



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di laurea **SCIENZE BIOLOGICHE**

Rbm8a regola la neurogenesi e riduce i danni associati al morbo di Alzheimer nei topi 5xFAD
Rbm8a regulates neurogenesis and reduce Alzheimer's disease-associated pathology in the dentate gyrus of 5xFAD mice

Tesi di laurea di:
Qerreti Gledis

Prof.ssa
Maradonna Francesca

Sessione: Dicembre 2023

Il **morbo di Alzheimer** è una malattia neurodegenerativa che uccide progressivamente le cellule nervose e si manifesta con la **perdita di memoria e compromissione dell'apprendimento**

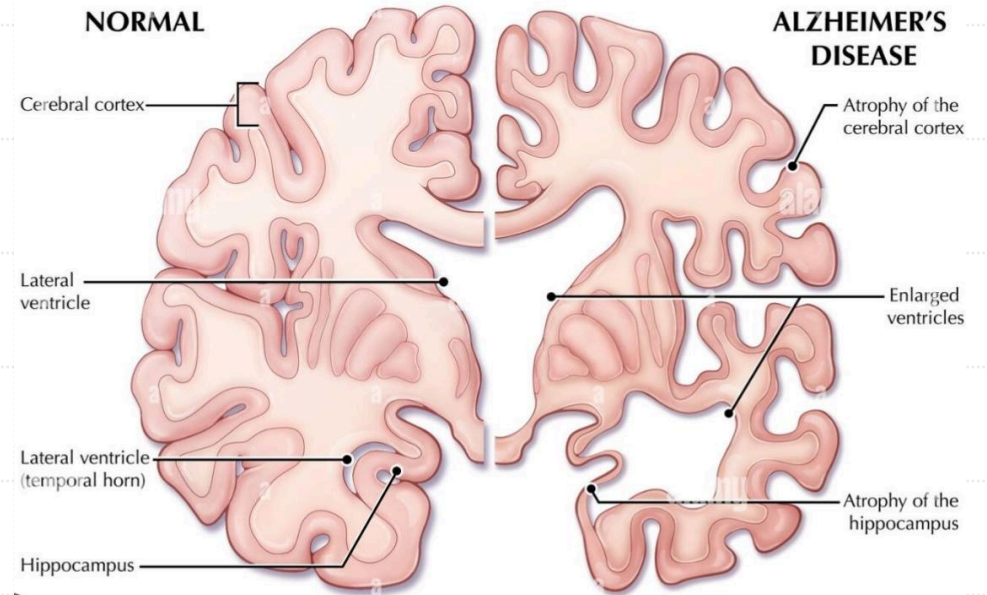
- formazione di placche senili extracellulari
- grovigli neurofibrillari tau intracellulari
- compromissione irreversibile della funzionalità dei neuroni



Dove? A livello del **giro dentato**, nell'**ippocampo**

L'ippocampo è sede di:

- Formazione memorie esplicite
- Trasformazione memoria breve termine memoria lungo termine
- Memoria spaziale

