Martin BS, Kaufmann WE, Corbin JG, Huntsman MM. Defective GABAergic neurotransmission and pharmacological rescue of neuronal hyperexcitability in the amygdala in a mouse model of fragile X syndrome. *J Neurosci* [Internet]. 2010 Jul 21 [cited 2023 Jun 20];30(29):9929–38. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20660275/>
 117. Martin BS, Corbin JG, Huntsman MM. Deficient tonic GABAergic conductance and synaptic balance in the fragile X syndrome amygdala. *J Neurophysiol* [Internet]. 2014 Aug 15 [cited 2023 Jun 20];112(4):890–902. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24848467/>
 118. Budimirovic DB, Dominick KC, Gabis L V., Adams M, Adera M, Huang L, et al. Gaboxadol in Fragile X Syndrome: A 12-Week Randomized, Double-Blind, Parallel-Group, Phase 2a Study. *Front Pharmacol* [Internet]. 2021 Oct 8 [cited 2023 Jun 20];12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34690787/>
 119. Heulens I, D’Hulst C, Van Dam D, De Deyn PP, Kooy RF. Pharmacological treatment of fragile X syndrome with GABAergic drugs in a knockout mouse model. *Behav Brain Res* [Internet]. 2012 Apr 1 [cited 2023 Jun 20];229(1):244–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22285772/>
 120. Braat S, D’Hulst C, Heulens I, de Rubeis S, Mientjes E, Nelson DL, et al. The GABAA receptor is an FMRP target with therapeutic potential in fragile X syndrome. *Cell Cycle* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jun 20];14(18):2985–95. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25790165/>
 121. Ligsay A, Van Dijck A, Nguyen D V., Lozano R, Chen Y, Bickel ES, et al. A randomized double-blind, placebo-controlled trial of ganaxolone in children and adolescents with fragile X syndrome. *J Neurodev Disord* [Internet]. 2017 Aug 2 [cited 2023 Jun 20];9(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28764646/>
 122. Luca G, Ilenio S, Martino C, Luigi C, Fabio F, Maria CD, et al. Update on the implication of potassium channels in autism: K(+) channelautism spectrum disorder. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 2015 Mar 2 [cited 2023 Jun 20];9(MAR). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25784856/>
 123. Henderson C, Wijetunge L, Kinoshita MN, Shumway M, Hammond RS, Postma FR, et al. Reversal of disease-related pathologies in the fragile X mouse model by selective activation of GABAB receptors with arbaclofen. *Sci Transl Med* [Internet]. 2012 Sep 19

- [cited 2023 Jun 20];4(152). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22993295/>
124. Berry-Kravis E, Hagerman R, Visootsak J, Budimirovic D, Kaufmann WE, Cherubini M, et al. Arbaclofen in fragile X syndrome: results of phase 3 trials. *J Neurodev Disord* [Internet]. 2017 Jun 12 [cited 2023 Jun 20];9(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28616094/>
 125. Mann K, Kiefer F, Spanagel R, Littleton J. Acamprosate: recent findings and future research directions. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2008 Jul [cited 2023 Jun 21];32(7):1105–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18540918/>
 126. Harris BR, Prendergast MA, Gibson DA, Rogers DT, Blanchard JA, Holley RC, et al. Acamprosate inhibits the binding and neurotoxic effects of trans-ACPD, suggesting a novel site of action at metabotropic glutamate receptors. *Alcohol Clin Exp Res* [Internet]. 2002 Dec 1 [cited 2023 Jun 21];26(12):1779–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12500101/>
 127. Kalk NJ, Lingford-Hughes AR. The clinical pharmacology of acamprosate. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 2014 Feb [cited 2023 Jun 21];77(2):315–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23278595/>
 128. Erickson CA, Mullett JE, McDougale CJ. Brief report: acamprosate in fragile X syndrome. *J Autism Dev Disord* [Internet]. 2010 Nov [cited 2023 Jun 21];40(11):1412–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20213249/>
 129. Erickson CA, Wink LK, Ray B, Early MC, Stieglmeyer E, Mathieu-Frasier L, et al. Impact of acamprosate on behavior and brain-derived neurotrophic factor: an open-label study in youth with fragile X syndrome. *Psychopharmacology (Berl)* [Internet]. 2013 Jul [cited 2023 Jun 21];228(1):75–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23436129/>
