



III Convegno Nazionale SITLaB
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



ASSOCIAZIONE TRA I GENI ADRA2B E CB1 E LA MEMORIA DI LAVORO EMOTIVA

A. Desiderio¹, P. Del Fine¹, R. D' Ancona¹, V. Palumbieri², V. Carini³, D. De Giovanni⁴, D. Farci Santarcangeli⁵, E. Gautiero⁶, A. Fiorella⁷, G. Ferrara⁸

1. Chieti – 2. Termoli – 3. Vasto – 4. Napoli – 5. Milano – 6. Monza – 7. Foggia – 8. Bari

INTRODUZIONE

• Il termine memoria viene spesso associato alla ricerca di eventi passati immagazzinati nella nostra mente. Tale interpretazione non è sufficiente per comprendere ciò che la memoria realmente è. Essa infatti non solo rappresenta il semplice ricordo di un evento passato ma possiamo considerarla come quella funzione psicologica superiore che ci differenzia dagli altri esseri viventi di questo pianeta. La memoria rappresenta il collegamento tra percezione e apprendimento e ci consente di generalizzare, organizzare e dare un significato specifico a ciò che ci circonda ed accade realmente nella vita di tutti i giorni. Essa, inoltre, è una funzione che ci permette di tenere in considerazione eventi accaduti in passato, orientando così le nostre decisioni presenti e future, fornendoci quindi l'esperienza per affrontare in maniera sempre migliore situazioni che abbiamo già affrontato in passato.

OBIETTIVO

• Individuare l'effetto delle varianti geniche di ADRA2B e CB1 sulla interazione memoria-emozioni in soggetti anziani sani. In linea con recenti evidenze che mostrano il coinvolgimento dei sistemi adrenergico ed endocannabinoide sulla regolazione della memoria emotiva, indagare sul ruolo di differenze genotipiche comuni nella regolazione di tale endofenotipo. Verificare il ruolo di tali polimorfismi nella regolazione della capacità di ricordo emotivo. Lo scopo è di indagare se la combinazione di polimorfismi ADRA2B e CB1 modula le prestazioni della memoria di lavoro affettiva negli anziani diversamente da soggetti caratterizzati da una singola variante.

MATERIALI E METEODI

ESTRAZIONE DNA

Il DNA genomico è stato isolato da tamponi buccali utilizzando il kit Nucleo Spin Tissue. La prima fase dell'estrazione consiste nello stemperare il tampone in una soluzione formata da 400 microlitri di PBS e 25 microlitri di proteinasi K. La seconda fase prevede di incubare il campione per 10 minuti e procedere ad una serie di filtraggi mediante etanolo ed una serie di buffers mediante centrifugazione. La qualità e quantità del DNA estratto è stata valutata mediante Qubit 2.0.



III Convegno Nazionale SITLaB
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



MATERIALI E METEODI

PCR

- La PCR è stata condotta in un volume finale di 25 microlitri usando la polimerasi AmpliTaqGold™. Il volume finale di 25 microlitri è formato da 3 microlitri di DNA campione, 2,5 microlitri di Buffer contenente magnesio, 3,5 microlitri di dNTP, 0,25 microlitri di Taq polimerasi, 0,25 microlitri di ciascun primer e il restante volume di acqua. I primers utilizzati sono; il forward 5-AGAAGGAGGGTGTGGGG-3, mentre come reverse primer 5-ACCTATAGCACCCACGCCCT-3. Il numero di cicli impostati per questa PCR è 35 con una temperatura di denaturazione di 94 gradi per 30 secondi, una temperatura di allineamento di 58 gradi per 30 secondi, ed una temperatura di allungamento di 72 gradi per 45 secondi, con allungamento finale a 72 gradi per 10 minuti nell'ultimo ciclo. È importante lasciar denaturare il campione a 94 gradi per 10 minuti nel primo ciclo per una corretta denaturazione.

CORSA ELETTROFORETICA

- I prodotti di PCR ottenuti sono stati separati mediante l'utilizzo di un gel di agarosio ad alta risoluzione Amresco (Solon, OH) al 4%, contenente bromuro di etidio. Il gel è stato poi caricato con 5 microlitri di campione in ogni pozzetto utilizzando blu di bromofenolo come soluzione di caricamento. In un pozzetto è stata caricata una reazione PCR non contenente DNA per avere un controllo negativo di riferimento. Il gel è stato posto in vaschetta elettroforetica e lasciato correre per circa 40 minuti a 120 V consentendo così una nitida separazione delle bande.

