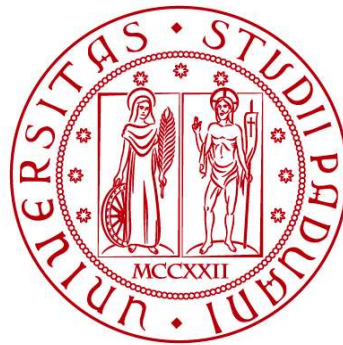


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA**

**Corso di Laurea in Biologia**



**ELABORATO DI LAUREA**

**Degradazione della sostanza bianca e ruolo  
della microglia nella maturazione degli  
oligodendrociti nella malattia di Alzheimer**

Tutor: Prof.ssa **MORENA ZUSSO**

Dipartimento di Scienze del Farmaco

Laureando: **ETTORE POZZOBON**

**ANNO ACCADEMICO 2023/2024**

## Indice

ABSTRACT.....	2
1. INTRODUZIONE.....	3
1.1 Sintomi della malattia di Alzheimer.....	3
1.2 Sviluppo della malattia di Alzheimer.....	4
1.2.1 Fase iniziale o reattiva.....	4
1.2.2 Fase moderata o neuropsicologica.....	5
1.2.3 Fase moderata-severa o neurologica.....	5
1.2.4 Fase severa o internistica.....	5
1.3 Diagnostica.....	5
2. PLACCHE BETA-AMILOIDI E PROTEINA TAU.....	7
3. LA MIELINA.....	9
4. COINVOLGIMENTO DELLA SOSTANZA BIANCA E DIFETTI DI MIELINIZZAZIONE NELLA MALATTIA DI ALZHEIMER.....	11
5. GLI OLIGODENDROCITI.....	15
5.1 Le OPCs.....	15
5.2 Conseguenze dello stress negli oligodendrociti.....	16
6. LE CELLULE MICROGLIALI.....	18
6.1 Ruolo della microglia nello sviluppo della mielina.....	18
6.2 Ruolo della microglia nella demielinizzazione.....	19
7. I FENOTIPI MICROGLIALI E LO SVILUPPO DEGLI OLIGODENDROCITI.....	21
7.1 Il fenotipo microgliale M2 nel differenziamento degli oligodendrociti.... .....	21
7.2 La microglia nella rimielinizzazione.....	22
8. IMPLICAZIONI DI QUESTI STUDI IN AMBITO TERAPEUTICO.....	23
9. LIMITI SPERIMENTALI.....	24
10. BIBLIOGRAFIA.....	25

## ABSTRACT

La malattia di Alzheimer rappresenta il 60-70% dei casi totali di demenza e la sua cura rappresenta una sfida crescente nel panorama sanitario degli ultimi anni. Gli studi qui riportati hanno come obiettivo principale l'elucidazione dei meccanismi alla base di questa patologia, concentrandosi, in modo particolare, sul coinvolgimento della sostanza bianca e sullo sviluppo degli oligodendrociti, le cellule deputate alla formazione della mielina. Lo sviluppo del *white matter tract integrity* (WMTI) ha permesso di evidenziare l'esistenza di una relazione inversa tra la progressione della neurodegenerazione e la produzione di mielina nel sistema nervoso centrale (SNC) nei pazienti affetti dal Alzheimer. L'utilizzo di questa tecnica può essere importante in ambito sperimentale perché permette di osservare con precisione lo stato della sostanza bianca e, conseguentemente, l'effetto di trattamenti farmacologici e/o l'influenza delle cellule microgliali, in particolare del loro fenotipo antinfiammatorio M2, nel differenziamento degli oligodendrociti a partire dalle loro cellule progenitrici, portando ad una conseguente rimielinizzazione degli assoni. L'approfondimento di questo studio ed una sua correlazione con il WMTI potrebbero portare allo sviluppo di nuove strategie terapeutiche in grado di contrastare l'avanzamento della neurodegenerazione nella malattia di Alzheimer.

## 1. INTRODUZIONE

Le demenze sono un insieme di malattie accomunate da sintomi simili, principalmente riferiti all'ambito cognitivo, come la perdita di memoria e il cambiamento comportamentale, ma che in alcuni casi possono estendersi alla disfunzione motoria. Gli effetti della demenza sono estremamente debilitanti nei confronti di chi ne è affetto, andando a precludere il normale svolgimento delle semplici attività quotidiane, ma affliggono anche la famiglia del soggetto interessato, necessitando quest'ultimo di assistenza costante *in primis* dai familiari e poi, col progredire e l'aggravarsi dei sintomi, da strutture sanitarie specializzate. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha stimato che le persone affette da demenza nel mondo, nel 2015, fossero 47 milioni, con una crescita prevista non lineare che porterà ad un aumento di quasi il 300%, per un totale di 132 milioni, entro il 2050. Quello stesso anno la spesa sanitaria legata all'assistenza dei pazienti è stata di 818 miliardi di dollari americani, pari all'1,1% del PIL globale. Lo studio approfondito della fisiopatologia di queste patologie si rende quindi necessario alla luce dell'effetto che queste hanno sulla vita delle persone e del costante aumento di casi di demenza.

La malattia di Alzheimer è una proteopatia e una patologia neurodegenerativa che rientra nel gruppo delle demenze e, rappresentando tra il 60% e il 70% dei casi totali di demenza, ne è la forma più comune. La malattia presenta due forme: una forma familiare ed una forma comune. La forma comune sorge successivamente ai 65 anni, mentre la forma familiare ha insorgenza anticipata e presenta mutazioni autosomiche dominanti che determinano l'incremento della produzione della proteina  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), il cui accumulo porta alla formazione delle placche di  $A\beta$ , e l'iperfosforilazione della proteina tau che crea grovigli neurofibrillari. [OMS, 2017]

### 1.1 Sintomi della malattia di Alzheimer

L'andamento della malattia porta alla morte cellulare dei neuroni e ad una conseguente atrofia cerebrale, marcatamente nelle regioni temporali mediali e parietali, nella corteccia cingolata anteriore e nel lobo frontale, aree che sono fondamentali nell'ambito mnestico dell'individuo.

Proprio in virtù di ciò, il sintomo che più è legato alla malattia di Alzheimer è la perdita di memoria. Nelle fasi iniziali del disturbo vengono intaccate la memoria episodica anterograda, cioè la capacità di ricordare le nuove esperienze che si fanno o gli eventi successi da poco tempo, e la memoria prospettica che è quella che permette di ricordare cosa fare nel prossimo futuro. Con l'avanzare della neurodegenerazione, l'atrofia giunge fino ad aree cerebrali più profonde creando poi deficit di memoria episodica retrograda, impedendo al soggetto di ricordare eventi avvenuti molto tempo prima dell'insorgere della malattia, e di memoria di lavoro, che si occupa di ricordare e manipolare alcune informazioni in modo da utilizzarle per lo svolgimento delle attività cognitive, come possono essere la pianificazione o la comprensione di istruzioni. Un'ulteriore progressione della malattia può comportare dei deficit di memoria semantica, deputata all'immagazzinamento di tutto ciò che l'individuo sa del mondo che lo circonda, il che va da semplici associazioni di significati fino a conoscenze di cultura generale. Nelle fasi iniziali della malattia si riscontrano inoltre lievi deficit di linguaggio che provocano anomia, l'incapacità di collegare un oggetto o una persona al suo nome, con il soggetto che compensa questo effetto tramite circonlocuzioni. Con il progredire della degenerazione il linguaggio vede una compromissione più marcata, con l'individuo che dimostra difficoltà a concludere frasi o discorsi, dimenticandosi cosa stesse dicendo prima.

