



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO di SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea in Scienze Biologiche L-13

**I microRNA nella dipendenza da alcol:
implicazioni genetiche e frontiere terapeutiche**

**MicroRNAs in Alcohol Dependence:
Genetic Implications and Therapeutic Frontiers**

Tesi di Laurea di:
Petrini Ilaria

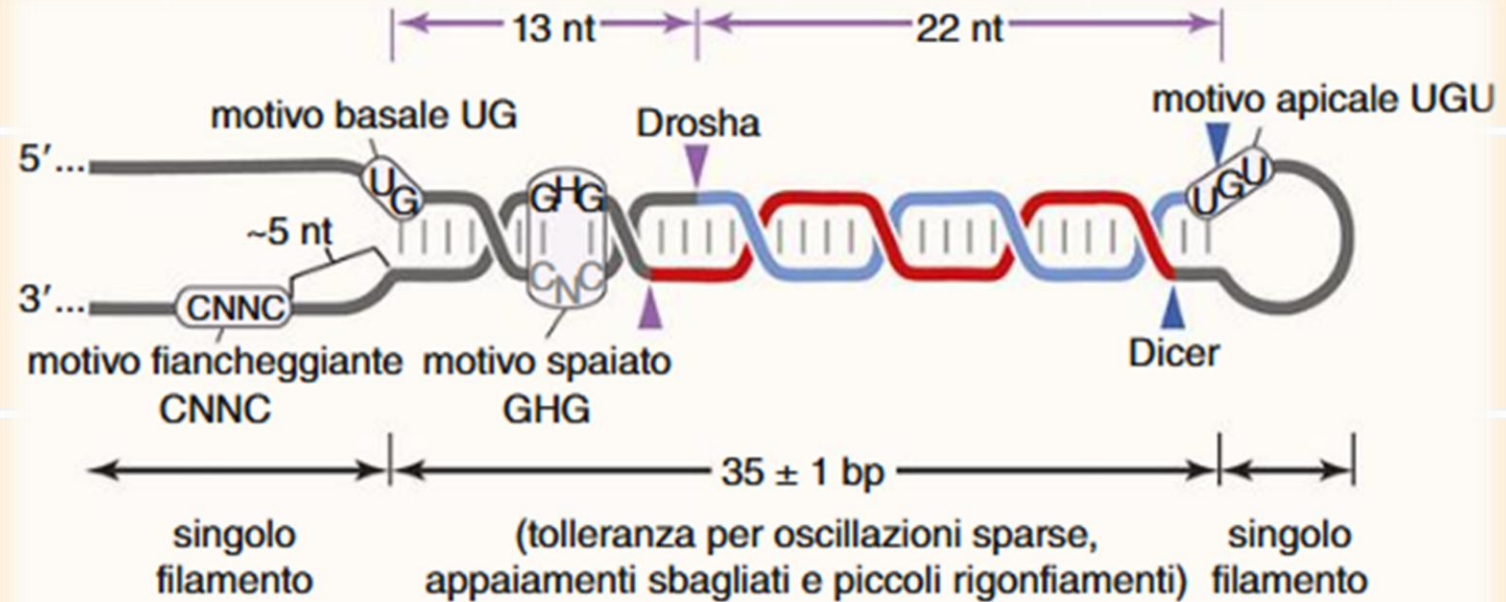
Sessione estiva
Anno Accademico 2025/2026