 130. Erickson CA, Ray B, Maloney B, Wink LK, Bowers K, Schaefer TL, et al. Impact of acamprosate on plasma amyloid- β precursor protein in youth: a pilot analysis in fragile X syndrome-associated and idiopathic autism spectrum disorder suggests a pharmacodynamic protein marker. *J Psychiatr Res* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2023 Jun 21];59:220–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25300441/>
 131. Sokol DK, Demao Chen, Farlow MR, Dunn DW, Maloney B, Zimmer JA, et al. High levels of Alzheimer beta-amyloid precursor protein (APP) in children with severely autistic behavior and aggression. *J Child Neurol* [Internet]. 2006 Jun [cited 2023 Jun 21];21(6):444–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16948926/>
 132. Peripheral biomarkers in Autism: secreted amyloid precursor protein-alpha as a probable key player in early diagnosis - PubMed [Internet]. [cited 2023 Jun 21]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19079679/>
 133. Gurney ME, Cogram P, Deacon RM, Rex C, Tranfaglia M. Multiple Behavior Phenotypes of the Fragile-X Syndrome Mouse Model Respond to Chronic Inhibition of Phosphodiesterase-4D (PDE4D). *Sci Rep* [Internet]. 2017 Dec 1 [cited 2023 Jun 22];7(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29116166/>

134. Kelley DJ, Davidson RJ, Elliott JL, Lahvis GP, Yin JCP, Bhattacharyya A. The cyclic AMP cascade is altered in the fragile X nervous system. *PLoS One* [Internet]. 2007 Sep 26 [cited 2023 Jun 22];2(9). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17895972/>
135. Berry-Kravis E, Huttenlocher PR. Cyclic AMP metabolism in fragile X syndrome. *Ann Neurol* [Internet]. 1992 [cited 2023 Jun 22];31(1):22–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1371909/>
136. Berry-Kravis E, Sklena P. Demonstration of abnormal cyclic AMP production in platelets from patients with fragile X syndrome. *Am J Med Genet* [Internet]. 1993 [cited 2023 Jun 22];45(1):81–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8380312/>
137. Zhang C, Xu Y, Chowdhary A, Fox D, Gurney ME, Zhang HT, et al. Memory enhancing effects of BPN14770, an allosteric inhibitor of phosphodiesterase-4D, in wild-type and humanized mice. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2023 Jun 22];43(11):2299–309. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30131563/>
138. Berry-Kravis EM, Harnett MD, Reines SA, Reese MA, Ethridge LE, Outtersen AH, et al. Inhibition of phosphodiesterase-4D in adults with fragile X syndrome: a randomized, placebo-controlled, phase 2 clinical trial. *Nat Med* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2023 Jun 22];27(5):862–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33927413/>
139. Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2011 Aug [cited 2023 Jun 24];163(7):1344–64. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21749363/>
140. Russo EB. Cannabidiol Claims and Misconceptions. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2017 Mar 1 [cited 2023 Jun 24];38(3):198–201. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28089139/>
141. Patricio F, Morales-Andrade AA, Patricio-Martínez A, Limón ID. Cannabidiol as a Therapeutic Target: Evidence of its Neuroprotective and Neuromodulatory Function in Parkinson's Disease. *Front Pharmacol* [Internet]. 2020 Dec 15 [cited 2023 Jun 25];11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33384602/>
142. Bakas T, van Nieuwenhuijzen PS, Devenish SO, McGregor IS, Arnold JC, Chebib M. The direct actions of cannabidiol and 2-arachidonoyl glycerol at GABAA receptors. *Pharmacol Res* [Internet]. 2017 May 1 [cited 2023 Jun 25];119:358–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28249817/>
143. Leweke FM, Piomelli D, Pahlisch F, Muhl D, Gerth CW, Hoyer C, et al. Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. *Transl Psychiatry* [Internet]. 2012 [cited 2023 Jun 25];2(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22832859/>
