



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Corso di Laurea triennale in
Scienze Biologiche**

**Progenitori neurali, neurogenesi ed evoluzione della
neocorteccia.**

**Neural progenitors, neurogenesis and the evolution of the
neocortex.**

Tesi di Laurea
di: Ilona Krivosheia

Docente Referente:
Chiar.ma Prof.ssa Oliana Carnevali

Sessione estiva - Luglio 2020

Anno Accademico 2019/2020



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di laurea Triennale in Scienze Biologiche

Progenitori neurali, neurogenesi ed evoluzione della neocorteccia.

Neural progenitors, neurogenesis and the evolution of the neocortex.

Tesi di Laurea
di: Ilona Krivosheia

Docente Referente:
Chiar.ma Prof.ssa Oliana Carnevali

Anno Accademico 2019/2020



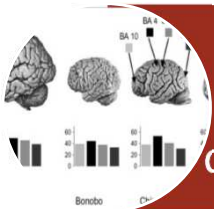
Neurogenesi



Neocorteccia



Progenitori
neurali



Ipotesi
sull'evoluzione
della neocorteccia

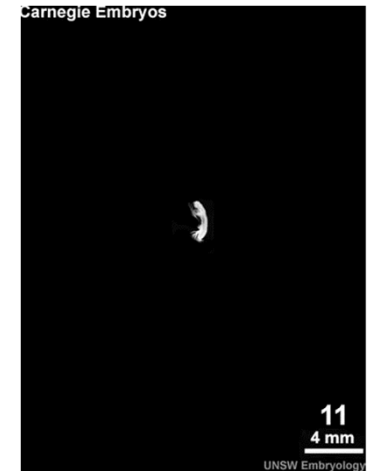
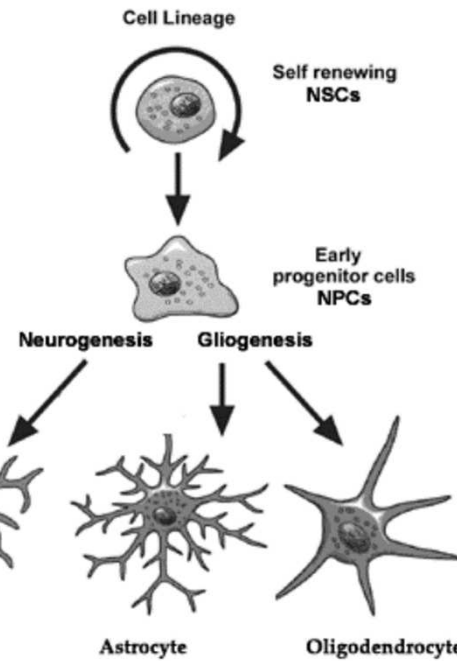
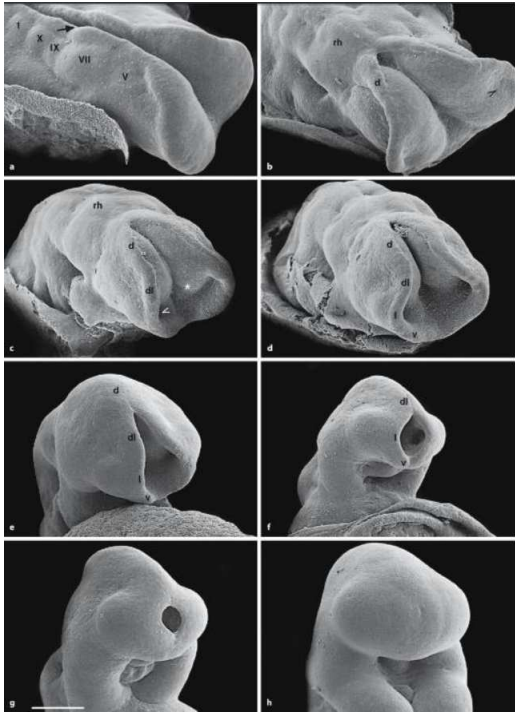
INTRODUZIONE

L'odierna concezione dello sviluppo cerebrale si basa su un insieme di modelli formulati a partire da osservazioni di analisi comparativa di:

- meccanismi di divisione cellulare dei differenti progenitori neurali presenti;
- abbondanza dei differenti tipi cellulari;
- meccanismo di migrazione intercinetica neurale;
- periodo di neurogenesi.

L'elaborato che viene presentato ha lo scopo di esporre i punti principali che hanno permesso la formulazione delle ipotesi sull'evoluzione della corteccia neurale nei mammiferi, per un'analisi approfondita delle suddette.

1. NEURULAZIONE E NEUROGENESI

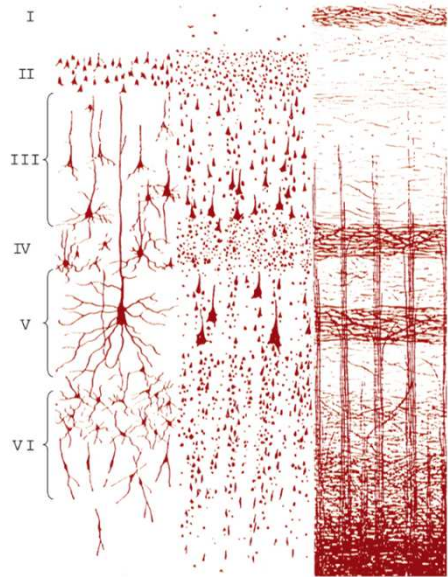


NEURULAZIONE → origine del sistema nervoso centrale (encefalo e midollo spinale) a partire dall'ectoderma.

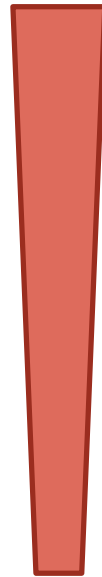
NEUROGENESI → graduale differenziamento cellulare.

2. NEOCORTECCIA

Organizzazione strutturale:



→ della sezione trasversale:
suddivisione in sei (I – VI)
LAMINE CELLULARI

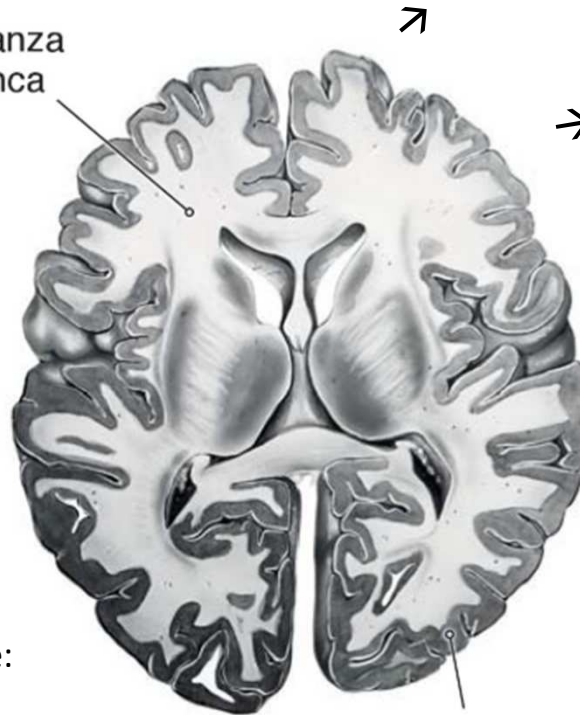


→ della sezione radiale:
identifica microunità
funzionali: MINICOLONNE

- formate da gruppi di neuroni glutamatergici;
- attraversano perpendicolarmente le lamine orizzontali.

Struttura unica e distintiva dei mammiferi.

sostanza
bianca



sostanza grigia

→ Origine evolutiva relativamente recente
~220 milioni di anni fa
(evidenziandone una selezione positiva per
l'aumento del numero di neuroni).

→ Costituita da materia grigia,
rappresenta lo strato più esterno degli
emisferi cerebrali.

→ Possibile condizione lissencefalica – liscia
o girencefalica – con alternazione di
sulci e gyri.

→ Nell'uomo comprende una superficie fino a 26000
cm² e presenta uno spessore di 2-4 mm.

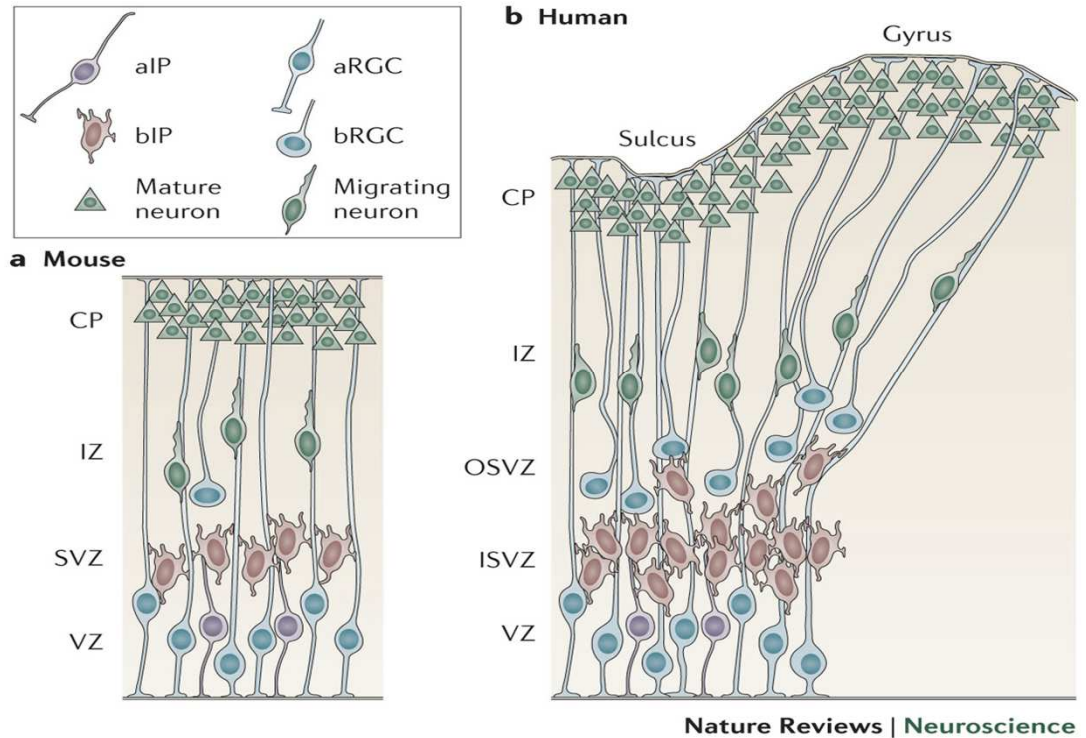
↓ Presenta discontinuità regionali nel tipo, nella densità e
connettività dei vari neuroni permettendo la distinzione di
zone corticali funzionalmente specializzate

3. EVOLUZIONE DELLA NEOCORTECCIA NELL'ORDINE DEI MAMMIFERI

Le strutture citoarchitetturali a colonne, lamine e la suddivisione in aree vengono mantenute come caratteristiche peculiari di tutti i mammiferi.