Docente Referente:
Prof.ssa Romagnoli Alice



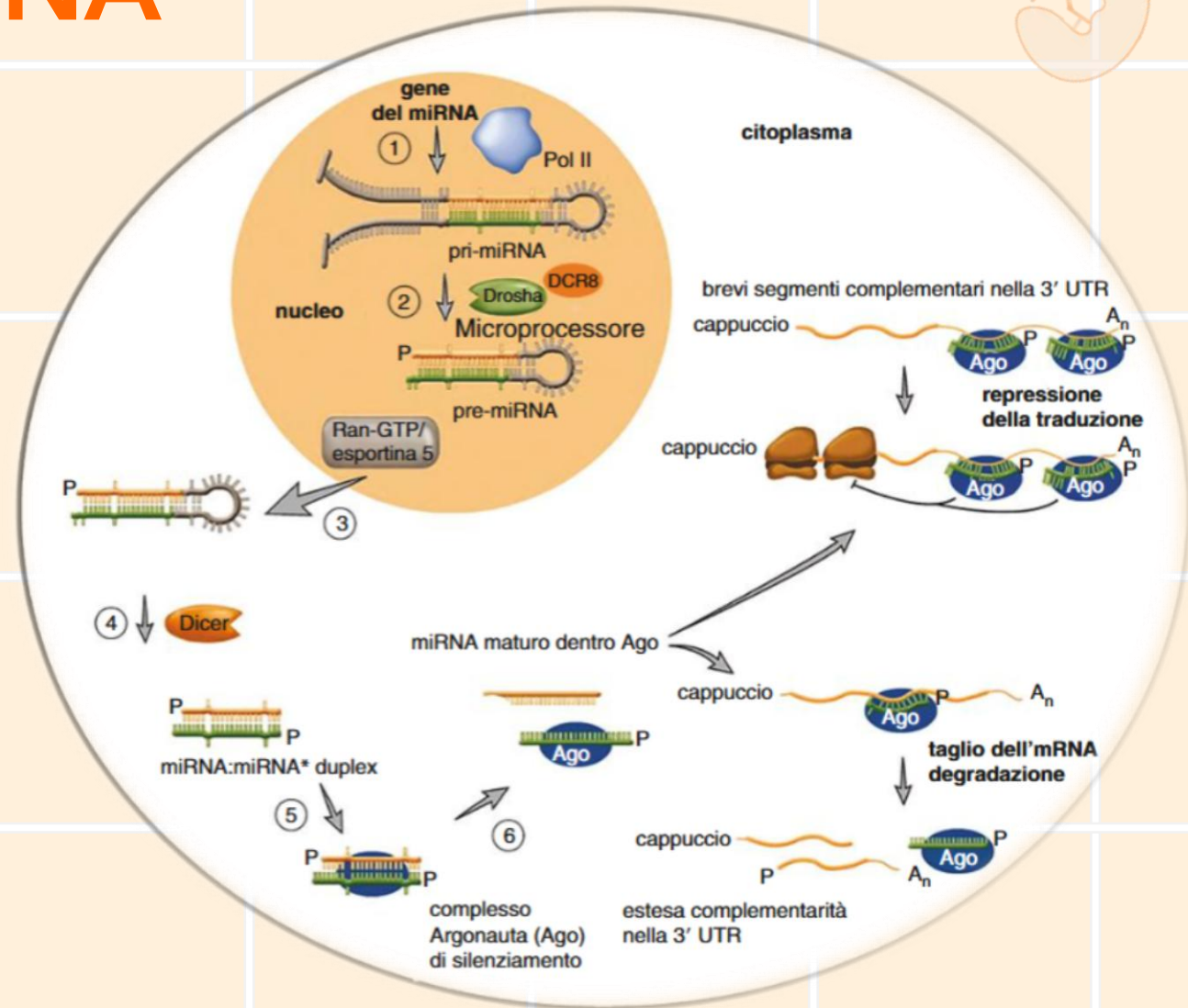
I miRNA

I **microRNA** sono piccole molecole di RNA non codificante (22-23 nt) coinvolte nella regolazione post-trascrizionale dell'espressione genica. Derivano da trascritti ripiegati in **stem-loop**, e sono sottoposti a processi di **maturazione** fondamentali per la formazione del miRNA funzionale.

