

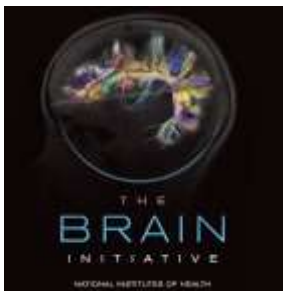
27. Novembre

Censimento molecolare dei neuroni umani

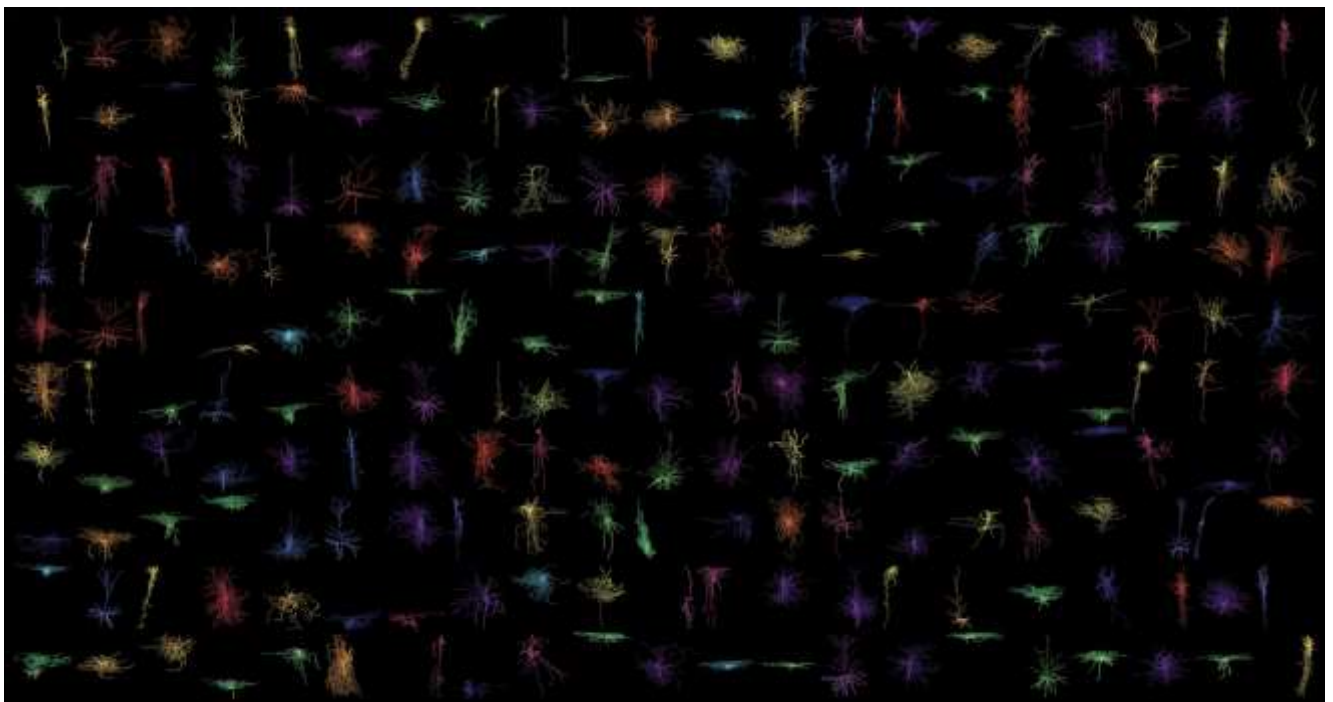
*I neuroni sono gli atomi della percezione,
della memoria, del pensiero e dell'azione,
e le rispettive connessioni sinaptiche
influenzano e guidano l'aggregazione transitoria delle cellule
nelle più grandi coalizioni all'origine della percezione.*

Christof Koch

Il nostro cervello è composto da **86 miliardi di neuroni** e un numero simile di cellule non neuronali.



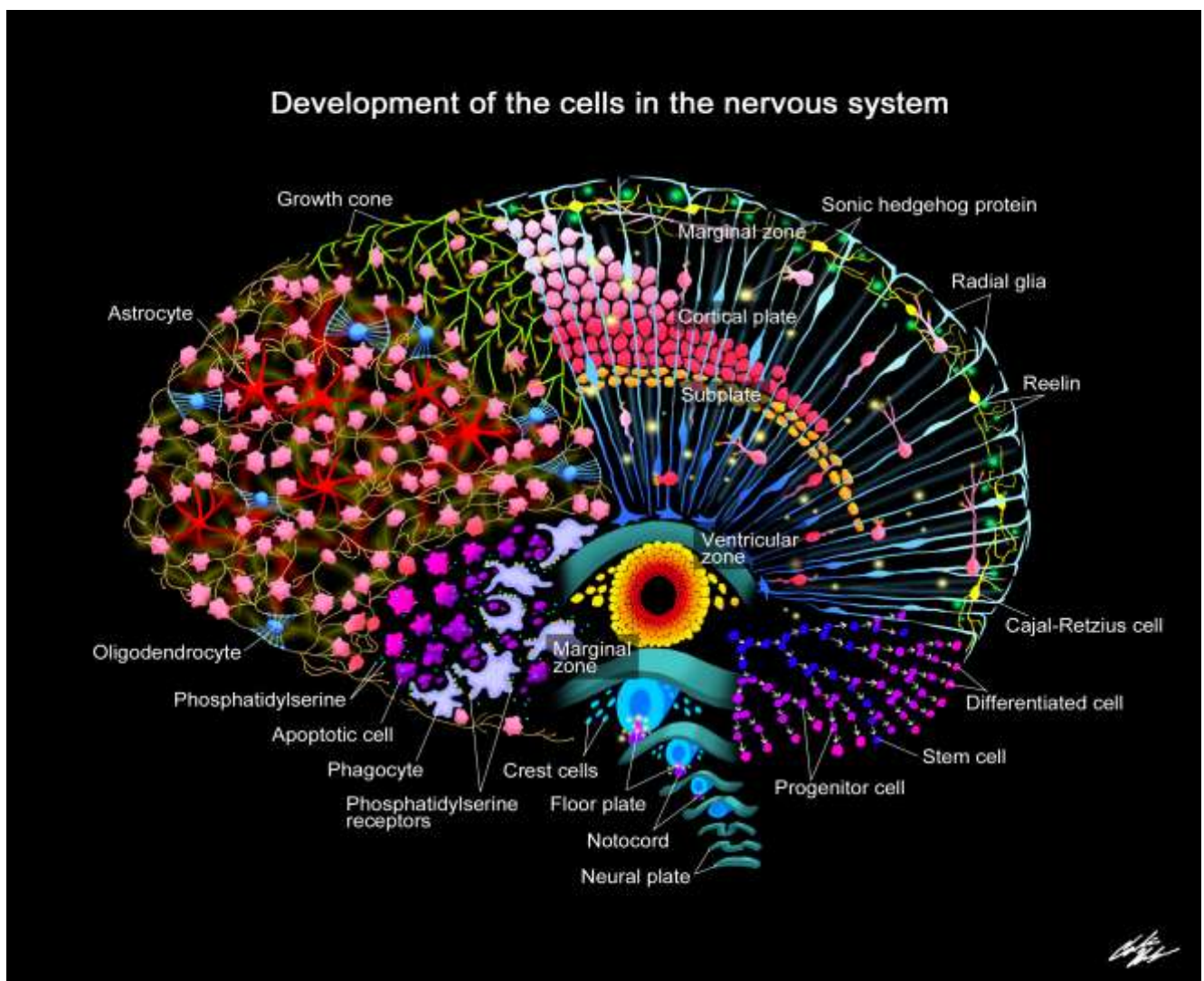
Il **Brain Research through Advancing Innovative Neurotechnologies (BRAIN) Initiative - Cell Census Network (BICCN)** del National Institute of Health, lanciato per la prima volta nel 2017, è un consorzio di centri distribuiti negli Stati Uniti e in Europa che lavorano insieme con l'obiettivo di caratterizzare tipi di cellule e loro funzioni nel cervello degli esseri umani, dei primati non umani (NHP) e dei roditori. Sfruttando le tecnologie più avanzate, che fino ad ora erano applicate principalmente a modelli animali, gli studi esaminano la composizione cellulare del cervello umano adulto e in via di sviluppo a livello trascrizionale, epigenetico e funzionale.