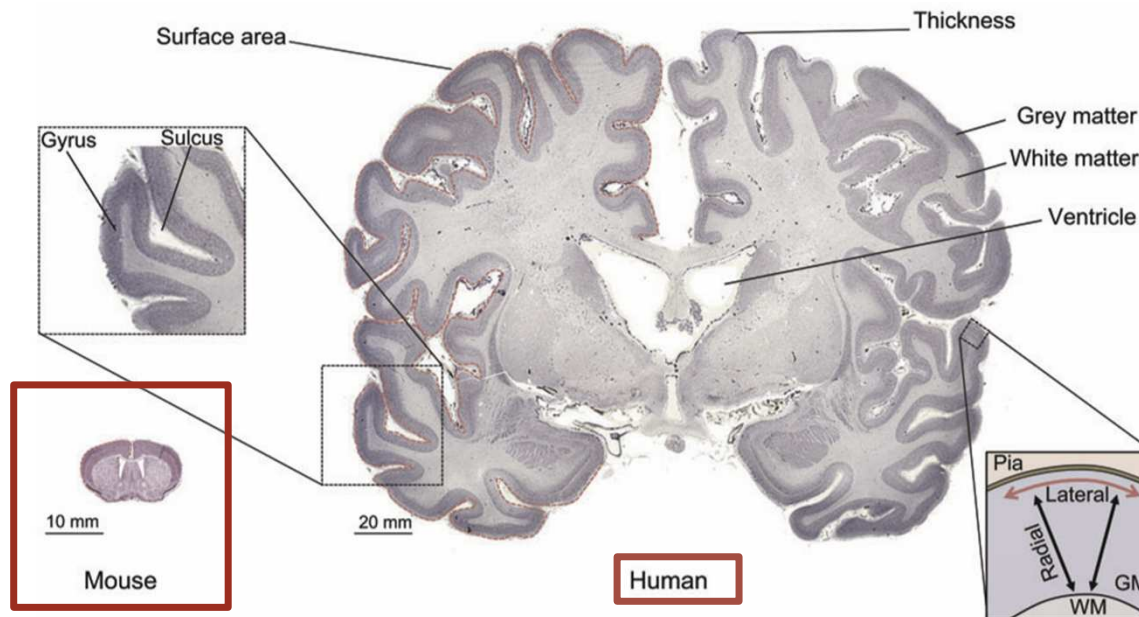
Durante l'evoluzione avviene una progressiva variazione:

- nella diversità dei tipi di progenitori neurali presenti (a livello di ciascuna lamina);
- nelle diverse modalità di divisione cellulare che le cellule subiscono.



3. EVOLUZIONE DELLA NEOCORTECCIA NELL'ORDINE DEI MAMMIFERI

Confronto interspecie tra roditori e primati:



vincolo evolutivo della crescita
nella dimensione radiale



GIRENCEFALIA

- soluzione evolutiva all'aumento della superficie corticale
- presenza di fessure (sulci) e creste (gyri)

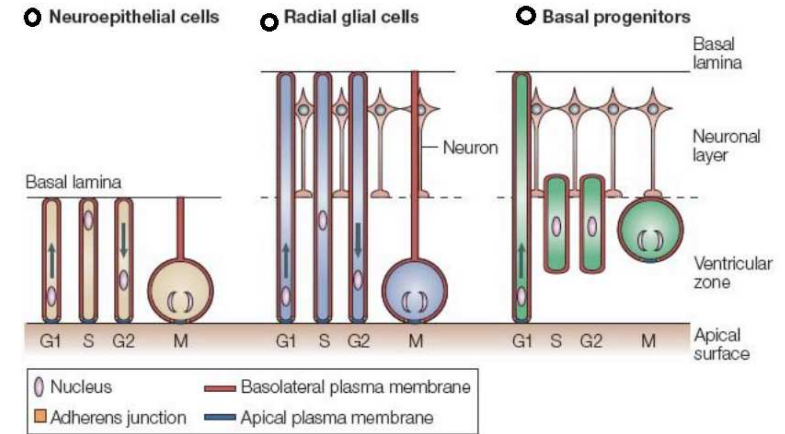
LISSENCEFALIA

- condizione primitiva (roditori)
- neocorteccia liscia
- limitata ampiezza della superficie

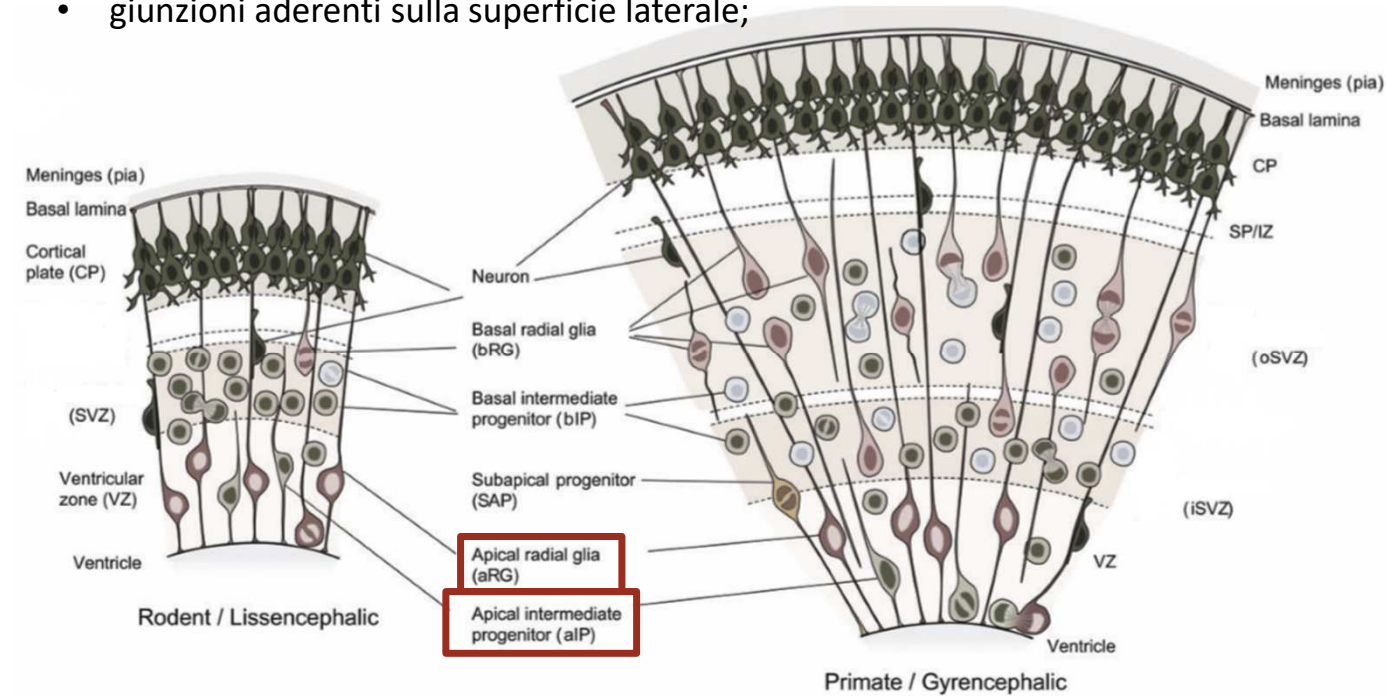
4. PROGENITORI NEURALI - APICALI

CELLULE NEUROEPITELIALI:

- nella porzione apicale della zona ventricolare;
- cellule epiteliali polarizzate;
- parte basale in contatto con la lamina basale e l'apice rivolto verso il lume del tubo neurale;
- giunzioni aderenti sulla superficie laterale;

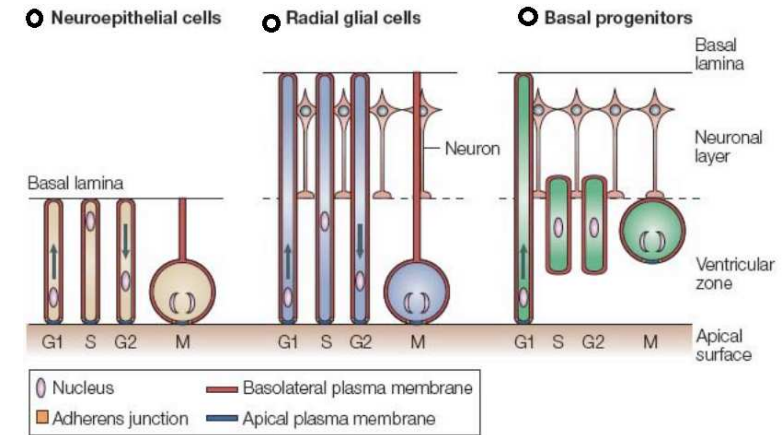


Subiscono migrazione intercinetica dei nuclei:
(di cui una diretta conseguenza è la caratteristica pseudo-stratificazione)

