

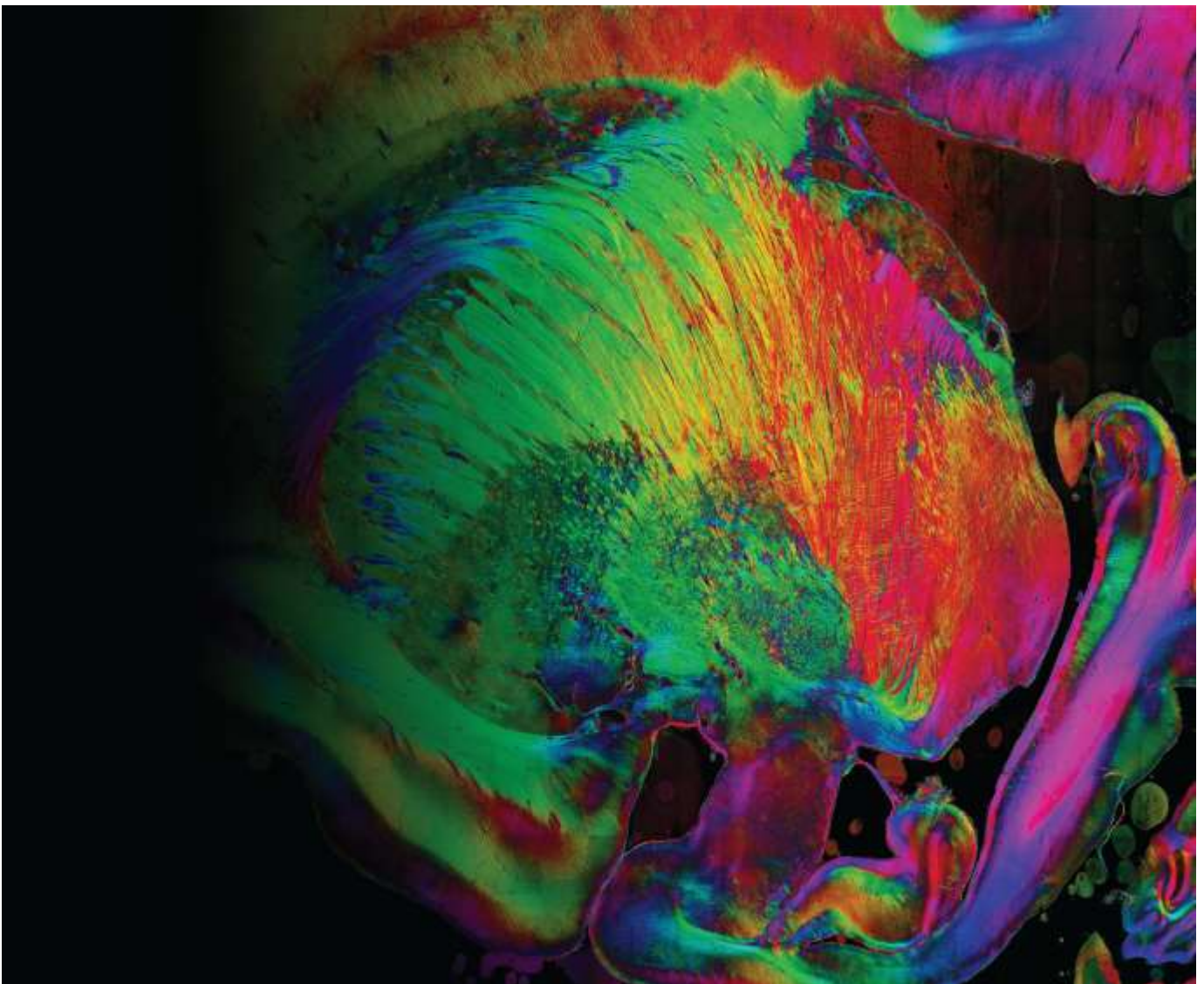
8. Novembre

## Nessun neurone è un'isola: dal connettoma alla neuro-optogenetica

*Il cervello non ha alcuna conoscenza finché non vengono istituite connessioni fra i neuroni.  
Tutto quello che sappiamo, tutto quello che siamo deriva dal modo in cui sono connessi i nostri neuroni.*

