

Il mistero dei neuroni “immaturi”

Scoperti 25 anni fa e riscoperti 15 anni dopo, i neuroni “immaturi” restano un mistero irrisolto del cervello e, forse, una grande opportunità.

Luca Bonfanti

e **Chiara La Rosa,**

NICO - Neuroscience

Institute

Cavalieri Ottolenghi

Tra i tanti equivoci che circolano in ambito neurologico, il più ingannevole afferma che siamo ormai giunti a capire come funziona il cervello. Sebbene negli ultimi decenni le neuroscienze abbiano conosciuto un'espansione epocale, tuttora in corso, l'enorme quantità di conoscenza acquisita non ha infatti ancora risposto a molte domande su struttura e funzione dell'organo più seducente del corpo umano. Le tecniche di indagine non invasive, come la risonanza magnetica funzionale, pur

Sono ancora molte le domande aperte sul funzionamento del cervello.

avendo contribuito a svelare molto sull'attività cerebrale, ci hanno fatto illudere di capire veramente cosa succede nel cervello durante il suo funzionamento. In realtà, che cosa fa esattamente ognuno dei milioni di neuroni che si accendono tutti insieme per “colorare” un'area della corteccia cerebrale mentre facciamo o pensiamo qualcosa non è ancora dato saperlo.

Oltre all'oggettiva complessità degli elementi in gioco, il vero problema nello studio del sistema nervoso è la distanza quasi incolmabile che separa la conoscenza del livello cellulare da quella dell'attività globale che determina il comportamento dell'individuo, due estremi ancora raggiungibili per lo più separatamente, con approcci diversi. Negli ultimi trent'anni, alla complessità

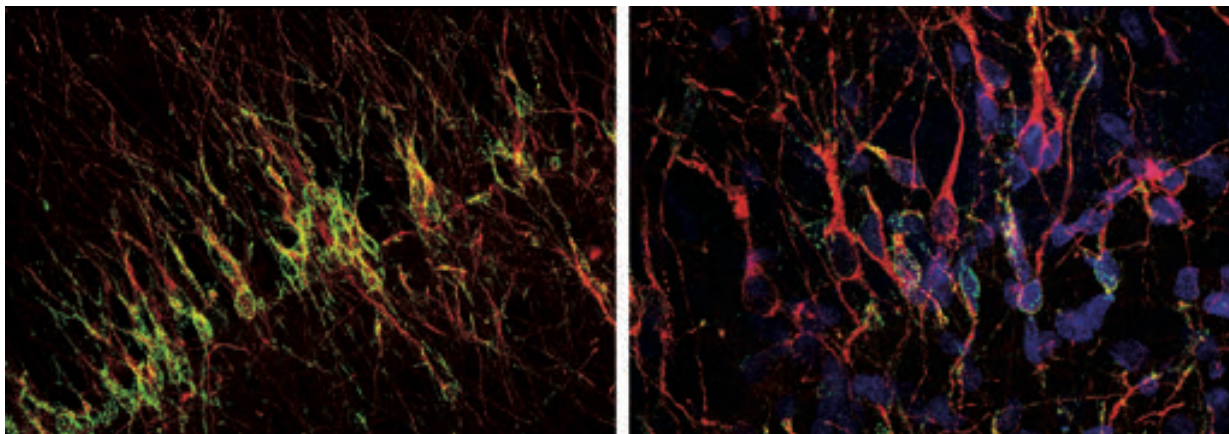
dell'*hardware* cerebrale (la somma dei miliardi di neuroni e delle migliaia di miliardi di loro connessioni) si è aggiunta quella di un'inaspettata plasticità strutturale: la capacità del cervello di cambiare

forma e numero dei suoi componenti – cellule nervose e cellule di sostegno, o gliali – inclusa la produzione di nuovi neuroni nel corso della vita dell'individuo, la cosiddetta neurogenesi adulta [1]. Anche in questo caso, sebbene si sia imparato tantissimo sui protagonisti dei movimenti che avvengono all'interno di un organo erroneamente considerato statico (come le cellule staminali cerebrali e i precursori neurali che da esse derivano), le domande aperte sui meccanismi che ne controllano il destino sono ancora molte. Anzi, potremmo dire che dopo i circa 9000 lavori scientifici pubblicati sull'argomento a partire dagli anni '90, le domande sono addirittura aumentate.