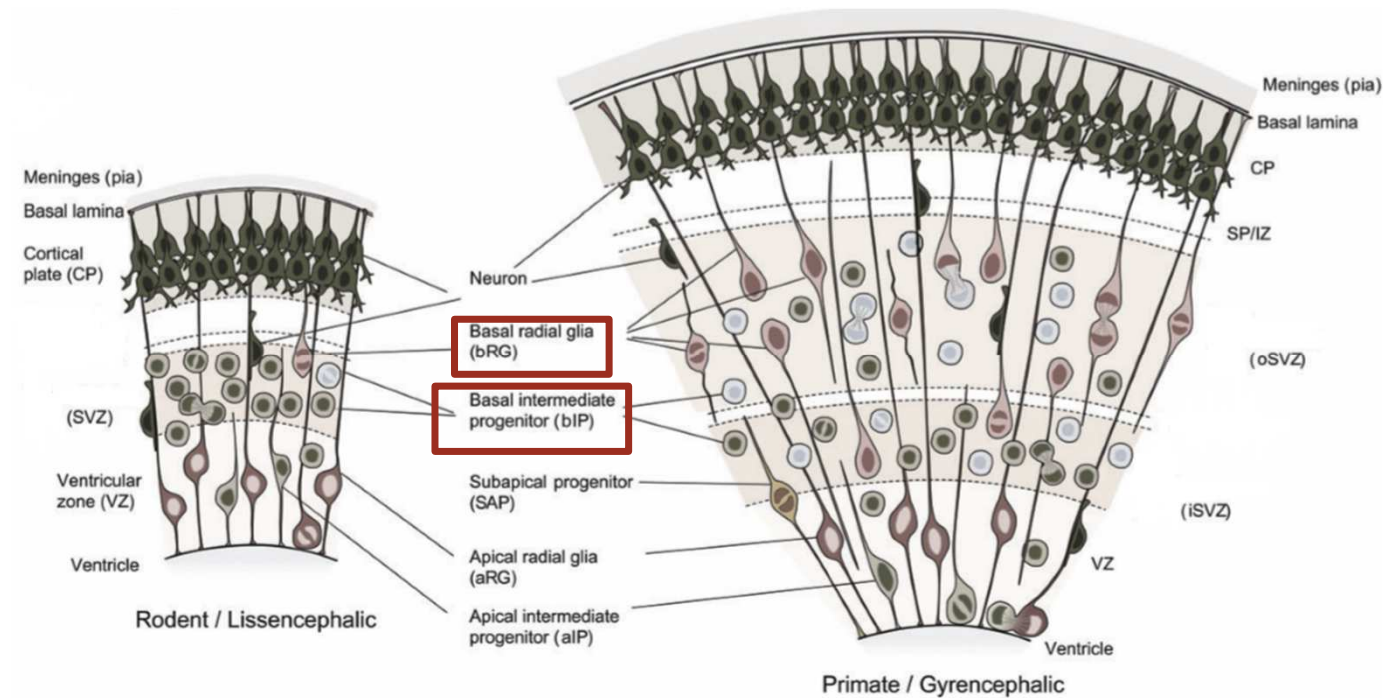


4. PROGENITORI NEURALI - BASALI

- Prendono origine dalle cellule neuroepiteliali;
- Mancano di una polarità cellulare;
- Si dividono simmetricamente nella zona sub ventricolare per dar origine a neuroni (esaurendo il proprio pool).



Facilmente riconoscibili per la forma tondeggiante, assunta successivamente alla perdita di polarità e migrazione verso la zona ventricolare.



5. CARATTERISTICHE DI VARIAZIONE INTERSPECIE

Indagini comparative tra specie di mammiferi, per approfondimenti sull'evoluzione della neocorteccia:

Dimensioni pool cellulare

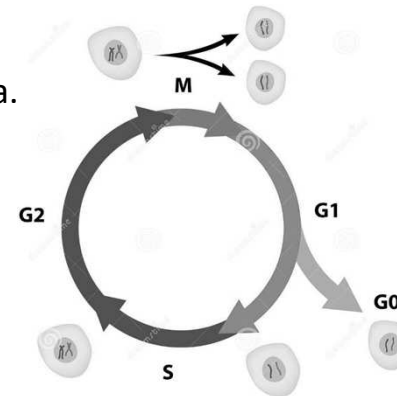
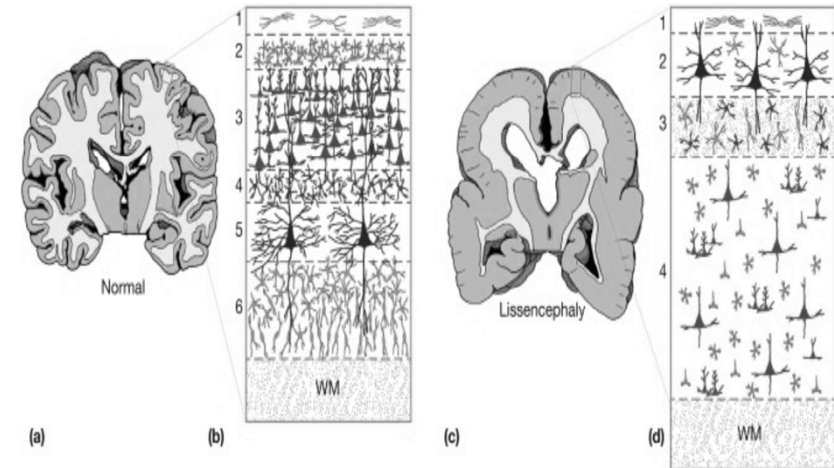
Modalità di divisione cellulare

Durata ciclo cellulare

Durata periodo di neurogenesi

→ Ampliamente variabile nei vari ordini di mammiferi.
→ Non contribuiscono allo stesso modo alla produzione finale dei neuroni.

→ Durata della fase G1 - determinativa della specializzazione della cellula.



5. CARATTERISTICHE DI VARIAZIONE INTERSPECIE

Indagini comparative tra specie di mammiferi, per approfondimenti sull'evoluzione della neocorteccia:

Dimensioni pool cellulare

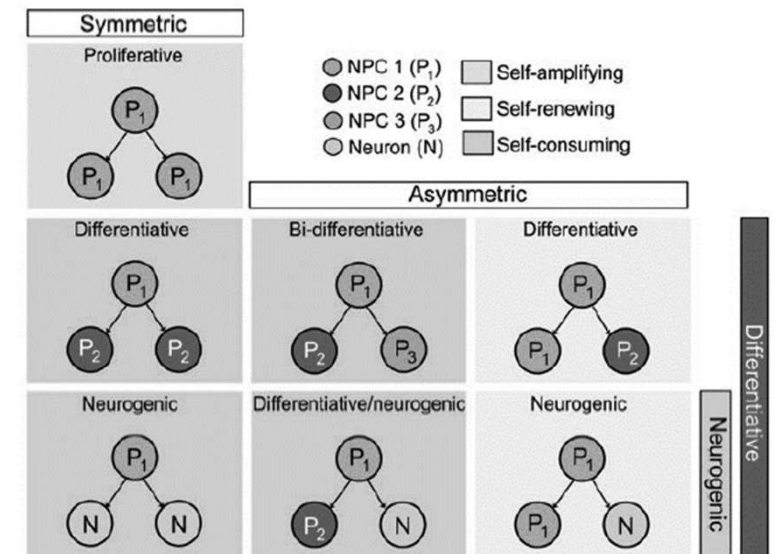
Modalità di divisione cellulare

Durata ciclo cellulare

Durata periodo di neurogenesi

→ Insieme alla capacità proliferativa, determinano i cambiamenti evolutivi più significativi.

→ Nei primati il ritardo nella neurogenesi, con un concomitante incremento nella lunghezza della durata del ciclo cellulare di ogni singola cellula, permette un'espansione del pool di cellule progenitrici più grande di quella dei roditori.



Differentiative
Neurogenic

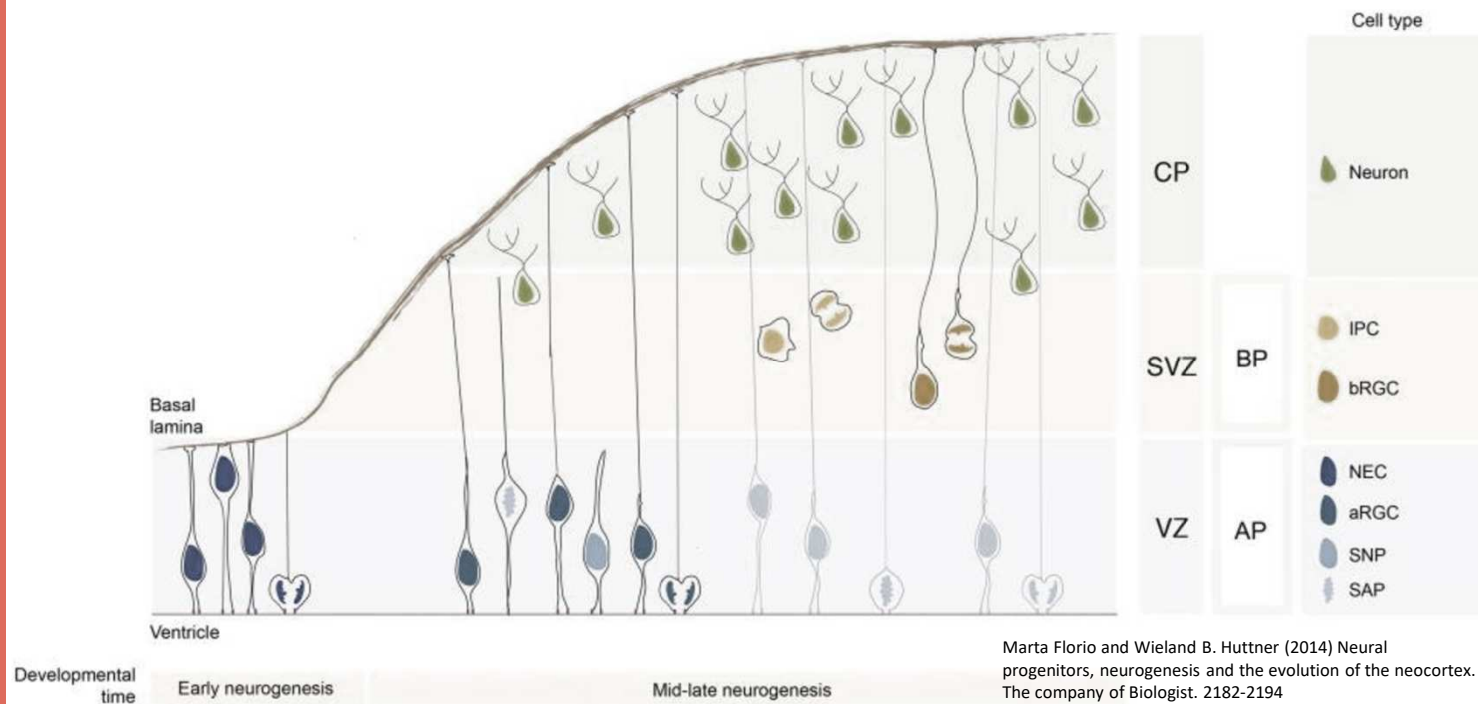
Teoria dell'unità radiale (o dell'incremento del pool di AP).