## 1.2 Sviluppo della malattia di Alzheimer

Lo sviluppo della malattia è progressivo e si può suddividere in quattro fasi: fase iniziale o reattiva, fase moderata o neuropsicologica, fase moderata-severa o neurologica e fase severa o internistica.

### 1.2.1 Fase iniziale o reattiva

In questa fase si ha la comparsa dei primi sintomi come la perdita di memoria o di orientamento spaziale e/o temporale. Il soggetto è consapevole di aver sviluppato questi deficit e di non riuscire a compiere attività complesse come, per esempio, viaggiare. Si possono osservare inoltre reazioni ansiogene e/o depressive, negazione dei disturbi e tentativo di nasconderli compensandoli o evitando di dover

svolgere certi compiti complessi. Nonostante ciò, in questo periodo, il soggetto è ancora per lo più auto-sufficiente e non necessita di particolari cure.

#### 1.2.2 Fase moderata o neuropsicologica

Durante la seconda fase della malattia si osserva una più importante compromissione delle funzioni cognitive con un rapido aggravamento. La perdita di memoria arriva ad intaccare ricordi importanti del soggetto, con comparsa di deficit maggiori per quanto riguarda l'orientamento sia spaziale che temporale. Il soggetto non è più in grado di condurre una vita autosufficiente e richiede assistenza, ma è capace di provvedere alle basilari attività quotidiane.

#### 1.2.3 Fase moderata-severa o neurologica

Nella fase neurologica si ha una compromissione incisiva delle funzioni cognitive a causa dello stato avanzato di neurodegenerazione che è arrivato ad intaccare gran parte delle regioni mnestiche. L'individuo non ricorda informazioni fondamentali della sua vita e non ha consapevolezza degli eventi recenti che ha vissuto. Sorgono i sintomi psico-comportamentali della demenza, tra cui delirio e allucinazioni, rendendo pertanto necessaria una costante assistenza.

#### 1.2.4 Fase severa o internistica

Al giungere della fase internistica le funzioni cognitive sono ormai quasi completamente perdute e vengono compromesse anche le funzioni vegetative. Oltre ai fenomeni di incontinenza, si verifica il peggioramento delle funzioni motorie giungendo fino all'incapacità di deambulare e a problemi di deglutizione. Il soggetto è in una fase in cui è costretto a letto ed è necessario il ricovero in una struttura sanitaria specializzata.

### 1.3 Diagnostica

Al fine di verificare lo stato del tessuto cerebrale di un individuo che presenta una sintomatologia riconducibile alla malattia di Alzheimer vengono utilizzate tecniche di neuroimmagine come la risonanza magnetica (MRI), che permette di osservare le alterazioni della mielina e le lesioni a livello della sostanza bianca cerebrale.

Un'altra tecnica di neuroimmagine che aiuta la diagnosi della malattia è la Tomografia a Emissione di Positroni (PET), che rende possibile l'individuazione delle placche di A $\beta$  e quindi la stima del loro livello nel cervello, grazie all'immissione di molecole radioattive che vanno a legare, e quindi marcare, il bersaglio.

L'utilizzo periodico di queste tecniche su un paziente permette di osservare l'andamento progressivo della neurodegenerazione, ma non forniscono la certezza assoluta nella diagnosi della malattia, cosa resa possibile al momento solo dall'analisi istologica *post-mortem*. Nonostante, quindi, l'elevata accuratezza a cui si può arrivare tramite l'uso di PET e MRI, a causa dell'ambiguità dei sintomi che possono essere ricollegabili ad altre malattie e dell'impossibilità di identificare la malattia di Alzheimer come causa unica, si rende necessaria l'introduzione di nuove tecniche di *screening* o la focalizzazione su diversi fattori che possano rendere univoca la diagnosi *in vivo*. [De-Paula V. J. et al., 2012; Porsteinsson A. P. et al. 2021; Ambrosini E., Appunti delle lezioni del corso di Neuropsicologia, AA 2023/2024]

## 2. PLACCHE BETA-AMILOIDI E PROTEINA TAU

Nella patogenesi della malattia di Alzheimer sono fondamentali la produzione e il conseguente accumulo del peptide A $\beta$ , che porta alla formazione di aggregati peptidici tossici che formano le placche senili, e della proteina tau iperfosforilata, che porta invece alla formazione di grovigli neurofibrillari. L'accumulo di queste proteine contribuisce ad uno stato di infiammazione cronica e di stress ossidativo nel tessuto cerebrale, con importanti conseguenze negative anche a livello della mielina, contribuendo alla successiva perdita sinaptica e morte neuronale.

L'aumento di proteina A $\beta$  nel tessuto cerebrale è dovuto all'alterazione della cascata amiloide. Nei casi di Alzheimer familiare l'evento è dovuto a mutazioni di geni come *Amyloid Precursor Protein (APP)*, *Presenilin 1* e *Presenilin 2*, mentre è stato individuato un incremento di concentrazione del peptide A $\beta$  nel cervello di soggetti geneticamente sani successivamente ad un trauma cranico o ad un'ischemia cerebrale. Ulteriori evidenze suggeriscono come altri fattori possono portare allo sviluppo della forma sporadica di Alzheimer, come l'insufficienza cardiaca che causa ipossia o disordini intestinali che portano al trasferimento di composti tossici prima nel circolo sanguigno e successivamente nel cervello a causa di deficit patologici nella barriera ematoencefalica. Questa diversità di origine dello stesso fenomeno, cioè l'accumulo di proteina A $\beta$ , fa presupporre che l'Alzheimer possa avere vari percorsi clinici, e che sia quindi importante allargare la valutazione della patologia nel paziente anche ad eventi esterni, per poter poi mettere in atto una terapia efficace.

A differenza dell'Alzheimer familiare, dove la produzione di peptidi tossici ha causa genetica, nell'Alzheimer sporadico non è ancora chiaro se l'accumulo di questi sia la causa o la conseguenza di altri fattori che inducono la neurodegenerazione. Nel corso della vita il genoma dei neuroni può subire danni da stress ossidativo che obbligano a dover riparare il DNA, comportando possibili mutazioni nel processo. L'accumulo di mutazioni nel genoma neuronale porta a diverse proteopatie a causa di errata trascrizione, traduzione o post-traduzione. Una delle proteopatie generabili va ad interferire nella proteolisi dell'APP dando origine a peptidi tossici, i peptidi di A $\beta$ , che interferiscono nelle funzioni neuronali e portano a perdita sinaptica.