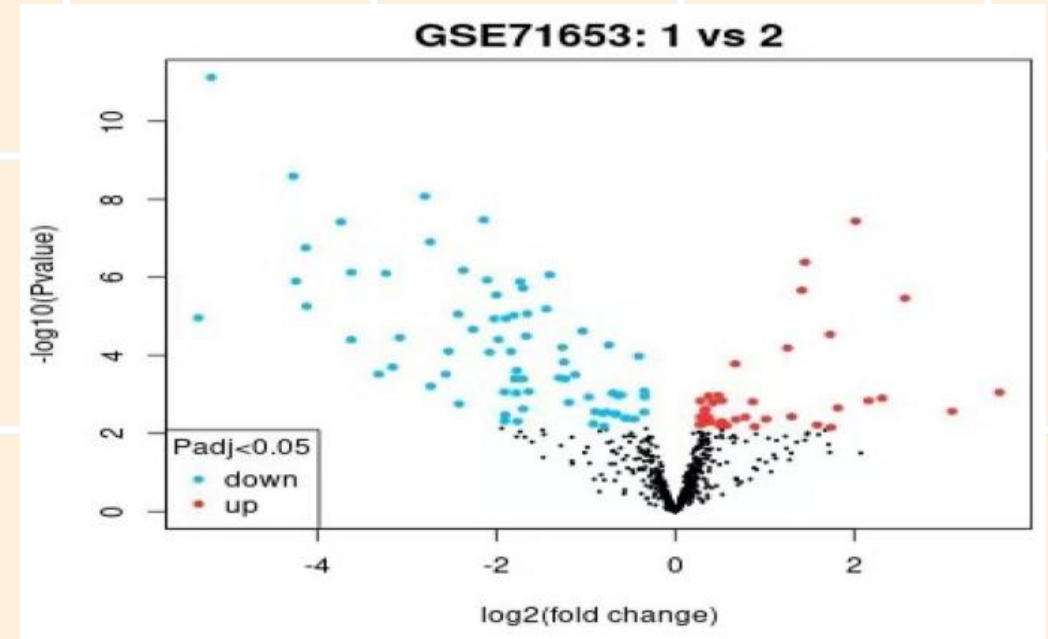
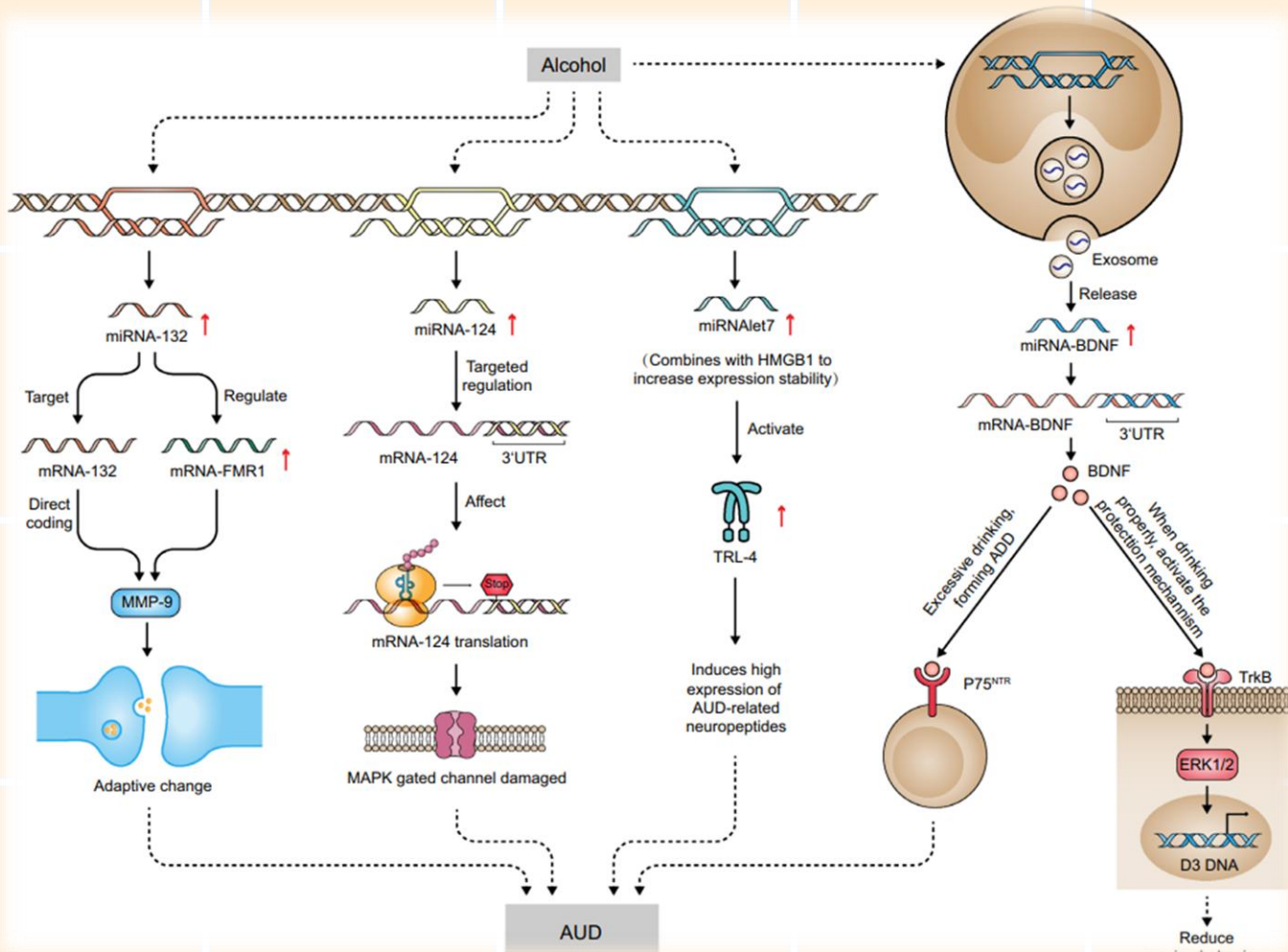


La biogenesi dei miRNA

- I. **Trascrizione** del pri-miRNA (RNA Pol II)
- II. **Processamento** nucleare: formazione del pre-miRNA (Drosha)
- III. **Esportazione** nel citoplasma (Esportina-5)
- IV. **Processamento** citoplasmatico: formazione del miRNA (Dicer)
- V. **Assemblaggio** del complesso RISC



I miRNA in soggetti AUD



L'esposizione cronica all'alcol determina una profonda alterazione del profilo di espressione dei **miRNA** circolanti: alcuni miRNA risultano aumentati, mentre altri sono ridotti.

Ciò indica che l'alcol non attua una semplice variazione quantitativa globale, ma una **deregolazione selettiva** dei meccanismi di regolazione post-trascrizionale.