Questo potrebbe evidenziare differenze nella superficie neocorticale sin dalle prime fasi della neurogenesi nelle varie specie di mammiferi, soprattutto a livello dei ventricoli laterali,

ma non è sufficiente a spiegare il modello di espansione della neocorteccia senza un ulteriore chiarimento dei meccanismi di sviluppo.

6. IPOTESI DI EVOLUZIONE DELLA NEOCORTECCIA

Afferma che l'espansione evolutiva della neocorteccia è quindi dovuta all'incremento del numero delle unità radiali (prima della neurogenesi), e solo in minor parte con piccole variazioni nel numero dei neuroni presenti in ciascuna unità.



Ipotesi dei progenitori basali intermedi.

Prende in considerazione un altro pool di progenitori neurali – basali intermedi.

L'incremento nella produzione di progenitori basali intermedi, ha infatti permesso un esponenziale aumento della produzione finale di neuroni.

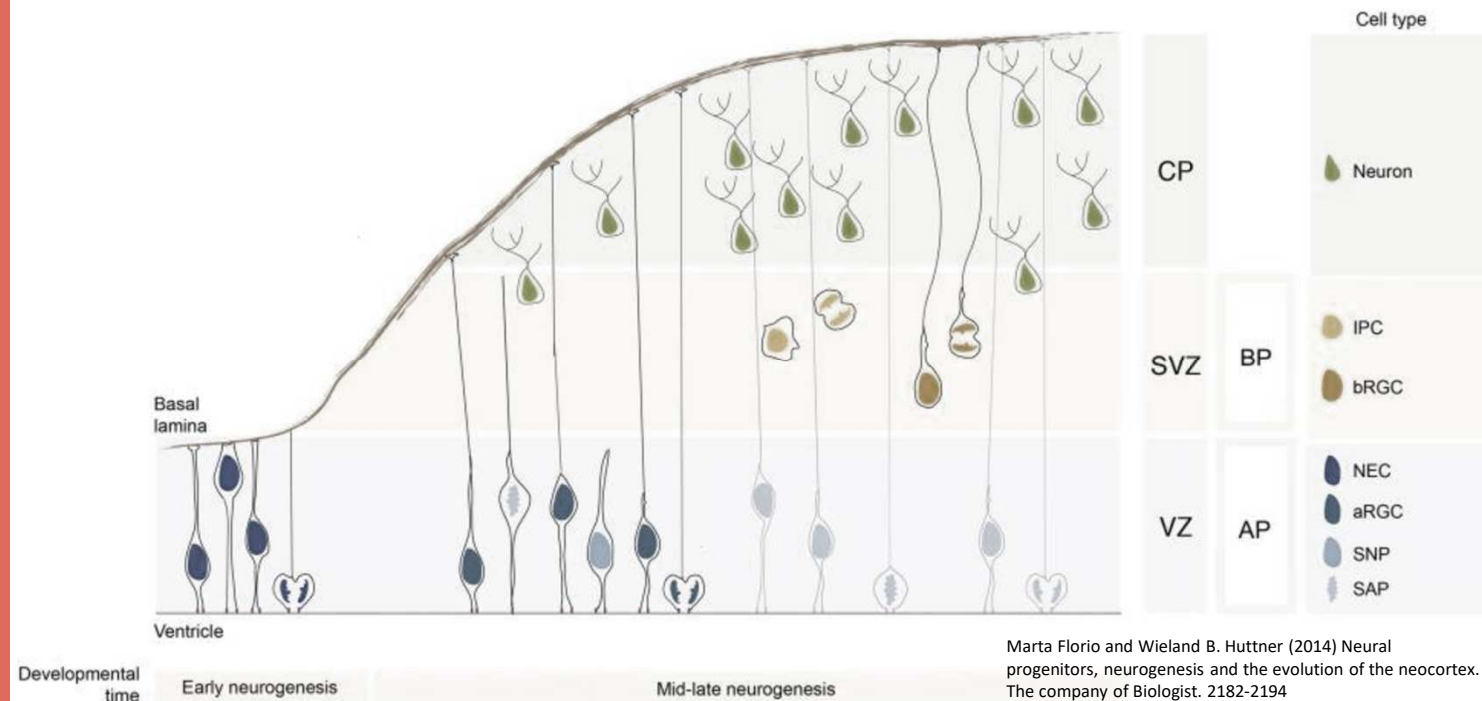
Questi cambiamenti però non portano alla girificazione della superficie corticale.

Suggerendo quindi che il modello di neurogenesi sia più complesso di quello proposto da questa ipotesi.

6. IPOTESI DI EVOLUZIONE DELLA NEOCORTECCIA

Ipotesi supportata da numerosi esperimenti in topi transgenici, nei quali viene indotto il rientro nel ciclo cellulare a metà fase della neurogenesi (normalmente quiescente).

Il confronto di questi topi con quelli di controllo ha mostrato una neocorteccia caratterizzata da ulteriore espansione laterale senza però cambiamenti significativi nello spessore.



Ipotesi del cono radiale.

Prende in considerazione il fatto che durante l'espansione neocorticale, l'incremento che questa subisce

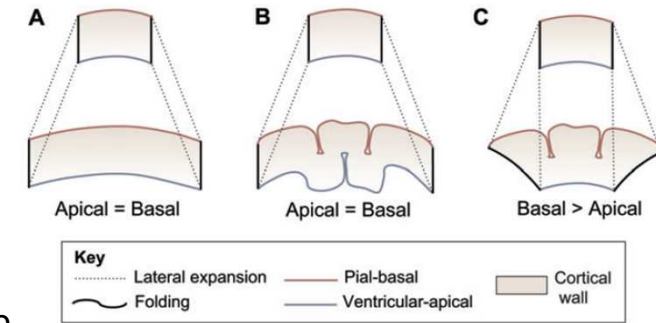
(ovvero con maggiore incremento nell'area superficiale piuttosto che quella ventricolare)

potrebbe riflettere differenze chiave nella struttura delle unità radiali durante a neurogenesi.

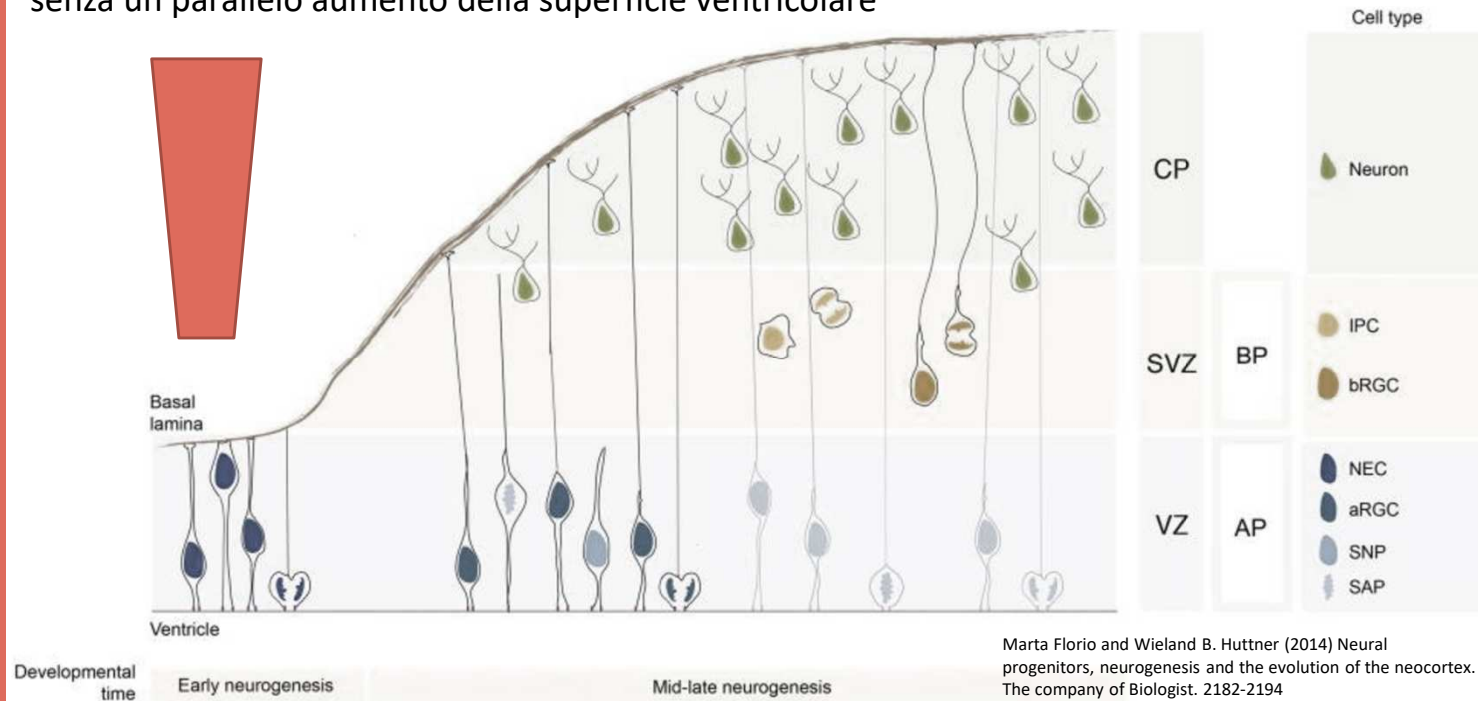
6. IPOTESI DI EVOLUZIONE DELLA NEOCORTECCIA

Nelle specie con neocorteccia girencefalica le unità radiali

si presentano sotto forma di tronchi di cono, con la base più ampia rispetto all'apice.