Tim Berners-Lee

Il cervello è molto più delle sue cellule costituenti. Ogni neurone nel cervello si connette con migliaia di altri neuroni, ma invece di una **cacofonia di connessioni**, si realizza una **sinfonia sincronizzata**. Il coordinamento delle funzioni, dei comportamenti e pensieri del corpo richiede che un gran numero di neuroni agisca in modo cooperativo e non come entità isolate. I risultati sono guidati dalle connessioni tra i neuroni, sia che si tratti di comunicare con una cellula nervosa vicina o di inviare e ricevere segnali da e verso aree distanti del cervello.



Una miriade di *tecniche innovative* consentono ai ricercatori di stimolare in modo specifico gruppi selezionati di neuroni negli animali e di misurare in modo non invasivo come attivano altre parti del cervello, vicine o lontane.

I progressi *nell'imaging cerebrale* rivelano proiezioni anatomiche e modelli di *connettività funzionale*, consentendoci di vedere la loro attivazione in tempo reale.

I primi *atlanti cerebrali digitali* del topo e del ratto, ad esempio, forniscono preziose informazioni sulla connettività delle cellule.

Con una migliore comprensione della complessità delle normali connessioni cerebrali, impariamo sempre di più su "*cosa va storto*" quando vengono interrotte e/o lesionate

La rappresentazione dei modelli di connettività in vari organismi inizia a rivelare i passaggi coinvolti nell'evoluzione dalle più semplici *reti neurali* al cervello multistrato e multinucleato dei mammiferi.

Senza connessioni che scorrono senza intoppi, il cervello non è altro che "un mucchio" di neuroni.

La convergenza di diverse discipline sta alimentando l'espansione della ricerca nel settore delle neuroscienze, alla base di questa crescita ci sono *tecnologie sempre più avanzate* come *calcolo ad alte prestazioni, simulazione e modellazione neuronale, imaging cerebrale in tempo reale* e ad alta risoluzione, *tecniche di registrazione avanzate* e una dettagliata mappatura neuronale.

L'insieme di queste tecniche sta migliorando la nostra comprensione dello sviluppo, della funzione e dei disturbi del sistema nervoso ed hanno, il merito di stimolare molte nuove domande sul cervello umano.

Tuttavia sono necessari mezzi più robusti per caratterizzare i segnali cerebrali in modi che possano migliorare la capacità di monitorare i processi neurali. In particolare c'è anche bisogno di strumenti che rilevino *l'organizzazione dinamica e l'attività coordinata* delle popolazioni di neuroni nel cervello, in modo da esplorare la loro rilevanza ai fini del comportamento e dei processi cognitivi.

E' indispensabile avvicinarci all'elaborazione delle informazioni utilizzando *strumenti matematici pertinenti*, che ci aiutino a capire meglio come gli insiemi di neuroni elaborano le informazioni e di conseguenza modificano le loro strutture mentre il cervello impara.