In tale contesto di ricerca, che rimane “di frontiera” da quasi tre decenni, si è inserito lentamente, in modo discreto, un tema parallelo e relativamente oscuro: quello dei neuroni “immaturi”.

Molecole “embrionali” nel cervello adulto

Già nei primi anni '90, con la scoperta della neurogenesi adulta, sono stati identificati alcuni “marcatori di immaturità”: molecole normalmente espresse dai progenitori dei neuroni durante lo sviluppo embrionale del cervello che, stranamente, risultano ancora presenti in alcuni gruppi di neuroni dell'adulto.



Molecole di immaturità (in rosso, *doublecortina*; in verde, PSA-NCAM) espresse da cellule neo-generate dell'ippocampo (a sinistra) e da neuroni immaturi della corteccia cerebrale (© Chiara La Rosa).

Uno dei principi che governano la formazione del sistema nervoso durante la vita fetale è quello del differenziamento dei neuroni e della conseguente maturazione dei circuiti nervosi. Come avviene per le altre cellule, anche i neuroni derivano da cellule staminali e da progenitori "indifferenziati" che progressivamente cambiano la loro composizione molecolare e la loro morfologia (o più precisamente si "differenziano") per diventare "maturi". Le cellule nervose così formate stabiliscono contatti reciproci, le sinapsi, consentendo ai circuiti nervosi di "assemblarsi" per costituire la complessa neuroanatomia del cervello adulto.

Nel 1991, uno degli autori (Luca Bonfanti) stava localizzando una molecola tipica degli stadi immaturi nel cervello dei roditori adulti. La proteina in oggetto, detta PSA-NCAM, è una variante della "molecola di adesione neuronale" (NCAM) che tiene unite tra loro le membrane di tutti i neuroni, assicurando in tal modo la stabilità dei circuiti cerebrali. La variante

Molecole espresse durante lo sviluppo embrionale del cervello si ritrovano in alcuni neuroni dell'adulto.

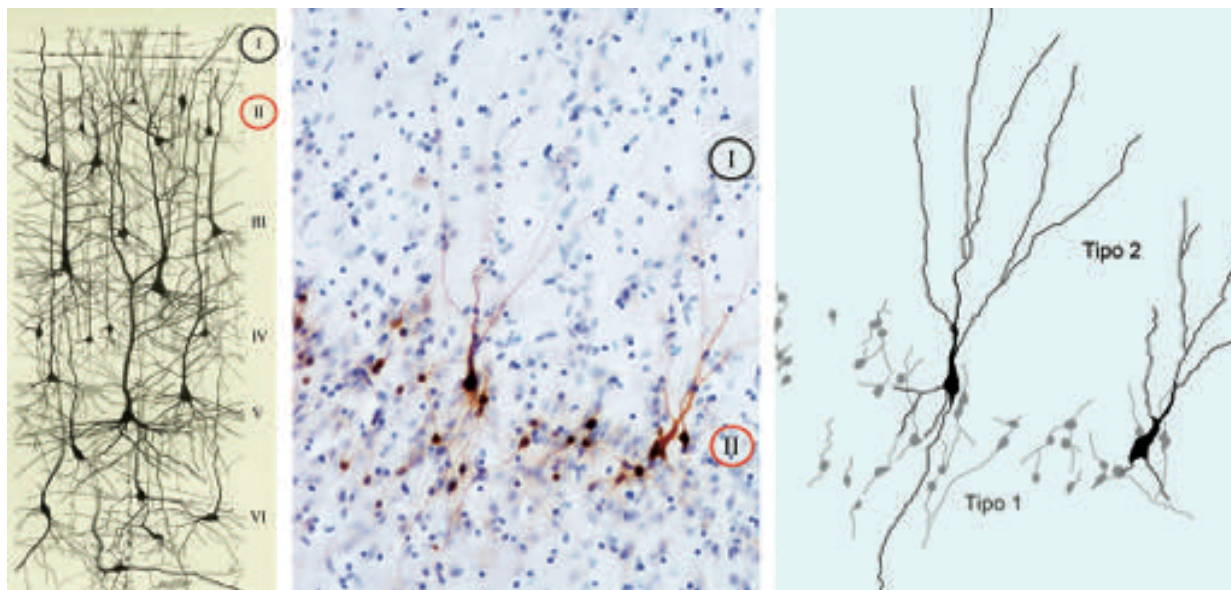
in questione possiede sulla parte della proteina che sporge dalla membrana un grosso polimero di acido sialico (PSA) che per un fenomeno fisico-chimico la rende anti-adesiva; non a caso la PSA-NCAM è abbondantissima durante lo sviluppo embrionale del cervello – che sappiamo essere una fase di grande plasticità – e per questo è detta