144. Russo EB, Burnett A, Hall B, Parker KK. Agonistic properties of cannabidiol at 5-HT1a receptors. *Neurochem Res* [Internet]. 2005 Aug [cited 2023 Jun 25];30(8):1037–43. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16258853/>
145. Busquets-Garcia A, Gomis-González M, Guegan T, Agustín-Pavón C, Pastor A, Mato S, et al. Targeting the endocannabinoid system in the treatment of fragile X syndrome. *Nat*

- Med [Internet]. 2013 May [cited 2023 Jun 25];19(5):603–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23542787/>
146. MacCarrone M, Rossi S, Bari M, De Chiara V, Rapino C, Musella A, et al. Abnormal mGlu 5 receptor/endocannabinoid coupling in mice lacking FMRP and BC1 RNA. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2010 Jun [cited 2023 Jun 25];35(7):1500–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20393458/>
 147. Bergamaschi MM, Queiroz RHC, Chagas MHN, De Oliveira DCG, De Martinis BS, Kapczinski F, et al. Cannabidiol reduces the anxiety induced by simulated public speaking in treatment-naïve social phobia patients. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2011 May [cited 2023 Jun 25];36(6):1219–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21307846/>
 148. Almeida V, Levin R, Peres FF, Niigaki ST, Calzavara MB, Zuardi AW, et al. Cannabidiol exhibits anxiolytic but not antipsychotic property evaluated in the social interaction test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* [Internet]. 2013 Mar 5 [cited 2023 Jun 25];41:30–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23127569/>
 149. Berry-Kravis E, Hagerman R, Budimirovic D, Erickson C, Heussler H, Tartaglia N, et al. A randomized, controlled trial of ZYN002 cannabidiol transdermal gel in children and adolescents with fragile X syndrome (CONNECT-FX). *J Neurodev Disord* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2023 Jun 25];14(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36434514/>
 150. Qin M, Zeidler Z, Moulton K, Krych L, Xia Z, Smith CB. Endocannabinoid-mediated improvement on a test of aversive memory in a mouse model of fragile X syndrome. *Behav Brain Res* [Internet]. 2015 Sep 5 [cited 2023 Jun 25];291:164–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25979787/>
 151. Wei D, Dinh D, Lee D, Li D, Anguren A, Moreno-Sanz G, et al. Enhancement of Anandamide-Mediated Endocannabinoid Signaling Corrects Autism-Related Social Impairment. *Cannabis cannabinoid Res* [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2023 Jun 25];1(1):81–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28861483/>
 152. Heussler H, Cohen J, Silove N, Tich N, Bonn-Miller MO, Du W, et al. A phase 1/2, open-label assessment of the safety, tolerability, and efficacy of transdermal cannabidiol (ZYN002) for the treatment of pediatric fragile X syndrome. *J Neurodev Disord* [Internet]. 2019 Aug 2 [cited 2023 Jun 26];11(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31370779/>
 153. Palumbo JM, Thomas BF, Budimirovic D, Siegel S, Tassone F, Hagerman R, et al. Role of the endocannabinoid system in fragile X syndrome: potential mechanisms for benefit from cannabidiol treatment. *J Neurodev Disord* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2023 Jun 26];15(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36624400/>
 154. Kim HS, Suh YH. Minocycline and neurodegenerative diseases. *Behav Brain Res* [Internet]. 2009 Jan 23 [cited 2023 Jun 22];196(2):168–79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18977395/>
 155. Griffin MO, Fricovsky E, Ceballos G, Villarreal F. Tetracyclines: a pleiotropic family of

- compounds with promising therapeutic properties. Review of the literature. *Am J Physiol Cell Physiol* [Internet]. 2010 Sep [cited 2023 Jun 22];299(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20592239/>
156. Siller SS, Broadie K. Neural circuit architecture defects in a *Drosophila* model of Fragile X syndrome are alleviated by minocycline treatment and genetic removal of matrix metalloproteinase. *Dis Model Mech* [Internet]. 2011 Sep [cited 2023 Jun 22];4(5):673–85. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21669931/>