Nonostante il ruolo fondamentale che queste proteine svolgono nell'ambito della malattia, è oggetto di dibattito se esse siano o meno all'origine eziologica dell'Alzheimer, sia perché è stato evidenziato che componenti come la mielina e gli oligodendrociti sembrano essere bersagli più primitivi nello sviluppo della patologia rispetto all'accumulo delle placche di A $\beta$  e degli ammassi neurofibrillari, sia, soprattutto, perché la rimozione o la riduzione di questi aggregati in soggetti affetti da Alzheimer non porta a significativi effetti positivi a livello sintomatologico. È stato infatti visto come, in un tessuto cerebrale affetto da Alzheimer, la perdita patologica di oligodendrociti, cellule responsabili della mielinizzazione, non fosse correlata alla concentrazione di placche di A $\beta$ . Prendendo in considerazione la malattia di Alzheimer e il disturbo cognitivo lieve (*mild cognitive impairment*, MCI), diversi studi hanno esaminato i tessuti tramite MRI. Questi studi hanno permesso di osservare, nei primi stadi della malattia, l'attivazione delle cellule della microglia e una riduzione nei livelli di mielina e oligodendrociti, con successiva perdita di assoni. Il danno agli oligodendrociti avviene a causa di fenomeni come stress ossidativo ed eccitotossicità causati da mitocondriopatie o da recettori glutammatergici iper-attivati, fattori che precedono l'accumulo delle placche amiloidi. Nelle fasi successive è stato notato come la tossicità causata dai depositi di A $\beta$ , unita ad eventi traumatici come un'ischemia, porti ad alterazioni della struttura mielinica e ad ostacolare la proliferazione e l'attività mielinizzante degli oligodendrociti, facendo pensare al peptide A $\beta$  come ad un fattore dannoso nelle fasi avanzate della malattia. È plausibile che lo stress ossidativo causato da mitocondriopatie intervenga nelle fasi iniziali sia sugli oligodendrociti alterando il loro funzionamento, sia sui neuroni, danneggiando il loro genoma e portando secondariamente a proteopatie come l'accumulo di peptide A $\beta$ . [Maitre M. et al., 2023]

### 3. LA MIELINA

La mielina è una risposta evolutiva alla necessità di propagare il segnale elettrico su grandi distanze nei corpi degli animali. È prodotta da cellule gliali mielinizzanti: gli oligodendrociti nel SNC e le cellule di Schwann nel sistema nervoso periferico. Gli oligodendrociti derivano dai precursori degli oligodendrociti (*oligodendrocyte precursor cells*, OPCs), cellule che differenziandosi in uno stato premielinizzante avvolgono l'assone. Il successivo differenziamento in oligodendrociti porta alla produzione della mielina, che, disponendosi attorno agli assoni, forma dei fasci che svolgono un ruolo isolante, impedendo il passaggio degli ioni attraverso la membrana assonale.

I componenti principali della mielina sono lipidi, che rappresentano il 70% del peso secco, e proteine, che ne rappresentano il 30%. Il colesterolo è il componente più presente e, assieme alla proteina *Myelin basic protein* (MBP), è fondamentale per la mielinizzazione. Studi effettuati su animali aventi una delezione per il gene MBP hanno dimostrato la sua importanza per la corretta formazione della mielina grazie all'interazione tra la carica positiva della proteina e la carica negativa della superficie cellulare. Agendo da collante, MBP avvicina gli strati di mielina rendendola compatta.

I fasci di mielina presenti su uno stesso assone sono interrotti dai nodi di Ranvier, regioni assoniche non mielinizzate che permettono l'entrata di ioni nel prolungamento cellulare grazie alla presenza di canali del sodio voltaggio dipendenti, implicando un rallentamento nella conduzione del segnale. Quando nel neurone si genera un potenziale d'azione, questo viene trasmesso all'interno dell'assone, con la fuga trasversale di corrente che decade molto lentamente venendo minimizzata dall'isolamento dato dalla mielina. È una conduzione detta *saltatoria* poiché il segnale elettrico passa da un nodo di Ranvier all'altro con una minima perdita di corrente che avviene in corrispondenza dei nodi. A causa del fatto che nelle regioni dell'assone rivestite da mielina non siano presenti canali del sodio voltaggio dipendenti, nel momento in cui viene perso il rivestimento mielinico si verifica una rapida dispersione di corrente, con la fibra impossibilitata a rigenerare potenziali d'azione, portando alla perdita di comunicazione con quel neurone. I

deficit nella conduzione saltatoria e le conseguenti perdite di comunicazione neuronale sono fenomeni alla base della sintomatologia della sclerosi multipla.

I rivestimenti mielinici portano anche a vantaggi metabolici a livello ionico. Infatti, i flussi ionici del sodio e del potassio che agiscono a livello dell'assone alterano gli ambienti intracellulari ed extracellulari, e per ristabilire la condizione di riposo è necessaria l'attività della pompa sodio-potassio. In caso di degradazione della mielina lungo tutto l'assone, l'alterazione ionica risulta maggiore, in quanto interessa una superficie più ampia rispetto a quella dei nodi di Ranvier, con un conseguente dispendio maggiore di ATP da parte della pompa sodio-potassio per poter ripristinare la condizione di riposo.

Grazie alla sua composizione lipidica, la mielina è anche necessaria per la protezione degli assoni dall'ambiente extra-cellulare. La degradazione mielinica e la conseguente esposizione assonale all'ambiente extra-cellulare porta alla perdita di funzione del neurone e a morte neuronale. Nell'ambito della malattia di Alzheimer questo fenomeno diventa patologico e porta ad una neurodegenerazione progressiva. Studi condotti su modelli animali hanno evidenziato come la degradazione della mielina e la perdita di oligodendrociti siano eventi precoci nella malattia di Alzheimer, causati da meccanismi molecolari come lo stress ossidativo, la neuroinfiammazione e l'eccitotossicità, suggerendo come la produzione di placche A $\beta$  avvenga secondariamente con un ruolo sinergico nella tossicità dell'ambiente cerebrale. [Fitzner D. et al., 2006; Butt A.M. et al., 2019; Stadelmann C. et al., 2019; Kalafatakil I. e Karagogeos D., 2021; Bisaglia M., Appunti delle lezioni del corso di Fisiologia generale, AA 2023/2024]

#### 4. COINVOLGIMENTO DELLA SOSTANZA BIANCA E DIFETTI DI MIELINIZZAZIONE NELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

Analisi istologiche *post-mortem* compiute su tessuto cerebrale di individui affetti da Alzheimer hanno fatto osservare come le regioni del cervello che maturano più tardi, e che quindi vengono mielinizzate per ultime, siano quelle più a rischio nelle patologie neurodegenerative e quelle che vengono colpite per prime. A sostegno di questa considerazione è stato utilizzato l'*imaging* con tensore di diffusione (DTI), che misura l'integrità microstrutturale della sostanza bianca. Questa tecnica ha permesso di osservare la disposizione dell'acqua in scala micrometrica. Nella DTI viene utilizzata la *fractional anisotropy* (FA) per misurare la variabilità della diffusione dell'acqua in una determinata direzione all'interno dell'assone neuronale. In neuroni sani, quindi avvolti da mielina, la diffusione dell'acqua avviene lungo l'asse dell'assone ed è caratterizzata da alti valori di FA che indicano una buona coerenza direzionale.

