

# 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*

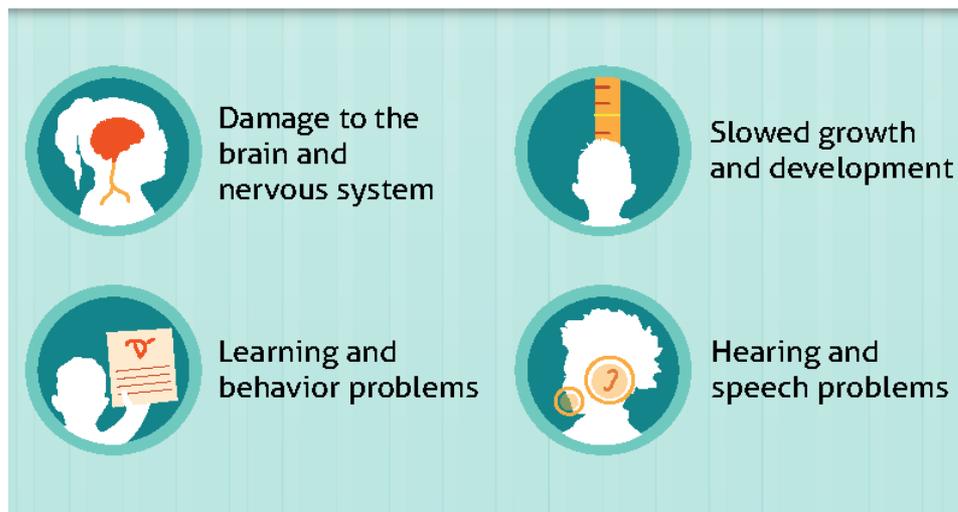
# Piombo, Pb

## 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

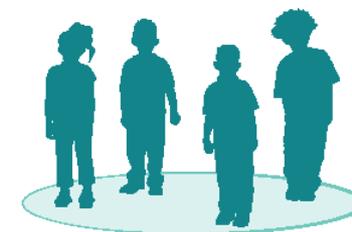
questi pathway sono modulati positivamente dal **Selenio**

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

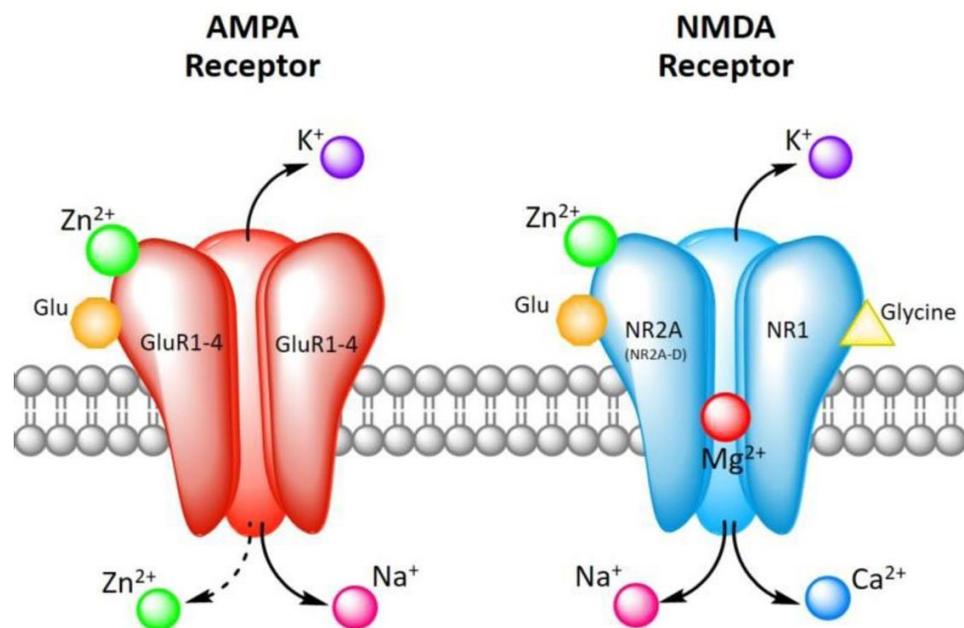
## Ionotropic Glutamate Receptors

### 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*)



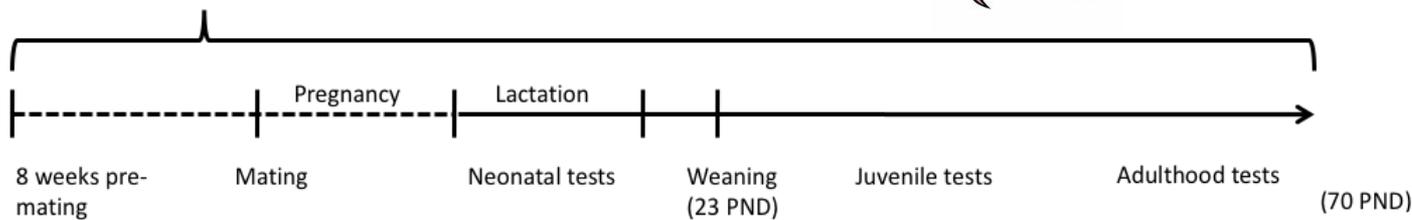
Analisi trascrittomico del tessuto adiposo degli animali trattati