 157. Leigh MJS, Nguyen D V., Mu Y, Winarni TI, Schneider A, Chechi T, et al. A randomized double-blind, placebo-controlled trial of minocycline in children and adolescents with fragile x syndrome. *J Dev Behav Pediatr* [Internet]. 2013 Apr [cited 2023 Jun 22];34(3):147–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23572165/>
 158. Xu XQ, McGuire TF, Blaskovich MA, Sebti SM, Romero G. Lovastatin inhibits the stimulation of mitogen-activated protein kinase by insulin in HIRcB fibroblasts. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 1996 Feb 15 [cited 2023 Jun 22];326(2):233–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8611028/>
 159. Osterweil EK, Chuang SC, Chubykin AA, Sidorov M, Bianchi R, Wong RKS, et al. Lovastatin corrects excess protein synthesis and prevents epileptogenesis in a mouse model of fragile X syndrome. *Neuron* [Internet]. 2013 Jan 23 [cited 2023 Jun 22];77(2):243–50. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23352161/>
 160. Muscas M, Louros SR, Osterweil EK. Lovastatin, not Simvastatin, Corrects Core Phenotypes in the Fragile X Mouse Model. *eNeuro* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2023 Jun 22];6(3). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31147392/>
 161. Çaku A, Pellerin D, Bouvier P, Riou E, Corbin F. Effect of lovastatin on behavior in children and adults with fragile X syndrome: an open-label study. *Am J Med Genet A* [Internet]. 2014 Nov 1 [cited 2023 Jun 23];164A(11):2834–42. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25258112/>
 162. Thurman AJ, Potter LA, Kim K, Tassone F, Banasik A, Potter SN, et al. Controlled trial of lovastatin combined with an open-label treatment of a parent-implemented language intervention in youth with fragile X syndrome. *J Neurodev Disord* [Internet]. 2020 Apr 22 [cited 2023 Jun 23];12(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32316911/>
 163. McDuffie A, Oakes A, Machalicek W, Ma M, Bullard L, Nelson S, et al. Early Language Intervention Using Distance Video-Teleconferencing: A Pilot Study of Young Boys With Fragile X Syndrome and Their Mothers. *Am J speech-language Pathol* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2023 Jun 23];25(1):46–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26502382/>
 164. Champigny C, Morin-Parent F, Bellehumeur-Lefebvre L, Çaku A, Lepage JF, Corbin F. Combining Lovastatin and Minocycline for the Treatment of Fragile X Syndrome: Results From the LovaMiX Clinical Trial. *Front psychiatry* [Internet]. 2022 Jan 4 [cited 2022 Apr 28];12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35058813/>
 165. Romero R, Erez O, Hüttemann M, Maymon E, Panaitescu B, Conde-Agudelo A, et al. Metformin, the aspirin of the 21st century: its role in gestational diabetes mellitus,

- prevention of preeclampsia and cancer, and the promotion of longevity. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2023 Jun 23];217(3):282–302. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28619690/>
166. Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 2012 Mar [cited 2023 Jun 23];122(6):253–70. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22117616/>
 167. Gantois I, Popic J, Khoutorsky A, Sonenberg N. Metformin for Treatment of Fragile X Syndrome and Other Neurological Disorders. *Annu Rev Med* [Internet]. 2019 Jan 27 [cited 2023 Jun 23];70:167–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30365357/>
 168. Monyak RE, Emerson D, Schoenfeld BP, Zheng X, Chambers DB, Rosenfelt C, et al. Insulin signaling misregulation underlies circadian and cognitive deficits in a *Drosophila* fragile X model. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2017 Aug 1 [cited 2023 Jun 23];22(8):1140–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27090306/>
 169. Gantois I, Khoutorsky A, Popic J, Aguilar-Valles A, Freemantle E, Cao R, et al. Metformin ameliorates core deficits in a mouse model of fragile X syndrome. *Nat Med* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2023 Jun 23];23(6):674–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28504725/>