anche NCAM "embrionale", mentre viene rimpiazzata dalla NCAM "adesiva" nell'adulto. Nello studio di cui sopra si dimostrava che la PSA-NCAM continua a essere espressa in alcuni gruppi di neuroni noti per andare incontro a fenomeni plastici anche nel cervello adulto [2]. Tra questi, c'erano inoltre alcuni neuroni del secondo strato della corteccia cerebrale evolutivamente più antica: la paleocorteccia. Nel frattempo, proprio in quegli anni, esplose il fenomeno della neurogenesi adulta e tutte le cellule neo-generate (cioè generate *ex novo* dopo la nascita) a partire dalle staminali cerebrali esprimevano, ovviamente, la PSA-NCAM. Si scoprì però ben presto che la genesi di nuovi neuroni è confinata in piccole regioni del cervello, molto diverse dalla corteccia cerebrale, per cui i neuroni positivi per la PSA-NCAM della paleocorteccia rimasero un mistero irrisolto.

Pochi anni dopo, venne scoperta una seconda molecola tipica dell'immaturità: la *doublecortina*, proteina del citoscheletro importante nella migrazione dei progenitori neurali e la cui mutazione genica è causa di malattie come la *lissencefalia* e la *sindrome della doppia corteccia* (malformazioni in cui le circonvoluzioni cerebrali sono alterate o assenti proprio a causa di difetti di migrazione cellulare). La *doublecortina* divenne subito il marcatore di elezione per identificare i neuroni neo-generati, ma era prodotta in elevate quantità anche dalle cellule del secondo strato della paleocorteccia.

Neuroni "in stand by"

Nel corso degli anni 2000, dominati dall'interesse per la neurogenesi adulta e dalle speranze di utiliz-



Due tipi principali di neuroni immaturi (cellule marcate in marrone con la doublecortina) nel secondo strato della corteccia cerebrale: tipo 1, piccole, poco ramificate; tipo 2, grandi, con dendriti lunghi e ramificati (© Chiara La Rosa).

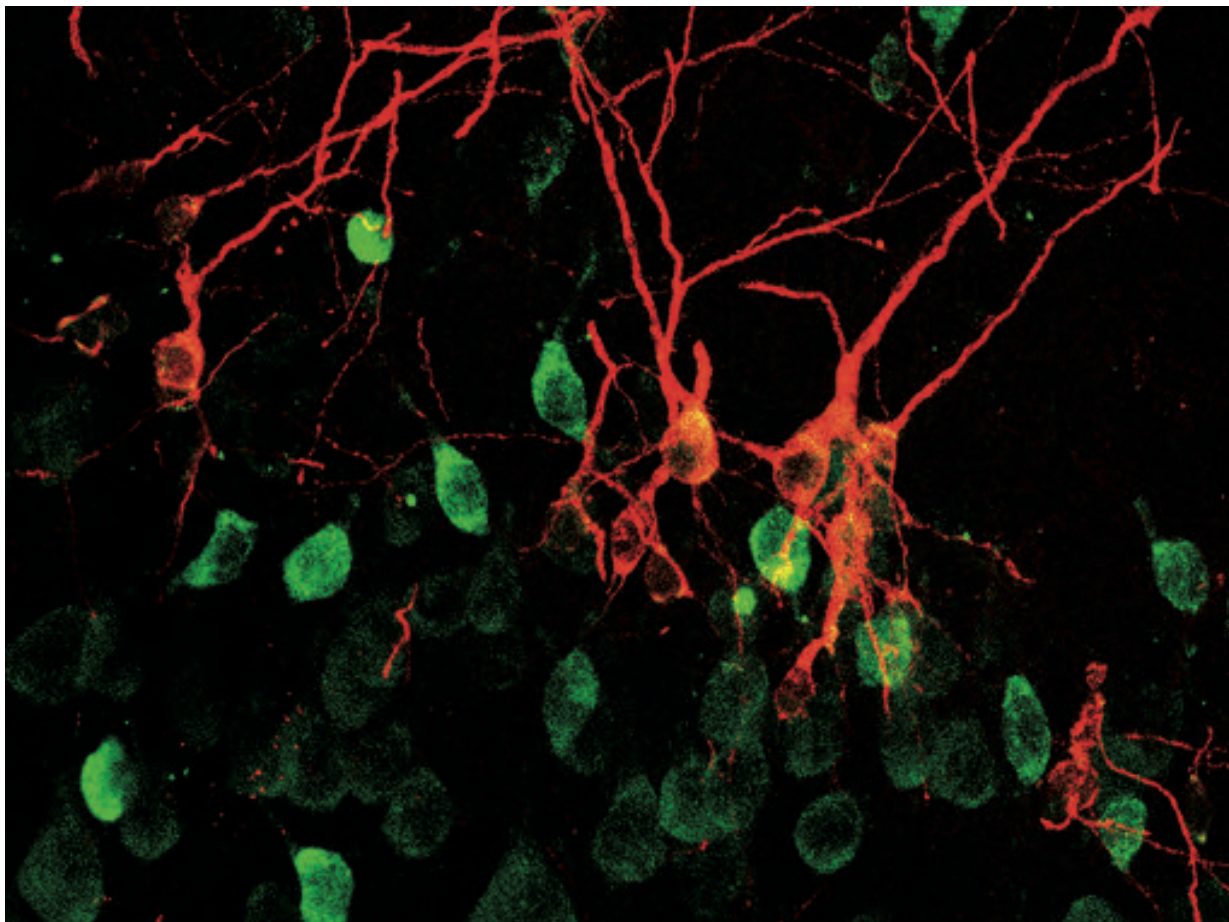
zarla per la cura dei disordini neurologici, numerosi gruppi di ricerca hanno tentato di dimostrare che i neuroni positivi per PSA-NCAM e doublecortina nella paleocorteccia erano neo-generati, cioè generati *ex novo* nella vita adulta. Eppure, nonostante alcuni tentativi maldestri di perseguire tale fine, la comunità scientifica tendeva a escludere l'ipotesi di una neurogenesi corticale.