Coerentemente con ciò che è stato rilevato negli studi *post-mortem*, in pazienti malati di Alzheimer, i valori di FA sono inferiori nelle regioni mielinizzate più tardi, come possono essere il fascicolo longitudinale superiore e quello inferiore, rispetto a quelle mielinizzate precedentemente, come per esempio il ramo posteriore della capsula interna e il peduncolo cerebrale. Nonostante ciò, nella malattia di Alzheimer ci sono diversi fattori che possono influenzare un cambiamento nella FA, come per esempio la gliosi, la perdita di mielina o il diametro assonico. Questo causa ambiguità nella valutazione di un certo valore di FA, non potendo affermare quindi con certezza che sia dovuto alla degradazione mielinica. Inoltre, la DTI fa uso del sistema gaussiano per stabilire la probabilità di spostamento delle molecole d'acqua, un metodo poco efficace se applicato a regioni del sistema nervoso dove le fibre possono intrecciarsi o risultare danneggiate. Al fine di ovviare a questa complicazione è stata implementata la *diffusion kurtosis imaging* (DKI), che tiene in considerazione la possibile diffusione non gaussiana dell'acqua. Data la maggiore accuratezza, tramite la DKI si può migliorare l'identificazione di lievi cambiamenti microstrutturali in malattie come l'Alzheimer.

Un recente modello, il WMTI (*white matter tract integrity*), mette in relazione la DKI con le regioni della sostanza bianca dividendo la diffusione dell'acqua in due compartimenti: uno intra-assonale e uno extra-assonale, con le caratteristiche di diffusione delle due partizioni calcolabili singolarmente. All'interno di questo modello sono inclusi diversi indici di misurazione: l'*axonal water fraction* (AWF), che rappresenta la frazione dell'acqua visibile attraverso la risonanza magnetica a diffusione nello spazio intra-assonale rispetto al volume totale di acqua all'interno della materia osservata, la diffusività assonale intrinseca  $D_{\text{axon}}$  che misura la diffusività dell'acqua all'interno dell'assone, la diffusività radiale extra-assonale  $D_{e,\perp}$  e la diffusività assiale extra-assonale  $D_{e,\parallel}$ . La AWF dipende dalla demielinizzazione e dalla perdita assonica come la  $D_{e,\perp}$ , questo perché la mielina svolge un ruolo di impedimento nei confronti della diffusione radiale dell'acqua e quando essa risulta danneggiata o persa quel tipo di diffusione non è più ostacolato. Al contrario  $D_{\text{axon}}$  e  $D_{e,\parallel}$  sono sensibili ai cambiamenti riguardo lo spazio intra-assonale. Nell'ambito della malattia di Alzheimer, l'uso del modello WMTI ha permesso di osservare i cambiamenti progressivi della materia bianca con un'efficiente accuratezza. L'avanzamento della neurodegenerazione viene correlato ad un aumento nel valore della diffusività radiale extra-assonale  $D_{e,\perp}$ , causato da un'elevata degradazione della mielina, e dalla diminuzione in quello della AWF, causato da una perdita nel numero degli assoni. L'aumento del valore della diffusività radiale extra-assonale si osserva, nelle prime fasi della patologia, nei tratti a mielinizzazione tardiva, suggerendo che siano quelli più a rischio, mentre la diminuzione della AWF, nelle fasi avanzate dell'Alzheimer, avviene sia nei tratti a mielinizzazione precoce (*early myelinating tracts*, EMT) che a mielinizzazione tardiva (*late myelinating tracts*, LMT).

Al fine di testare la capacità del modello di descrivere in modo accurato il processo neurodegenerativo, 41 soggetti sono stati sottoposti ad un esperimento. Di questi, 15 appartenevano al gruppo di controllo e non mostravano segni di demenza o di disturbo cognitivo, 12 erano soggetti affetti da MCI e 14 erano pazienti dell'Alzheimer's Disease Center dell'Università di New York a cui era stata diagnosticata la malattia di Alzheimer. Attraverso l'applicazione del modello WMTI sono stati analizzati in tutti i soggetti la AWF, la diffusività assonale

intrinseca  $D_{axon}$ , la diffusività assiale extra-assonale  $D_{e,\parallel}$  e la diffusività radiale extra-  
assonale  $D_{e,\perp}$ . I risultati di queste misurazioni sono riportati nella Tabella 1.

Tabella 1. Diffusività e frazione dell'acqua in EMT e LMT (Benitez A. et al., 2013)

ANOVA post-hoc results for normal control (NC), amnesic MCI (aMCI) and Alzheimer's disease (AD) subjects, controlling for age, for each regional WMTI metric (n = 41).