 170. Takeda R, Ishii R, Parvin S, Shiozawa A, Nogi T, Sasaki Y. Novel presynaptic assay system revealed that metformin ameliorates exaggerated synaptic release and Munc18-1 accumulation in presynapses of neurons from Fragile X syndrome mouse model. *Neurosci Lett* [Internet]. 2023 Jul [cited 2023 Jun 23];810:137317. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37286070/>
 171. Dy ABC, Tassone F, Eldeeb M, Salcedo-Arellano MJ, Tartaglia N, Hagerman R. Metformin as targeted treatment in fragile X syndrome. *Clin Genet* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2023 Jun 24];93(2):216–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28436599/>
 172. Biag HMB, Potter LA, Wilkins V, Afzal S, Rosvall A, Salcedo-Arellano MJ, et al. Metformin treatment in young children with fragile X syndrome. *Mol Genet genomic Med* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2023 Jun 24];7(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31520524/>
 173. Protic D, Aydin EY, Tassone F, Tan MM, Hagerman RJ, Schneider A. Cognitive and behavioral improvement in adults with fragile X syndrome treated with metformin-two cases. *Mol Genet genomic Med* [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2023 Jun 24];7(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31104364/>
 174. Jasoliya M, Bowling H, Petrasic IC, Durbin-johnson B, Klann E, Bhattacharya A, et al. Blood-Based Biomarkers Predictive of Metformin Target Engagement in Fragile X Syndrome. *Brain Sci* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2023 Jun 24];10(6):1–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32531912/>
 175. Proteau-Lemieux M, Lacroix A, Galarneau L, Corbin F, Lepage JF, Çaku A. The safety

- and efficacy of metformin in fragile X syndrome: An open-label study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* [Internet]. 2021 Aug 30 [cited 2022 Apr 28];110. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33757860/>
176. Glaze DG, Neul JL, Kaufmann WE, Berry-Kravis E, Condon S, Stoms G, et al. Double-blind, randomized, placebo-controlled study of trofinetide in pediatric Rett syndrome. *Neurology* [Internet]. 2019 Apr 16 [cited 2023 Jun 24];92(16):E1912–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30918097/>
 177. Neul JL, Percy AK, Benke TA, Berry-Kravis EM, Glaze DG, Marsh ED, et al. Trofinetide for the treatment of Rett syndrome: a randomized phase 3 study. *Nat Med* [Internet]. 2023 [cited 2023 Jun 24];29(6). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37291210/>
 178. Deacon RMJ, Glass L, Snape M, Hurley MJ, Altimiras FJ, Biekofsky RR, et al. NNZ-2566, a novel analog of (1-3) IGF-1, as a potential therapeutic agent for fragile X syndrome. *Neuromolecular Med* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2023 Jun 24];17(1):71–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25613838/>
 179. Berry-Kravis E, Horrigan JP, Tartaglia N, Hagerman R, Kolevzon A, Erickson CA, et al. A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Study of Trofinetide in the Treatment of Fragile X Syndrome. *Pediatr Neurol* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2023 Jun 24];110:30–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32660869/>
 180. Kaufmann WE, Sprouse J, Rebowe N, Hanania T, Klamer D, Missling CU. ANAVEX®2-73 (blarcamesine), a Sigma-1 receptor agonist, ameliorates neurologic impairments in a mouse model of Rett syndrome. *Pharmacol Biochem Behav* [Internet]. 2019 Dec 1 [cited 2023 Jun 24];187. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31704481/>
 181. Hampel H, Williams C, Etcheto A, Goodsaid F, Parmentier F, Sallantin J, et al. A precision medicine framework using artificial intelligence for the identification and confirmation of genomic biomarkers of response to an Alzheimer’s disease therapy: Analysis of the blarcamesine (ANAVEX2-73) Phase 2a clinical study. *Alzheimer’s Dement (New York, N Y)* [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 24];6(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32318621/>
 182. Christ MG, Clement AM, Behl C. The Sigma-1 Receptor at the Crossroad of Proteostasis, Neurodegeneration, and Autophagy. *Trends Neurosci* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2023 Jun 24];43(2):79–81. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31918966/>