Questa particolare struttura porterebbe all'aumento della produzione finale di neuroni sulla superficie piale senza un parallelo aumento della superficie ventricolare



Marta Florio and Wieland B. Huttner (2014) Neural progenitors, neurogenesis and the evolution of the neocortex. The company of Biologist. 2182-2194

7. CONCLUSIONI

Alla luce delle osservazioni proposte, possiamo affermare che l'ipotesi del cono radiale sia la più completa e attendibile.

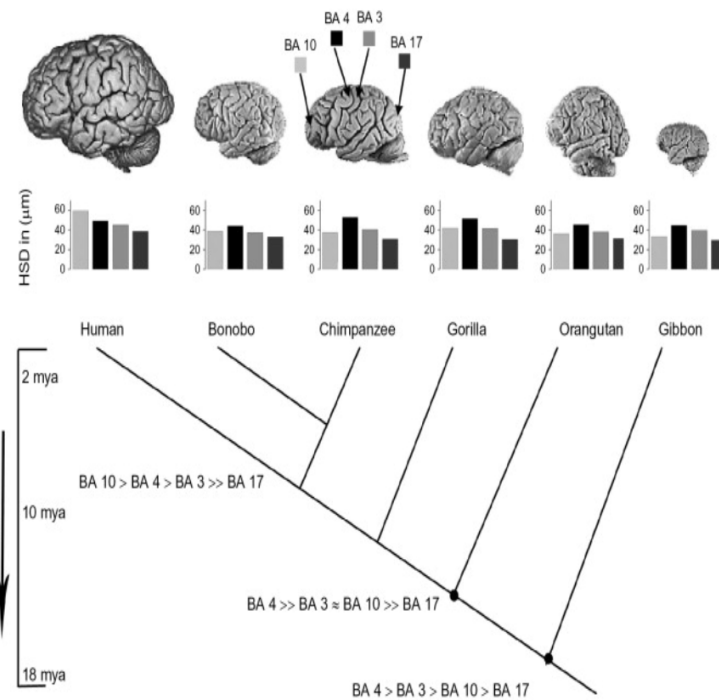
Tuttavia l'attuale comprensione dello sviluppo del cervello si basa su una serie di sistemi modello.

Un'ulteriore analisi comparativa dei meccanismi cellulari e molecolari che regolano

- la produzione di progenitori neurali,
- la migrazione cellulare e
- l'assemblaggio dei circuiti

può fornire indizi sul funzionamento dell'evoluzione neocorticale,

per rivelare il significato biologico delle alterazioni in questi programmi di sviluppo corticale.



Grazie per l'attenzione!

Indice.

Indice.....	1
1 Introduzione al lavoro.....	3
2 Neurulazione e neurogenesi nel modello mammifero.....	4
3 La neocorteccia.....	5
4 Tipi di progenitori neurali.....	9
4.1 Cellule progenitrici neurali apicali.....	9
4.2 Cellule rogenitrici neurali basali.....	13
5 Variazioni interspecie.....	15
5.1 Dimensioni del pool cellulare.....	15
5.2 Modalità di divisione cellulare.....	16
5.3 Lunghezza del ciclo cellulare.....	17
5.4 Periodo di neurogenesi.....	18
6 Conclusioni.....	20
6.1 Teoria dell'unità radiale (o dell'incremento del pool di AP).....	20

6.2	Ipotesi dei progenitori intermedi.	22
6.3	Ipotesi del cono radiale.	23
7	Bibliografia.	26

Introduzione al lavoro.

L'elaborato che viene presentato si sviluppa sulla presentazione delle principali ipotesi di evoluzione e sviluppo della neocorteccia nei vari ordini di mammiferi.

In termini evolutivi la neocorteccia è l'ultima parte del cervello dei mammiferi che si è sviluppata, contraddistinta per la sua complessità soprattutto nei primati.

L'odierna concezione dello sviluppo cerebrale si basa su un insieme di modelli formulati a partire da osservazioni di analisi comparativa (in differenti ordini di mammiferi) dei meccanismi molecolari e cellulari che regolano la produzione dei differenti tipi cellulari neurali presenti, oltre che dal meccanismo di migrazione e sviluppo durante il periodo di neurogenesi.

Alla base di ciò, vengono esposti i principali punti d'indagine che hanno permesso la formulazione delle suddette, ed infine verranno esposte le ipotesi più accreditate che sono state formulate negli ultimi decenni.

L'estensione e il ripiegamento caratteristici della corteccia cerebrale dei mammiferi, sono fattori d'influenza che possono influire nelle abilità cognitive e sensomotorie di una data specie. Tra le numerose ricerche, di fondamentale importanza si sono rivelati quelle sull'espressione genetica (che regola la proliferazione dei vari pool cellulari), e la caratterizzazione cellulare dei progenitori neurali stessi. Questo perché numerosi disturbi neurali sono stati collegati a interruzioni della crescita e del ripiegamento della corteccia cerebrale, oltre che ad una via segnalazione neurale aberrante.

Neurulazione e neurogenesi nel modello mammifero.

Nella biologia dello sviluppo di un organismo amniotico come un mammifero, completata la gastrulazione, ha inizio l'organogenesi. Durante questa fase diversi gruppi di cellule si avvieranno al differenziamento, per formare territori embrionali che daranno origine poi a tessuti sempre più specializzati e ai primi abbozzi di organi.

La neurulazione in particolare è quel processo morfogenico che darà origine al sistema nervoso centrale (encefalo e midollo spinale). A partire dall'area dorsale dell'ectoderma ha inizio l'organizzazione della piastra neurale, come un insieme di cellule colonnari cilindriche. Cellule che attraverso movimenti migratori nella parte apicale e di scivolamento dalla parte basale, che permetterà il sollevamento delle pliche neurali e la loro rotazione verso la linea mediana dorsale. Nell'insieme questi movimenti permetteranno alle pliche di ripiegarsi, prendere contatto e fondersi per la formazione del tubo neurale.

Una volta formato il tubo neurale, può avere inizio il processo di formazione di nuove cellule nervose.

La neurogenesi avviene attraverso un graduale differenziamento cellulare, passando dallo stato pluripotente (staminale) a quello di cellula progenitrice della cellula nervosa (chiamata anche neuroblasto) per dare origine infine alla cellula nervosa differenziata, il neurone.

La neocorteccia.

La neocorteccia è una struttura distintiva e unica dei mammiferi: rappresenta lo strato più esterno degli emisferi cerebrali, è costituita da materia grigia che racchiude la sottostante sostanza bianca. La sua superficie raggiunge 2600 cm^2 e lo spessore di 2-4 mm, arrivando a rappresentare fino a due terzi della massa cerebrale totale. Dal punto di vista dell'organizzazione macro-architettonica, osserviamo l'alternazione di solci e giri, che permettono di ridurre l'ingombro del volume totale affinché possa essere comodamente racchiuso all'interno del cranio. È sede delle funzioni cerebrali di ordine superiore come quelle cognitive, oltre alla gestione delle funzioni sensoriali e dei movimenti volontari. Questa diversità di ruoli è svolta da diverse aree corticali, grazie alla probabile presenza di tipi cellulari specializzati nella risposta. Le discontinuità regionali nel tipo, nella densità e connettività dei vari neuroni permettono la distinzione della materia grigia in aree che rappresentano zone corticali funzionalmente specializzate.

Caratterizzata dalla presenza di neuroni, cellule gliali e vasi sanguigni, è di grande interesse per la sua origine evolutiva relativamente recente (~220 milioni di anni fa) e per l'espansione che ha subito nelle diverse linee evolutive di mammiferi, che ne evidenzia una selezione positiva per un aumento del numero di neuroni.

Studi della struttura di questo tessuto hanno evidenziato una suddivisione orizzontale e una suddivisione verticale. L'osservazione della sezione trasversale ha permesso la suddivisione in sei lamine cellulari (indicate dai primi numeri romani I – VI) a livello delle quali i neuroni che costituiscono lo strato stesso ne condividono l'identità cellulare e i modelli di connettività.

La più esterna è la lamina I, anche chiamata foglietto molecolare, che si presenta povera di neuroni (tra cui figurano quelli GABAergici) e poggia sulla successiva lamina II (o foglietto granulare esterno) costituita principalmente da due tipi di neuroni: piramidali e stellati. Nell'insieme queste due lamine e la lamina III (o foglietto piramidale esterno, contenente neuroni piramidali di piccola e media grandezza, e neuroni non piramidali con assoni intracorticali), rappresentano il complesso strato corticale sopragranulare che ha il compito di connettere le differenti aree. Proseguendo incontriamo la lamina IV, indicata anche come foglietto corticale granulare interno, anch'esso deputato alla comunicazione delle diverse aree corticali (intraemisferiche). Ed infine identifichiamo il foglietto corticale infragranulare costituito nel complesso dalla lamina V e VI, ovvero rispettivamente dal foglietto piramidale interno e foglietto polimorfo e multiforme (entrambi comprendenti neuroni piramidali; fusiformi e multiformi a livello della lamina VI). Dal punto funzionale quest'ultimo complesso raggruppa neuroni che mettono in comunicazione la corteccia cerebrale con la componente sottocorticale del cervello (talamo, tronco encefalico e midollo spinale).