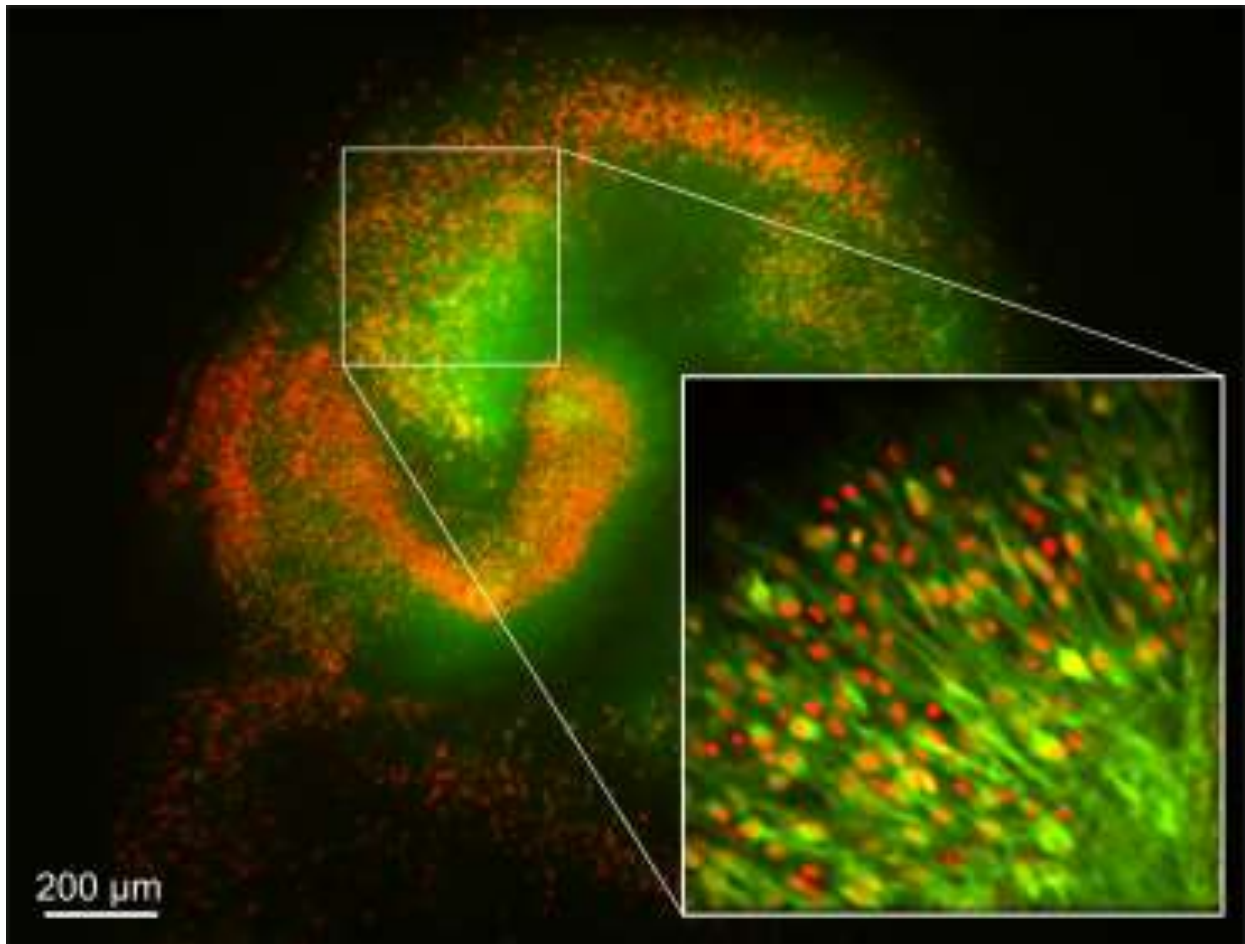
In particolare gli approcci *dell'ingegneria genetica* devono essere ulteriormente perfezionati se vogliamo analizzare i circuiti neurali che sono alla base di condizioni complesse come i disturbi mentali.

Un approccio che sta diventando sempre più importante combina metodi genetici ottici e molecolari. Queste *tecnologie "optogenetiche"* facilitano la scoperta dei meccanismi attraverso i quali i neuroni elaborano e integrano gli input sinaptici.

### Vedi allegato

I *sensori*, geneticamente codificati, costruiti fondendo proteine fluorescenti con proteine funzionali coinvolte nella segnalazione fisiologica, consentono l'uso della luce per visualizzare l'attività cellulare eccitabile in ampi gruppi di neuroni.

