

Dimorfismo sessuale, neurotossicità indotta da esposizione perinatale al *Piombo* ed effetto protettivo esercitato da una dieta addizionata di *Selenio*

Melania Maria Serafini, PhD

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari – Università degli Studi di Milano

12 Febbraio 2020 – Bologna – Savoia Regency Hotel, sala Garisenda

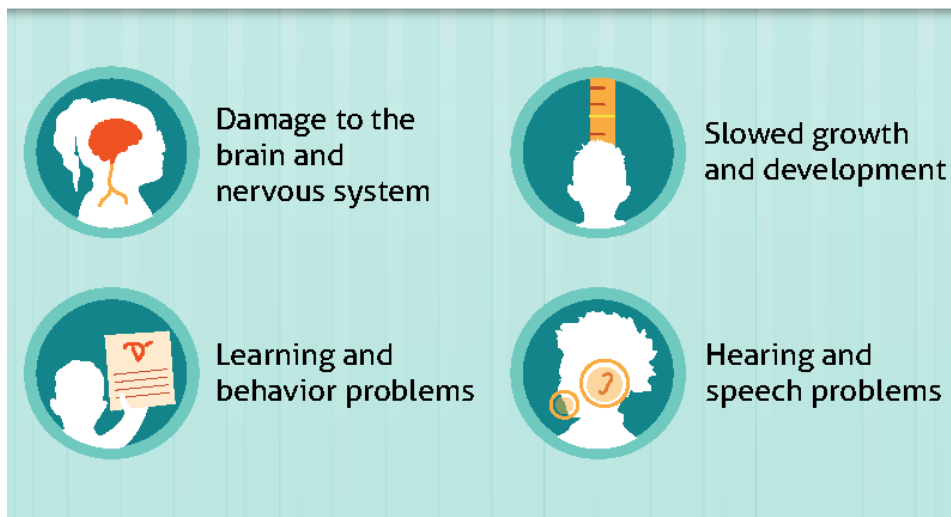
Piombo, Pb

Contaminante ambientale

- Il cibo è la principale fonte di intake per l'uomo
- Tossicità a livello del SNC
- Altera la neurogenesi, le funzioni sinaptiche, i processi infiammatori e di stress ossidativo

questi pathway sono modulati positivamente dal **Selenio**

L'esposizione al Piombo è pericolosa specialmente per i bambini: non esiste una dose soglia



This can cause:

- Diminuzione QI
- Deficit di attenzione
- Peggioramento delle performance scolastiche



Selenio, Se

Micronutriente essenziale

- Fondamentale per il buon funzionamento e la salute del sistema nervoso
- Biosintesi di selenoproteine, fondamentali per il trasporto del Se
- Protezione da infiammazione e stress ossidativo



Ipotesi: il Selenio può supportare il neurosviluppo a seguito di un evento tossico, come l'esposizione al Piombo?

Focus: il sistema glutammatergico, in particolare NMDAR che è tra i bersagli principali dell'effetto neurotossico del Pb