Nella sezione longitudinale invece possiamo identificare la microunità funzionale indicata come minicolonna, formata da gruppi di neuroni glutamatergici collegati per mezzo di sinapsi che attraversano perpendicolarmente le lamine orizzontali. Ciascuna minicolonna in particolare prende origine da un gruppo di progenitori neurali del neuroepitelio in via di sviluppo, e nel loro insieme più minicolonne unite danno origine a connessioni orizzontali dense chiamate modulo corticale o colonna.

Questa particolare organizzazione è un'unità elaborativa complessa che permette il collegamento di informazioni in entrata e in uscita. In particolare, si può dedurre che ci sia una segregazione parziale dei neuroni corticali efferenti di cui possiamo distinguere i bersagli

estrinseci: quelli dal II al III strato laminare si proiettano verso altre zone corticali (chiamate connessioni intrinseche a corto raggio), mentre quelli dal V al VI strato laminare si proiettano verso le zone subcorticali (chiamate connessioni estrinseche a lungo raggio). È proprio l'insieme di questa fitta rete di connessioni che ci permette di suddividere la neocorteccia in aree funzionalmente distinte.

Le strutture citoarchitettoniche a colonne, laminare e la suddivisione in aree vengono mantenute come caratteristiche peculiari di tutti i mammiferi; mentre si osservano durante l'evoluzione e l'espansione della neocorteccia la progressiva variazione nella diversità dei tipi di progenitori neurali presenti, nelle diverse modalità di divisione cellulare che le cellule subiscono e nella loro variazione tra le diverse specie.

Prenderemo come esempio di confronto interspecie il tessuto cerebrale umano e del topo, e nel confronto anatomico della neocorteccia osserviamo innanzitutto una differenza sostanziale nelle dimensioni, con quella umana circa mille volte più grande. Queste differenze possono essere generalizzate notando che la variazione nelle dimensioni avviene soprattutto nell'ampiezza della superficie e solo in minor parte nello spessore (la cui variazione si nota in modo esiguo tra le specie) alludendo ad un vincolo evolutivo nella dimensione radiale della crescita.

Inoltre, anche la superficie differisce nella forma: liscia nel topo, indicata con il nome di corteccia lissencefalica; e con presenza di fessure (sulci) e creste (gyri) in uno schema complesso nella neocorteccia girencefalica dell'uomo. La condizione girencefalica in particolare è correlata all'espansione della neocorteccia in tutti gli ordini di mammiferi, e sembra essere una soluzione evolutiva all'aumento della superficie corticale (ovvero al numero dei neuroni) senza raggiungere dimensioni proibitive del cranio (infatti solo uno

strato sottile di materia grigia avrebbe potuto consentire l'organizzazione girencefalica sotto forma di pieghe).

Caratteristica dell'evoluzione dei mammiferi è l'espansione della neocorteccia, avvenuta nella maggior parte degli ordini in modo indipendente, che ha subito il processo della neocorticalizzazione ovvero la sproporzionata espansione rispetto alla maggior parte delle altre zone. Al contrario dell'aumento dell'estensione, la sua densità (numero di neuroni per volume corticale) varia tra i diversi ordini dei mammiferi. Nei primati rimane relativamente costante all'aumentare delle dimensioni corticali senza un correlativo aumento nelle dimensioni delle cellule, e in particolare nell'uomo la neocorteccia raggiunge fino all'ottanta per cento della massa cerebrale. Quindi l'espansione della neocorteccia (avvenuta grazie all'aumento della superficie corticale e solo con modeste differenze nello spessore) è stata resa possibile grazie all'aumento del numero delle colonne corticali.

Nei roditori, al contrario, con l'aumento nelle dimensioni della neocorteccia si osserva una diminuzione della densità dei neuroni nel tessuto e il concomitante aumento delle dimensioni delle cellule.

Tipi di progenitori neurali.

Durante la neurogenesi, ha inizio lo sviluppo della neocorteccia a partire da cellule neurali staminali (multipotenti) e differenti classi di cellule progenitrici neurali.

Queste, sono a loro volta distinte in differenti classi, (cruciali per una successiva migliore comprensione dell'evoluzione della neocorteccia e delle differenze interspecie che si osservano a livello di questo tessuto) che analizzeremo separatamente: progenitori apicali e basali (con breve accenno ad una terza classe che comprende i progenitori sub-apicali).

Cellule progenitrici neurali apicali.

A partire dalle fasi precoci della neurogenesi, dalla piastra neurale (costituita da un epitelio monostratificato colonnare), e dalla successiva formazione di un epitelio pseudo-stratificato (con la conseguente chiusura del tubo neurale), nella porzione apicale della zona ventricolare si formano le cellule neuroepiteliali (della classe delle cellule progenitrici apicali) grazie alle quali avranno origine tutti i neuroni della neocorteccia nei mammiferi.

Questo tipo di cellule, in particolare, costituiscono il primitivo cervello che andrà incontro a sviluppo. Sono cellule epiteliali polarizzate, che attraversano tutto il neuroepitelio rimanendo con la parte basale in contatto con la lamina basale e con l'apice rivolto verso il lume del tubo neurale. Sulla superficie laterale le cellule presentano giunzioni aderenti, soprattutto nella parte sub-apicale dove formano cinture di adesione con le cellule confinanti (che vengono per questo chiamate giunzioni aderenti a fascia).

L'espansione del pool di questo tipo cellulare avviene grazie ad una serie di divisioni proliferative simmetriche che influiscono in due modi differenti sulla crescita della neocorteccia: si nota, infatti, un'espansione nella dimensione laterale e radiale del neuroepitelio.

Le cellule neuroepiteliali subiscono migrazione intercinetica dei nuclei, ovvero il movimento dei nuclei a livello della zona ventricolare durante la fase G1 del ciclo cellulare. In particolare, la migrazione avviene dalla porzione apicale a quella basale, e successivamente una volta conclusa la fase S a livello della parte basale della zona ventricolare, i nuclei subiscono ulteriore migrazione, questa volta dalla porzione basale a quella apicale, in modo tale che la successiva mitosi possa aver luogo a livello della superficie ventricolare. Il confinamento della mitosi sulla superficie ventricolare permette alla membrana plasmatica apicale la formazione del ciglio che prende contatto proprio con la superficie ventricolare.

Una diretta conseguenza della migrazione intercinetica dei nuclei è che la posizione delle cellule neuroepiteliali all'interno dello spessore è osservabile a differenti altezze. Questa caratteristica pseudo-stratificazione consente inoltre di accogliere un maggior numero di cellule per unità di spazio (densità).

Possiamo quindi affermare che lo sviluppo corticale inizia dalle singole cellule progenitrici neuroepiteliali la cui divisione mitotica passa dall'essere proliferativa simmetrica ad essere differenziativa asimmetrica, permettendo sia l'autorigenerazione delle cellule staminali (dato che una delle due cellule figlie mantiene i caratteri di cellula indifferenziata); che il differenziamento di una delle due cellule figlie in una cellula progenitrice neurale apicale, basale o un neurone post mitotico.

È stato inoltre dimostrato che una piccola popolazione di cellule neuroepiteliali sono in grado di dare origine a cellule staminali neurali che rimarranno in uno stato quiescente durante lo sviluppo. Non è stato ancora chiarito però se questa sottopopolazione abbia un ruolo nella neurogenesi dell'adulto, e se possa aver origine anche da cellule della glia.

Conseguentemente al mutamento del neuroepitelio in uno strato tissutale ibrido pseudostratificato (a livello del quale nello strato germinale apicale della corteccia sono segregati i corpi cellulari e neuroni, delineando così la zona ventricolare; mentre lo strato più basale è sede dei corpi cellulari di cellule progenitrici neurali basali) si viene a delineare un secondo strato germinale (basale rispetto alla zona ventricolare) che viene definito come zona sub-ventricolare.

Man mano poi che le cellule si differenziano in neuroni, questi migreranno dagli strati germinali (della zona ventricolare) accumulandosi sotto la lamina basale nella futura placca corticale. Con il progressivo ispessimento della parete corticale, la membrana baso-laterale delle cellule neuroepiteliali (che mantiene il contatto con la lamina basale) si allunga e diviene una fine fibra radiale chiamata processo basale, utile come guida per la migrazione neurale.

All'inizio della neurogenesi, le cellule progenitrici neuroepiteliali si differenziano in ulteriori tipi di cellule progenitrici neurali come ad esempio le cellule della glia radiali apicali. Queste esprimono marcatori astrogliali e sovra esprimono alcuni fattori di trascrizione come Pax6, mostrando caratteristiche tipiche delle cellule neuroepiteliali (ovvero la presenza di giunzioni a fascia, la polarità apico-basale, il contatto sia con il ventricolo che con la lamina basale), in particolare si possono riconoscere due processi, chiamati apicale e basale. Il primo risiede nella zona ventricolare e ha origine a partire dalla porzione baso-laterale della membrana plasmatica, accoglie il nucleo durante la migrazione intercinetica. Il processo basale risiede

invece nella zona sub-ventricolare fino a raggiungere la lamina basale. È una struttura estremamente dinamica, capace di modificare la struttura della propria parte finale da ramificata a cilindrica durante lo sviluppo corticale. Funge da guida per la migrazione neurale radiale, permettendo il corretto posizionamento finale dei neuroni a livello della corteccia. Inoltre, costituisce anche un compartimento cellulare coinvolto sia nella segnalazione cellulare che nel differenziamento cellulare finale (a livello del processo basale infatti si trovano numerosi mRNA che verranno tradotti localmente).