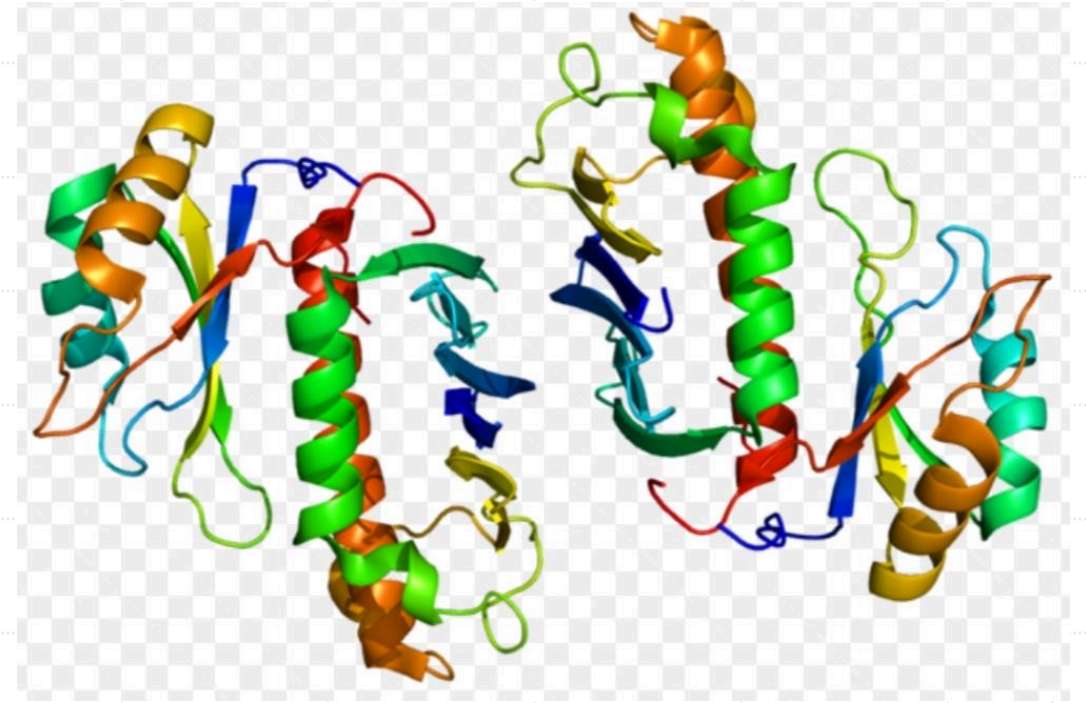


RNA-binding protein 8A (Rbm8a)

- Ribonucleoproteina contenente un motivo RNA-binding conservato
- Localizzato cromosoma 1q21.1

→ ruolo fondamentale nel *mantenimento dell'integrità dell'mRNA e nello splicing*

→ ruolo nell'*auto rinnovo di cellule progenitrici neurali e retiniche*



SCOPO DELLO STUDIO:

Verificare se la sovraespressione del gene può rappresentare una strategia terapeutica per affrontare il problema del declino cognitivo nell'AD

MATERIALI E METODI

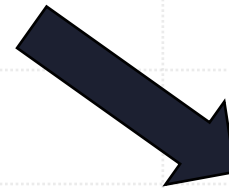
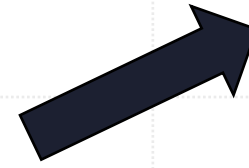
▶ **TOPO 5xFAD** → esprimono i transgeni del precursore della proteina amiloide APP e PSEN1 con 5 mutazioni AD-linked

- 20-30g, 2-3 mesi di età
- Fenotipo: morbo d'Alzheimer
- Libero accesso ad acqua e cibo
- Ciclo giorno/notte 12h
- Sesso: M e F

CONTROLLO

RBM8A

COME???



VETTORE AAV

→ la sovra espressione di Rbm8a è stata ottenuta per replicazione virale producendo virus ricombinanti adeno-associati

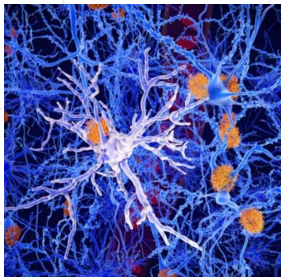
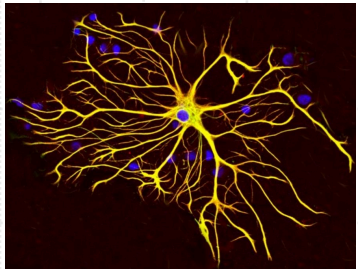
1. Clonazione gene Rbm8a nel vettore
2. Trasfezione cellule AAV-293

Quali cellule? Nel giro dentato troviamo 3 tipi di cellule:

ASTROCITI

MICROGLIA

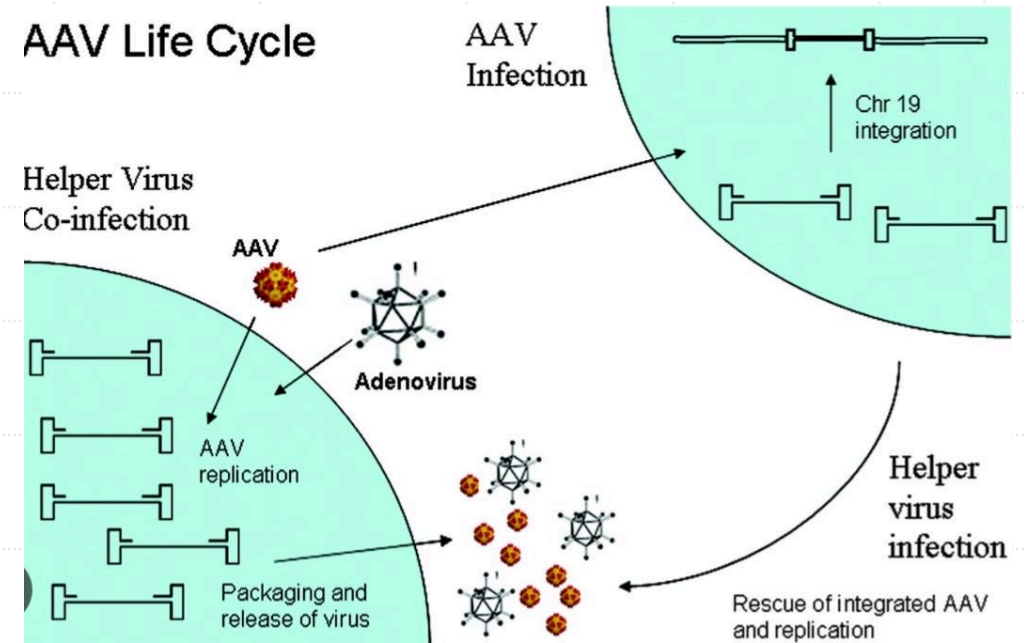
NEURONI



↳ infetta principalmente **neuroni maturi**,

oltre a cellule staminali, cellule progenitrici neurali e neuroni immaturi

AAV Life Cycle



Rbm8a GIOCA UN RUOLO FONDAMENTALE NELLA PRODUZIONE DI NEURONI

Iniezioni intraperitoneali di BrdU → marcare le cellule in divisione nel DG

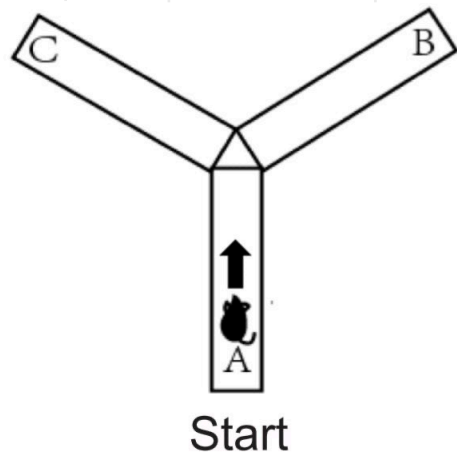
- aumento proliferazione delle cellule progenitrici neurali
- maggior numero di neuroni maturi e immaturi

ESPERIMENTI DI COMPORTAMENTO PER VERIFICARE L'EFFETTO DI Rbm8a SULLA MEMORIA IN AD

Y-MAZE (labirinto)

VALUTARE LA MEMORIA SPAZIALE:

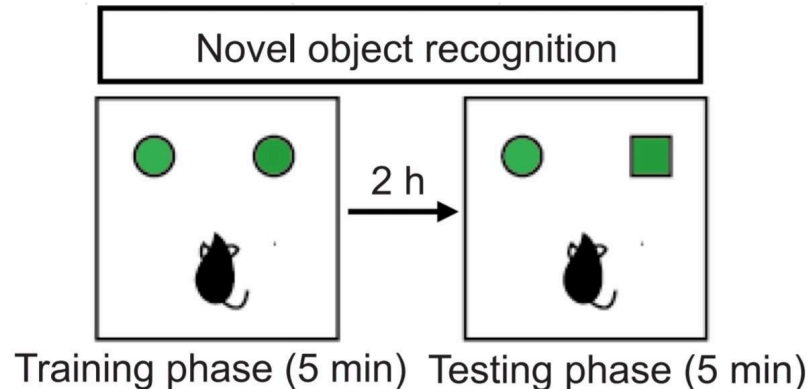
aumento delle % di alterazioni spontanee nel gruppo Rbm8a rispetto al gruppo di controllo