Questi *sensori* possono essere introdotti selettivamente nei neuroni ed estraggono i segnali neuronali da un cervello intatto in modo più efficiente rispetto ai coloranti organici.



Limitando l'espressione di un sensore in una sottopopolazione di neuroni, è possibile visualizzare la connettività tra più gruppi di neuroni diversi ed esaminare come l'attività di neuroni specifici contribuisca alla funzione dei circuiti neurali.

Finora sono stati sviluppati diversi sensori (vedi allegato) per studiare l'integrazione del segnale, la trasmissione sinaptica e la plasticità neuronale; siamo solo nelle primissime fasi di sfruttamento di questo metodo che al massimo delle sue potenzialità ci consentirà di comprendere la funzione cerebrale in un contesto fisiologico.

A questo proposito, una ulteriore integrazione a questi metodi ottico-genetici combinati prevede l'utilizzo della microscopia di eccitazione a due fotoni che ha notevolmente aumentato la penetrazione nei tessuti ed è pertanto ampiamente utilizzato per visualizzare il cervello intatto.

Inoltre, è auspicabile che questi nuovi strumenti, codificati geneticamente, inducano un'evoluzione nella microscopia. Ad esempio, i progressi nell'imaging cerebrale hanno consentito agli scienziati di utilizzare microscopi a fluorescenza miniaturizzati basati su fibre ottiche per osservare l'attività cerebrale negli animali che si comportano svegli.

Sarà inoltre necessario la disponibilità di un nuovo sistema di microscopia per la ricostruzione su larga scala dei circuiti neuronali nei campioni di cervello, per poter realizzare una mappa fisica

completa del sistema nervoso umano e poter così analizzare (ammirare...) assoni e dendriti mentre trasportano segnali che percorrono lunghe distanze.

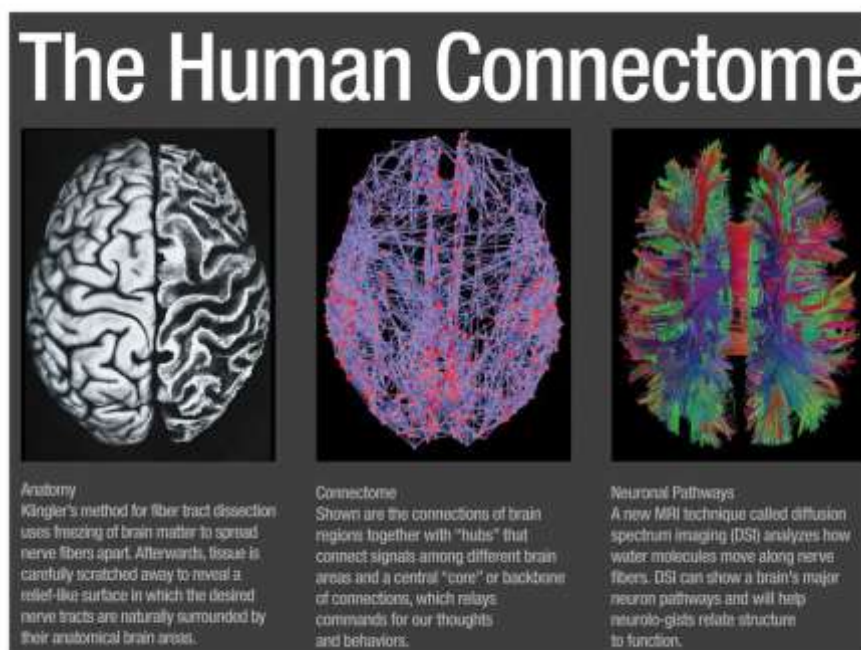
Per comprendere il funzionamento di una rete è indispensabile necessario conoscerne gli elementi e le loro interconnessioni ed il paradigma del "**connettoma**" umano è uno strumento di fondamentale importanza nelle neuroscienze cognitive e nella neuropsicologia.