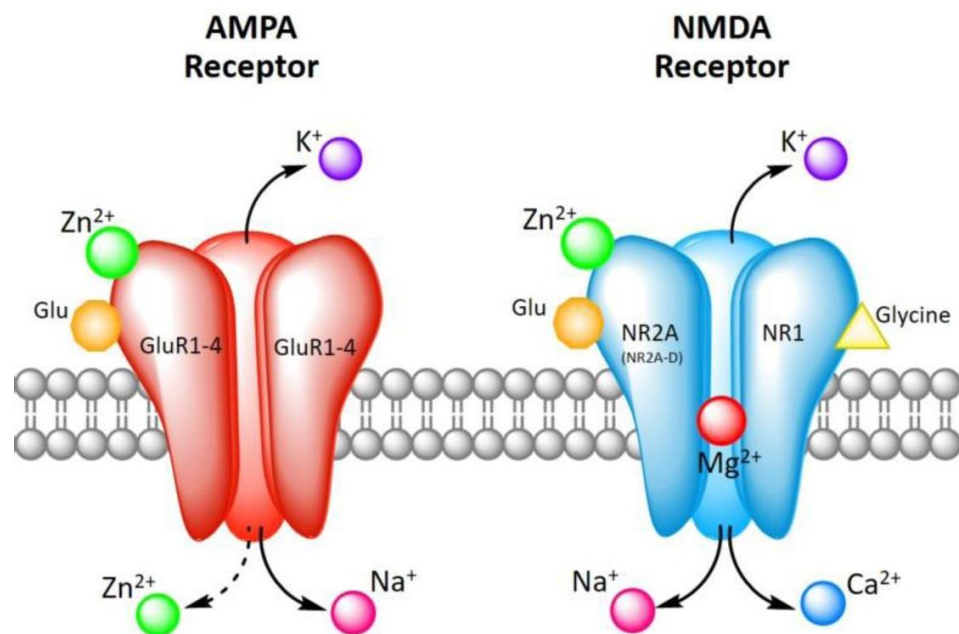
Ionotropic Glutamate Receptors

NMDA

- GluN1
- GluN2A
- GluN2B
- GluN2C
- GluN2D
- GluN3A
- GluN3B

AMPA

- GluA1
- GluA2
- GluA3
- GluA4



Regione cerebrale: ippocampo



SELENIUS: Selenium in Early-Life to Enhance Neurodevelopment In Unfavourable Settings



NOFER INSTITUTE
OF OCCUPATIONAL
MEDICINE

Parametri di esposizione
nei bambini e valutazione
neuropsicologica



University of East Anglia

Valutazione nutrizionale di
apporto di micronutrienti



UNIVERSITÉ
DE MONTPELLIER

Analisi dei markers di stress ossidativo
in campioni umani e animali



Modello animale: valutazioni
comportamentali e biochimiche



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI MILANO

LA STATALE

Valutazioni biochimiche a
livello ippocampale
(*ex vivo* + *in vitro*)



Analisi trascrittomiche
del tessuto adiposo
degli animali trattati

Dieta di Se

Ottimale Se 0.15 mg/kg
Sub-ottimale 0.04 mg/kg



Rattus Norvegicus



Esposizione a Pb
25 ppm and 100 ppm (Se ottimale)
25 ppm (Se sub-ottimale)

Dissezione ippocampo

HOMO
(omogenato cellulare totale)
♂ ♀

TIF
(Triton-insoluble Fraction)
→ post-sinapsi
♂ ♀

Dosi di Pb utilizzate in alcuni recenti lavori di letteratura:

Dose	Finestra di esposizione	Età	Referenza
100 ppm	lactation until weaning	PND 42	Liu et al. 2013
500 ppm	pregnancy	PND 23 or 70	Moreira et al. 2001
2000 ppm	pregnancy + lactation	PND 26-36	Barkur & Bairy, 2015

Misurazione della concentrazione plasmatica di Pb



Treatment	Blood concentration ug/dl
Control	0.7 ± 0.7
25 ppm	5.9 ± 1.4
100 ppm	25.2 ± 3.5

Nessuna modifica di: peso, lunghezza, temperatura, cure materne.

Misurazione della concentrazione plasmatica di Pb



Studi epidemiologici	Report ISS Taranto 2016	NHANES US 2011-12	GerES IV Germania	PROBE ISS Italia 2016
Pb sangue (µg/dL)	8.40	6.40	16.9	9.55

