

Ricerca

Viviana Persiani - giornalista

Comprendere le basi del cervello umano

Un recente studio ha sviluppato un nuovo modello di organoide cerebrale capace di riprodurre la polarità antero-posteriore della corteccia. La scoperta apre nuove inesplorate prospettive nello studio dei disturbi del neurosviluppo e della neurodiversità



Veronica Krenn,
PhD/Human
Technopole

Risale allo scorso settembre, la pubblicazione su *Nature Methods* di uno studio condotto da ricercatori di **Milano Bicocca**, di Human Technopole e dell'Istituto di Biotecnologia Molecolare che hanno messo a punto un nuovo metodo per assemblare organoidi cerebrali. Una nuova frontiera che consentirà di riprodurre *in vitro* aspetti salienti della polarità antero-posteriore della corteccia cerebrale umana, offrendo nuove prospettive rispetto allo studio di disturbi del neurosviluppo, andando a indagare i meccanismi che contribuiscono alla cosiddetta neurodiversità.

Lo stato dell'arte

«Nel nostro laboratorio ci occupiamo di comprendere le basi dello sviluppo del cervello umano e dei disordini che possono sorgere quando il neurosviluppo viene alterato - spiega **Veronica Krenn**, titolare della borsa di studio Human Technopole Early Career presso **Milano Bicocca**, e alla guida di un team di ricerca internazionale, in collaborazione con quelli del professor Jürgen Knoblich dell'Istituto di Biotecnologia Molecolare dell'Accademia Austriaca di Scienze (IMBA) di Vienna e del Professor Giuseppe Testa di Human Technopole di Milano - Poiché per lo sperimentatore è difficile avere accesso al tessuto umano cerebrale quando ancora è in fase di sviluppo e, di conseguenza, svolgere sperimentazioni, certi aspetti dello sviluppo risultano ancora molto enigmatici». A fronte di quella che è stata definita come una impattante pandemia silenziosa di danni neuropsichici con un incremento di disturbi del neurosviluppo, in particolare dello spettro autistico, nel tempo sono stati elaborati modelli di organoidi cerebrali, sempre più apprezzati e sempre più accurati per investigare le basi biologiche di questi disordini. Tuttavia, «la mancanza di gradienti morfogeni



che impartiscono informazioni sulla posizione corticale e sulla topografia nei sistemi attuali ostacola l'indagine di fenotipi complessi». Molto è stato svolto utilizzando i modelli murini, aiutando gli sperimentatori a gettare le basi di quelli che sono i principi che guidano il neurosviluppo anche nell'uomo, ma ci sono alcune differenze importanti che contraddistinguono l'essere umano. Per esempio, sono state documentate popolazioni di cellule solo nel cervello umano durante il suo sviluppo, non presenti quindi nei modelli murini. «Le malattie del neurosviluppo hanno origine da una combinazione di fattori genetici e ambientali - chiarisce Krenn

Per esempio, nei modelli murini è possibile ricreare alterazioni genetiche, andando a vedere l'effetto di questa alterazione osservando dei fenotipi di comportamento. Ci sono saggi che possono misurare il grado di socialità del topo, come un esempio di quello che può succedere nell'uomo. Oppure dei saggi di movimento. Sono state evidenziate caratteristiche nei topi che cerchiamo di trasferire all'uomo, ma spesso l'aspetto comportamentale non arriva a catturare gli effetti cruciali del comportamento umano. Anche misurare gli effetti sulla capacità cognitiva nel topo non è semplice. Tuttavia, il modello murino ci aiuta a capire le cause genetiche e la variabilità individuale. Spesso i disturbi sono legati a varianti poco invasive che non danno effetti nel topo».

Il modello per lo studio

Un importante passo avanti nello studio del neurosviluppo è stato l'avvento di organoidi cerebrali come modelli complementari al topo che offrono la possibilità di guardare in maniera più sistematica a varianti genetiche e a fattori ambientali che possono influenzare lo sviluppo, riprendendo alcuni aspetti umani. «Gli organoidi hanno aperto nuove prospettive - spiega la ricercatrice - tra cui la possibilità di andare a riprodurre esattamente le stesse alterazioni genetiche dei pazienti e capire le basi genetiche e molecolari dei disturbi neurologici. Ciò attraverso la tecnologia delle staminali pluripotenti. Una volta prelevati campioni di cellule da pazienti, si riprogrammano a cellule indifferenziate, portandole allo stadio di pluripotenza. Da queste cellule riprogrammate contenenti le informazioni genetiche dell'individuo donatore si possono generare gli organoidi». Si tratta, ovviamente, di prototipi di cervello accessibili alla sperimentazione che, proprio perché mantengono l'informazione genetica del donatore, permettono di capire il contributo della genetica alle malattie e anche la variabilità intra individuale in questo contesto. «Il primo pro-