Il **connettoma** sta aumentando significativamente la nostra comprensione di come gli stati cerebrali funzionali emergono dal loro substrato strutturale sottostante poiché forniscono sempre nuove *intuizioni meccanicistiche* su come la funzione cerebrale viene influenzata.

I recenti progressi nel campo delle neuroscienze hanno portato a una rapida proliferazione di numerosi *dataset* e alla nascita di una nuova disciplina, [la neuroinformatica](#)

Tuttavia, nonostante i notevoli progressi nelle tecniche sperimentali e dei paradigmi computazionali, abbiamo ancora una comprensione incompleta di come la funzione cognitiva umana (*il pensiero*) emerga dalla struttura e della intrinseca dinamica neuronale.

Mentre un numero maggiore di studi anatomici del cervello umano è stato effettuato a livello anatomico macroscopico (*lobi cerebrali, punti di riferimento di superficie e tratti di sostanza bianca*) o microscopico (*citoarchitetonico, mieloarchitetonico, chemioarchitetonico, ecc.*), non ci sono praticamente informazioni *sui modelli di connettività più fini*, comprese le densità di connessione neuronale o i *modelli di proiezione laminare* in relazione ad aree corticali anatomicamente segregate o a differenziazione intraregionale.

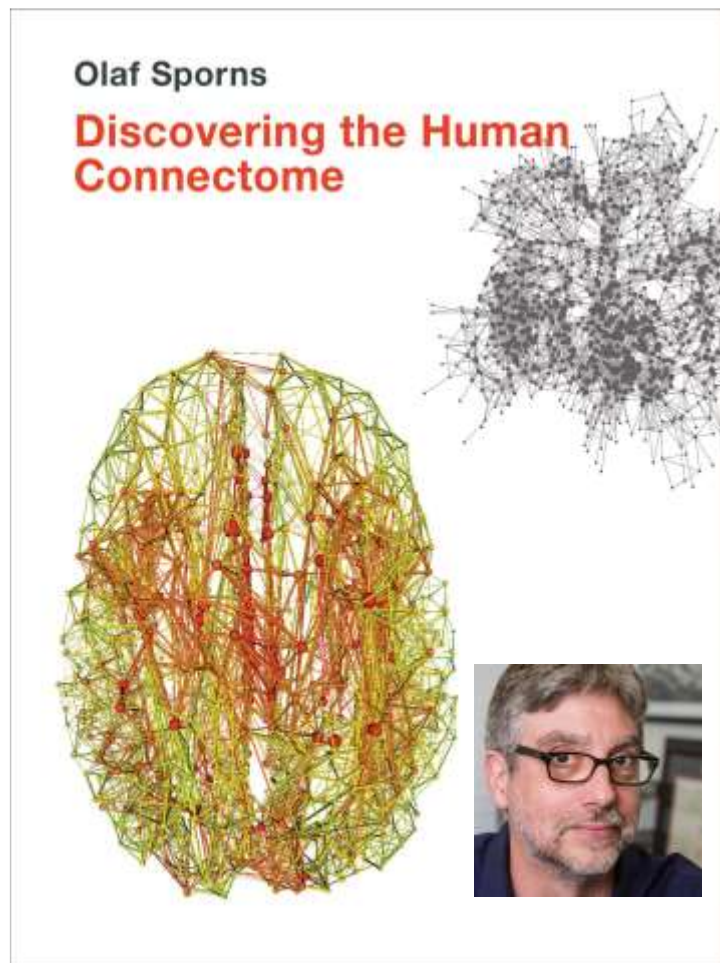


The Human Connectome - Eugen Ludvig, Josef Klingler, Patric Hagmann & Olaf Sporns - 1956, 2008

Gli approcci sperimentali alla cognizione umana sono stati notevolmente migliorati dall'arrivo del [neuroimaging funzionale](#) un insieme di tecniche che possono essere applicate per studiare un'ampia gamma di funzioni cognitive, con una risoluzione spaziale e temporale sempre maggiore. Ma l'interpretazione meccanicistica dei dati di neuroimaging è limitata, in parte a causa di una grave mancanza di informazioni sulla struttura e sulla dinamica delle reti che generano i pattern di attivazione osservati.