NORT

test riconoscimento di oggetti nuovi

VALUTARE LA MEMORIA SPAZIALE:
Viene calcolato l'indice di **discriminazione (DI)** → standard per la valutazione di funzioni cognitive; dimostrando un aumento del DI nei topi Rbm8a rispetto ai topi del gruppo controllo



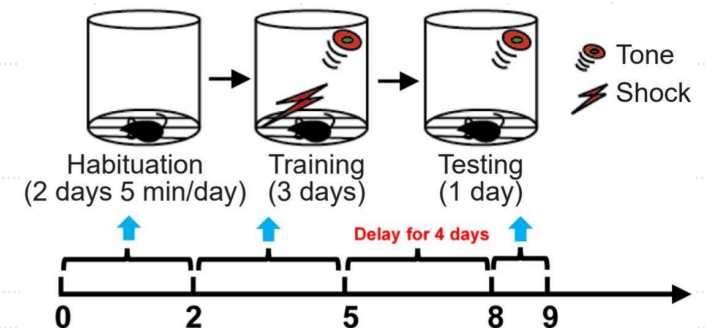
CFC

test di condizionamento della paura

VALUTARE LA MEMORIA CONTESTUALE E L'ABILITA' DI APPRENDIMENTO:

Registra il comportamento di freezing come misura di funzione di memoria;

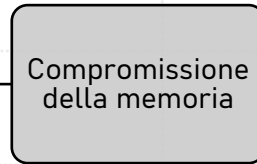
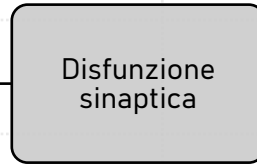
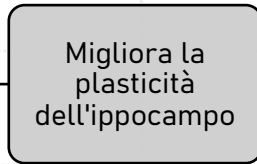
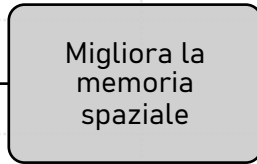
Osservando un aumento del comportamento di freezing in topi Rbm8a rispetto al gruppo di controllo



