Nel mio lavoro di tesi Magistrale ho studiato la migrazione neuronale, un processo fondamentale per il corretto sviluppo e funzionamento del sistema nervoso; infatti difetti di migrazione dei futuri neuroni portano a svariate patologie. Nel sistema nervoso durante lo sviluppo svariate molecole guidano le cellule fino al giusto posto, queste una volta raggiunta la loro destinazione si integrano e creano circuiti precisi. Tra queste molecole io mi sono occupata del sistema Neuregulina1 (NRG1) / ErbB4, del recettore del neurotrasmettitore glutammato di tipo NMDA (N-metil-D-aspartato), e del calcio, che giocano tutti un ruolo centrale nella migrazione sia radiale che tangenziale di neuroblasti.

In particolare in questo lavoro abbiamo esaminato le interazioni tra il sistema NRG1-ErbB4 e il recettore NMDA (che è un calane che fa entrare calcio nelle cellule) nella migrazione utilizzando un sistema *in vitro* di precursori neurali originati da primordi di striato (le cellule ST14A).

Studi di espressione genica hanno dimostrato che le cellule ST14A esprimono un ristretto numero di subunità del recettore NMDA, consentendo la formazione di canali caratterizzati da bassa sensibilità al magnesio (ione che blocca il canale in condizioni di riposo), permeabilità al calcio minore, e la generazione di correnti piccole e di lunga durata.

Saggi di migrazione in vitro hanno dimostrato che la sola stimolazione del recettore NMDA con il suo agonista non aumenta la migrazione, mentre esiste un effetto sinergico di NMDA e NRG1 (5-8 volte maggiore). Questo effetto positivo sulla migrazione indotta dalla NRG1 è coerente con la cooperazione tra i recettori NMDA e ErbB4 che potrebbe agire nell'induzione o nel mantenimento di un comportamento migratorio nelle cellule ST14A.

Il passo successivo è stato quindi indagare il ruolo del calcio.

Esperimenti di migrazione effettuati in presenza di un chelante del calcio (BAPTA-AM) hanno mostrato una riduzione altamente significativa della migrazione indotta da NMDA + NRG1 (dimezzato rispetto al controllo). Questo risultato supporta fortemente l'ipotesi che il meccanismo di interazione NMDAR/ErbB4 nella migrazione delle cellule ST14A sia correlato con le fluttuazioni del calcio intracellulare.

Abbiamo infine iniziato a caratterizzare il segnale di calcio indotto da NMDA - NRG1 in esperimenti di calcio-imaging, tecnica che consente di monitorare in cellule vive i cambiamenti dei livelli di calcio intracellulare. I nostri risultati indicano che la stimolazione con NRG1 porta ad un aumento del calcio intracellulare. Per capire l'origine di questo segnale la stimolazione con NRG1 è stata ripetuta in un mezzo privo di calcio: questa genera un segnale significativamente inferiore, a indicare che l'aumento di calcio è composto principalmente da un afflusso dal mezzo esterno, mentre è poco il contributo dei magazzini intracellulari di calcio (come reticolo endoplasmatico e mitocondri).

La stimolazione con NMDA genera un piccolo aumento di calcio che raggiunge un plateau con un valore massimo significativamente inferiore a quello ottenuto con NRG1. Questi risultati sono coerenti con l'espressione più bassa di NMDA rispetto al recettore ErbB4 nel sistema cellulare usato, questo concetto è ulteriormente supportata dal maggior numero di cellule che rispondono alla NRG1 (100%) rispetto a quelle che rispondono all' NMDA (70%).

In un ultimo set di esperimenti preliminari abbiamo provato una co-stimolazione di NMDA più NRG1 senza trovare un ulteriore incremento del calcio intracellulare libero rispetto ai livelli raggiunti dalla stimolazione con NRG1.

**Elementi di innovazione introdotti dallo studio**. In sintesi, questo lavoro sperimentale suggerisce per la prima volta una interazione tra i recettori NMDA ed il sistema NRG1-ErbB4 nella migrazione dei precursori neuronali. Questa interazione è calcio-dipendente e potrebbe avvenire nel corso di diversi minuti o ore. Lo studio, volto a sviscerare le interazioni molecolari coinvolte nella migrazione neuronale, è fondamentale per comprendere il processo multiforme che porta alla formazione di un complesso sistema nervoso a partire da un "semplice" epitelio pseudo-stratificato, ed è importante per le sue numerose implicazioni patologiche.

**Giulia Pregno**

**Tesi di Laurea Specialistica**

Autore: Giulia Pregno
Email: giulia.pregno@gmail.com
Relatore: Patrizia Bovolin

Università: Università degli Studi di Torino
Facoltà: Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali
Corso: Laurea Spec. in Neurobiologia
Data di Discussione: 07/10/2009
Voto: 110 cum laude
Disciplina: Neurobiologia
Tipo di Tesi: Sperimentale
Lingua: Inglese
Grande Area: Area Scientifica
Dignità di Stampa: Si

**Pubblicata in**: www.pubblitesi.it