HRM

- L'amplificazione PCR è stata eseguita in una piastra a 96 pozzetti nel sistema PCR Real-Time PikoReal™. Il volume di reazione totale è stato impostato a 10 microlitri; 1 microlitro di DNA campione e 0,5 microlitri per ogni primer, diretto ed inverso, sono stati addizionati a 8 microlitri di miscela di reazione LumirasisColor HRM Master Mix 2X. La PCR è stata eseguita con una denaturazione iniziale di 10 minuti a 95° C, seguita da 40 cicli di 10 secondi a 95° C, 30 secondi a 60° C e 30 secondi a 72° C. Successivamente abbiamo eseguito un riscaldamento mirato a 95° C per 30 secondi e un raffreddamento a 50° C per 30 secondi per permettere la formazione dell'eteroduplex, una struttura ibrida di acido nucleico formata da due filamenti provenienti da molecole diverse.

TEST O-SPAN

- In questa prova ci siamo serviti di una variante emotiva del classico O-span test. I partecipanti dovevano risolvere semplici operazioni aritmetiche e leggere ad alta voce delle parole, ricordando ogni parola che seguiva ogni operazione. Il compito diventava più difficile con l'aumentare delle parole da ricordare e lo svolgimento di più funzioni. Sono state costruite da tre a sei stringhe di parole/equazione per ogni stimolo affettivo (positivo, negativo e neutro), con due prove per ogni variante impostata.



III Convegno Nazionale SITLaB
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB
Società Scientifica Italiana dei TSLB



RISULTATI

• L'analisi del polimorfismo ADRA2B ha identificato 80 portatori e 127 non portatori su 207 partecipanti. L'analisi HRM ha identificato 57 portatori omozigoti per l'allele mutato CB1 (27,54%), 59 soggetti omozigoti per l'allele di riferimento (28,50%) e 91 soggetti eterozigoti (43, 96%). La procedura di stima ha formato una partizione delle prestazioni affettive, valutate tramite test O-span, correlate in sei cluster, composti da soggetti con variabili simili e che hanno risposto in modo quasi uguale al test O-span. I cluster sono stati ordinati, in andamento crescente, in base alla performance. L'analisi ha identificato gruppi di soggetti con una prevalenza di portatori di entrambe le varianti analizzate, che hanno risposto nel migliore dei modi al test sottoposto. È stato dimostrato che nel cluster con performance migliori degli altri, il sesto, è presente una prevalenza di soggetti portatori di entrambi le varianti geniche ADRA2B e CB1. È interessante precisare che questi cluster hanno dimostrato una migliore capacità di memoria per parole con valenza positiva. Questa caratteristica ha indicato che le differenze di genotipo sono coinvolte nel ruolo della memoria di lavoro per l'elaborazione di informazioni di valenza.

CONCLUSIONI

• Lo studio ha confermato la relazione significativa tra il sistema noradrenergico e il sistema cannabinoide con la memoria emotiva studiata su partecipanti sani ed anziani. Conferma la possibile ipotesi che la regolazione delle emozioni richiedesse meccanismi di controllo cognitivo per presenziare e ricordare in modo selettivo diverse informazioni. Viene evidenziato, dunque, il coinvolgimento della noradrenalina e del sistema cannabinoide nella flessibilità cognito-affettiva, che svolgono un ruolo fondamentale nei processi di regolazione delle emozioni, in particolare nella elaborazione della memoria di informazioni positive, principalmente in soggetti anziani.

BIBLIOGRAFIA

- McLaughlin RJ, Gobbi G, Cannabinoids and emotionality: A neuroanatomical perspective.
- Rodríguez de Fonseca F, Cebeira M, Ramos JA, Martín M, Fernández-Ruiz JJ, Cannabinoid receptors in rat brain areas: Sexual differences, fluctuations during estrous cycle and changes after gonadectomy and sex steroid replacement.
- Mammarella N, Borella E, Carretti B, Leonardi G, Fairfield B, Examining an emotion enhancement effect in working memory: Evidence from age-related differences.
- Mammarella N, Fairfield B, De Leonardi V, Carretti B, Borella E, Frisullo E, Di Domenico A, Is there an affective working memory deficit in patients with chronic schizophrenia?
- W.R. Gilks, S. Richardson, David Spiegelhalter, Markov chain Monte Carlo in practice.
- Diane M. Beck, and Sabine Kastner, Top-down and bottom-up mechanisms in biasing competition in the human brain.