 183. Reyes ST, Deacon RMJ, Guo SG, Altimiras FJ, Castillo JB, van der Wildt B, et al. Effects of the sigma-1 receptor agonist blarcamesine in a murine model of fragile X syndrome: neurobehavioral phenotypes and receptor occupancy. *Sci Rep* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2023 Jun 24];11(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34433831/>
 184. Kaspar AA, Reichert JM. Future directions for peptide therapeutics development. *Drug Discov Today* [Internet]. 2013 Sep [cited 2023 Jun 27];18(17–18):807–17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23726889/>
 185. D’Annessa I, Di Leva FS, La Teana A, Novellino E, Limongelli V, Di Marino D. Bioinformatics and Biosimulations as Toolbox for Peptides and Peptidomimetics Design: Where Are We? *Front Mol Biosci* [Internet]. 2020 May 5 [cited 2023 Jun 27];7. Available

- from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32432124/>
186. Lee ACL, Harris JL, Khanna KK, Hong JH. A Comprehensive Review on Current Advances in Peptide Drug Development and Design. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 May 2 [cited 2023 Jun 27];20(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31091705/>
 187. Fosgerau K, Hoffmann T. Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Discov Today* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jun 27];20(1):122–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25450771/>
 188. Gentilucci L, De Marco R, Cerisoli L. Chemical modifications designed to improve peptide stability: incorporation of non-natural amino acids, pseudo-peptide bonds, and cyclization. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2010 Nov 6 [cited 2023 Jun 27];16(28):3185–203. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20687878/>
 189. Meredith ME, Salameh TS, Banks WA. Intranasal Delivery of Proteins and Peptides in the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *AAPS J* [Internet]. 2015 Jul 24 [cited 2023 Jun 27];17(4):780–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25801717/>
 190. Greco I, Molchanova N, Holmedal E, Jenssen H, Hummel BD, Watts JL, et al. Correlation between hemolytic activity, cytotoxicity and systemic in vivo toxicity of synthetic antimicrobial peptides. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2023 Jun 27];10(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32764602/>
 191. Gupta S, Kapoor P, Chaudhary K, Gautam A, Kumar R, Raghava GPS. Peptide toxicity prediction. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jun 27];1268:143–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25555724/>
 192. Holoch D, Moazed D. RNA-mediated epigenetic regulation of gene expression. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2023 Jun 30];16(2):71–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25554358/>
 193. Liu T, Wan RP, Tang LJ, Liu SJ, Li HJ, Zhao QH, et al. A MicroRNA Profile in Fmr1 Knockout Mice Reveals MicroRNA Expression Alterations with Possible Roles in Fragile X Syndrome. *Mol Neurobiol* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2023 Jun 30];51(3):1053–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24906954/>
 194. Jin P, Alisch RS, Warren ST. RNA and microRNAs in fragile X mental retardation. *Nat Cell Biol* [Internet]. 2004 Nov [cited 2023 Jun 30];6(11):1048–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15516998/>
 195. Suhl JA, Muddashetty RS, Anderson BR, Ifrim MF, Visootsak J, Bassell GJ, et al. A 3' untranslated region variant in FMR1 eliminates neuronal activity-dependent translation of FMRP by disrupting binding of the RNA-binding protein HuR. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2015 Nov 24 [cited 2023 Jun 30];112(47):E6553–61. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26554012/>
 196. Lin SL. microRNAs and Fragile X Syndrome. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jun 30];888:107–21. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26663181/>
 197. Wang C, Ge L, Wu J, Wang X, Yuan L. MiR-219 represses expression of dFMR1 in *Drosophila melanogaster*. *Life Sci* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2023 Jun 30];218:31–7.

Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30528775/>

198. Han P, Chang CP. Long non-coding RNA and chromatin remodeling. *RNA Biol* [Internet]. 2015 [cited 2023 Jun 30];12(10):1094–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26177256/>
199. Pastori C, Peschansky VJ, Barbouth D, Mehta A, Silva JP, Wahlestedt C. Comprehensive analysis of the transcriptional landscape of the human FMR1 gene reveals two new long noncoding RNAs differentially expressed in Fragile X syndrome and Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome. *Hum Genet* [Internet]. 2014 Jan [cited 2023 Jun 30];133(1):59–67. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24005575/>
200. Gantois I, Bakker C, Reyniers E, Willemsen R, DHooge R, De Deyn P, et al. Restoring the phenotype of fragile X syndrome: insight from the mouse model. *Curr Mol Med* [Internet]. 2001 Mar 25 [cited 2023 Jun 27];1(4):447–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11899089/>
201. Musumeci SA, Calabrese G, Bonaccorso CM, D’Antoni S, Brouwer JR, Bakker CE, et al. Audiogenic seizure susceptibility is reduced in fragile X knockout mice after introduction of FMR1 transgenes. *Exp Neurol* [Internet]. 2007 Jan [cited 2023 Jun 27];203(1):233–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17007840/>
202. Peier AM, McIlwain KL, Kenneson A, Warren ST, Paylor R, Nelson DL. (Over)correction of FMR1 deficiency with YAC transgenics: behavioral and physical features. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2000 May 1 [cited 2023 Jun 27];9(8):1145–59. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10767339/>
203. Gholizadeh S, Arsenault J, Xuan IC on. Y, Pacey LK, Hampson DR. Reduced phenotypic severity following adeno-associated virus-mediated Fmr1 gene delivery in fragile X mice. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2014 Dec 1 [cited 2023 Jun 27];39(13):3100–11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24998620/>
204. Arsenault J, Gholizadeh S, Niibori Y, Pacey LK, Halder SK, Koxhioni E, et al. FMRP Expression Levels in Mouse Central Nervous System Neurons Determine Behavioral Phenotype. *Hum Gene Ther* [Internet]. 2016 Dec 1 [cited 2023 Jun 27];27(12):982–96. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27604541/>
205. Chadman KK, Adayev T, Udayan A, Ahmed R, Dai CL, Goodman JH, et al. Efficient Delivery of FMR1 across the Blood Brain Barrier Using AAVphp Construct in Adult FMR1 KO Mice Suggests the Feasibility of Gene Therapy for Fragile X Syndrome. *Genes (Basel)* [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2023 Jun 27];14(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36833432/>
206. Xie N, Gong H, Suhl JA, Chopra P, Wang T, Warren ST. Reactivation of FMR1 by CRISPR/Cas9-Mediated Deletion of the Expanded CGG-Repeat of the Fragile X Chromosome. *PLoS One* [Internet]. 2016 Oct 1 [cited 2023 Jun 27];11(10). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27768763/>
207. Park CY, Halevy T, Lee DR, Sung JJ, Lee JS, Yanuka O, et al. Reversion of FMR1 Methylation and Silencing by Editing the Triplet Repeats in Fragile X iPSC-Derived Neurons. *Cell Rep* [Internet]. 2015 Oct 13 [cited 2023 Jun 27];13(2):234–41. Available

from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26440889/>

208. Liu XS, Wu H, Krzisch M, Wu X, Graef J, Muffat J, et al. Rescue of Fragile X Syndrome Neurons by DNA Methylation Editing of the FMR1 Gene. *Cell* [Internet]. 2018 Feb 22 [cited 2023 Jun 27];172(5):979-992.e6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29456084/>