Lo sfondo riassume le rappresentazioni tridimensionali di neuroni ricostruiti ottenuti da fette di cervello vivente. La diversità di colore e forma rappresenta l'ampia varietà di sottotipi neuronali che compongono il cervello umano.

BICCN ha sviluppato cinque temi principali:

- (i) atlante di singole cellule umane adulte, compresi studi che utilizzano analisi trascrittomiche ed epigenomiche di singole cellule per caratterizzare il cervello umano;
- (ii) atlante unicellulare NHP adulto, che si concentra su analisi unicellulari simili nel cervello di marmoset e macaco;
- (iii) analisi comparative di singole cellule che confrontano la composizione cellulare nel cervello umano rispetto a quello NHP;
- (iv) analisi di cellule singole sullo sviluppo del cervello umano e NHP che si concentrano sulla caratterizzazione delle dinamiche di sviluppo nello sviluppo del cervello umano e NHP;
- (v) analisi e modellazione funzionale e anatomica di tipi di cellule neuronali umane, che include la caratterizzazione fisiologica e anatomica delle proprietà cellulari nei tessuti umani viventi e la modellazione di tipi di cellule e proprietà cellulari specializzate negli esseri umani rispetto ai modelli di roditori. I dati raccolti dal BICCN consentiranno ora ai ricercatori di affrontare questioni scientifiche fondamentali sul cervello umano e sulla sua organizzazione genetica. L'era della ricerca cellulare sul cervello umano sta bussando alla nostra porta!

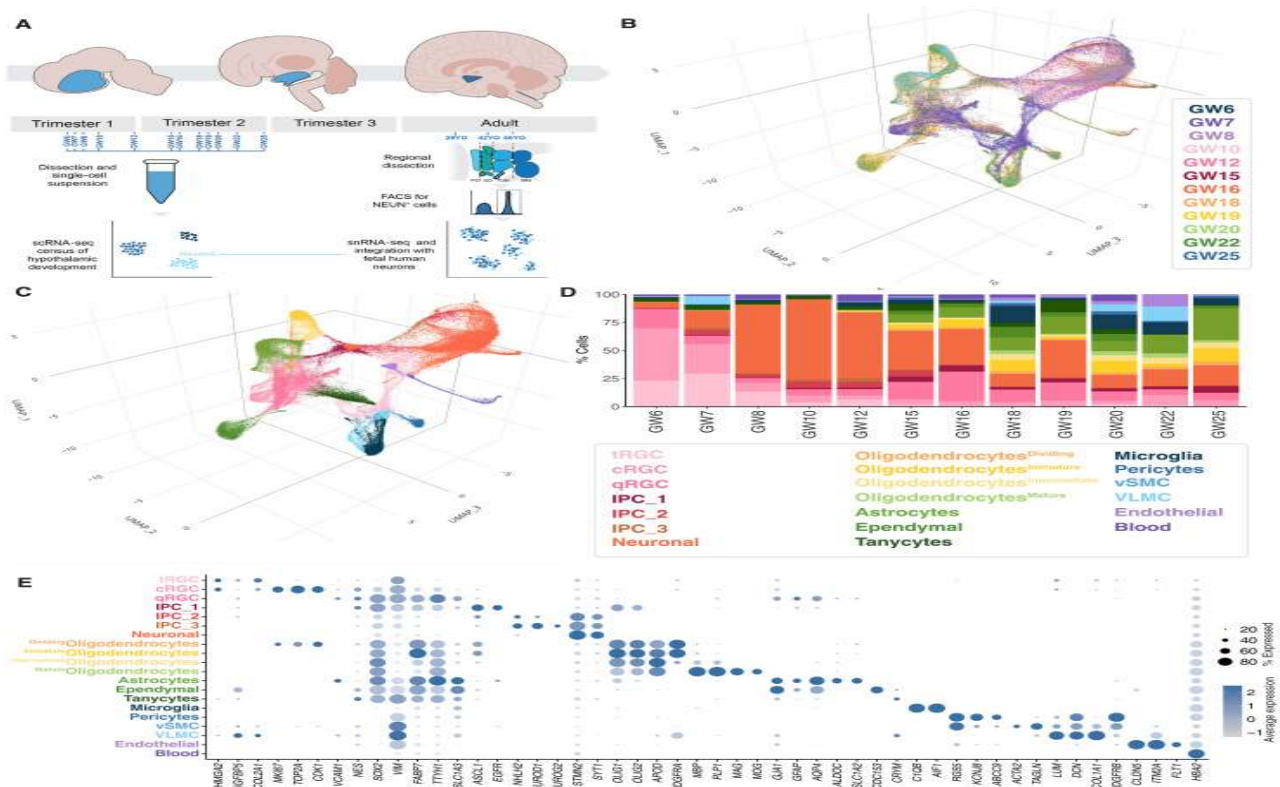


Oggi BAEDKEAR riporta alcuni risultati interessanti del progetto. I dati raccolti dal BICCN consentiranno ai ricercatori di affrontare questioni scientifiche fondamentali sul cervello umano e sulla sua organizzazione genetica. L'era della ricerca cellulare sul cervello umano sta bussando alla nostra porta