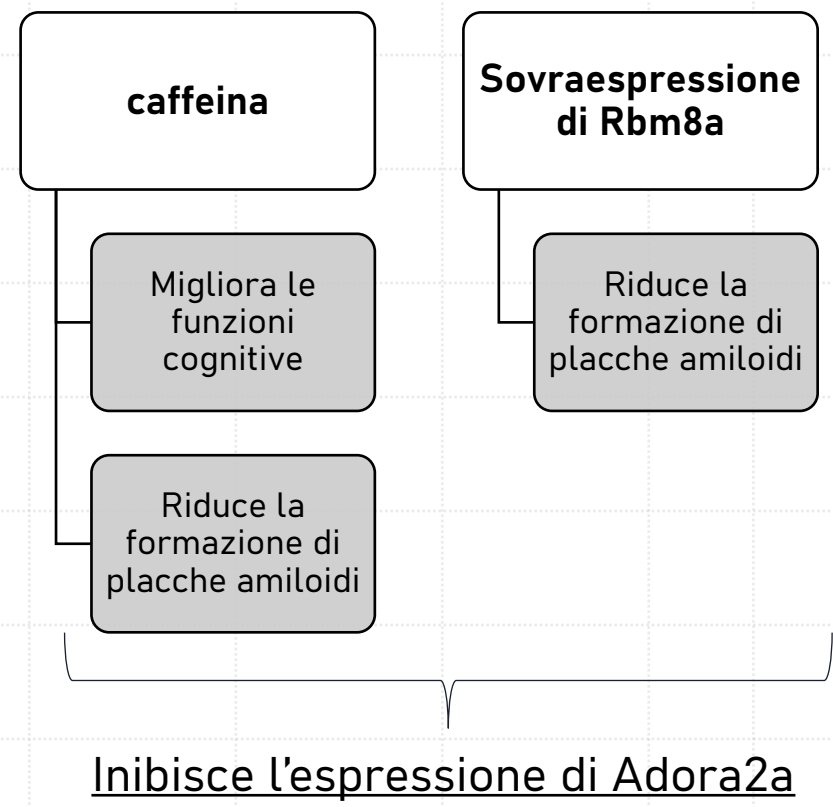
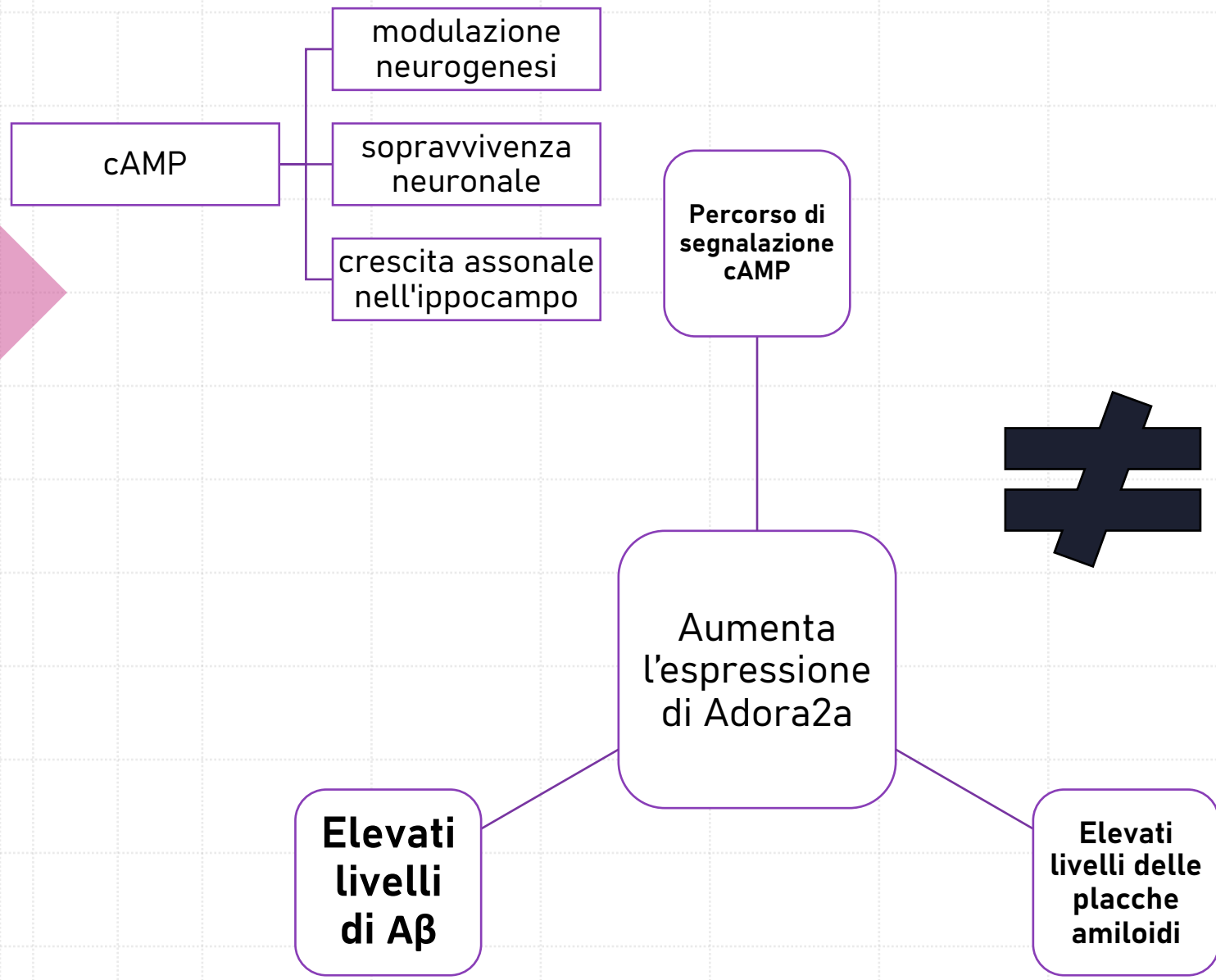
Il sequenziamento dell'RNA, su tessuti di topo 5xFAD in seguito a sovra espressione di Rbm8a, ha permesso di evidenziare diversi **DEG = espressione genica differenziale**