**Olaf Sporns** del *Department of Psychology della Indiana University*



nel report ***The human connectome: A structural description of the human brain.*** (PLoS Comput Biol. 2005 Sep;1(4):e42). discute dei potenziali problemi e limiti del connettoma, comprese le questioni centrali della variabilità e dello sviluppo individuale.

In questo report, per molti versi illuminante, delinea il potenziale impatto del *connettoma* nella neuroscienza computazionale e cognitiva in particolare si chiede in che modo il *connettoma* può essere utilizzato per mappare la struttura del cervello in relazione a singole funzioni. In poche parole sottolinea come il passaggio dalla struttura alla funzione sia un momento essenziale per comprendere come i processi cognitivi emergono dai loro substrati morfologici.

Il modello di elementi e connessioni catturato nel *connettoma* pone vincoli specifici alle dinamiche cerebrali e quindi "modella" le operazioni e i processi della cognizione umana

**Sporns** sottolinea più volte che le relazioni struttura-funzione non sono direttamente evidenti dal *dataset* di connessione e che la loro delucidazione richiederà un ulteriore intenso studio empirico e computazionale.

Un uso ovvio e correlato del connettoma umano sarebbe fornire informazioni strutturali che possono essere implementate come parte di modelli computazionali su larga scala . Quando il *connettoma* sarà sufficientemente completo e accessibile, potrebbe anche generare una serie di *benchmark strutturali* che potrebbero facilitare il confronto e l'integrazione dei numerosi modelli già proposti nelle neuroscienze computazionali.

Poter attingere a set di dati di connessione umana aiuterebbe a formulare modelli finalizzati alla comprensione di meccanismi cerebrali della funzione cognitiva umana (ad esempio, il linguaggio).

Il *connettoma* umano potrebbe potenzialmente avere un impatto importante sulla nostra comprensione del danno cerebrale e del successivo recupero. Gli effetti di variazioni o anomalie dello sviluppo, lesioni cerebrali traumatiche o malattie neurodegenerative possono essere tutti catturati come varianti strutturali specifiche del connettoma umano. Le conseguenze funzionali delle perturbazioni della rete consentiranno una migliore comprensione delle cause strutturali delle disfunzioni e potranno consentire la progettazione di strategie di recupero basate sull'analisi della rete. La comprensione delle cause di base della rete delle malattie cerebrali può anche aprire nuove strade per la terapia e la prevenzione sfruttando i meccanismi di rete intrinseci che garantiscono "robustezza e compensazione".

### **Considerazione finale**

(di chi scrive) :

Nessun neurone è un'isola. L'intelligenza è sempre connettiva. La biosfera funziona così, attraverso continui contatti, catalizzatori, neuroni che toccano e azionano altri neuroni. Oggi tutto ciò ha una consistenza non solo biologica e chimica, ma tecnologica e teleinformatica: non si tratta di una semplice metafora, o di una realtà "virtuale", ma di un'entità reale, una specie di emanazione della biosfera, praticamente un mistero. Quello che è più incomprensibile è che ci sia ancora qualcosa di comprensibile. (Albert Einstein)

### **Allegato : a proposito della Optogenetica**

**L'optogenetica** è una scienza emergente che combina tecniche ottiche e genetiche di rilevazione, allo scopo di **sondare circuiti neuronali** all'interno di cervelli intatti di mammiferi e di altri animali, in tempi dell'ordine dei millisecondi, tempi necessari per comprendere le modalità di elaborazione e trasformazione delle informazioni tra neuroni. Il **principio fondamentale** su cui si basa tale tecnica innovativa, è l'innescò di un **potenziale d'azione** all'interno di neuroni.