Diversità trascrittoma dei tipi cellulari nel cervello umano adulto

Institute for Genome Sciences, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

Il cervello umano dirige comportamenti complessi, che vanno dalle capacità motorie fini all'intelligenza astratta, ma la diversità dei tipi di cellule che supportano queste abilità non è stata completamente descritta. Utilizzando il sequenziamento dell'RNA a nucleo singolo per esaminare sistematicamente le cellule dell'intero cervello umano adulto, sono state campionate più di tre milioni di nuclei da circa 100 dissezioni del proencefalo, del mesencefalo e del rombencefalo in tre donatori post-mortem. La nostra analisi ha identificato 461 cluster e 3313 sottocluster organizzati in gran parte in base alle origini dello sviluppo e rivelando un'elevata diversità nei neuroni del mesencefalo e del rombencefalo. Anche gli astrociti e le cellule del lignaggio degli oligodendrociti hanno mostrato diversità regionale su più scale. **Il censimento trascrittoma dell'intero cervello umano presentato in questo lavoro fornisce una risorsa per comprendere la diversità molecolare del cervello umano in salute e in malattie**



Linee neuronali e non neuronali attraverso l'ipotalamo umano in via di sviluppo.

(A) Panoramica della raccolta di campioni, inclusa l'analisi di RNA-seq a cellula singola dell'ipotalamo prenatale del primo e del secondo trimestre più snRNA-seq da neuroni ipotalamici adulti sezionati in quattro regioni. FACS, smistamento cellulare attivato dalla fluorescenza. (B) UMAP tridimensionale (3D) (<https://tinyurl.com/3fxxy3yj>) che mostra campioni integrati dei campioni ipotalamici prenatali inclusi il trimestre 1 (GW6, GW7, GW8, GW10 e GW12) e il trimestre 2 (GW15, GW16, GW18, GW19, GW20, GW22 e GW25). (C) UMAP 3D (<https://tinyurl.com/3vnc9fym>) che mostra i campioni dopo il clustering per mostrare le sottopopolazioni cellulari tra cui cellule gliali radiali transitorie (tRGC), cellule gliali radiali cicliche (cRGC) e cellule gliali radiali quiescenti (qRGC), così come tre popolazioni di cellule progenitrici intermedie (IPC). (D) Grafico in pila che mostra la distribuzione della sottopopolazione cellulare tra i campioni. (E) Diagramma a punti che mostra l'espressione di geni marcatori chiave.

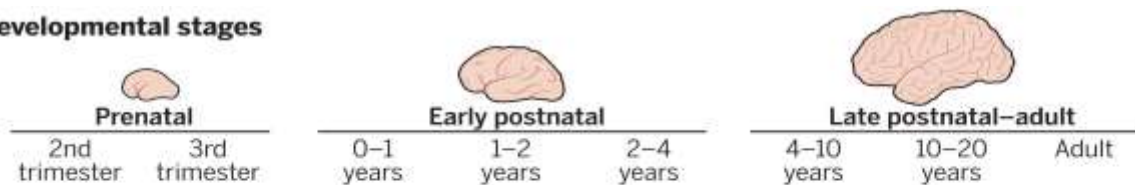
Herb BR et al., *Single-cell genomics reveals region-specific developmental trajectories underlying neuronal diversity in the human hypothalamus. Sci Adv. 2023 Nov 10;9(45):eadf6251.*

Analisi unicellulare dello sviluppo corticale umano prenatale e postatale

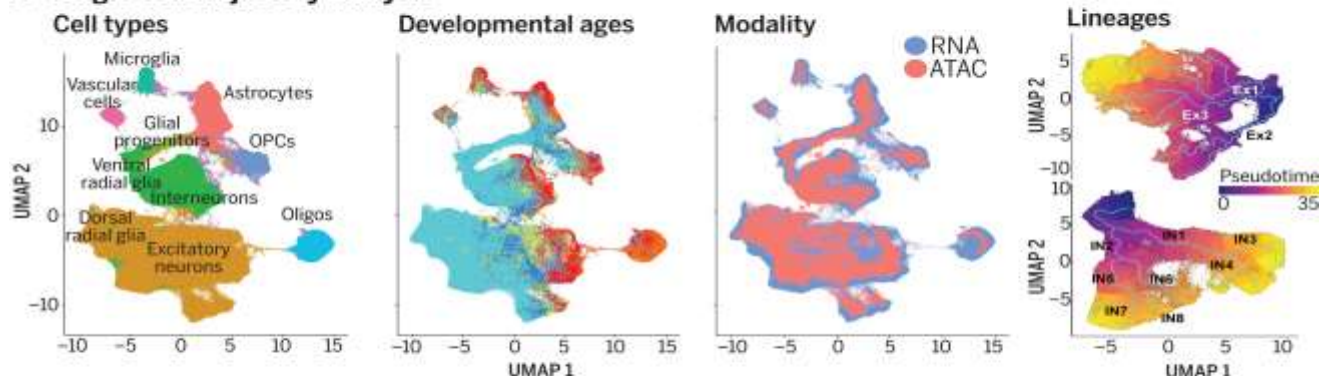
Department of Neurology, University of California, San Francisco, CA 94143, USA.