Metric	Region of interest	NC (n = 15)	aMCI (n = 12)	AD (n = 14)	NC v. aMCI	aMCI v. AD	NC v. AD
		Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	p-Value	p-Value	p-Value
AWF	Early-myelinating	0.42 $\pm$ 0.02	0.42 $\pm$ 0.01	0.41 $\pm$ 0.03	0.77	0.20	0.65
	ICp	0.42 $\pm$ 0.02	0.42 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.03	0.95	0.58	0.86
	CP	0.42 $\pm$ 0.02	0.43 $\pm$ 0.01	0.41 $\pm$ 0.04	0.64	0.10	0.56
	Late-myelinating**	0.38 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.04	1.00	0.02	0.02
	SLF**	0.40 $\pm$ 0.03	0.40 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.05	0.99	0.01	0.01
$D_{axon}$ [ $\mu m^2/ms$ ]	ILF*	0.35 $\pm$ 0.03	0.34 $\pm$ 0.03	0.32 $\pm$ 0.04	1.00	0.08	0.05
	Early-myelinating	0.84 $\pm$ 0.05	0.86 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.08	0.72	1.00	0.58
	ICp	0.82 $\pm$ 0.07	0.84 $\pm$ 0.07	0.86 $\pm$ 0.09	0.90	0.81	0.37
	CP	0.87 $\pm$ 0.06	0.89 $\pm$ 0.03	0.87 $\pm$ 0.09	0.58	0.80	0.98
	Late-myelinating	0.88 $\pm$ 0.07	0.87 $\pm$ 0.05	0.83 $\pm$ 0.05	0.95	0.23	0.06
$D_{e,\parallel}$ [ $\mu m^2/ms$ ]	SLF**	0.89 $\pm$ 0.08	0.87 $\pm$ 0.08	0.79 $\pm$ 0.09	0.97	0.04	<0.01
	ILF	0.88 $\pm$ 0.08	0.86 $\pm$ 0.04	0.87 $\pm$ 0.05	0.97	0.98	1.00
	Early-myelinating**	2.16 $\pm$ 0.15	2.27 $\pm$ 0.08	2.29 $\pm$ 0.09	0.05	0.94	0.01
	ICp*	2.01 $\pm$ 0.14	2.11 $\pm$ 0.07	2.13 $\pm$ 0.09	0.09	0.96	0.02
	CP*	2.30 $\pm$ 0.17	2.43 $\pm$ 0.09	2.45 $\pm$ 0.11	0.07	0.94	0.02
$D_{e,\perp}$ [ $\mu m^2/ms$ ]	Late-myelinating**	2.17 $\pm$ 0.10	2.22 $\pm$ 0.06	2.29 $\pm$ 0.11	0.51	0.11	<0.01
	SLF	2.02 $\pm$ 0.08	2.05 $\pm$ 0.06	2.05 $\pm$ 0.09	0.84	0.98	0.59
	ILF**	2.31 $\pm$ 0.16	2.39 $\pm$ 0.12	2.53 $\pm$ 0.15	0.54	0.04	<0.01
	Early-myelinating*	0.93 $\pm$ 0.09	0.99 $\pm$ 0.09	1.04 $\pm$ 0.13	0.41	0.37	0.01
	ICp	0.83 $\pm$ 0.08	0.88 $\pm$ 0.09	0.91 $\pm$ 0.13	0.61	0.64	0.08
$D_{e,\perp}$ [ $\mu m^2/ms$ ]	CP**	1.02 $\pm$ 0.11	1.10 $\pm$ 0.10	1.16 $\pm$ 0.16	0.39	0.29	<0.01
	Late-myelinating**	1.10 $\pm$ 0.08	1.16 $\pm$ 0.07	1.29 $\pm$ 0.19	0.64	0.01	<0.01
	SLF**	1.06 $\pm$ 0.07	1.09 $\pm$ 0.04	1.18 $\pm$ 0.17	0.92	0.02	<0.01
	ILF**	1.15 $\pm$ 0.10	1.24 $\pm$ 0.13	1.40 $\pm$ 0.23	0.54	0.03	<0.01

Note: Asterisks indicate significant omnibus ANCOVA results for each regional metric, where \*p < 0.05, \*\*p < 0.01. WMTI = white matter tract integrity, AWF = axonal water fraction,  $D_{axon}$  = intra-axonal diffusivity, extra-axonal axial ( $D_{e,\parallel}$ ) and radial ( $D_{e,\perp}$ ) diffusivities.

È interessante notare come riguardo agli EMT la AWF rimanga costante per tutti i tre gruppi osservati, mentre nei LMT è evidente una significativa diminuzione rispetto al gruppo di controllo, sia per quanto concerne il gruppo affetto da MCI sia, in modo più marcato, quello affetto da Alzheimer.

Un altro fattore che è importante analizzare è la  $D_{e,\perp}$ , che ha mostrato un incremento progressivo dal gruppo di controllo al gruppo affetto da Alzheimer, ma soprattutto ha fatto rilevare un valore estremamente più alto, in ogni gruppo, nei LMT rispetto agli EMT, dando sostegno all'ipotesi secondo cui questi ultimi sarebbero più soggetti alla degradazione della mielina.

I risultati mostrano quindi come nei LMT i valori della AWF calino e quelli della  $D_{e,\perp}$  crescano, con gli EMT che presentano una buona integrità fino all'aggravamento della neurodegenerazione. La sensibilità dei LMT è coerente con l'ontogenesi della sostanza bianca: i tratti sviluppati più tardi nello sviluppo hanno guaine mieliniche meno dense e stabili, quindi più soggette a degradazione, e perciò una struttura meno completa che causa una quantità inferiore di acqua all'interno dell'assone e, di conseguenza, valori più bassi di AWF. A causa di queste caratteristiche citologiche, il meccanismo di neurodegenerazione progressiva della malattia di Alzheimer può quindi essere definito come una retrogenesi

neuropatologica, andando a degradare per prime le fibre più recenti, per poi proseguire con quelle formatesi precocemente e quindi più protette, facendo regredire lo sviluppo neurale.

Studi come quello appena descritto sono fondamentali per evidenziare nuovi campi sui quali focalizzarsi per poter prevenire o intervenire sul decorso dei disturbi neurodegenerativi. L'uso del WMTI può permettere di studiare e chiarire le proprietà e il ruolo della sostanza bianca nel corso della malattia di Alzheimer, fornendo dettagli più specifici rispetto ad altri approcci. [Benitez A. et al., 2013]

## 5. GLI OLIGODENDROCITI

Gli oligodendrociti sono le cellule responsabili della formazione della mielina nel SNC. Si sviluppano a partire dalle OPCs, generate nella zona germinativa ventricolare del tubo neurale dell'embrione. Le OPCs migrano dal tubo neurale per andare a sviluppare la sostanza bianca e la sostanza grigia prima di differenziarsi in oligodendrociti, rimanendo presenti nel SNC anche nella vita adulta per continuare a generare nuovi oligodendrociti, che hanno il ruolo di sostituire la mielina degradata, a causa dell'invecchiamento o per la presenza di patologie, con fasci mielinici neosintetizzati. Il corretto e funzionale sviluppo degli oligodendrociti dipende dalla loro interazione con i neuroni presenti nel tessuto cerebrale. Studi condotti in co-culture di oligodendrociti e neuroni hanno mostrato che gli oligodendrociti generano prolungamenti in continuità con la superficie neuronale, mentre, quando sono in monocultura, gli oligodendrociti mostrano uno sviluppo esteso ed impreciso della propria superficie cellulare. [Fitzner D. et al., 2006]

### 5.1 Le OPCs

Le OPCs derivano dalla divisione delle cellule gliali radiali, cellule staminali della zona germinativa ventricolare. Nel differenziamento da cellule gliali radiali ad OPCs è importante il segnale di *Sonic Hedgehog* (Shh) che, durante lo sviluppo, attiva la trascrizione di geni determinanti come *Olig2*, fondamentale per la genesi delle OPCs. L'assenza di *Olig2* in un embrione porta all'assenza di OPCs e alla morte embrionale.

La via di segnalazione di Notch lavora in sinergia con Shh per la specificazione delle OPCs. La comunicazione cellulare specifica della via Notch è importante per mantenere alcune tipologie di cellule nel loro stato, impedendo il differenziamento. Nel tubo neurale ventrale dello zebrafish la via Notch mantiene le cellule gliali radiali in uno stato staminale, assicurando una popolazione cellulare di cellule progenitrici che genereranno OPCs in futuro.