Ricerca

Le applicazioni pratiche

In quale maniera, però, questo nuovo modello può aiutare in concreto a capire le basi dei disordini del neurosviluppo? «Una prospettiva futura è quella di capire come funziona questa mappatura dal punto di vista dello sviluppo - spiega Veronica Krenn - Non sarà un lavoro semplice, essendo le mappature individuali. Ogni individuo è unico e vorremmo comprendere il significato di questo concetto dal punto di vista biologico. Sospettiamo che ci possano essere deviazioni dalla mappatura nel contesto dell'autismo. Vorremmo guardare al processo di mappatura mediante questo nuovo modello organoide con alterazioni genetiche riconducibili all'autismo o in certe condizioni che espongono l'individuo al rischio di sviluppare autismo - per esempio insulti virali, infezioni in gravidanza. Possiamo osservare l'effetto sulla mappatura attraverso la lente dell'organoide». Sarebbe utile esaminare la mappatura anche in altri contesti. Ci sono patologie che, per motivi poco noti, colpiscono alcune aree soltanto. Per esempio, la *frontotemporale dementia*, una demenza che colpisce la zona frontale e temporale. «Oggi, con l'organoide cerebrale che abbiamo studiato riusciamo a vedere i due assetti dell'area frontale e temporale e potremmo capire se e quanto queste due aree sono vulnerabili a certi insulti genetici o a infiammazioni, o a attacchi virali. Secondo il mio parere, il modello può essere molto informativo e, in prospettiva, potremmo trarne considerazioni per varie malattie neurologiche. Il modello offre una fonte di cellule di queste aree che possono essere utilizzate per capire la base di alcune diversità intra-individuali», afferma Krenn.

totipo di questi organoidi risale al 2013 e ha preso forma nel laboratorio dove mi sono formata - spiega Veronica Krenn - da lì in poi, una serie di lavori sono andati a migliorare questi modelli sotto vari aspetti. Partendo dalle necessità di migliorare l'accuratezza dei modelli, io e la dott.ssa Camilla Bosone abbiamo focalizzato la nostra attenzione sull'elaborazione di un modello che fosse più organizzato, riproducendo una mappa organizzativa delle cellule staminali neuronali già definita a livello embrionale. Durante lo sviluppo, le staminali neuronali si organizzano in piccoli gruppi seguendo un'organizzazione precisa dotata da segnali extracellulari presenti nel tessuto e, successivamente, iniziano a generare neuroni. Nel cervello in via di sviluppo, si identificano, dunque, la regione delle staminali e quella dei neuroni. Nell'organoide classico, queste due popolazioni di staminali e neuroni si formano, ma in maniera casuale nel tessuto, non costituiscono una mappatura del cervello umano. Mappatura che è fondamentale per permettere la differenziazione tra le diverse porzioni. Da qui, abbiamo iniziato a lavorare sfruttando la conoscenza sui segnali morfogeni che fungono da coordinate per questa mappatura. Nel tessuto umano ci sono tantissimi segnali con durate differenti, che partono da posizioni diverse. L'organizzazione è complessa e la vera difficoltà è riuscire con pochi segnali a ricostruire la mappa. «Abbiamo individuato il segnale che sembrava essere cruciale,

la proteina FGF8, e sull'azione di questo abbiamo strutturato il modello», spiega Veronica Krenn. Questo è solo l'inizio di un percorso, perché come sostiene la ricercatrice si aggiungeranno altri segnali, magari combinando tecnologie emergenti come l'ingegneria di precisione e approcci che derivano da altri campi. Per generare la mappa nell'organoide, il team di ricercatrici ha lavorato anche alla modulazione del segnale che doveva essere distribuito in modo polarizzato. «Attraverso l'utilizzo di colture *organizer like*, siamo riuscite a mettere la fonte di FGF8 all'interno del nostro organoide. La mappatura, però, non funzionava, perché il segnale era troppo forte, disperso o distribuito in modo omogeneo in un organoide sferico. Abbiamo quindi lavorato a un design allungato, creando una polarizzazione. Avvalendoci di diverse tecniche, siamo riuscite a vedere le differenze tra le diverse regioni, osservando che il trascrittoma vicino alla fonte era diverso da quello del pezzo distale. Inoltre, il sistema ci diceva che cravamo in grado di introdurre una diversità tra le parti dell'organoide. Per questo modello, infatti, abbiamo combinato due aspetti cruciali, ovvero la generazione di popolazioni di staminali neuronali trascrizionalmente distinte e posizionandole correttamente nel tessuto, così come si trovano spazialmente segregate nel cervello».

Bibliografia

1. <https://www.nature.com/articles/s41592-024-02412-5>