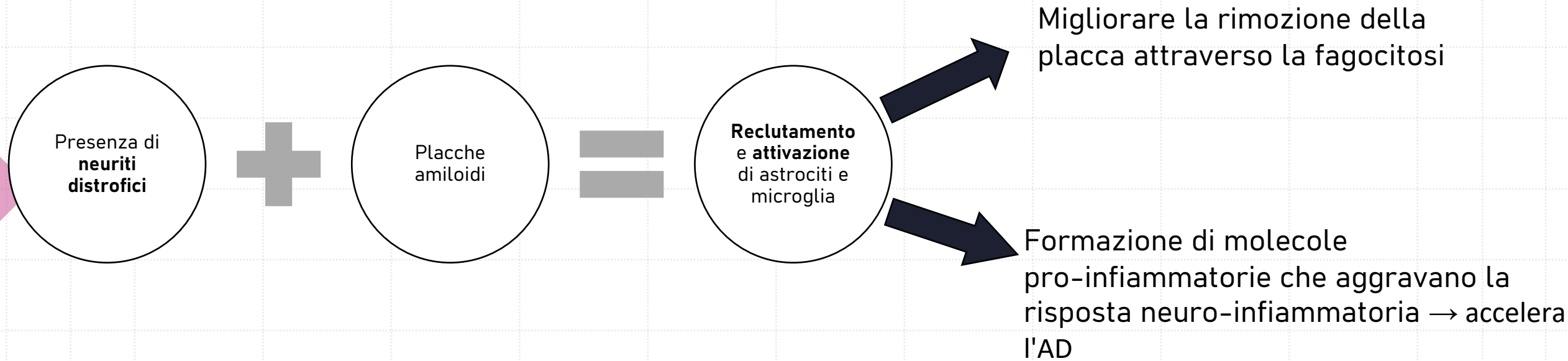


identificazione di **Adora2a** come unico **gene hub**