La via di segnalazione BDNF

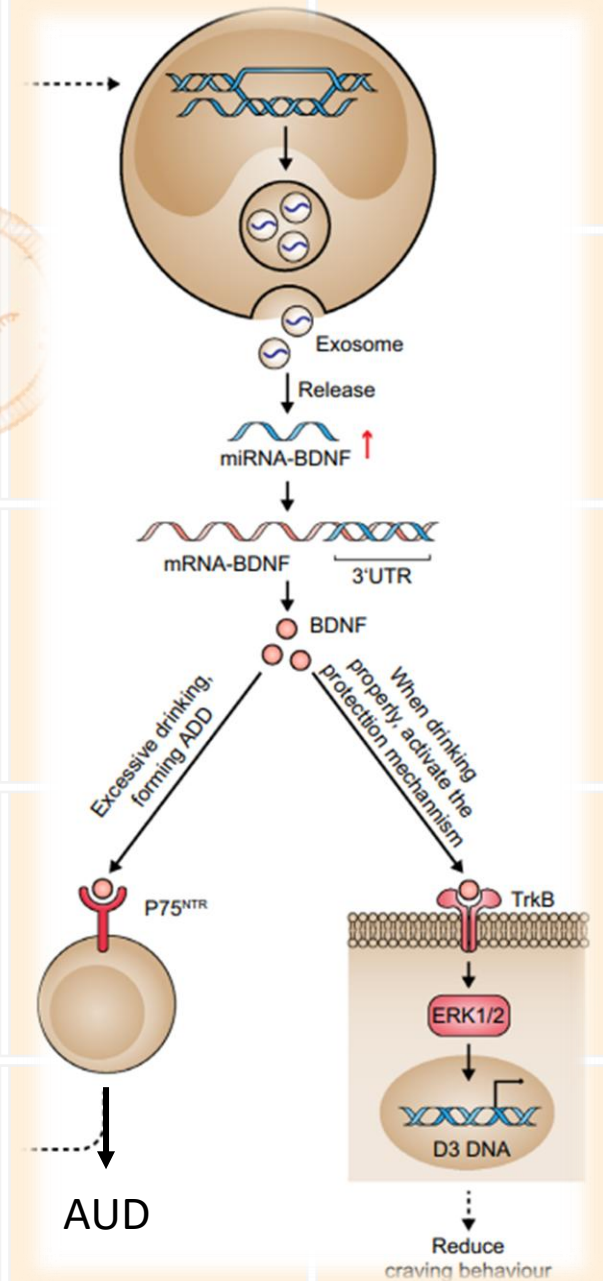
Consumo limitato di alcol

incremento di **BDNF**

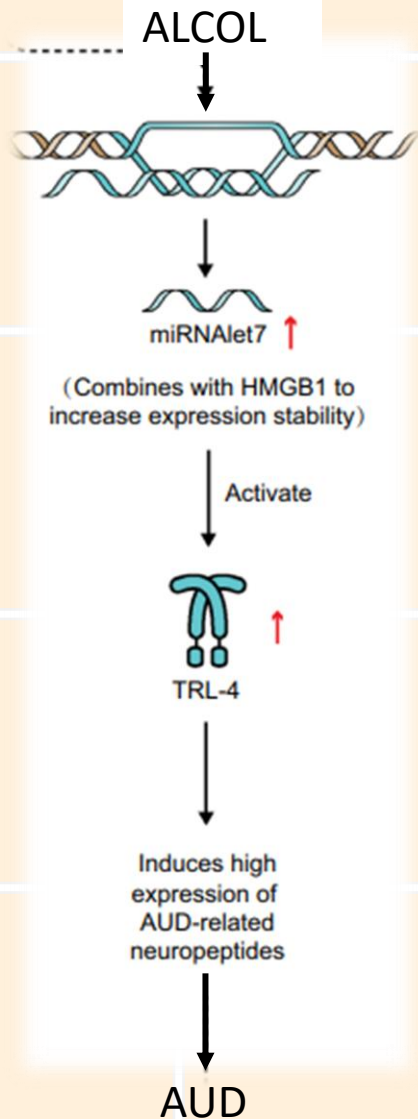
Esposizione cronica all'alcol

incremento del precursore **pro-BDNF**

- Esposizione prolungata all'alcol
- Aumento dell'espressione del **miR-206**
- Diminuzione dei livelli di **BDNF**
- Compromissione della neuroplasticità e dell'azione neuroprotettiva
- Mantenimento della dipendenza e aumento del craving



La via di segnalazione dell'immunità innata



L'esposizione cronica di **microglia** e **astrociti** all'alcol induce l'attivazione della risposta del **sistema immunitario innato** del SNC.