Venne scoperto nel 2002 da Miesenböck. Fu anche il primo ad utilizzare **l'optogenetica** per verificare il comportamento animale.

Il **termine optogenetica** fu coniato nel 2006 per riferirsi a metodologie ottiche ad alta velocità utili a sondare e controllare geneticamente ed in modo mirato i neuroni all'interno di circuiti neuronali intatti. L'anno dopo venne utilizzato per descrivere questa nuova tecnica nelle pagine di **Science** e **Nature**, in articoli di interesse generale e tecnico-scientifici.

Il **cervello** è un sistema le cui funzioni avvengono a **velocità elevatissime**, per cui la precisione al millisecondo è determinante per comprendere i **meccanismi neuronali** che stanno alla base del concetto di **optogenetica**. La genetica tradizionale invece, viene utilizzata per sondare il ruolo causale di specifici geni all'interno delle cellule, attraverso le proteine codificate, spesso mediante lo studio di cambiamenti in "**perdita o in guadagno di funzione**", per comprendere come il patrimonio genetico degli organismi controlla lo sviluppo e il comportamento.

È importante ricordare che la precisione temporale delle tradizionali manipolazioni genetiche è piuttosto lenta, dell'ordine di ore, giorni o addirittura mesi. Ma per verificare con precisione **schemi neuronali** sono necessari tempi dell'ordine del millisecondo, che solo **con l'optogenetica** è stato possibile realizzare. Questa tecnica consente l'aggiunta o la sottrazione di precisi schemi di

attività all'interno di cellule bersaglio situate nel cervello intatto di animali, compresi i mammiferi. In questo modo ***l'introduzione di enzimi in canali cationici attivati dalla luce***, ha consentito la manipolazione dell'attività neuronale con una precisione al millisecondo, pur mantenendo una risoluzione cellulare attraverso l'uso di specifici meccanismi bersaglio.

Come risultato si è potuto indurre, in specifiche cellule animali, dei treni di potenziali d'azione a frequenze specifiche. La potenziale importanza di controllare selettivamente precisi modelli di potenziali d'azione nell'ambito di sottotipi di cellule cerebrali (per esempio, utilizzare la luce per controllare i neuroni sensibili otticamente), venne illustrata da Francis Crick nelle sue lezioni presso l'Università della California a San Diego.

Tra il 2002 ed il 2005 sono stati collaudati diversi metodi di fotostimolazione geneticamente mirata: dall'originale ***utilizzo delle opsine da parte del gruppo Miesenböck***, al successivo gruppo di ***Kramer e Isacoff***. Per una serie di ragioni tecniche, mentre si realizza il controllo fotonico della rete neurale, non è possibile il controllo dei modelli d'azione dei potenziali nei mammiferi.

Nel 2005, il gruppo di ***Karl Deisseroth*** della *School of Medicine della Stanford University* ha proposto l'utilizzo di una opsina microbica in neurobiologia, la ***canalrodopsina-2***, un singolo componente estratto dalle alghe, che ha consentito controlli funzionali su scale temporali dell'ordine di millisecondi, che richiede solo un'espressione genica per funzionare, e che si attiva con la luce dello spettro visibile mediante un  ***Cromoforo (retinico)*** già presente e che forniva la canalrodopsina-2 dal tessuto cerebrale dei mammiferi. Per eccitare i neuroni, oltre alla canalrodopsina-2 è stata individuata un'altra ***opsina***, la ***Volvox Canalrodopsina-1 (VChR1)***.