Nel 2008, il ricercatore spagnolo Juan Nacher, eseguendo uno studio dettagliato sui ratti a partire dalle fasi fetali, ha dimostrato definitivamente che le cellule in questione sono generate *prima*

**L'ipotesi
allettante è
che queste
cellule
rimangano
"congelate"
a uno stadio
precoce di
maturazione,
permanendo in
una condizione
di protratta
gioventù.**

della nascita, rimanendo poi in un *prolungato stato di immaturità* per il resto della vita [3]. Purtroppo, lo stesso ricercatore non è stato altrettanto fantasioso nel denominare il nuovo tipo di neuroni, chiamandoli semplicemente "immaturi". Tale termine, infatti, non li distingue da quelli neo-generati, anch'essi inevitabilmente tutt'altro che maturi, almeno nelle prime fasi dopo la loro formazione. La

differenza sta nel fatto che l'immaturità dei neuroni neo-generati è transitoria (circa 2-3 settimane nel topo), seguita da completa maturazione e integrazione nei circuiti, mentre nei "veri" neuroni immaturi, già presenti alla nascita, si può protrarre per anni e, in teoria, per tutta la vita. L'equivoco terminologico si è sommato quindi alla riluttanza degli scienziati verso l'accettazione di un fenomeno nuovo, tant'è che ancora oggi molti neurobiologi della neurogenesi adulta continuano a pensare che ogni cellula cerebrale positiva per PSA-NCAM o doublecortina sia generata *ex novo*. Per coloro che però sono disposti ad ammettere la particolarità dei neuroni immaturi, oltre all'evidente mancanza di un fenomeno di genesi sia da proliferazione locale che di provenienza da altre zone, esistono alcune fotografie di microscopia elettronica in cui essi appaiono quasi privi di sinapsi sulla loro superficie. Se si considera che un neurone maturo della corteccia cerebrale riceve normalmente migliaia di contatti sinaptici, è molto probabile che i neuroni immaturi non siano connessi con le cellule nervose circostanti. Le immagini dello scienziato spagnolo rivelano, inoltre, la presenza di sottili prolungamenti degli astrociti (le cellule gliali che fungono da supporto ai neuroni) detti "lamelle astrocitarie", che contribuirebbero a isolare il neurone immaturo dai circuiti nervosi corticali. Da qui l'ipotesi allettante che queste cellule rimangano "congelate" a uno stadio mol-



Neuroni immaturi visualizzati con doublecortina (rosso) e con tracce di marcatore di maturità (HuC/D, verde); la sovrapposizione dei due marcatori appare in giallo (© Ottavia Palazzo).

to precoce della maturazione, permanendo così in una condizione di protratta giovinezza, come se fossero in “stand by”.