Sono stati banalizzati >700.000 profili di sequenziamento dell'RNA a nucleo singolo da 106 donatori durante le fasi di sviluppo prenatale e postnatale e identificato programmi specifici del lignaggio che sono alla base dello sviluppo di sottotipi specifici di neuroni corticali eccitatori, interneuroni, tipi di cellule gliali e sistema vascolare cerebrale. Sfruttando i dati sull'accessibilità della cromatina a nucleo singolo, sono state definite reti di regolamentazione dei geni potenziatori e fattori di trascrizione che controllano l'impegno di specifici lignaggi corticali. Intersecando i risultati con i fattori di rischio genetici per le malattie del cervello umano, sono stati identificati i tipi e i lignaggi di cellule corticali più vulnerabili agli insulti genetici di diversi disturbi cerebrali, in particolare l'autismo. Complessivamente i programmi di espressione genica specifici del lignaggio, sovra-regolati nelle cellule femminili, sono particolarmente arricchiti per i fattori di rischio genetici dell'autismo. Il nostro studio cattura la progressione molecolare delle linee corticali attraverso lo sviluppo umano.

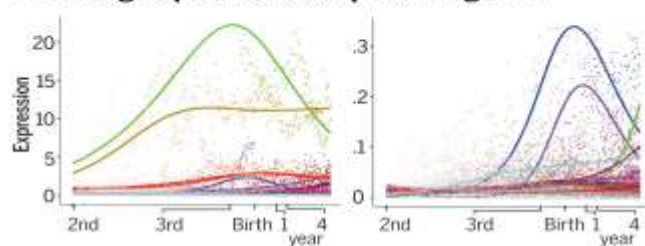
A Developmental stages



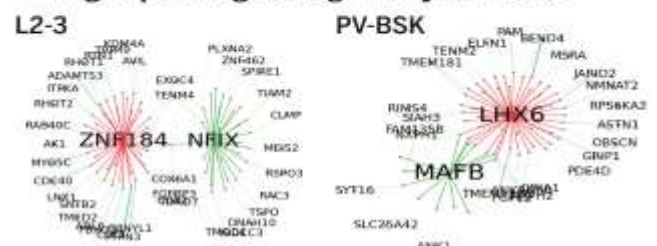
B Single-cell trajectory analysis



C Lineage-specific developmental genes



Lineage-specific gene regulatory networks



Analisi genomica unicellulare dello sviluppo corticale umano durante la vita prenatale e postnatale.

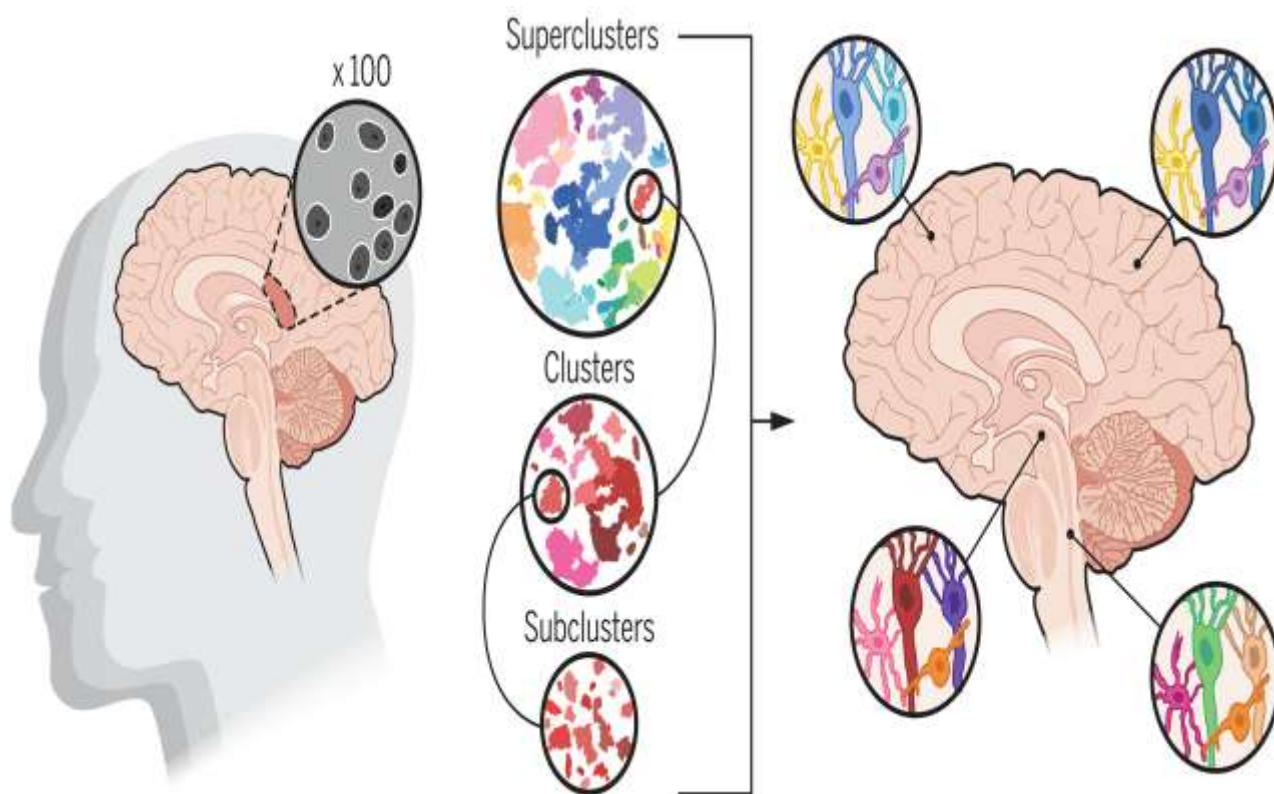
(A) Fasi di sviluppo catturate in questo studio. (B) Identificazione di tipi cellulari e lignaggi attraverso stadi di sviluppo e modalità molecolari. UMAP, approssimazione e proiezione di varietà uniforme; OPC, cellule precursori degli oligodendrociti; Oligo, oligodendrociti; ATAC, test per la cromatina accessibile alla trasposasi. (C) Scoperta di geni di sviluppo specifici del lignaggio e di reti di regolazione dei geni potenziatori. L2-3, neuroni di proiezione intratelencefalica dello strato superiore; PV-BSK, interneuroni a cesto di parvalbumina.