La proliferazione di OPCs può essere incrementata tramite l'utilizzo del fattore di crescita epidermico (EGF), andando di conseguenza a velocizzare la rimielinizzazione degli assoni. L'EGF agisce sulle cellule staminali della zona subventricolare dell'encefalo cambiando il loro destino, che le avrebbe portate ad



essere interneuroni del sistema olfattivo, e generando nuove OPCs. Recenti studi hanno chiarito che solo le cellule staminali della zona subventricolare sono sensibili all'EGF per differenziarsi in OPCs, ma il meccanismo per il quale il destino di una cellula indifferenziata può essere cambiato per generare OPCs è possibile che rappresenti una nuova area di ricerca contro la demielinizzazione di tipo patologico. Le OPCs proliferano in terreni contenenti il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF) e si differenziano in oligodendrociti in presenza dell'ormone tiroideo T3. OPCs isolate da tessuti più giovani vanno incontro ad un maggior numero di divisioni, suggerendo che esse abbiano un orologio cellulare che indica il momento in cui la fase di divisione deve concludersi per dare inizio alla fase di differenziamento. Una riduzione del livello di PDGF porterebbe all'arresto della divisione delle OPCs e al loro differenziamento in oligodendrociti. Per evitare ciò, in caso di bassi livelli di PDGF, avviene un rallentamento nel ritmo di differenziazione, così da evitare la perdita della riserva di OPCs. [Bergles D. E. e Richardson W. D., 2016]

## 5.2 Conseguenze dello stress negli oligodendrociti

Gli oligodendrociti sono estremamente sensibili alle specie reattive dell'ossigeno (ROS), che attivano la via della sfingomielinasi-ceramide provocando una cascata di segnali pro-apoptotici che porta alla perdita di oligodendrociti.

Anche disturbi metabolici come, per esempio, un livello sbilanciato di glucocorticoidi sono causa di diminuzione nella proliferazione degli oligodendrociti e di una loro ridotta sopravvivenza.

La Figura 1 mostra le potenziali origini dello stress cellulare per gli oligodendrociti.

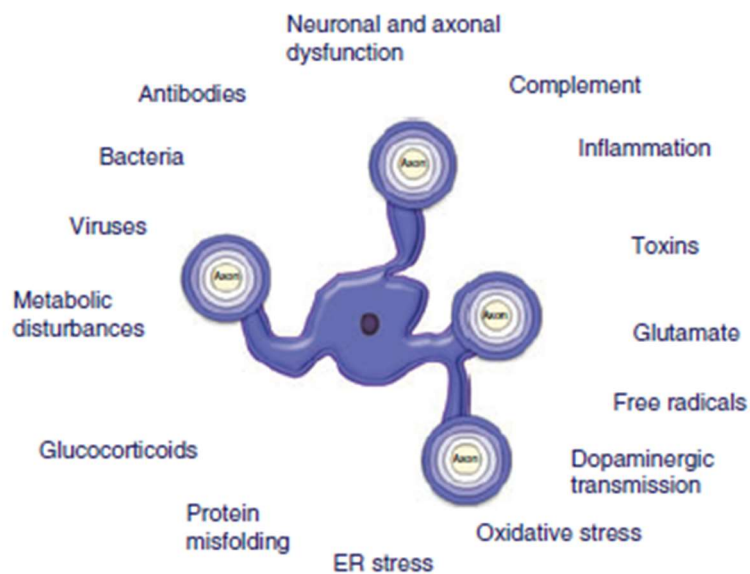


Figura 1: Cause dello stress cellulare negli oligodendrociti (Peferoen L. et al., 2013)

L'espressione di numerosi recettori di mediatori infiammatori sulla superficie degli oligodendrociti rende queste cellule estremamente vulnerabili allo stress indotto dalle citochine pro-infiammatorie rilasciate dalle cellule immunitarie in risposta alla presenza di alti livelli di lipopolisaccaride (LPS).

In risposta allo stress, gli oligodendrociti producono molecole chemio-attrattive come CXCL10, CCL2 e CCL3, che modulano l'attività della microglia e ne regolano il reclutamento verso i tessuti danneggiati, così che essa possa promuovere uno stato di infiammazione e la riparazione della regione compromessa. [Peferoen L. et al., 2013]

## 6. LE CELLULE MICROGLIALI

Le cellule microgliali sono cellule di tipo macrofagico presenti nel tessuto cerebrale, fondamentali per il *pruning* neuronale (meccanismo attraverso il quale vengono eliminate le sinapsi superflue, rafforzando i circuiti neuronali più efficienti) e mielinico (eliminazione sistematica dei fasci di mielina vecchi o degradati, così che possano essere rimpiazzati grazie all'attività degli oligodendrociti), oltre che per la risposta immunitaria del SNC.

Le cellule microgliali sono in grado di passare da uno stato pro-infiammatorio ad uno antinfiammatorio in modo da mantenere lo stato omeostatico presente nel cervello, e sono capaci di interagire con neuroni, astrociti e oligodendrociti per regolarne il funzionamento. Esperimenti recenti hanno permesso di identificare nove stati trascrizionali distinti che esprimono gruppi di geni differenti, dimostrando l'elevata eterogeneità delle cellule della microglia, dipendentemente dalla zona cerebrale in cui sono situate.

### 6.1 Ruolo della microglia nello sviluppo della mielina

Le cellule della microglia possono influenzare la mielinizzazione secernendo fattori trofici specifici per le OPCs. Inoltre, la microglia attivata nella zona subventricolare produce delle citochine, quali il fattore di necrosi tumorale (TNF- $\alpha$ ), interleuchina (IL)-1 $\beta$ , IL-6 e interferone, che favoriscono la maturazione delle OPCs e la formazione degli oligodendrociti. Se il livello di queste citochine subisce una diminuzione, l'oligodrogenesi viene rallentata e con essa il processo di mielinizzazione.

Studi effettuati in co-culture di microglia e oligodendrociti hanno rilevato come la microglia attivi i secondi portando alla sintesi di proteine mieliniche, come MBP e la Proteolipidic Protein (PLP), e di sulfatide, un galattolipide specifico della mielina. Altri studi in vitro hanno dimostrato come la microglia, attivata da determinati fattori trofici, riesca a ridurre la morte delle OPCs e promuoverne il differenziamento e la proliferazione. In particolare, IL-2 e IL-10 che attivano la microglia agiscono positivamente sulla sopravvivenza e sul differenziamento delle OPCs in oligodendrociti. [Miron V. E. et al., 2013]

Al fine di regolare la corretta mielinizzazione, la microglia agisce anche fagocitando le OPCs in eccesso. Studi recenti hanno evidenziato come topi privi del recettore per la fractalkina nella microglia mostravano una riduzione nel *pruning* delle OPCs, con un conseguente aumento di oligodendrociti. Ciò causava una riduzione nello spessore della mielina assonica a causa del disequilibrio nel rapporto tra oligodendrociti e assoni, suggerendo come la microglia elimini una parte delle OPCs come meccanismo omeostatico che porta ad una regolare mielinizzazione. Errori nella regolazione della popolazione di OPCs da parte della microglia potrebbero portare a ipo- o de-mielinizzazione. [Nemes-Baran A. D. et al., 2020]

## 6.2 Ruolo della microglia nella demielinizzazione

Nel momento in cui il SNC subisce una lesione, la microglia viene attivata ed indirizzata verso una morfologia ameboide. La microglia può assumere un fenotipo pro-infiammatorio, promuovendo citotossicità verso i neuroni e gli oligodendrociti secernendo IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-23, TNF- $\alpha$  e ossido nitrico (NO), o un fenotipo antinfiammatorio secernendo IL-4, IL-10, IL-13 e il *transforming growth factor-beta* (TGF- $\beta$ ) e producendo l'arginasi 1, promuovendo la neuroprotezione.