Anche questo tipo di progenitori neurali subiscono la migrazione (INM) nella zona ventricolare e la mitosi a livello della superficie apicale. Come le cellule neuroepiteliali, subiscono divisioni cellulari simmetriche di proliferazione o asimmetriche, che permettono l'inizio del differenziamento cellulare. Tuttavia, con il progresso della neurogenesi nelle cellule della glia radiali apicali prevale la divisione differenziativa, e grazie a questo progressivo cambiamento è possibile il passaggio della crescita della neocorteccia da quasi esclusivamente nella direzione laterale ad un'espansione corretta nelle direzioni radiali e laterali.

Nell'ultimo decennio inoltre sono state descritte ulteriori cellule progenitrici neurali derivanti dal differenziamento delle cellule della glia radiali apicali, queste in particolare differiscono per morfologia, divisione cellulare e abbondanza intra e interspercie.

Un esempio sono le cellule progenitrici apicali intermedie, con caratteristiche che le differenziano da queste, come i processi basali che perdono il contatto con la lamina basale, la sottoespressione dei geni astrogliali, e la perdita della capacità di proliferazione tipica delle cellule staminali (andando incontro a processo di differenziamento in neuroni).

Cellule progenitrici neurali basali.

Altra categoria di progenitori neurali sono quelli basali, prendono origine dalle cellule neuroepiteliali, ma migrano nella zona sub-ventricolare dopo aver perso la loro polarità apico-basale, aver ritirato i loro processi cellulari ed aver perso contatto con le cellule circostanti.

A loro volta possono essere distinte in cellule radiali basali della glia e cellule progenitrici neurali intermedie. Le cellule della glia sono cellule monopolari che mancano di un processo apicale, mantenendo invece quello basale. Costituiscono un pool cellulare eterogeneo (in quanto le singole cellule si differenziano sia dal punto di vista morfologico che trascrizionale), da cui avranno origine le due zone proliferative basali: ovvero la zona sub-ventricolare interna ed esterna (presenti nelle specie girencefaliche, compresi i primati). Le cellule progenitrici, invece, sono prive di polarizzazione derivanti dalla perdita di contatto con le cellule circostanti e successiva transizione da cellule epiteliali in quelle mesenchimali. Questo processo avviene massicciamente durante l'embriogenesi, ed è cruciale per una corretta gastrulazione e successiva formazione della cresta neurale.

A livello dei tessuti cerebrali di mammiferi lissencefalici come nei roditori, questa tipologia di cellule sopprimono la normale espressione di Pax6, e nella maggior parte originano dal differenziamento delle cellule progenitrici apicali della zona ventricolare. Nei primati, che presentano un cervello girencefalico, l'espressione di Pax6 viene mantenuta normale, e le cellule progenitrici basali prendono origine non solo dalla zona ventricolare ma anche da quella sub-ventricolare.

In ultimo citiamo le cellule progenitrici sub-apicali, caratteristiche delle zone ventricolare e sub-ventricolare, e ancora ben poco conosciute. Presentano un processo apicale che prende contatto con la superficie ventricolare, ma subiscono mitosi nella zona sub-apicale.

Variazioni interspecie.

L'espansione della neocorteccia durante lo sviluppo neocorticale (e in generale durante l'evoluzione del tessuto nervoso) implica un notevole aumento del numero di neuroni, possibile grazie alle caratteristiche staminali delle cellule che compongono questo tessuto, attraverso molteplici divisioni cellulari simmetriche. La presenza finale di neuroni (in quanto numero e tipo) in una data specie, è però determinata dall'insieme di diversi fattori che andremo ad analizzare. Ad influire principalmente sono: la durata del ciclo cellulare, i differenti modelli di divisione cellulare che avvengono, e le successive vie di differenziamento che la cellula può intraprendere.

Questi costituiscono importanti parametri per l'analisi delle variazioni nel tessuto corticale di diverse specie, oltre che per una migliore comprensione di malattie e disturbi dello sviluppo neurale che implicano una riduzione della produzione di neuroni.

Dimensioni del pool cellulare.

Prima di tutto l'abbondanza di un dato tipo di progenitori neurali tra quelli presenti, è in generale (nei vari ordini di mammiferi) ampiamente variabile, in quanto essi non contribuiscono allo stesso modo alla produzione finale (via differenziamento cellulare dei progenitori neurali) dei neuroni. La più notevole variazione interspecie è quella che comprende l'espansione del pool cellulare dei progenitori basali, intuibile dall'osservazione del rimodellamento ed espansione della zona sub ventricolare (principale sede dei corpi cellulari di questo tipo di progenitori neurali). In particolare, nelle specie girencefaliche come

nei primati la zona sub ventricolare può essere distinta in due strati germinali morfologicamente differenti: una zona interna, il cui spessore si mantiene costante durante la neurogenesi; e una zona esterna (assente nella maggior parte delle specie lissencefaliche) caratterizzata da un progressivo ispessimento dovuto all'aumento del numero di progenitori basali presenti. Grazie all'analisi più approfondita di questo tessuto, si può osservare che la zona esterna sub ventricolare ospita fino a quattro volte più cellule progenitrici basali, di quanti non siano presenti nell'insieme a livello della zona ventricolare e sub ventricolare interna.

Questo aumento è inoltre accompagnato da profondi mutamenti nel tipo di progenitore cellulare presente. Un esempio pratico che può essere presentato è il confronto della composizione della zona sub ventricolare nei topi, che contiene soprattutto progenitori basali intermedi neurogenici (~80% del pool complessivo dei progenitori basali) e solo una piccola frazione di cellule basali della glia (~10%) e progenitori intermedi proliferativi (~10%). Nell'uomo, al contrario, troviamo principalmente cellule basali della glia, (~50-75%), con il resto dei progenitori basali che sono principalmente progenitori intermedi proliferativi.

Modalità di divisione cellulare.

Altro aspetto che potrebbe essere utile analizzare in quanto le dimensioni dei pool cellulari dipendono dalle capacità di ciascun tipo di tipo cellulare di autoamplificarsi (ovvero subire cicli di divisioni cellulari simmetriche, proliferative), quindi lo studio dell'abbondanza di un tipo cellulare riguarda la sua capacità proliferativa, che determina anche i cambiamenti evolutivi più significativi.

In particolare, le cellule progenitrici neurali possono subire destini differenti in base al tipo di mitosi che subiscono: le cellule figlie si differenziano entrambe in due nuovi progenitori nel caso di una divisione simmetrica proliferativa;

Anche per questo aspetto, la maggior variazione interspecie riguarda i progenitori neurali basali, che nei roditori lissencefalici si dividono un'unica volta in modo che le cellule figlie possano generare neuroni differenziandosi. Al contrario, nei primati girencefalici gli stessi progenitori mantengono le loro caratteristiche staminali e quindi il loro potenziale proliferativo successivamente alle divisioni cellulari che subiscono.

La polarità cellulare nelle cellule progenitrici apicali costituisce una caratteristica fondamentale per la determinazione di una divisione cellulare simmetrica o asimmetrica in quanto influisce altrettanto nella segregazione dei componenti cellulari durante la mitosi. Diverse ricerche evidenziano come questo sia la base della determinazione del destino cellulare. In particolare, sarebbe proprio la conservazione del processo basale (successivamente ad una divisione asimmetrica) a consentire di mantenere le capacità proliferative.

Durata del ciclo cellulare.

Nella zona ventricolare dei roditori, il ciclo cellulare dei progenitori neurali sembra avvenire in progressione con la neurogenesi, ma una più attenta analisi dei singoli tipi cellulari rivela che le cellule gliali apicali subiscono una fase G1 e S del ciclo cellulare più lunghe a partire da metà periodo di neurogenesi (rispetto a quello che intercorre all'inizio della neurogenesi).

Una durata ancor più lunga di questo tipo cellulare è quella subita sia dai progenitori apicali intermedi che dai progenitori basali intermedi.

Osservazioni simili sono state anche condotte nei primati, precisamente nel macaco, hanno evidenziato come la durata del ciclo cellulare aumenti fino a metà del periodo di neurogenesi, per poi decrescere (a differenza di ciò che accade nel topo). Questa diminuzione della durata del ciclo cellulare dei progenitori neurali è sicuramente dovuta ad una fase G1 e S più brevi.

Tali osservazioni sono di fondamentale importanza dato che la durata della fase G1 è stata indicata come determinativa della specializzazione della cellula.

Manipolando la durata del ciclo cellulare in vitro, aumentando la durata della sola fase G1 attraverso l'utilizzo di inibitori della Cdk2/ciclina E, si osserva una prematura neurogenesi in cellule progenitrici del topo; al contrario una riduzione di questa fase sortisce l'effetto di rimando della neurogenesi, a favore di un più ampio periodo di proliferazione staminale.

Ulteriori osservazioni nel macaco evidenziano come una più breve fase G1 del ciclo cellulare permetta un'espansione della neocorteccia secondo distintivi principi citoarchitetture.

Periodo di neurogenesi.

Ulteriore parametro che influisce sulla produzione finale di neuroni e influisce nelle variazioni interspecie, in particolare tra roditori e mammiferi. Nei primati infatti il ritardo nella neurogenesi permette un'espansione del pool di cellule progenitrici più grande di quella dei roditori, come anche la maggiore durata del periodo di neurogenesi stessa.

Questo può avvenire solo alla condizione che alla maggior durata del periodo di neurogenesi (differenziamento delle cellule staminali nella cellula specializzata come neurone) non ci sia un parallelo e concomitante incremento nella lunghezza della durata del ciclo cellulare di ogni singola cellula.

Conclusioni.

Sono state proposte diverse teorie per spiegare come sia avvenuta l'espansione della neocorteccia e l'aumento del numero di neuroni. Tutte comprendono l'ipotesi che durante lo sviluppo della neocorteccia sia fondamentale il ruolo della variazione del tipo di divisione cellulare dei progenitori neurali.