### 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

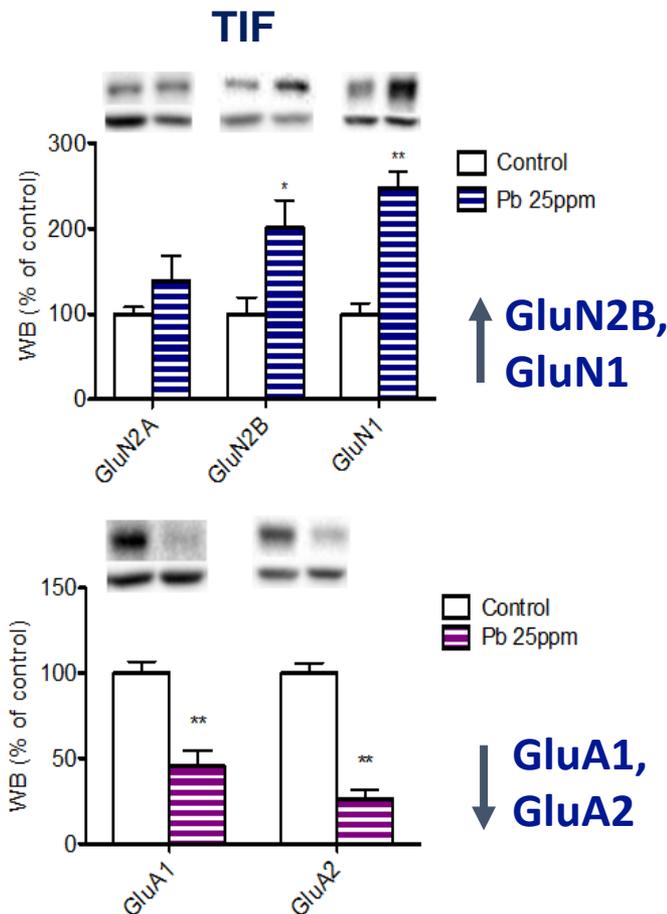


HOMO

		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

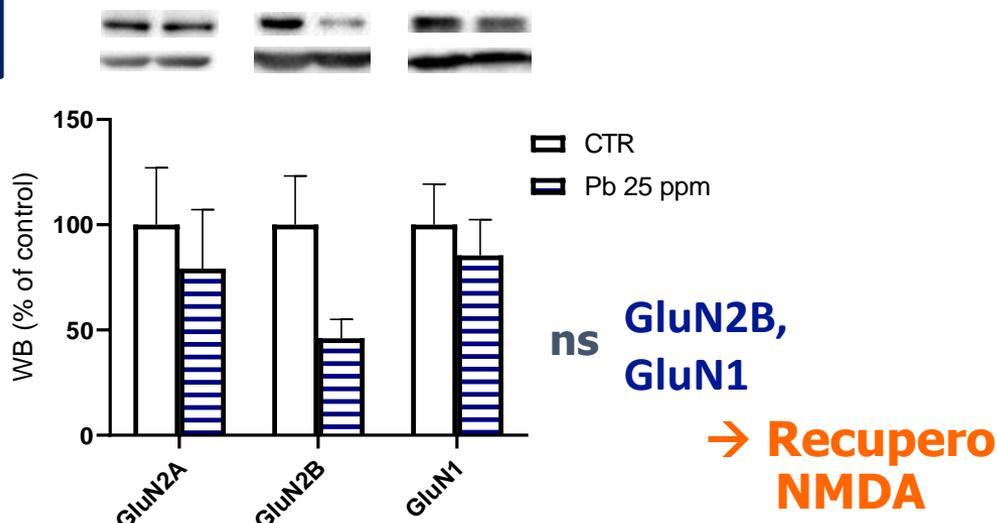
Media ± SEM (n=5-8). Student T-test, \*p<0.05, \*\*p<0.01