Velmeshev D et al. *Single-cell analysis of prenatal and postnatal human cortical development. Science. 2023 Oct 13;382(6667):eadf0834.*

Atlante cellulare completo del cervello umano in via di sviluppo nel primo trimestre

Division of Molecular Neurobiology, Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden.

Il cervello umano adulto comprende più di mille tipi distinti di cellule neuronali e gliali, una diversità che emerge durante le prime fasi dello sviluppo cerebrale. Per rivelare la sequenza precisa degli eventi durante lo sviluppo iniziale del cervello, è stato utilizzato il sequenziamento dell'RNA a cellula singola e la trascrittomica spaziale e abbiamo scoperto stati e traiettorie cellulari nel cervello umano da 5 a 14 settimane postconcezionali (pcw). Sono state così identificate 12 classi principali organizzate come circa 600 stati cellulari distinti, che si associano a domini anatomici spaziali precisi a 5 pcw. E' stato possibile descrivere le traiettorie di differenziazione dettagliate del proencefalo e del mesencefalo umani, inoltre è stato identificato un gran numero di glioblasti specifici della regione che maturano in pre-astrociti distinti e cellule precursori dei pre-oligodendrociti. I risultati evidenziano la creazione di tipi cellulari durante il primo trimestre di sviluppo del cervello umano.



Atlante dello sviluppo del cervello umano.

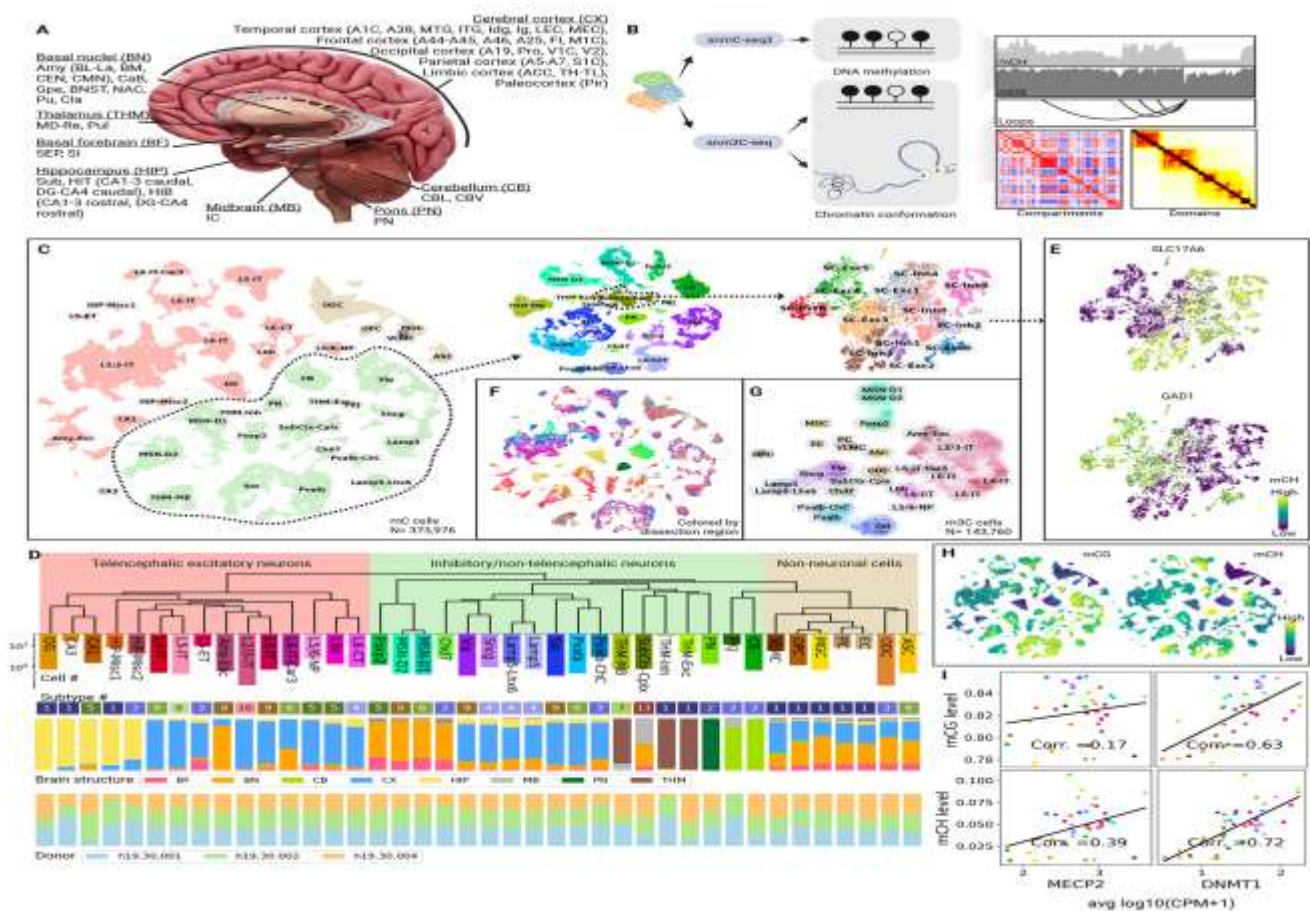
Abbiamo studiato il cervello umano utilizzando il sequenziamento dell'RNA di singole cellule da 5 a 14 pcw e il rilevamento dell'RNA in situ multiplexato a 5 pcw. I nostri risultati rivelano come i primi eventi di modellamento stabiliscono l'organizzazione del futuro cervello e come le traiettorie di maturazione e differenziazione si sovrappongono a questo piano di base per generare la straordinaria complessità del sistema nervoso adulto.

Braun E et al. Comprehensive cell atlas of the first-trimester developing human brain. Science. 2023 Oct 13;382(6667):eadf1226.

Metilazione del DNA unicellulare e architettura del genoma 3D nel cervello umano

Genomic Analysis Laboratory, The Salk Institute for Biological Studies, La Jolla, CA 92037, USA.