[Pb] circolante simile a quella umana
→ rappresentativa della reale esposizione

Se 0.04 mg/kg (dieta subottimale) + Pb 25 ppm

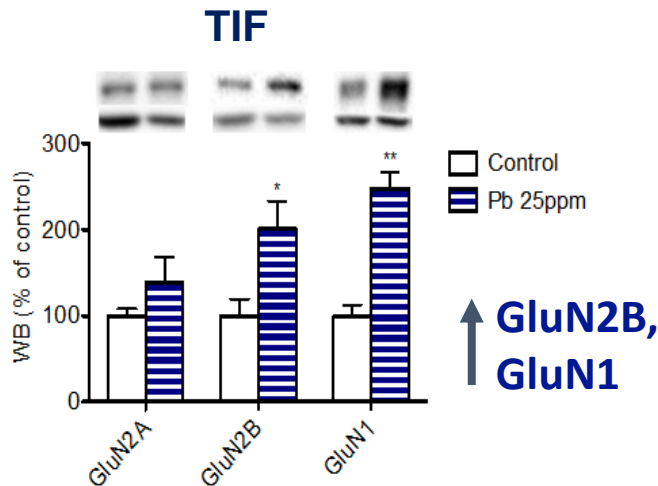
23 PND



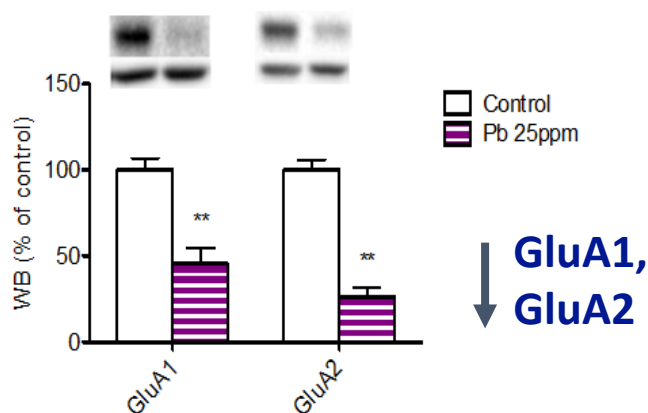
HOMO

		C	Pb 25 ppm	
NMDA	GluN2A	100 ± 3,88	200 ± 47,63	ns
	GluN2B	100 ± 13,63	135,12 ± 16,03	ns
	GluN1	100 ± 14,87	141,50 ± 30,40	ns
AMPA	GluA1	100 ± 10,83	114,85 ± 19,95	ns
	GluA2	100 ± 14,18	182,47 ± 22,94	ns

NMDA



AMPA



NO EFFETTO

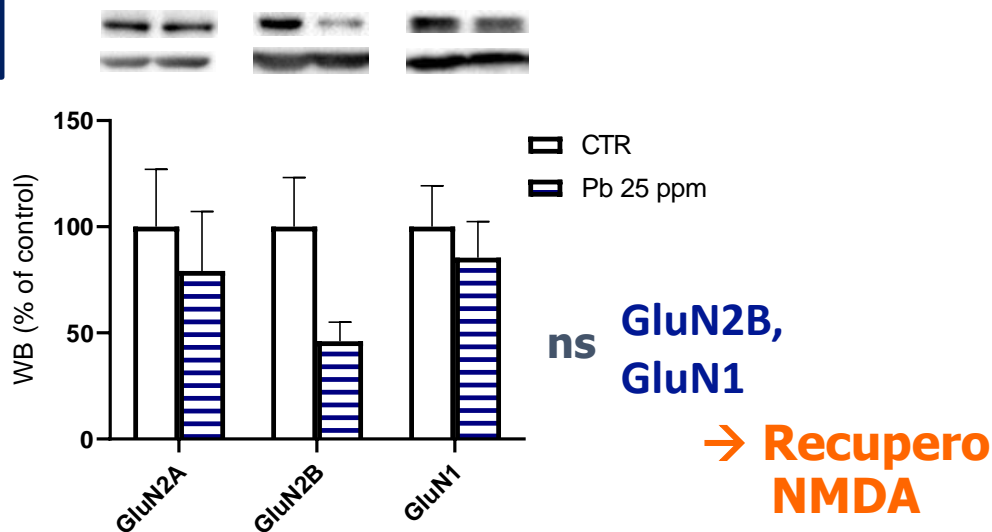
Media ± SEM (n=5-8). Student T-test, *p<0.05, **p<0.01