Durante la demielinizzazione la microglia fagocita i fasci di mielina vecchi o danneggiati e produce molecole pro-infiammatorie. Studi *post-mortem* condotti in pazienti affetti da sclerosi multipla, un disturbo da demielinizzazione, hanno reso possibile riscontrare un'elevata quantità di oligodendrociti immaturi nelle zone del cervello lesionate e caratterizzate da un'intensa risposta infiammatoria. È quindi plausibile che le molecole pro-infiammatorie prodotte dalla microglia durante la demielinizzazione possano stimolare il processo di rimielinizzazione andando ad agire sulla replicazione degli oligodendrociti. Quando, però, la risposta infiammatoria diventa cronica come nel caso della sclerosi multipla, la rimielinizzazione viene inibita portando a fenomeni neurodegenerativi.

Perché la fase di rimielinizzazione possa svolgersi correttamente, la microglia deve rimuovere la mielina danneggiata. Utilizzando il cuprizone, una sostanza demielinizzante, è stato visto che l'eliminazione della mielina da parte della microglia dipende dalla presenza del recettore TREM2 (*triggering receptor expressed on myeloid cells 2*). TREM2 è espresso sulla superficie delle cellule

microgliali e attiva una cascata di segnali che permette l'attivazione della microglia, la fagocitosi e il catabolismo lipidico in risposta alla mielina danneggiata. In uno studio recente è stato dimostrato come un deficit nel metabolismo della mielina da parte della microglia porti ad un accumulo di colesterolo nelle cellule della microglia, portando ad un'inflammatione cronica che influenza negativamente gli oligodendrociti e quindi la rimielinizzazione.

Una molecola che può portare la microglia a secernere agenti infiammatori è LPS. Quando LPS interagisce con la microglia, questa produce molecole citotossiche che agiscono sulle OPCs e sugli oligodendrociti. Il differenziamento delle OPCs in oligodendrociti è impedito prima dallo stress ossidativo causato da NO, e successivamente dal TNF- $\alpha$ . [Kalafatakil I. e Karagogeos D., 2021]

## 7. I FENOTIPI MICROGLIALI E LO SVILUPPO DEGLI OLIGODENDROCITI

Oltre al ruolo immunitario, la microglia è un componente fondamentale nel processo di rigenerazione mielinica attraverso l'attività di fagocitosi nei confronti dei fasci mielinici danneggiati e attraverso la produzione di fattori trofici che riducono l'infiammazione e favoriscono il differenziamento degli oligodendrociti. Esperimenti *in vitro* hanno confrontato il processo di crescita degli oligodendrociti in presenza di microglia M1 (i.e. fenotipo pro-infiammatorio, caratterizzato dalla secrezione di citochine pro-infiammatorie e ROS) o M2 (i.e., fenotipo antinfiammatorio, caratterizzato dalla secrezione di citochine antinfiammatorie e fattori neurotrofici). Entrambi i fenotipi microgliali hanno aumentato la proliferazione delle OPCs, ma solamente nella coltura in cui era presente la microglia M2 l'apoptosi delle OPCs è risultata ridotta. Inoltre, solo nella condizione in cui erano presenti le cellule microgliali M2 l'espressione di MBP e della glicoproteina oligodendrocitica della mielina (MOG) erano aumentate, indicando un maggior differenziamento degli oligodendrociti.

### 7.1 Il fenotipo microgliale M2 nel differenziamento degli oligodendrociti

Studi *in vivo* hanno verificato l'effetto della rimozione del fenotipo microgliale M1 o M2 sullo sviluppo degli oligodendrociti. La sola rimozione del fenotipo M1 ha causato la riduzione della densità di OPCs proliferanti, ma la rimielinizzazione e la migrazione delle OPCs è rimasta inalterata. La rimozione della microglia M2 ha fatto osservare un incremento della popolazione microgliale M1, indicando una regolazione reciproca tra i due fenotipi microgliali, ma soprattutto una diminuita espressione dei marcatori del differenziamento degli oligodendrociti MBP e glicoproteina associata alla mielina MAG, evidenziando un rallentamento del differenziamento degli oligodendrociti e suggerendo l'esistenza di una correlazione diretta tra la presenza della microglia di tipo M2 e il corretto processo di mielinizzazione.

È stato dimostrato che un marcatore fondamentale nel processo di differenziamento *in vitro* degli oligodendrociti a partire da OPCs è l'attivina A, una proteina appartenente alla super-famiglia TGF- $\beta$ , espressa sulla superficie delle cellule

microgliali con fenotipo M2. L'aggiunta di un anticorpo anti-attivina A in una coltura di OPCs e microglia M2 ha rallentato il differenziamento degli oligodendrociti, confermando l'importanza della proteina. Inoltre, studi ex vivo condotti su fettine di cervelletto hanno evidenziato che l'aggiunta di microglia M2 ha aumentato il numero di oligodendrociti maturi, mentre questi ultimi sono risultati significativamente diminuiti in seguito all'esposizione ad anticorpi anti-attivina A.

La secrezione di attivina A da parte della microglia M2 è quindi essenziale per il meccanismo di differenziamento degli oligodendrociti guidato dalla microglia. Di conseguenza, studi approfonditi su questo aspetto potrebbero rivelarsi promettenti nell'ambito di nuove terapie contro la neurodegenerazione. Intervenire sull'espressione del fenotipo M2 e dell'attivina A potrebbe rappresentare una strategia di supporto alla rimielinizzazione in soggetti con deficit mielinici.

## 7.2 La microglia nella rimielinizzazione

Durante la rimielinizzazione si verifica un incremento della densità della microglia di fenotipo M2 nell'area della lesione. Sulla base di ciò, è stato dimostrato che la lenta rimielinizzazione che si verifica nelle lesioni di topi anziani, può essere manipolata tramite parabiosi con un topo più giovane. Le cellule della microglia del topo più giovane subiscono un reclutamento da parte delle lesioni presenti nel SNC del topo anziano, promuovendo la polarizzazione verso il fenotipo M2 della popolazione microgliale endogena e portando ad una rimielinizzazione più rapida. [Miron V. E. et al., 2013]

## 8. IMPLICAZIONI DI QUESTI STUDI IN AMBITO TERAPEUTICO

Gli studi sulla sostanza bianca hanno messo in luce la modalità di progressione della malattia di Alzheimer grazie all'introduzione di una nuova tecnica di misurazione come il WMTI. Lo sviluppo e l'utilizzo di questa metodica consentirebbe uno studio preciso dello stato in cui versano i processi assonali della sostanza bianca, fondamentale in pazienti con neurodegenerazione, e permetterebbe un'accuratezza della diagnosi della malattia di Alzheimer che le attuali tecniche non possiedono.