Delinare i programmi di regolazione genetica alla base dei tipi cellulari complessi è fondamentale per comprendere la funzione cerebrale in condizioni di salute e malattia. Sono stati esaminati in modo completo gli epigenomi delle cellule cerebrali umane sondando la metilazione del DNA e la conformazione della cromatina con risoluzione di singola cellula in 517mila cellule (399mila neuroni e 118mila non neuroni) da 46 regioni di tre cervelli maschili adulti. Sono stati identificati 188 tipi di cellule e caratterizzato le loro firme molecolari. Analisi integrative hanno rivelato cambiamenti concordanti nella metilazione del DNA, nell'accessibilità della cromatina, nell'organizzazione della cromatina e nell'espressione genica tra tipi di cellule, aree corticali e strutture dei gangli della base. In particolare sono stati sviluppati ulteriormente codici a barre di metilazione a cellula singola che predicono in modo affidabile i tipi di cellule cerebrali utilizzando lo stato di metilazione di siti genomici selezionati. Gestire un atlante multimodale delle cellule cerebrali epigenomiche fornisce nuove informazioni sulla complessità della regolazione genetica specifica del tipo di cellula nel cervello umano adulto.



Profilonamento epigenomico delle cellule cerebrali umane con snmC-seq3 e snm3C-seq.

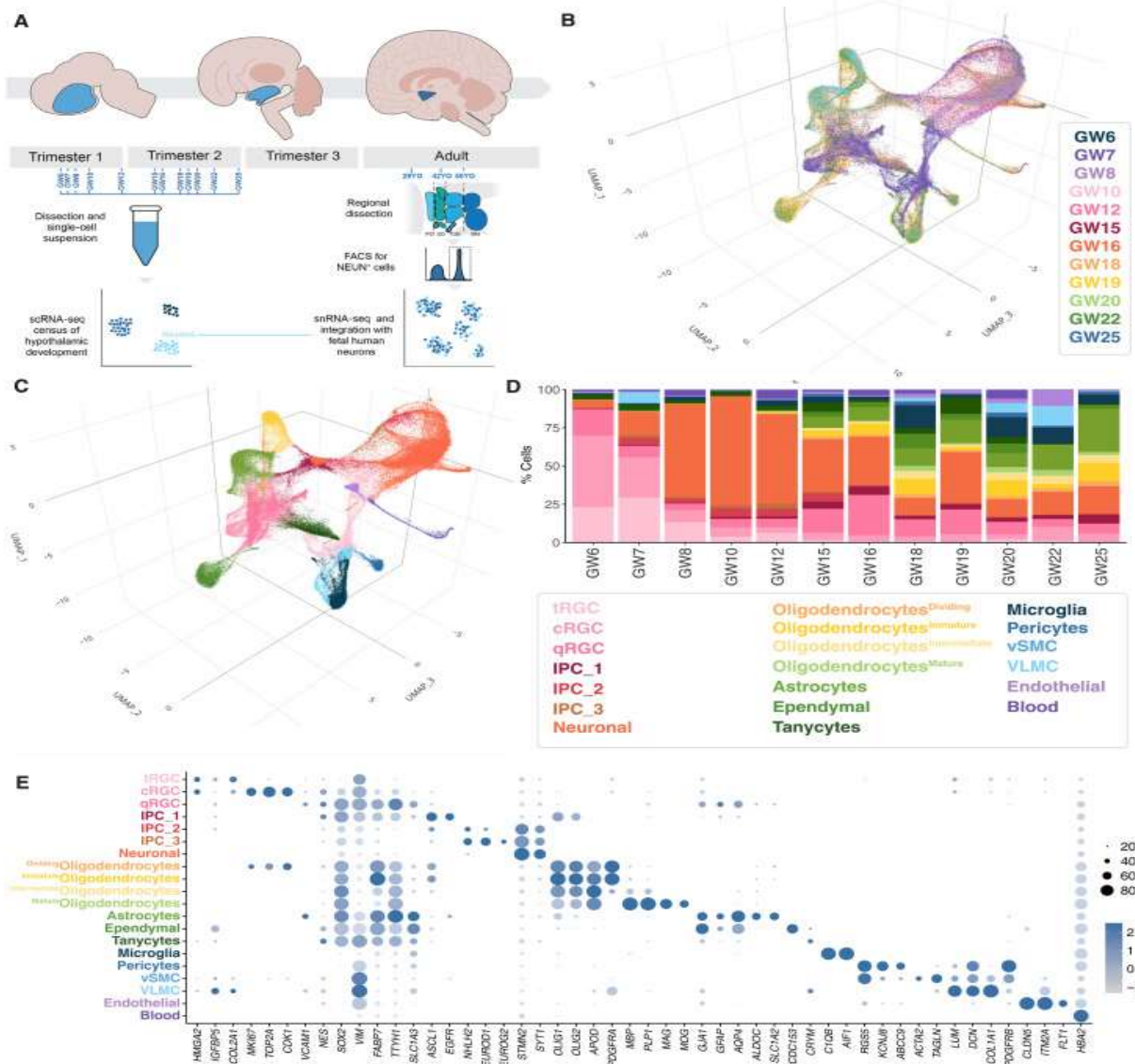
(A) Strutture e regioni del cervello umano coperte. (B) Schemi delle modalità di profilazione di snmC-seq3 e snm3C-seq. (C) Clustering iterativo e annotazione dei nuclei del cervello umano. Le cellule dell'intero set di dati mC, della classe di cellule di neuroni inibitori/non telencefalici e del tipo principale SubCtx-Cplx vengono visualizzate successivamente utilizzando l'embedding stocastico dei vicini distribuiti in t (t-SNE), colorate dai gruppi di cellule annotati nelle iterazioni corrispondenti. (D) Il robusto dendrogramma dei tipi principali e le meta informazioni sui numeri dei sottotipi, sulla struttura del cervello e sulle origini dei donatori. Le tavolozze dei colori sono condivise in questo studio. (E) CH-metilazione dei marcatori eccitatori e inibitori (SLC17A1 e GAD1) del tipo principale SubCtx-Cplx. (F) Le cellule cerebrali umane sono colorate dalle regioni di dissezione. (G) Visualizzazione 2D dei nuclei cerebrali profilati da snm3C-seq. (H) Variazione della metilazione globale di CG e CH tra i tipi di cellule cerebrali. (I) Correlazioni tra metilazione globale del DNA ed espressioni geniche di MECP2 e DNMT1 nei principali tipi.

Tian W et al Single-cell DNA methylation and 3D genome architecture in the human brain. *Science*. 2023 Oct 13;382(6667):eadf5357.