Evoluzione: un’inversione di tendenza?

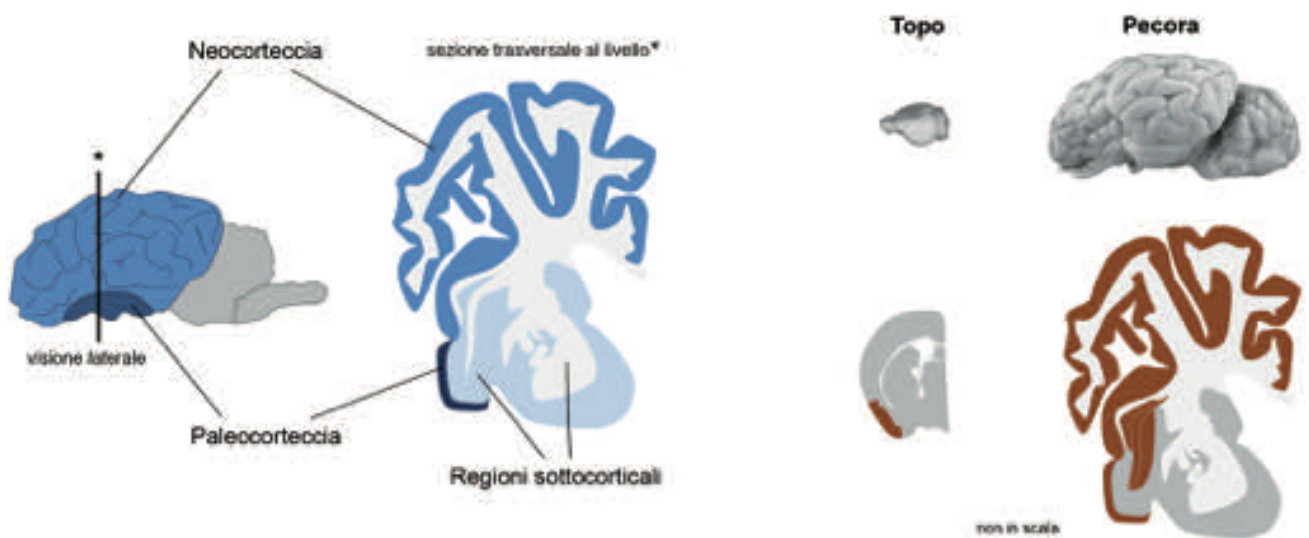
I primi studi effettuati su topi e ratti relegavano i neuroni immaturi nella parte evolutivamente più antica della corteccia cerebrale, la paleocorteccia. Ricerche successive hanno invece rivelato che in alcune specie di mammiferi, come i conigli e le cavie, possono essere presenti anche nella neocorteccia, la parte più recente e più “nobile”.

Studi attualmente in corso nel nostro laboratorio mirano a investigare la presenza, la distribuzione neuroanatomica e la quantità relativa di tali neuroni nei cervelli di un gran numero di specie animali appartenenti ai diversi ordini di mammiferi, inclusi i primati e l’uomo. Il progetto, denominato NEURONI ALTERNATIVI, parte dalle

più recenti osservazioni in fatto di plasticità cerebrale, che indicano una neurogenesi adulta molto meno frequente in alcuni mammiferi con cervello grande e aspettativa di vita lunga, come uomo e delfino, soprattutto se paragonata a quella costante e abbondante osservabile nei topi, che vivono al massimo un anno e hanno un cervello di appena 0,5 grammi. La neurogenesi adulta è infatti un fenomeno biologico molto dispendioso per il cervello e pertanto, probabilmente, poco compatibile con lo sviluppo delle grandi capacità cognitive legate all’espansione della corteccia cerebrale.

L’idea del progetto è che l’evoluzione possa

I neuroni immaturi sembrano essere più abbondanti in specie con aspettativa di vita lunga e minore neurogenesi.