L'espansione nella direzione laterale, infatti, è dovuta al crescente numero di cellule progenitrici neurali che è a sua volta dovuto a un maggiore numero di divisioni cellulari che avvengono durante lo sviluppo di questo tessuto. Tuttavia, ci si sta ancora interrogando sul quale sia esattamente il tipo cellulare che interviene in modo determinante nell'espansione della neocorteccia.

Per questo motivo proporremo diverse tesi al fine di analizzare e confrontare in modo accurato i punti chiave e i limiti di ciascuna teoria formulata nel corso degli studi e degli anni di ricerche.

Teoria dell'unità radiale (o dell'incremento del pool di AP).

Afferma che la superficie e lo spessore della neocorteccia sono determinati da due successive fasi durante lo sviluppo. In primo luogo, l'area superficiale viene determinata durante la fase "proliferativa" ovvero quella durante la quale le cellule progenitrici neurali determinano il loro pool cellulare grazie a successive divisioni cellulari.

Successivamente lo spessore verrà definito con la fase “differenziativa” che appunto permette il differenziamento e formazione dei neuroni in seguito a divisioni cellulari asimmetriche. Neuroni derivanti da un'unica cellula progenitrice migrano nella fase tardiva in modo da costituire la tipica struttura colonnare. Questa unità radiale viene definita come “colonna ontogenica” e tutti i neuroni che la costituiscono derivano da una cellula progenitrice staminale comune.

Secondo questo modello l'espansione evolutiva della neocorteccia è quindi dovuta all'incremento del numero delle unità radiali, e solo in minor parte con variazioni nel numero dei neuroni presenti in ciascuna unità.

Infatti, è bene specificare che la dimensione del pool cellulare determina l'estensione della superficie ventricolare del neuroepitelio (che a sua volta regola la dimensione dei ventricoli). Questo potrebbe evidenziare differenze nella superficie neocorticale sin dalle prime fasi della neurogenesi nelle varie specie di mammiferi, soprattutto a livello dei ventricoli laterali, ma non è sufficiente a spiegare il modello di espansione della neocorteccia senza un ulteriore chiarimento dei meccanismi di sviluppo.

Tuttavia, dato che l'espansione laterale della neocorteccia implica principalmente l'aumento dell'area superficiale piuttosto che della superficie ventricolare, questa teoria viene esclusa in quanto porta piuttosto ad un ripiegamento aberrante della superficie corticale.

Dagli anni '70 un'importante osservazione ha direzionato ulteriori ricerche e la formulazione di una teoria che pone il pool di progenitori basali BP come fondamentale nello sviluppo ed evoluzione della neocorteccia.

Le osservazioni partirono dall'affermazione che la pseudo-stratificazione a livello della zona ventricolare è un vincolo nella proliferazione cellulare, quindi affinché si possa raggiungere un incremento nella produzione neurale, le cellule progenitrici neurali debbono poter andare incontro a mitosi lontano da questa zona. La "sovrapposizione" di nuclei nella zona ventricolare è alleggerita grazie alla migrazione di alcune cellule nella posizione basale (che successivamente si evidenzierà come area di maggior produzione neurale).

Inoltre, la zona sub-ventricolare a sua volta è di dimensioni maggiori nelle specie con corteccia girencefalica (soprattutto nei primati) sottolineando l'importanza che gioca il posizionamento dei corpi cellulari dei BP.

A questo punto possiamo riconoscere ulteriori differenze all'interno di questa teoria, prendendo in considerazione i vari tipi di progenitori basali, che ci permettono di osservare ulteriori differenze nelle modalità di sviluppo della neocorteccia.

Ipotesi dei progenitori intermedi.

Secondo la quale l'espansione della neocorteccia è stata dovuta all'incremento nella produzione di progenitori basali intermedi, principalmente dovuto al passaggio da divisioni cellulari simmetriche e neurogeniche, a divisioni proliferative. Questo ha infatti permesso un esponenziale aumento della produzione finale di neuroni, senza l'aumento della superficie della zona ventricolare. Inoltre, questa ipotesi tiene conto del fatto che la zona sub-ventricolare in specie girencefaliche non è di costituzione uniforme, ma il suo spessore varia tra le zone che andranno a formare solchi (aree più sottili) e gyri (aree a maggior spessore).

Evidenza infatti come modificando il numero e la densità neurale si possano ottenere specifici pattern di ripiegamento della neocorteccia.

Queste evidenze sono state supportate da numerosi esperimenti in topi transgenici, nei quali viene indotto il rientro nel ciclo cellulare a metà fase della neurogenesi. In questi topi, il confronto con quelli di controllo ha mostrato una neocorteccia caratterizzata da ulteriore espansione laterale senza però cambiamenti significativi nello spessore. Questi cambiamenti però non portano al ripiegamento, suggerendo che la proliferazione dei progenitori neurali basali intermedi nella zona sub ventricolare non sia sufficiente a indurre la girificazione nella neocorteccia. Questo suggerisce quindi che il modello di neurogenesi sia più complesso di quello proposto da questa ipotesi.

Ipotesi del cono radiale.

Prende in considerazione il fatto che durante l'espansione neocorticale, l'incremento che questa subisce (ovvero con maggiore incremento nell'area superficiale piuttosto che quella ventricolare) potrebbe riflettere differenze chiave nella struttura delle unità radiali durante a neurogenesi.

Secondo questa ipotesi l'espansione della neocorteccia potrebbe essere spiegata prendendo in considerazione le sub unità radiali insieme alle unità radiali vere e proprie. In particolare, nei roditori lissencefalici le unità radiali hanno una struttura cilindrica e presentano all'apice una cellula apicale della glia "fondatrice". Al contrario, nelle specie con neocorteccia girencefalica le unità radiali si presentano sotto forma di tronchi di cono, con la base più ampia rispetto all'apice.

Per una spiegazione più accurata dell'espansione della neocorteccia, comunque, è bene considerare un altro aspetto importante, ovvero la presenza di sub-unità radiali a livello di ogni unità radiale vera e propria. Queste sono originate a partire da una cellula basale della glia "fondatrice" il cui processo basale agirebbe da guida nella migrazione dei neuroni, e grazie alle sue capacità proliferative porterebbe all'aumento della produzione finale di neuroni sulla superficie piaie senza un parallelo aumento della superficie ventricolare.

Questa ipotesi è stata sostenuta da numerose indagini nel furetto e uomo, evidenziando come l'impalcatura dei processi basali delle cellule della glia apicali e basali si organizzino a "ventaglio", espandendosi nella direzione laterale. In particolare, questa struttura è più ampia a livello di zone in cui si formeranno gyri, piuttosto che sulci.

In accordo con questa ipotesi, ulteriori studi hanno fornito prove su come la proliferazione delle cellule basali radiali della glia provochi il ripiegamento della superficie corticale.

La prima evidenza è fornita dalle osservazioni della neocorteccia di topo in via di sviluppo, che è lissencefalica e normalmente scarsa di questo tipo cellulare. Inducendo però una maggiore produzione di cellule radiali basali della glia, si osserva il ripiegamento della superficie corticale e quindi una "gyrificazione" della corteccia cerebrale (come mostrato in figura).

In secondo luogo, nella neocorteccia girencefalica del furetto in via di sviluppo, che contiene una popolazione di cellule basali della glia molto più grande, subisce un ulteriore aumento

della proliferazione dei progenitori neurali se indotta da sovraespressione di Cdk4/ciclina D1, portando ad ulteriore aumento della gyrificazione.

Alla luce di queste osservazioni possiamo affermare come quest'ultima ipotesi sia la più completa e attendibile.

Non si escludono ulteriori ricerche di approfondimento. L'attuale comprensione dello sviluppo del cervello si basa su una serie di sistemi modello.

Un'ulteriore analisi comparativa dei meccanismi cellulari e molecolari che regolano la produzione di progenitori neurali, la migrazione cellulare e l'assemblaggio dei circuiti può fornire indizi sul funzionamento dell'evoluzione neocorticale.

Bibliografia.

1. Marta Florio and Wieland B. Huttner (2014) Neural progenitors, neurogenesis and the evolution of the neocortex. *The company of Biologist*. 2182-2194.
2. Yoko Arai and Elena Taverna (2017) Neural Progenitor Cell Polarity and Cortical Development. *Frontiers in Cellular Neuroscience*.
3. Borrell, V. and Reillo, I. (2012). Emerging roles of neural stem cells in cerebral cortex development and evolution. *Dev. Neurobiol.* 72, 955-971.
4. DeFelipe, J., Alonso-Nanclares, L. and Arellano, J. I. (2002). Microstructure of the neocortex: comparative aspects. *J. Neurocytol.* 31, 299-316.
5. Dehay, C. and Kennedy, H. (2007). Cell-cycle control and cortical development. *Nat. Rev. Neurosci.* 8, 438-450.
6. Lewitus, E., Kelava, I. and Huttner, W. B. (2013). Conical expansion of the outer subventricular zone and the role of neocortical folding in evolution and development. *Front. Hum. Neurosci.* 7, 424.
7. Marthiens, V. and ffrench-Constant, C. (2009). Adherens junction domains are split by asymmetric division of embryonic neural stem cells. *EMBO Rep.* 10, 515-520.
8. Nonaka-Kinoshita, M., Reillo, I., Artegiani, B., Martínez-Martínez, M. A., Nelson, M., Borrell, V. and Calegari, F. (2013). Regulation of cerebral cortex size and folding by expansion of basal progenitors. *EMBO J.* 32, 1817-1828.
9. Pilaz, L. J., Patti, D., Marcy, G., Ollier, E., Pfister, S., Douglas, R. J., Betizeau, M., Gautier, E., Cortay, V., Doerflinger, N. et al. (2009). Forced G1-phase reduction alters mode of division, neuron number, and laminar phenotype in the cerebral cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 21924-21929.

- 10.** Tao Sun & Robert F Hevner. (2014) Growth and folding of the mammalian cerebral cortex: from molecules to malformations. Nature reviews, neuroscience.
- 11.** Progress in Brain Research (2012) Zoltán Molnár, Gavin Clowry. Chapter 3. 47-70.