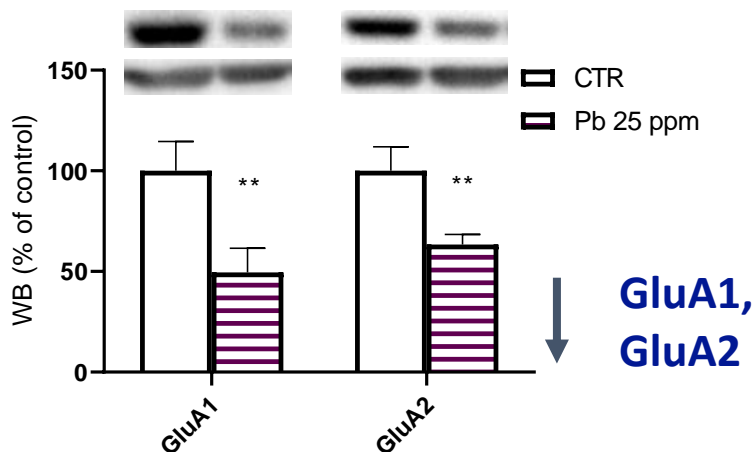
70 PND

TIF

NMDA



AMPA



NO EFFETTO

Se 0.15 mg/kg (dieta ottimale) + Pb 25 o 100 ppm

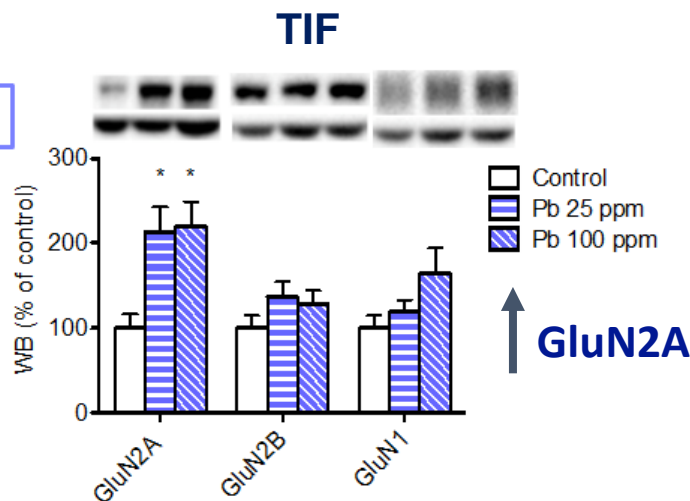


23 PND

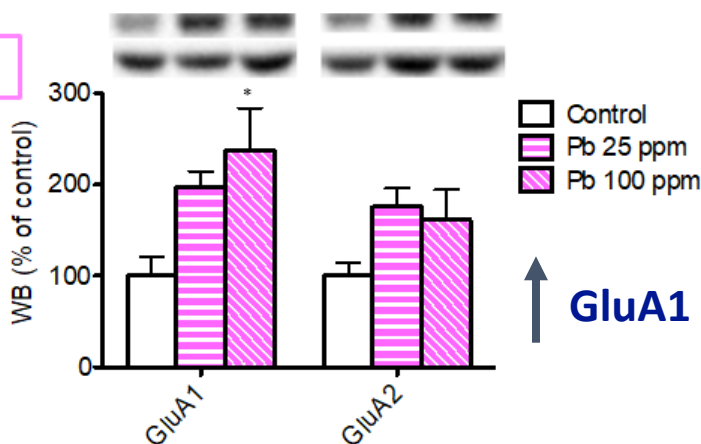
HOMO

		C	Pb 25 ppm	Pb 100 ppm	
NMDA	GluN2A	100 ± 25,85	168,12 ± 37,90	149,14 ± 38,51	ns
	GluN2B	100 ± 10,75	164,73 ± 21,48	123,50 ± 42,36	ns
	GluN1	100 ± 7,05	99,24 ± 13,83	91,19 ± 13,25	ns
AMPA	GluA1	100 ± 21,70	114,43 ± 14,45	128,22 ± 18,74	ns
	GluA2	100 ± 12,72	96,86 ± 10,69	91,66 ± 11,32	ns