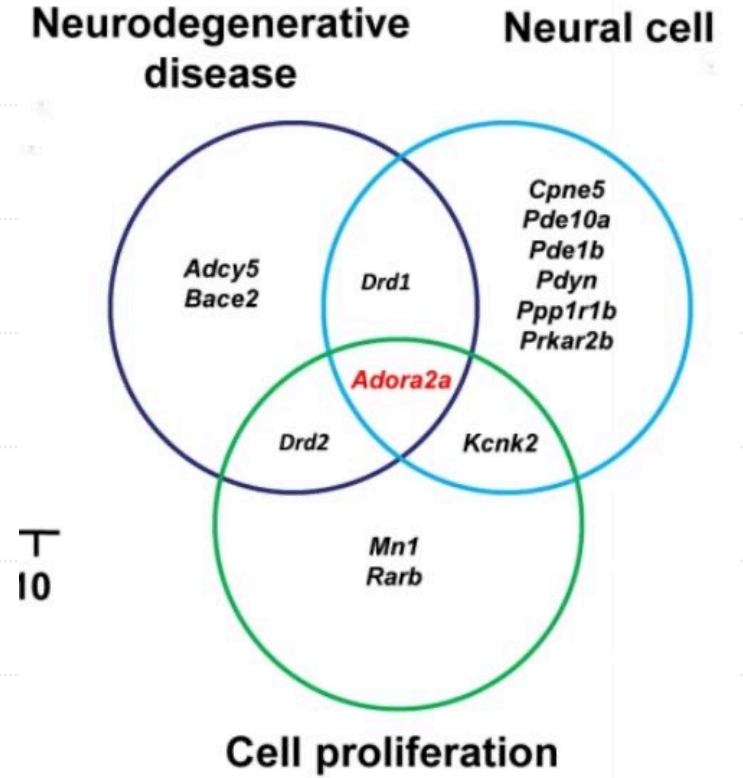
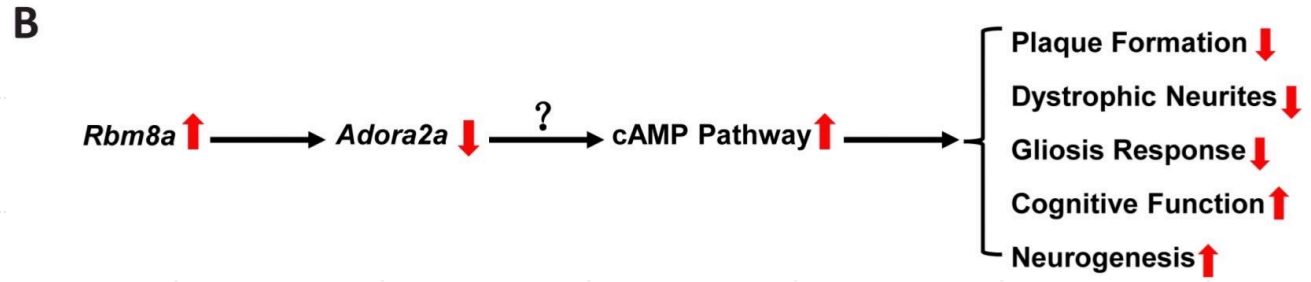
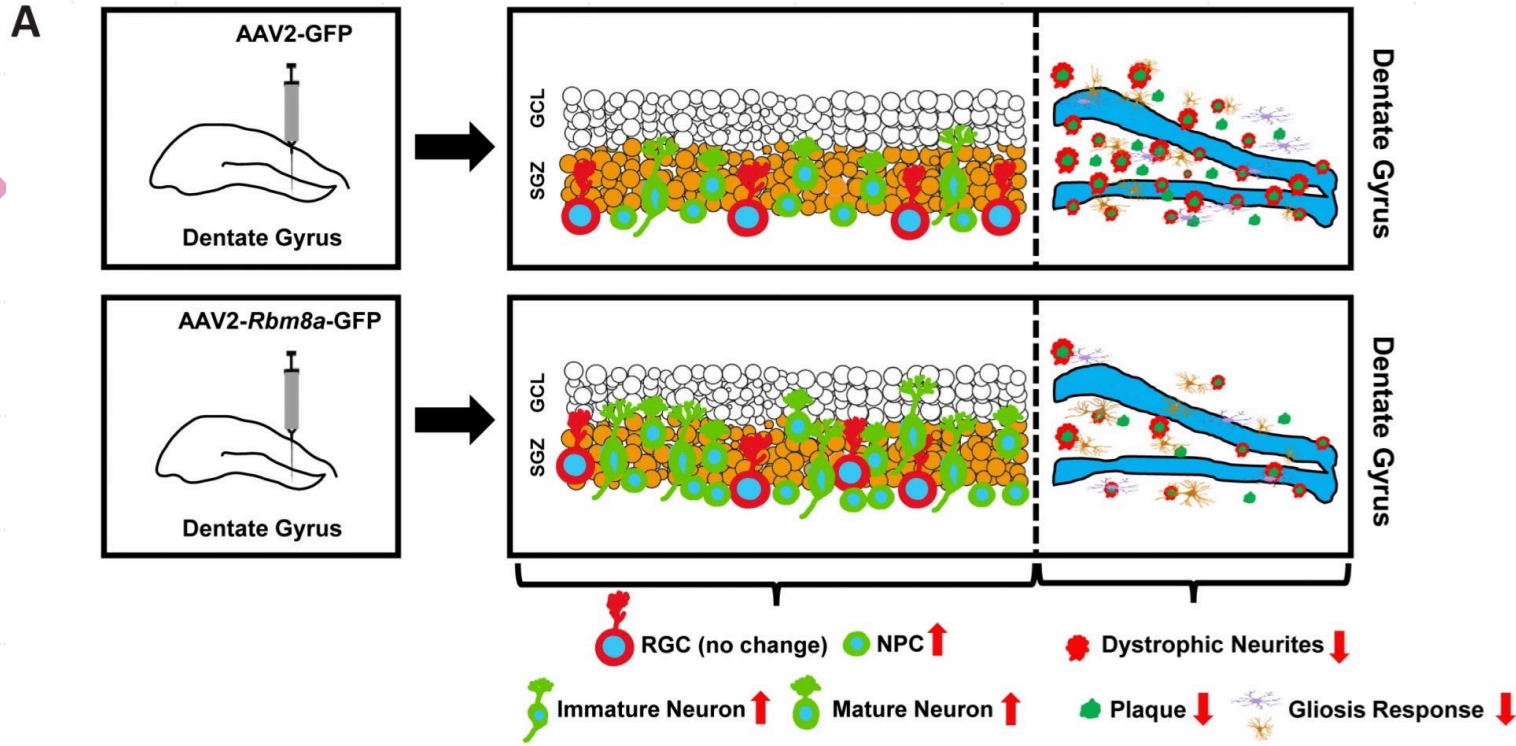