L'analisi della microstruttura della sostanza bianca è in grado di evidenziare la neurodegenerazione più precocemente rispetto alle tecniche tradizionali come la PET o la MRI, anticipando la diagnosi e, conseguentemente, l'inizio della terapia. Avere la possibilità di affrontare la malattia di Alzheimer nei suoi primi momenti e ottenere informazioni precise riguardo la sua progressione potrebbe essere fondamentale per contrastarne l'avanzamento.

Gli studi eseguiti nell'ambito degli oligodendrociti hanno evidenziato il ruolo della microglia nel loro sviluppo e nella loro morte. Lo stretto rapporto tra i due tipi cellulari fornisce una nuova zona di indagine per quanto riguarda la demielinizzazione e la mancata rimielinizzazione che avvengono nella malattia di Alzheimer. Considerando l'effetto deleterio della neuroinfiammazione sulla sopravvivenza degli oligodendrociti, il duplice ruolo che la microglia possiede nell'ambito della risposta infiammatoria fornisce risposte incoraggianti per ulteriori studi focalizzati sull'infiammazione cronica in malattie neurodegenerative come la malattia di Alzheimer e la sclerosi multipla. L'induzione del fenotipo M2 della microglia, oltre a promuovere il differenziamento delle OPCs, causerebbe una risposta antinfiammatoria che potrebbe portare ad una riduzione dello stress cellulare degli oligodendrociti e a un plausibile rallentamento nella loro apoptosi, consentendo loro di rimielinizzare gli assoni e ostacolare la neurodegenerazione.

Ulteriori studi potrebbero applicare il modello WMTI nei soggetti malati di Alzheimer sottoposti a trattamenti che inducono il fenotipo M2 nella microglia [Miron V.E. et al., 2013]. L'osservazione della microstruttura della sostanza bianca dopo questo processo potrebbe condurre verso nuovi approcci terapeutici.



## 9. LIMITI SPERIMENTALI

Gli studi condotti sulla relazione tra microglia e oligodendrociti sono basati su osservazioni *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* in organismi animali come topo e ratto. La fisiologia umana è comparabile a quella del topo, ma mostra differenze significative nel momento in cui si entra nell'ambito molecolare, in particolare differisce nelle vie di segnalazione e nella regolazione dei geni [Kobayashi K. et al., 2022]. A causa di ciò, le sperimentazioni su organismi animali finora citate possono fornire delle informazioni utili a chiarire i meccanismi neurologici propri dei mammiferi, tuttavia, le differenze fisiologiche tra questi organismi e *H. sapiens* potrebbero talvolta invalidare i risultati ottenuti rendendo necessario verificarne l'applicabilità nella fisiologia umana tramite ulteriori passaggi.

La tecnologia *organ-on-a-chip* mira ad eliminare questa necessità utilizzando cellule staminali umane per sviluppare modelli di tessuti funzionanti che rispecchiano il funzionamento e la risposta dei tessuti umani a diverse tipologie di stimoli. Nonostante lo sviluppo di questa tecnologia in ambito neurale sia ancora agli albori [Amirifar L. et al., 2022], il suo utilizzo potrebbe accelerare il processo di ricerca, dando esatte corrispondenze per il ruolo che le molecole di interesse hanno nel SNC umano e nelle sue vie di segnalazione.

## 10. BIBLIOGRAFIA

- Ambrosini E., Appunti delle lezioni del corso di Neuropsicologia, AA 2023/2024.
- Amirifar L, Shamloo A, Nasiri R, de Barros NR, Wang ZZ, Unluturk BD, Libanori A, Ievglevskiy O, Diltemiz SE, Sances S, Balasingham I, Seidlits SK, Ashammakhi N. (2022). Brain-on-a-chip: Recent advances in design and techniques for microfluidic models of the brain in health and disease. *Biomaterials*, 285: 12153.
- Benitez A, Fieremans E, Jensen JH, Falangola MF, Tabesh A, Ferris SH, Helpert JA. (2013). White matter tract integrity metrics reflect the vulnerability of late-myelinating tracts in Alzheimer's disease. *Neuroimage Clin*, 4: 64-71.
- Bergles DE, Richardson WD. (2015). Oligodendrocyte Development and Plasticity. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 8: a020453.
- Bisaglia M., Appunti delle lezioni del corso di Fisiologia Generale, AA 2023/2024
- Butt AM, De La Rocha IC, Rivera A. (2019). Oligodendroglial Cells in Alzheimer's Disease. *Adv Exp Med Biol*, 1175: 325-333.
- De-Paula VJ, Radanovic M, Diniz BS, Forlenza OV (2012). Alzheimer's disease. *Subcell Biochem*, 65: 329-52.
- Fitzner D, Schneider A, Kippert A, Möbius W, Willig KI, Hell SW, Bunt G, Gaus K, Simons M. (2006). Myelin basic protein-dependent plasma membrane reorganization in the formation of myelin. *EMBO J*, 25: 5037-48.
- Kalafatakis I, Karagogeos D. (2021). Oligodendrocytes and Microglia: Key Players in Myelin Development, Damage and Repair. *Biomolecules*, 11: 1058.
- Kobayashi K, Minegishi G, Kuriyama N, Miyajima A, Abe S, Kazuki K, Kazuki Y. (2023). Metabolic Disposition of Triazolam and Clobazam in Humanized CYP3A Mice with a Double-Knockout Background of Mouse *Cyp2c* and *Cyp3a* Genes. *Drug Metab Dispos*, 51: 174-82.
- Maitre M, Jeltsch-David H, Okechukwu NG, Klein C, Patte-Mensah C, Mensah-Nyagan AG. (2023). Myelin in Alzheimer's disease: culprit or bystander? *Acta Neuropathol Commun*, 11: 56.

Miron VE, Boyd A, Zhao JW, Yuen TJ, Ruckh JM, Shadrach JL, van Wijngaarden P, Wagers AJ, Williams A, Franklin RJM, Ffrench-Constant C. (2013). M2 microglia and macrophages drive oligodendrocyte differentiation during CNS remyelination. *Nat Neurosci*, 16: 1211-8.

Nemes-Baran AD, White DR, DeSilva TM. (2020). Fractalkine-Dependent Microglial Pruning of Viable Oligodendrocyte Progenitor Cells Regulates Myelination. *Cell Rep*, 32: 108047.

OMS, 2017, Global action plan on the public health response to dementia 2017-2025.

Peferoen L, Kipp M, van der Valk P, van Noort JM, Amor S. (2014). Oligodendrocyte-microglia cross-talk in the central nervous system. *Immunology*, 141: 302-13.

Porsteinsson AP, Isaacson RS, Knox S, Sabbagh MN, Rubino I. (2021). Diagnosis of Early Alzheimer's Disease: Clinical Practice in 2021. *J Prev Alzheimers Dis*, 8: 371-86.

Stadelmann C, Timmler S, Barrantes-Freer A, Simons M. (2019). Myelin in the Central Nervous System: Structure, Function, and Pathology. *Physiol Rev*, 99: 1381-431.