NMDA



AMPA



NO EFFETTO

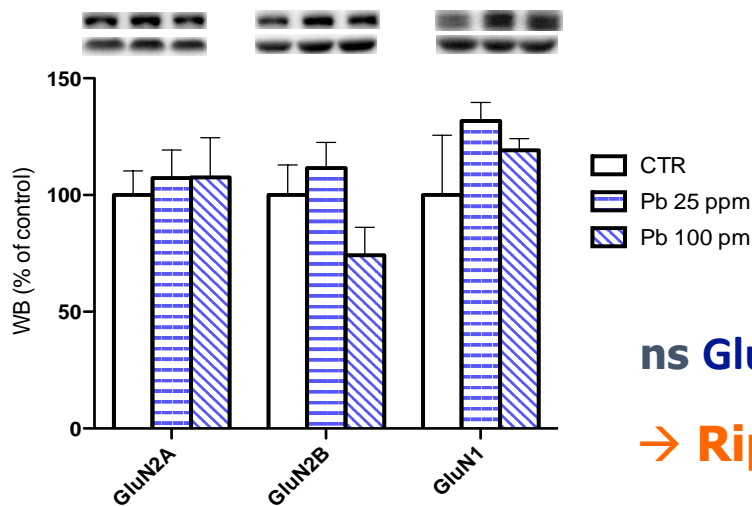
Media ± SEM (n=5-8). ONE-way ANOVA seguito da Dunnett's post hoc test, *p<0.05