rilascio di **HMGB1** e citochine infiammatorie

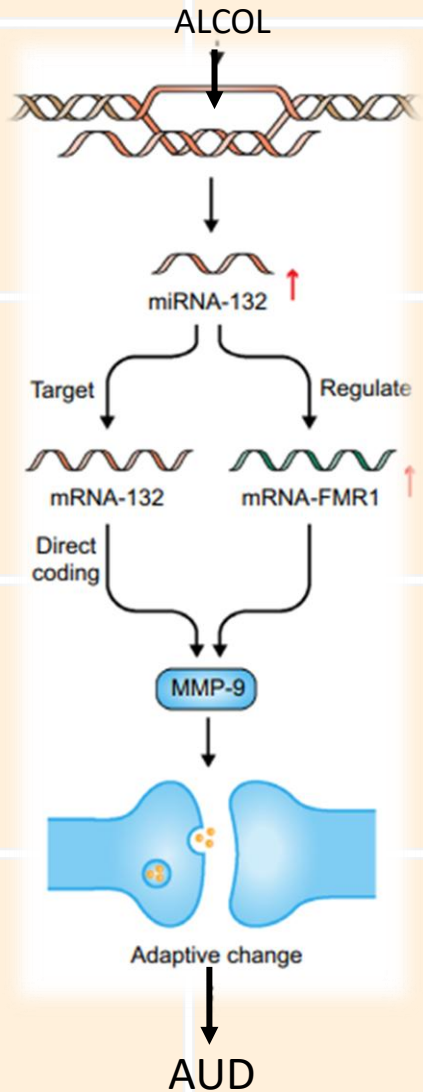
Attivazione continua dell'asse **HMGB1-miR-let-7-TRL-4**

Aumento di mediatori infiammatori e neuropeptidi coinvolti nei circuiti cerebrali della ricompensa

mantenimento della dipendenza e progressione dell'AUD.

HMGB1 stabilizza **miR-let-7**, insieme legano il recettore **TRL-4**, attivando geni proinfiammatori e amplificando la risposta immunitaria.

Gli adattamenti del SNC: la plasticità sinaptica



Regolazione
diretta

1

miR-132 regola l'espressione di **MMP-9**, promuovendo la corretta funzionalità dell'attività sinaptica.

In condizioni fisiologiche

2

Regolazione
indiretta

miR-132 modula l'attività di **FMR1**, che codifica **FMRP**, la quale inibisce la traduzione dell'mRNA di **MMP-9**.

esposizione cronica all'alcol

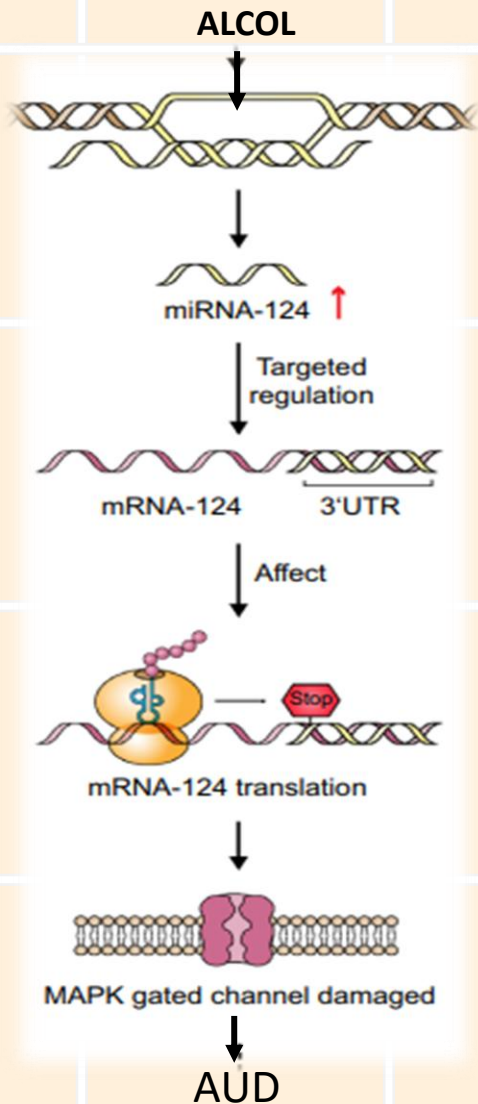
funzione regolatoria di miR-132 modificata

plasticità sinaptica alterata

adattamenti strutturali e funzionali
nei circuiti della ricompensa

consolidamento della dipendenza

Gli adattamenti del SNC: la trasmissione sinaptica



1

In **condizioni fisiologiche**, la stimolazione serotonergica riduce l'espressione di **miR-124**, facilitando la trasmissione del segnale neuronale.