La presenza di neuroni immaturi (rappresentata in marrone) è limitata alla paleocorteccia nel cervello del topo ma si estende alla neocorteccia e a regioni sottocorticali in mammiferi più grandi e con aspettativa di vita più lunga.

aver selezionato forme alternative di plasticità, come quella dei neuroni immaturi, in parallelo alla riduzione di neurogenesi. Per ora si tratta soltanto di un'ipotesi di lavoro, forse troppo semplicistica: nelle diverse ramificazioni dell'albero filogenetico molti aspetti neuroanatomici e funzionali del cervello appaiono eterogenei poiché scolpiti nell'evoluzione da molteplici fattori, che vanno dai geni espressi nel corso dello sviluppo alle nicchie ecologiche cui le diverse specie si sono adattate nel corso del tempo. Tuttavia, una recente pubblicazione che ha utilizzato come modello la pecora, dotata di un cervello relativamente grande e un'aspettativa di vita di circa 15-20 anni, collocandosi così a metà strada tra topo e uomo, ha mostrato che i neuroni immaturi si trovano in gran quantità nell'intera neocorteccia e, per la prima volta, anche in regioni sottocorticali come l'amigdala e il claustrum, che sottendono a importanti funzioni cognitive ed emozionali [4].

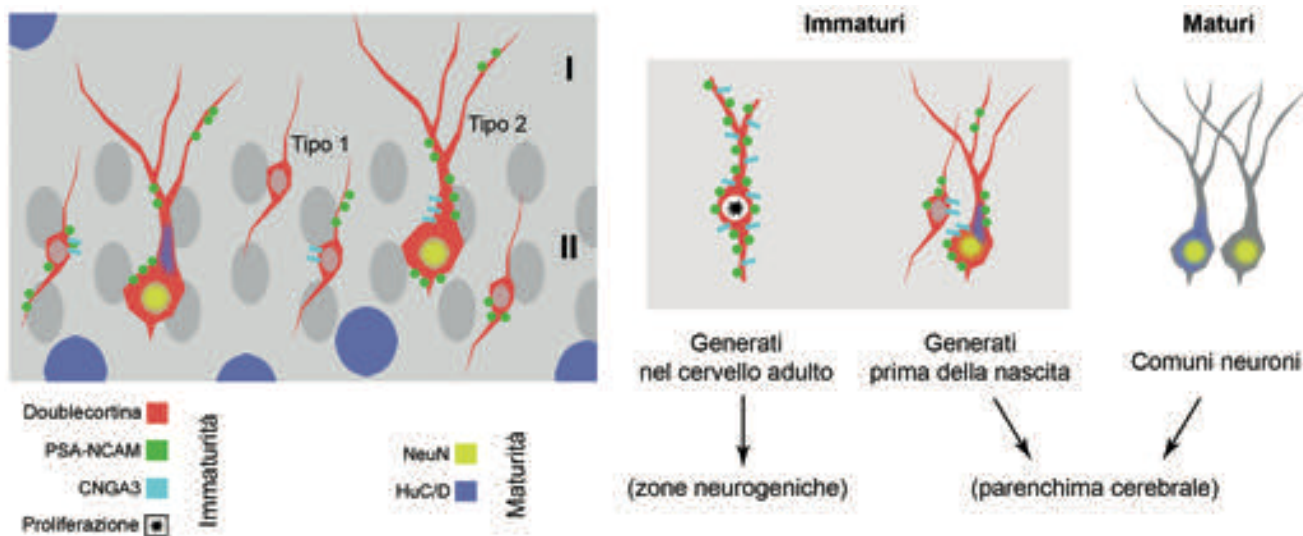
In attesa di maggiori informazioni sull'uomo, nel quale i neuroni immaturi sembrano essere presenti ma non ne è ancora nota la quantità e la distribuzione nell'intera corteccia cerebrale, i dati ottenuti finora nelle diverse specie di mammiferi indicano un'enorme eterogeneità, con differenze quantitative che possono arrivare fino a dieci volte. Regge pertanto l'ipotesi che diversi tipi di plasticità siano stati scelti dai diversi mammiferi nel corso dell'evoluzione, tendendo in alcuni casi a penalizzare la neurogenesi e a premiare i neuroni immaturi.