La genomica unicellulare rivela traiettorie di sviluppo specifiche per regione alla base della diversità neuronale nell'ipotalamo umano

Institute for Genome Sciences, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

Per definire i sottotipi neuronali nell'ipotalamo umano sono stati integrati i dati trascrittomici di 241.096 cellule (126.840 appena generate) nell'ipotalamo umano prenatale e adulto per rivelare una traiettoria temporale dalle popolazioni di cellule staminali proliferative ai tipi di cellule ipotalamiche mature. Il clustering iterativo dei neuroni adulti ha identificato 108 sottotipi neuronali robusti trascrizionalmente distinti che rappresentano 10 nuclei ipotalamici. Le traiettorie pseudotemporali hanno fornito informazioni dettagliate sui geni che guidano la formazione di questi nuclei. I confronti con i dati trascrittomici di singole cellule dell'ipotalamo del topo hanno suggerito un'ampia conservazione dei sottotipi neuronali nonostante alcune differenze nell'espressione genica arricchita in specie. L'unicità dei lignaggi neuronali ipotalamici è stata esaminata a livello di sviluppo confrontando i lignaggi eccitatori presenti nella corteccia e i lignaggi inibitori nell'eminenza gangliare, rivelando fattori distinti e condivisi di maturazione neuronale nel prosencefalo umano. *Questi risultati forniscono una visione trascrittomica completa dello sviluppo dell'ipotalamo umano attraverso la gestazione e l'età adulta alla risoluzione cellulare.*



Linee neuronali e non neuronali attraverso l'ipotalamo umano in via di sviluppo.

(A) Panoramica della raccolta di campioni, inclusa l'analisi di RNA-seq a cellula singola dell'ipotalamo prenatale del primo e del secondo trimestre più snRNA-seq da neuroni ipotalamici adulti sezionati in quattro regioni. FACS, smistamento cellulare attivato dalla fluorescenza. (B) UMAP tridimensionale (3D) (<https://tinyurl.com/3fxy3yj>) che mostra campioni integrati dei campioni ipotalamici prenatali inclusi il trimestre 1 (GW6, GW7, GW8, GW10 e GW12) e il trimestre 2 (GW15, GW16, GW18, GW19, GW20, GW22 e GW25). (C) UMAP 3D (<https://tinyurl.com/3vnc9fym>) che mostra i campioni dopo il clustering per mostrare le sottopopolazioni cellulari tra cui cellule gliali radiali transitorie (tRGC), cellule gliali radiali cicliche (cRGC) e cellule gliali radiali quiescenti (qRGC), così come tre popolazioni di cellule progenitrici intermedie (IPC). (D) Grafico in pila che mostra la distribuzione della sottopopolazione cellulare tra i campioni. (E) Diagramma a punti che mostra l'espressione di geni marcatori chiave.

Herb BR et al. Single-cell genomics reveals region-specific developmental trajectories underlying neuronal diversity in the human hypothalamus. Sci Adv. 2023 Nov 10;9(45):eadf6251.

Un atlante genomico unicellulare per la maturazione del cervelletto umano durante la prima infanzia

Institute for Genome Sciences, University of Maryland School of Medicine, Baltimore, MD, USA.

Il cervelletto umano subisce una lunga maturazione durante la prima infanzia ed è quindi particolarmente suscettibile ai disturbi che contribuiscono al rischio di sviluppare disturbi dello sviluppo neurologico come il disturbo dello spettro autistico. E' stata esplorata la genomica unicellulare su campioni cerebellari post-mortem di bambini di età compresa tra 1 e 5 anni morti

per morte accidentale improvvisa o che hanno manifestato infiammazione al momento della morte. Sono stati così identificati cambiamenti dell'espressione genica nei neuroni inibitori del Purkinje e del Golgi in campioni cerebellari post-mortem di bambini con infiammazione, inclusa la down-regulation prematura dei geni dello sviluppo necessari per la maturazione cerebellare.

Ament SA et al. A single-cell genomic atlas for maturation of the human cerebellum during early childhood. Sci Transl Med. 2023 Nov 8;15(721):eade1283.

La lunga notte dell'Alzheimer

Era una notte buia e tempestosa

Una sola notte insonne aumenta i livelli di una proteina legata all'Alzheimer nel sangue dei giovani.



Una premessa

Era il 12 luglio del 1965 quando Snoopy trascinò per la prima volta una macchina da scrivere sul tetto della cuccia e si mise a battere sui tasti «**Era una notte buia e tempestosa**». È una delle strip più famose di Charles M. Schulz, l'inizio di un tormentone fondamentale.

L'ultima striscia dei Peanuts, infatti, pubblicata il 3 gennaio 2000 e rimontata in forma di domenicale il 13 febbraio dello stesso anno, giorno successivo alla morte di Schulz, vide infatti il bracchetto scrivere un messaggio di addio a tutti i suoi lettori. La posa era la stessa, la macchina la stessa.

Eppure, alla sua prima comparsa, la gag sembrava destinata a esaurirsi presto. Il 13 luglio Snoopy ricevette per posta l'assegno di un editore: il suo racconto era piaciuto ed era stato pubblicato, e il cane si rimise a scrivere, ovviamente sempre dallo stesso incipit. Lo stesso accadde il giorno successivo e quello dopo ancora. Finalmente il 16 arrivò la prima lettera di rifiuto, e Snoopy non la prese affatto bene. Fu la fine della sua carriera di scrittore... almeno per qualche mese.

Grazie a questa manciata di strisce, «**Era una notte buia e tempestosa**» diventò una frase proverbiale in Italia, a indicare l'incipit banale di un romanzaccio. Nei paesi anglosassoni, però, era già diffusa da molto tempo, da oltre un secolo.

Si apre così, infatti, il romanzo Paul Clifford di Sir Edward George Earle Bulwer-Lytton, pubblicato in Inghilterra nel 1830 e tradotto in italiano soltanto nel 2018. È il classico romanzone romantico britannico, tre volumi di avventure, travagli, sventure di un poco di buono che si innamora di una donna di alto lignaggio.

Negli anni in molti hanno ripreso, e spesso preso in giro, «Era una notte buia e tempestosa», prima e dopo che lo facesse Schulz. Un anonimo traduttore dei *Tre moschettieri* la utilizzò per «C'était une nuit orageuse et sombre», tecnicamente «una notte tempestosa e buia». Neal Gaiman e Terry Pratchett la ripresero nel prologo e nel primo capitolo di *Buon Apocalisse a tutti!*, scherzandoci sopra. Anche Ray Bradbury, in uno dei suoi ultimi romanzi, *Costanze contro tutti*, aprì in quel modo, scusandosi poi con i lettori per la banalità dell'incipit.