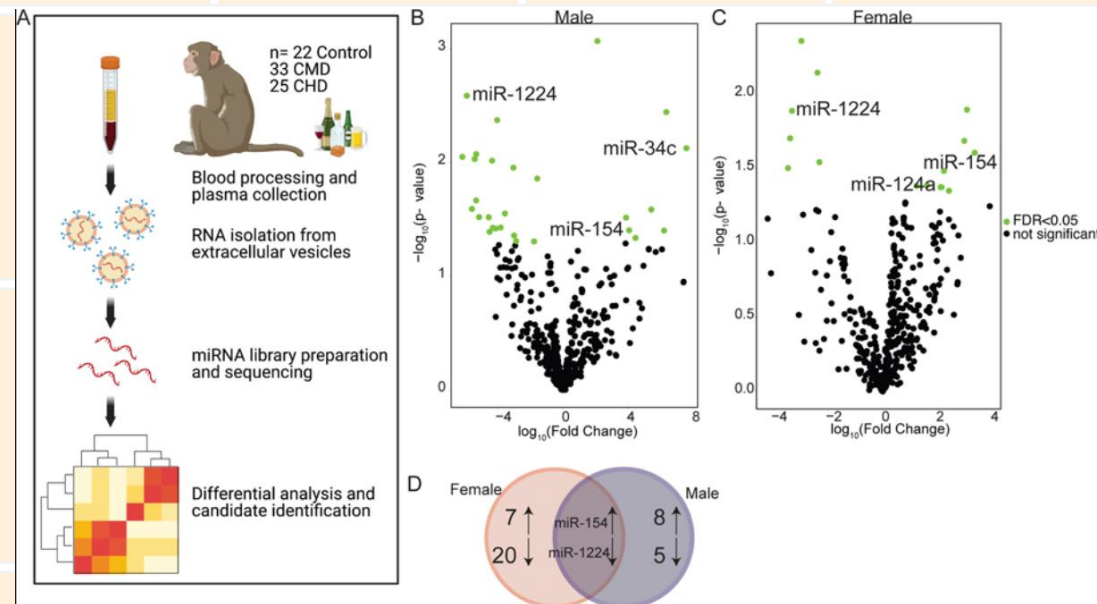
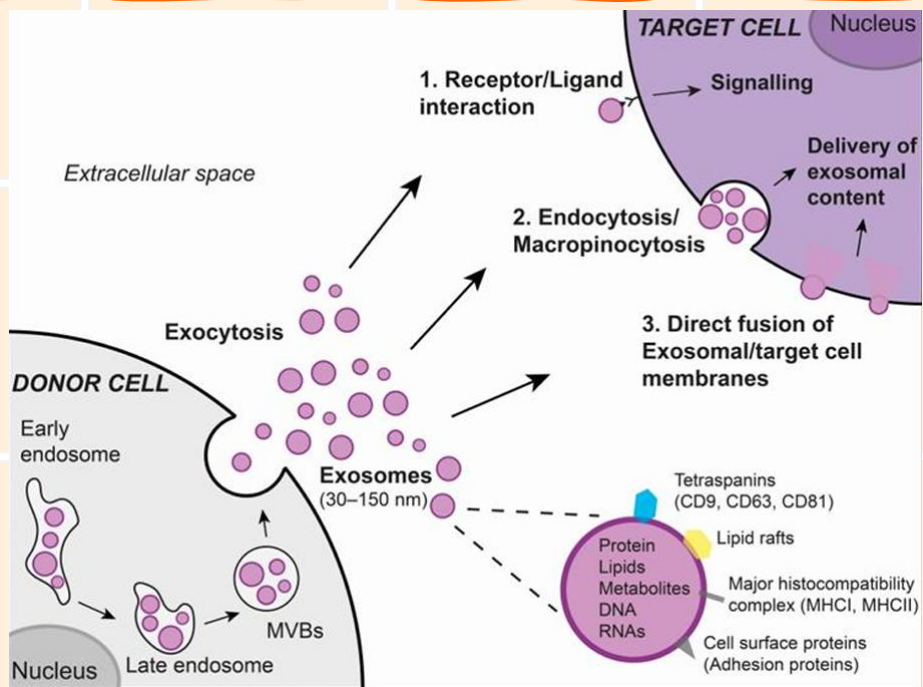
2

In **condizioni di AUD**, miR-124 risulta sovraespresso: il legame con l'mRNA della subunità **GluA2** dei recettori **AMPA** ne inibisce la traduzione locale.

Viene alterata la funzionalità dei recettori AMPA, compromettendo la **trasmissione sinaptica** (riduce la produzione dei EPSP).

Frontiere terapeutiche – biomarcatori EV-miRNA

Gli **esosomi** sono piccole vescicole extracellulari (50-150 nm) delimitati da un doppio strato lipidico. Contengono una grande varietà di componenti molecolari (proteine, lipidi, RNA, DNA), rendendoli estremamente informativi circa lo stato fisiologico/patologico della cellula di origine.

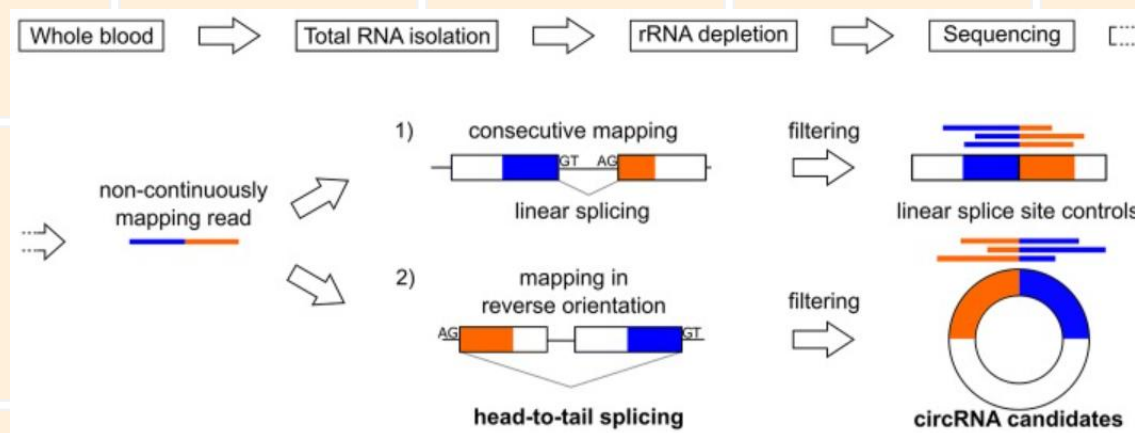


Dal plasma di 80 macachi con AUD sono state isolate le EVs, quindi sottoposte a estrazione dell'RNA, preparazione di librerie e analisi mediante miRNA-Seq.