Neuroni giovani in cervelli vecchi

Tra i problemi che preoccupano le società contemporanee e, in misura ancora maggiore, le generazioni future, vi è sicuramente l'invecchiamento cerebrale, sia in termini di insorgenza di patologie neurodegenerative (molte delle quali ancora incurabili) che di demenza senile legata all'età avanzata. È infatti ovvio che, sia in presenza sia in assenza di specifiche patologie, il progressivo allungamento dell'aspettativa di vita può avere effetti negativi in un organo che, a parte limitate eccezioni, non è in grado di rinnovare i propri elementi cellulari. In questo contesto, almeno sul piano teorico e sulla base degli studi comparativi esistenti, i neuroni immaturi possono essere considerati come una riserva di neuroni giovani in cervelli che potrebbero non essere più in grado di generarne di nuovi.

I risultati di alcune ricerche suggeriscono che i neuroni immaturi possono maturare con l'avanzare dell'età. Il loro numero diminuisce infatti negli animali vecchi rispetto ai più giovani, e alcune modificazioni sperimentali indotte nei topi fanno variare tali numeri, come a suggerire che lo stile di vita possa modulare il destino di

L'invecchiamento cerebrale è uno dei problemi che più preoccupa la società contemporanea.



Diversi gradi di immaturità nei neuroni “immaturi” e in quelli neo-generati. La gradualità si evince dalla combinazione di diversi marcatori molecolari di maturità e immaturità (disegno di Luca Bonfanti, da *Journal of Neuroscience*, 2018).

queste cellule, fenomeno già noto nel caso della neurogenesi adulta. Un recente studio, usando un topo transgenico in cui è possibile indurre la visualizzazione delle cellule doublecortina-positive anche in periodi della vita in cui il marcatore non è più espresso, ha dimostrato che i neuroni immaturi corticali non scompaiono con il passare del tempo: a diminuire è il numero di quelli visibili con i “marcatori di immaturità”, proprio perché smettono di esprimerli in seguito alla maturazione [5].

La riserva di neuroni “giovani” potrebbe essere usata per ridurre gli effetti negativi dell’invecchiamento.

“Integrate” come nuovi elementi funzionanti nei circuiti nervosi preesistenti. Se così fosse, si potrebbe considerare il fenomeno una forma di lentissima neurogenesi, in cui si avrebbe l’aggiunta di nuovi neuroni nella vita adulta, anche se la genesi è avvenuta prima della nascita. Per raggiungere questa certezza sarà necessario individuare nuovi marcatori che permettano di seguire nel tempo il destino di singole cellule o eseguire ricostruzioni in microscopia elettronica per identificare l’avvenuta formazione di contatti sinap-

Tuttavia, non è stato ancora possibile fornire una prova definitiva del fatto che le cellule “non più visibili” vengano realmente “in-

tegrate” come nuovi elementi funzionanti nei circuiti nervosi preesistenti. Ecco quindi spiegato come, a 25 anni dalla loro scoperta, i neuroni immaturi costituiscano ancora un mistero in gran parte irrisolto del cervello e della sua plasticità.

I ricercatori del presente si trovano di fronte a un enigma ben protetto dalla complessità cerebrale e dal carattere elusivo dei marcatori cellulari, ma, forse, anche a una grande opportunità. Una riserva di neuroni giovani, rimasti in “stand by”, soprattutto se adeguatamente “allenata”, potrebbe essere usata dal nostro cervello per contrastare o ridurre gli effetti negativi dell’invecchiamento cerebrale, o per allontanare l’insorgenza e rallentare l’impatto di problemi neurologici legati all’età.

Riferimenti bibliografici

- [1] L. BONFANTI, “Nuovi neuroni: che farne?”, *Sapere*, 2, 2016, pp. 16-21.
- [2] L. BONFANTI, S. OLIVE, D.A. POULAIN, D.T. THEODOSIS, “Mapping of the distribution of polysialylated neural cell adhesion molecules throughout the central nervous system of the adult rat”, *Neuroscience*, 49, 1992, pp. 419-436.
- [3] M.A. GÓMEZ-CLIMENT *et al.*, “A population of prenatally generated cells in the rat paleocortex maintains an immature neuronal phenotype into adulthood”, *Cerebral Cortex*, 18, 2008, pp. 2229-2240.
- [4] M. PIUMATTI *et al.*, “Non-newly generated, ‘immature’ neurons in the sheep brain are not restricted to cerebral cortex”, *The Journal of Neuroscience*, 38, 2018, pp. 826-842.
- [5] P. ROTHENEICHNER *et al.*, “Cellular plasticity in the adult murine piriform cortex: Continuous maturation of dormant precursors into excitatory neurons”, *Cerebral Cortex*, 28, 2018, pp. 2610-2621.