70 PND

TIF

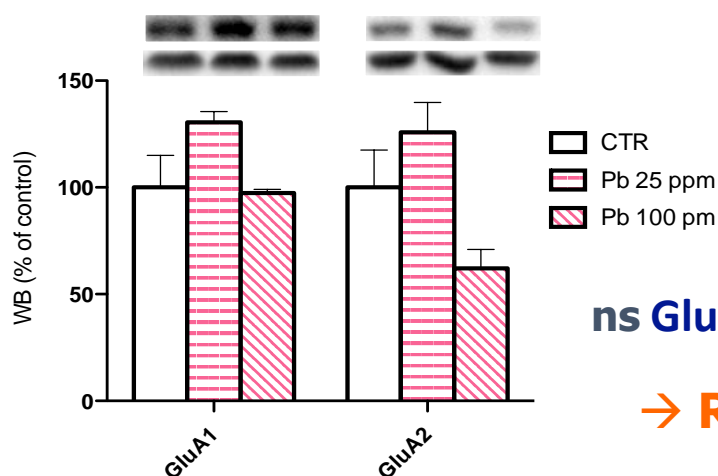
NMDA



ns GluN2A

→ Ripristino NMDA

AMPA



ns GluA1, GluA2

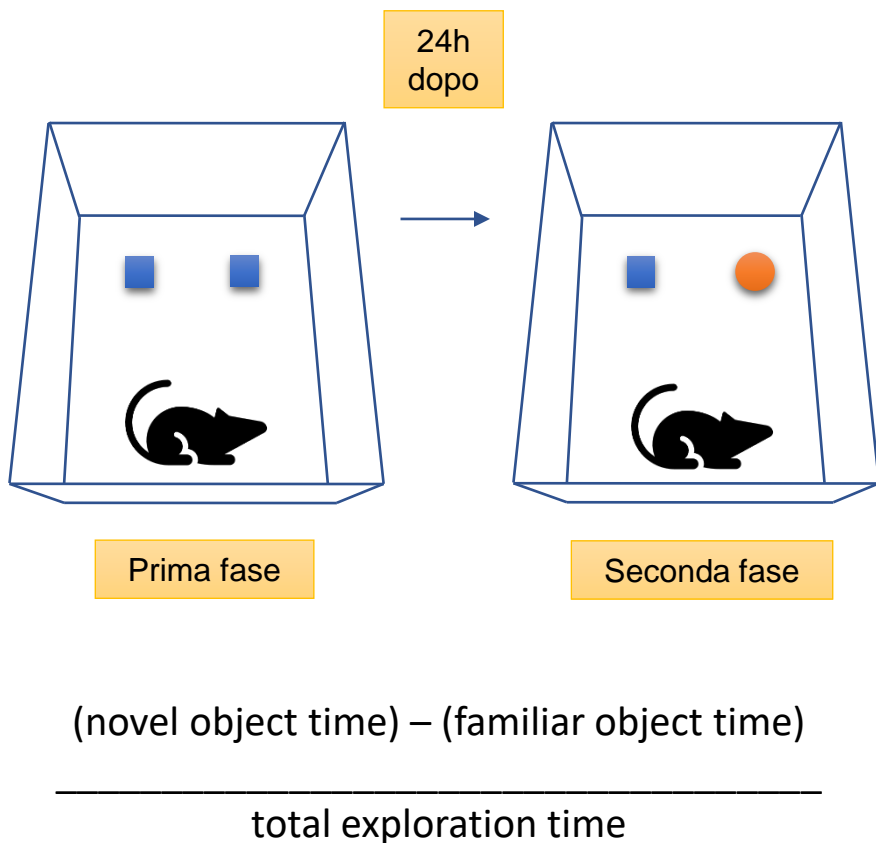
→ Ripristino AMPA



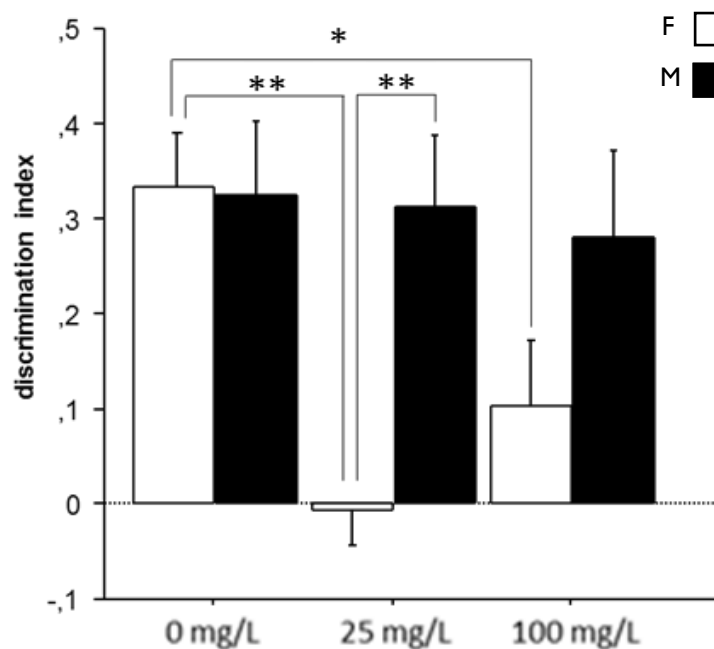
NO EFFETTO

Media ± SEM (n=5-8).
ONE-way ANOVA seguito
da Dunnett's post hoc test,
*p<0.05

Novel Object recognition (NOR)



Dieta ottimale di Se



Media \pm SD. ONE-way ANOVA seguito da Dunnett's post hoc test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

Conclusioni

L'effetto del *Pb*:

- È selettivo per il compartimento post-sinaptico → traslocazione

- È sessualmente dimorfico



→ coinvolge diverse subunità recettoriali:

- ✓ GluN2A ↑ e GluA1 ↑ nelle femmine
- ✓ GluN2B, GluN1 ↑ e GluA1, GluA2 ↓ nei maschi

- Dipende fortemente dalle concentrazioni di Se



→ dimorfismo sessuale: Se ottimale è protettivo nei maschi; nelle femmine si osservano alterazioni biochimiche e comportamentali.



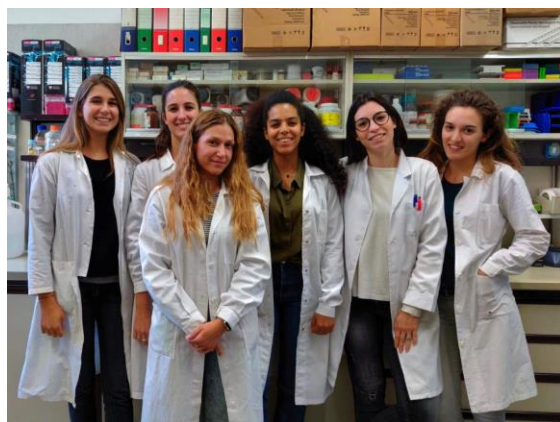
Prof. B. Viviani

Prof. C.L. Galli

Prof. M. Marinovich

Prof. F. Gardoni

Elisa Zianni



Silvia Tangianu

Gaia Sara Silvia Serra

Irene Cattaneo

Iman Khattat

Vittoria Pravettoni

L. Minghetti

G. Calamandrei

F. Cubadda

Annamaria Tartaglione

Supported by: Joint Programming Initiative - JPI "A Healthy Diet for a Healthy Life
SELENIUS - Selenium in early life to enhance neurodevelopment in unfavourable settings