Tra maschi e femmine, solo **miR-154** (sovraespresso) e **miR-1224** (sottoespresso) risultano comunemente deregolati.

Frontiere terapeutiche – biomarcatori circRNA

La valutazione dei profili di espressione dei **circRNA** negli esosomi sierici di pazienti AUD ha permesso di identificare potenziali nuovi **biomarcatori** circolanti utili per la diagnosi precoce.

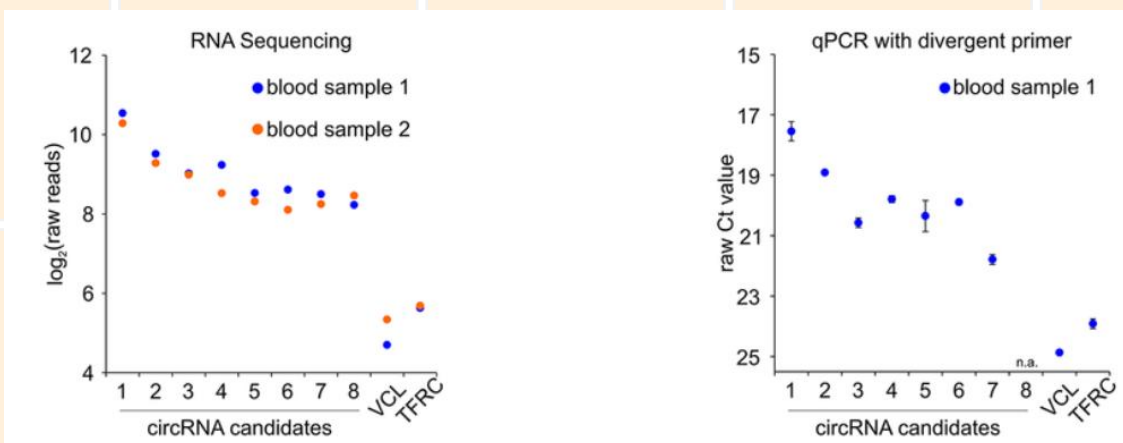


Sono stati identificati 149 circRNA sovraregolati e 105 sottoregolati nei soggetti con AUD rispetto ai controlli.



hsa_circ_0004771

Sensibilmente correlato alla gravità dell'AUD: potenziale biomarcatore associato alla severità della patologia.

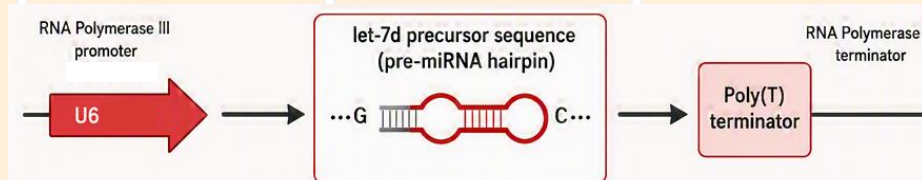


Frontiere terapeutiche – terapie geniche miRNA

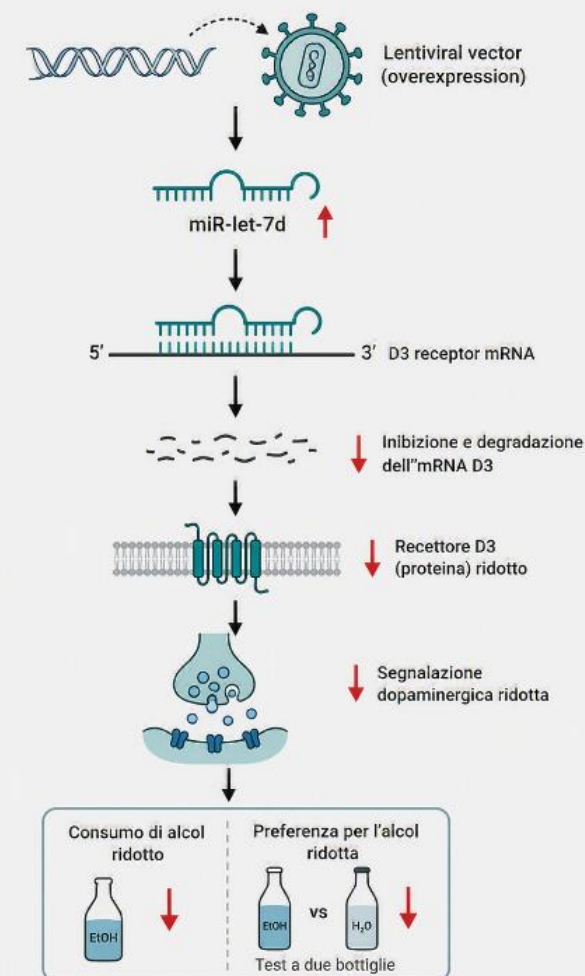
La **terapia genica** basata su vettori virali e piccoli acidi nucleici terapeutici (siRNA, miRNA) ha mostrato risultati promettenti nel trattamento dell'AUD.