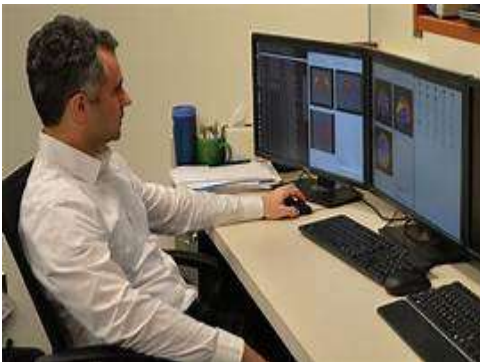


Jonathan Cedernaes dell'Università di Upsala ed il suo team hanno invitato *15 giovani sani* con un'età media di *22 anni* maschi in una clinica del sonno. Hanno misurato i livelli di **tau** nel sangue una volta dopo aver dormito tutta la notte e di nuovo dopo *una notte insonne*.

Dopo la *notte insonne*, gli uomini hanno avuto un aumento medio dei **livelli di tau** nel sangue del **17%**, rispetto a un aumento del 2% dopo una buona notte di sonno.



È solo un piccolo studio e non sappiamo se la stessa cosa si potrebbe osservare nelle donne. Ma la scoperta si aggiunge a [precedenti evidenze](#) che riportano come le persone con ritmi di sonno disturbati o irregolari hanno maggiori probabilità di sviluppare decenni dopo la **malattia di Alzheimer**.



Ehsan Shokri-Kojori del *La boratory of Neuroimaging, National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, National Institutes of Health* nel report

Shokri-Kojori E et al

**β -Amyloid accumulation in the human brain
after one night of sleep deprivation.**

Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 Apr 24;115(17):4483-4488.

Ha valutato gli effetti della privazione acuta del sonno sulla clearance della **β -amiloide (A β)** nel cervello umano.

Utilizzando la PET e il ¹⁸F-florbetaben per misurare il carico di **A β nel cervello (ABB)** in 20 controlli sani testati dopo una notte di sonno riposato (baseline) e dopo **una notte di privazione del sonno**, ha dimostrato che **questa**, rispetto al basale, ha comportato un **aumento significativo del carico di A β nell'ippocampo destro e nel talamo**.

Questi aumenti erano associati al peggioramento dell'umore in seguito alla privazione del sonno, ma non erano correlati al rischio genetico (**genotipo APOE**) per la malattia di Alzheimer. Inoltre, **l'ABB di base** in una serie di regioni **sottocorticali e nel precuneo** era inversamente associato alle ore di sonno notturno riportate. La genotipizzazione dell'**APOE** è stata collegata anche **all'ABB sottocorticale**, suggerendo che diversi fattori di rischio della **malattia di Alzheimer** potrebbero influenzare in modo indipendente l'ABB nelle regioni cerebrali vicine.

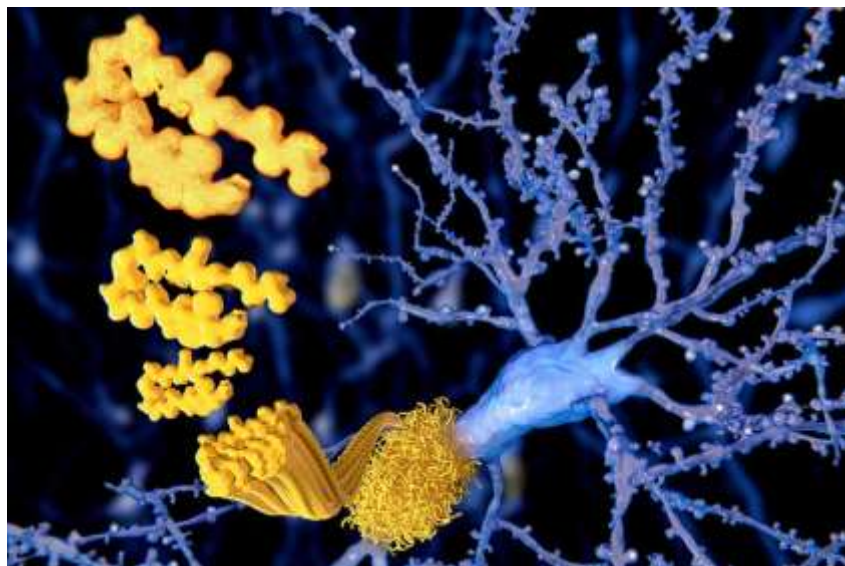
In sintesi, i risultati mostrano **effetti avversi della privazione del sonno** di una notte **sull'ABB cerebrale** e ampliano i risultati precedenti di un maggiore accumulo di **A β** con una diminuzione cronica del sonno.



Il team di Uppsala ritiene necessarie ulteriori ricerche per confermare che la privazione del sonno aumenta la tau nel cervello, poiché i livelli nel sangue non sono necessariamente indicativi di quelli nel cervello. Infatti i livelli di **tau** nel sangue dopo la privazione del sonno potrebbero essere un segno che il cervello sta eliminando le proteine invece di accumularle.

Se invece la **tau** si accumula davvero nel cervello dei giovani dopo la privazione del sonno, gli studi clinici dovrebbero verificare se l'ottimizzazione del sonno aiuta a rallentare o prevenire questo accumulo e, di conseguenza, riduce il rischio di sviluppare la malattia di Alzheimer,

La **tau** è coinvolta anche **nel morbo di Parkinson** e nella **malattia di Creutzfeldt-Jakob**, ma il ruolo che svolge in queste condizioni e **nell'Alzheimer** non è chiaro. Allo stesso modo, sebbene la mancanza di sonno sia stata collegata alla malattia di **Alzheimer**, è possibile che questo sia un segno precoce della condizione, piuttosto che un fattore che contribuisce.



Anche se vi sono prove sempre più evidenti di un legame tra disturbi del sonno e malattia di ***Alzheimer***, ma è difficile distinguere causa ed effetto per determinare se i problemi del sonno potrebbero causare cambiamenti cerebrali ***nell'Alzheimer***, o viceversa.