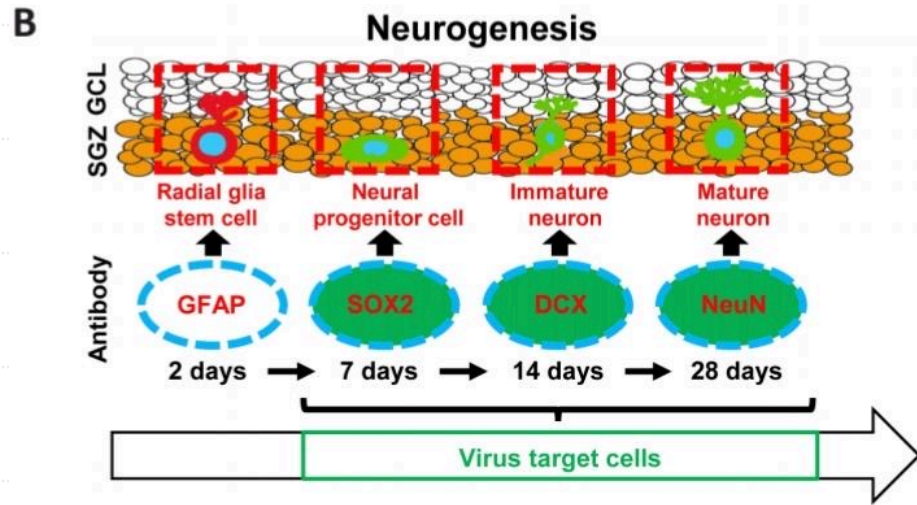
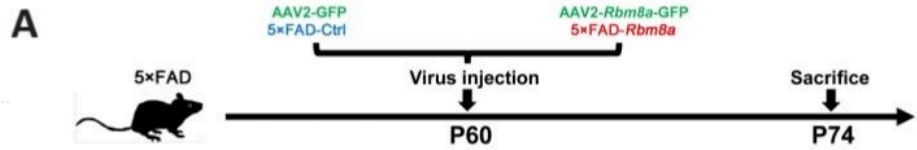
causato da un aumento del rilascio sinaptico di ATP e aumento della densità e attività dell'ecto-5'nucleotidasi





CONCLUSIONI





RIASSUNTO

Il morbo di Alzheimer è una condizione neurodegenerativa prevalente e debilitante che colpisce profondamente il funzionamento quotidiano di un paziente con progressivo declino cognitivo, che può essere in parte attribuito alla riduzione della neurogenesi ippocampale alterata. È probabile che la neurogenesi nel giro dentato ippocampale persista per tutta la vita, diminuendo con l'invecchiamento, specialmente nel morbo di Alzheimer. Recenti studi hanno indicato che la RNA-binding protein 8A (Rbm8a) promuove la proliferazione di cellule progenitrici neurali, con livelli di espressione più bassi osservati nei pazienti con il morbo di Alzheimer rispetto alle persone sane. Questo studio si è concentrato sull'ipotesi che la sovraespressione di Rbm8a possa migliorare la neurogenesi promuovendo la proliferazione di cellule progenitrici neurali per migliorare il danno alla memoria nel morbo di Alzheimer. Di conseguenza, la sovraespressione di Rbm8a è stata indotta nel giro dentato di topi 5xFAD per convalidare questa ipotesi. Elevati livelli di Rbm8a nel giro dentato innescano la neurogenesi e attenuano fenotipi patologici (come la formazione di placche, la reazione gliosi e i neuriti distrofici), inducendo un miglioramento delle prestazioni mnemoniche in topi 5xFAD. I dati del sequenziamento dell'RNA hanno ulteriormente motivato questi risultati, mostrando un aumento dell'espressione genica differenziale coinvolta in processi biologici tra cui la neurogenesi, la proliferazione cellulare e la formazione di proteine amiloidi. In conclusione, la sovraespressione di Rbm8a nel giro dentato di cervelli di topi 5xFAD ha ottimizzato le funzioni cognitive migliorando i fenotipi patologici associati all'amiloide-beta e incrementando la neurogenesi.