La sovraespressione di **miR-let-7d** nel NA mediante **vettori ricombinanti** somministrati *in vivo* ha indotto una riduzione dell'espressione dell'mRNA del recettore **D3**, portando alla riduzione del consumo volontario e della preferenza per l'alcol.

Il vettore lentivirale ricombinante è progettato per esprimere la sequenza precursore di let-7d sotto il controllo di un promotore RNA polimerasi III.



Anche il silenziamento del **miR-124** tramite **LV-siR124** e la somministrazione di **BDNF** nel DLS riducono il consumo volontario di alcol nel paradigma a scelta tra due bottiglie.



Riassunto

Il disturbo da uso di alcol (AUD) è uno dei disturbi neuropsicologici più diffusi a livello mondiale, e la sua patogenesi è complessa e solo parzialmente compresa. Negli ultimi anni, un crescente numero di studi condotti grazie alle biotecnologie emergenti ha messo sempre più in evidenza il ruolo cruciale degli RNA non codificanti (ncRNA) nella fisiopatologia dell'AUD e di numerose altre patologie neuropsichiatriche. In particolare, alterazioni dell'espressione di circRNA, lncRNA e miRNA sono state riscontrate regolarmente in soggetti affetti da AUD. Tra i miRNA maggiormente implicati figurano miR-206, miR-let-7, miR-132 e miR-124, coinvolti nella patogenesi dell'AUD, nei processi di rinforzo e progressione della malattia, nonché nello sviluppo delle patologie cardiovascolari associate.

Tuttavia, numerosi studi hanno dimostrato che la modulazione esogena di specifici ncRNA è efficace nel ridurre la preferenza per l'alcol e il suo eccessivo consumo. Grazie alla comprensione approfondita dei loro meccanismi d'azione, i ncRNA si sono affermati come promettenti biomarcatori diagnostici e potenziali bersagli terapeutici per il trattamento dell'AUD. In particolare, l'analisi del contenuto molecolare (miRNA e circRNA) delle vescicole extracellulari sta emergendo come un promettente approccio per l'identificazione di biomarcatori correlati alla gravità dell'AUD. Parallelamente, l'analisi approfondita del funzionamento dei miRNA coinvolti nella patogenesi della malattia, sta aprendo numerose prospettive terapeutiche: la loro modulazione mediante vettori virali ricombinanti ha mostrato risultati promettenti nella fase preclinica.

Bibliografia

- Bahi A, Dreyer J-L. Lentiviral-mediated up-regulation of let-7d microRNA decreases alcohol intake through down-regulating the dopamine D3 receptor. *European Neuropsychopharmacology*. 2020;37:70-81
- Bahi A, Dreyer JL. Striatal modulation of BDNF expression using microRNA 124a-expressing lentiviral vectors impairs ethanol-induced conditioned-place preference and voluntary alcohol consumption. *European Journal of Neuroscience*. 2013;38:2328-37
- Amine Bahi, Jean-Luc Dreyer. Lentiviral-mediated up-regulation of let-7d microRNA decreases alcohol intake through down-regulating the dopamine D3 receptor. DOI: [10.1016/j.euroneuro.2020.06.011](https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2020.06.011)
- Liu Y, Li J, Bu H, Wang H, Zhang Y, Shen Q. et al. Circular RNA expression alteration identifies a novel circulating biomarker in serum exosomal for detection of alcohol dependence. *Addiction Biology*. 2021;26:e13031
- Lewis SA, Doratt B, Sureshchandra S, Pan T, Gonzales SW, Shen W. et al. Profiling of extracellular vesicle-bound miRNA to identify candidate biomarkers of chronic alcohol drinking in nonhuman primates. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2022;46:221-31
- Wang Jq, Liu Yr, Xia Qr, Liang J, Wang JI, Li J. Functional roles, regulatory mechanisms and theranostics applications of ncRNAs in alcohol use disorder. *Int J Biol Sci* 2023; 19(4):1316-1335. doi:10.7150/ijbs.81518.
- Potential Molecular Mechanisms of Alcohol Use Disorder with Non-Coding RNAs and Gut Microbiota for the Development of Superior Therapeutic Application Moeka Nakashima, Naoko Suga, Sayuri Yoshikawa, Yuka Ikeda and Satoru Matsuda