#### **Un anno fa... Baedeker/Replay del 8. Novembre**

*La maggiore protezione vaccinale: Pfizer, Moderna o Janssen?*

I vaccini a RNA messaggero BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) e mRNA-1273 (Moderna) e il vaccino vettore virale JNJ-78436735 (Janssen) hanno efficacemente prevenuto malattie clinicamente significative causate dalla sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2) dal loro lancio negli Stati Uniti alla fine del 2020. I vaccini hanno anche ridotto l'incidenza dell'infezione asintomatica e dell'infettività associata (Thompson MG et al 2021)

Tuttavia, entro luglio 2021, gli Stati Uniti hanno registrato un'impennata dei casi di COVID-19, dominati dalla variante B.1.617.2 (Delta) (Herlihy R et al. 2021). I rapporti iniziali, compreso il follow-up degli studi Pfizer-BioNTech e Moderna), (Thomas SJ et al; El Sahly HM et al 2021) suggerivano una protezione vaccinale sostenuta, ma tre relazioni dei Centri statunitensi per il Controllo delle Malattie (CDC) in agosto 2021 protezione contro l'infezione dimostrato avevano declinato in piena estate come la variante Delta è salito a dominio; la protezione contro il ricovero e la morte è rimasta elevata. Infezioni, malattie, ricoveri e decessi da allora hanno continuato a emergere nei soggetti vaccinati. (Self WH et al 2021)

Questo fenomeno è stato monitorato in modo più completo in Israele, dove alti livelli di trasmissione della variante Delta hanno portato a una recrudescenza dell'epidemia a metà giugno 2021 nonostante una campagna nazionale di successo per vaccinare la popolazione. Israele ha autorizzato i richiami del vaccino Pfizer-BioNTech per adulti di età  $\geq 60$  anni nel luglio 2021 e ha esteso questa autorizzazione agli adulti di età  $\geq 50$  anni nell'agosto 2021. I tassi di infezione e malattia grave successivamente sono diminuiti in coloro che hanno ricevuto un richiamo (Bar-on YM 2021). Basato in gran parte su questi dati, così come sui dati del Regno Unito, la Food and Drug Administration (FDA) statunitense ha autorizzato i richiami del vaccino Pfizer-BioNTech per gli anziani (età  $\geq 65$  anni) e gli adulti a rischio più elevato nel settembre 2021 allo stesso modo hanno autorizzato i richiami del vaccino Moderna nell'ottobre 2021, nonché i richiami per tutti i destinatari del vaccino Janssen.

In sintesi, sebbene la vaccinazione rimanga protettiva contro l'infezione da SARS-CoV-2, la protezione è diminuita quando è emersa la variante Delta negli Stati Uniti e questo declino non ha differito in base

all'età. Il vaccino Janssen ha mostrato il maggior calo di VE-I. Le infezioni da rottura non sono state benigne in quanto le persone vaccinate e che sono state successivamente infettate hanno avuto un rischio di morte più elevato rispetto alle persone vaccinate che sono rimaste libere dall'infezione. È importante sottolineare che la vaccinazione ha ancora fornito protezione contro la morte nelle persone infette e questo beneficio è stato osservato per i vaccini Moderna, Pfizer-BioNTech e Janssen durante l'ondata di Delta, sebbene il beneficio sia stato maggiore per Moderna e PfizerBioNTech rispetto ai vaccini Janssen.

**I dati disponibili supportano la conclusione che i vaccini COVID-19 rimangono lo strumento più importante per prevenire l'infezione e la morte.** I vaccini dovrebbero essere accompagnati da misure aggiuntive sia per le persone vaccinate che per quelle non vaccinate, inclusi mascheramento, lavaggio delle mani e distanza fisica. È essenziale implementare interventi di sanità pubblica, come test strategici per il controllo delle epidemie, passaporti vaccinali, mandati di vaccinazione basati sull'occupazione, campagne di vaccinazione per bambini e adulti idonei e messaggi coerenti dalla leadership della sanità pubblica di fronte all'aumento del rischio di infezione dovuta al Delta e ad altre varianti emergenti.

**(per i riferimenti vai all'originale)**