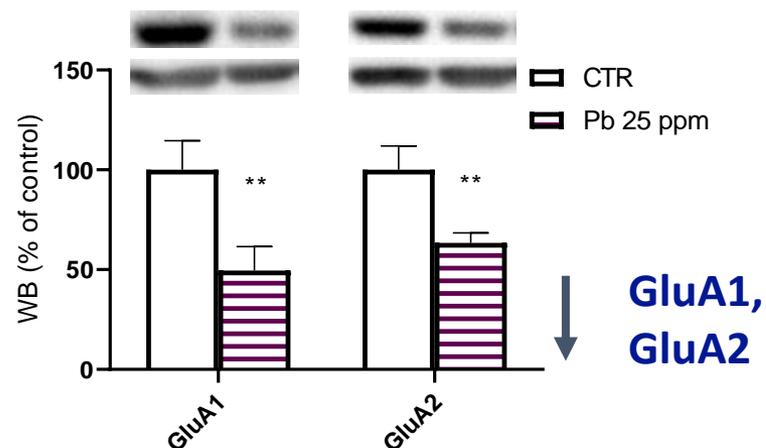
70 PND

TIF

NMDA



AMPA



NO EFFETTO

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

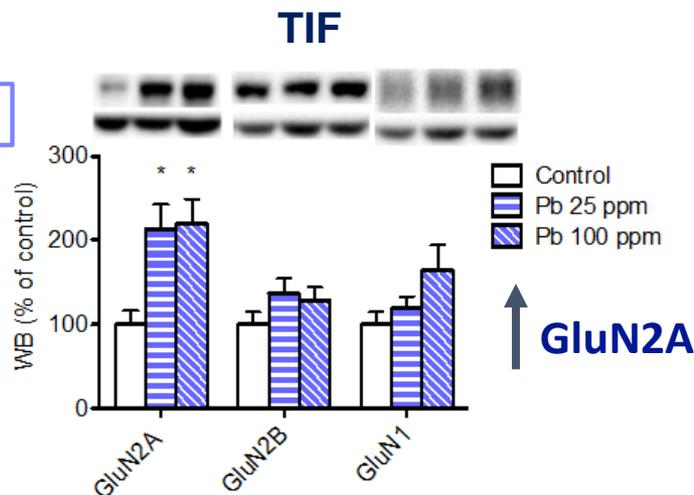


23 PND

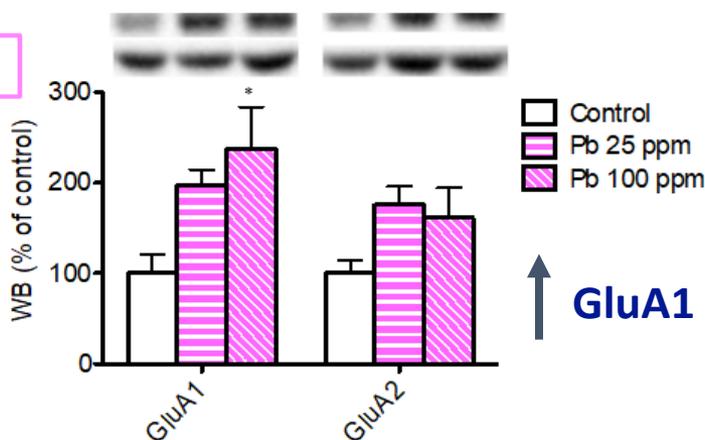
HOMO

		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

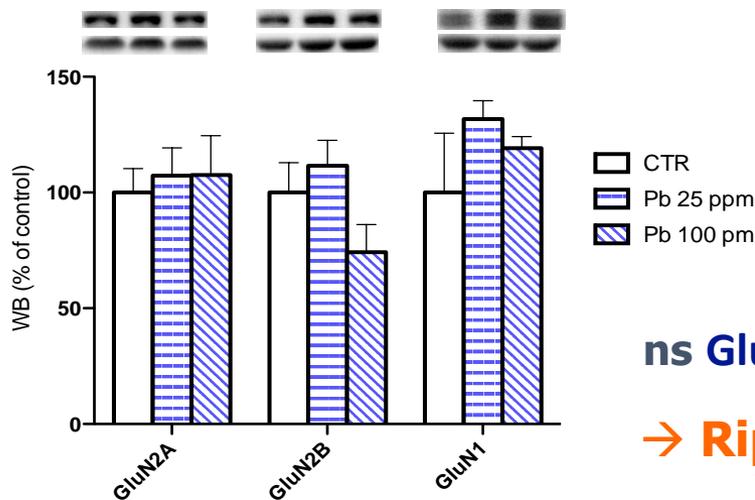
Media ± SEM (n=5-8). ONE-way ANOVA seguito da Dunnett's post hoc test, \*p<0.05



70 PND

TIF

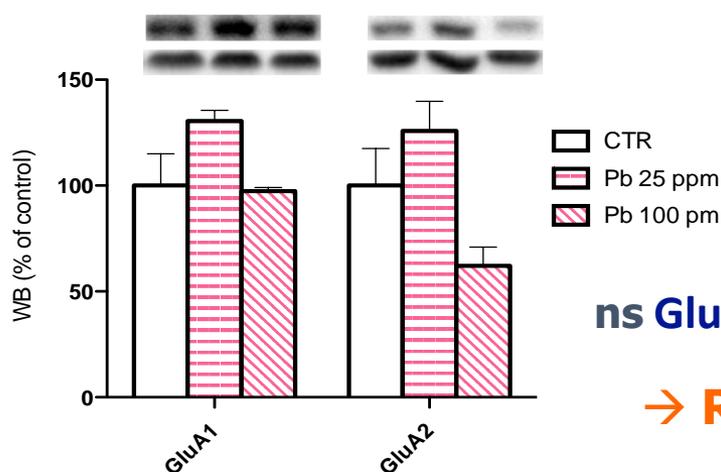
NMDA



ns GluN2A

→ Ripristino NMDA

AMPA



ns GluA1, GluA2

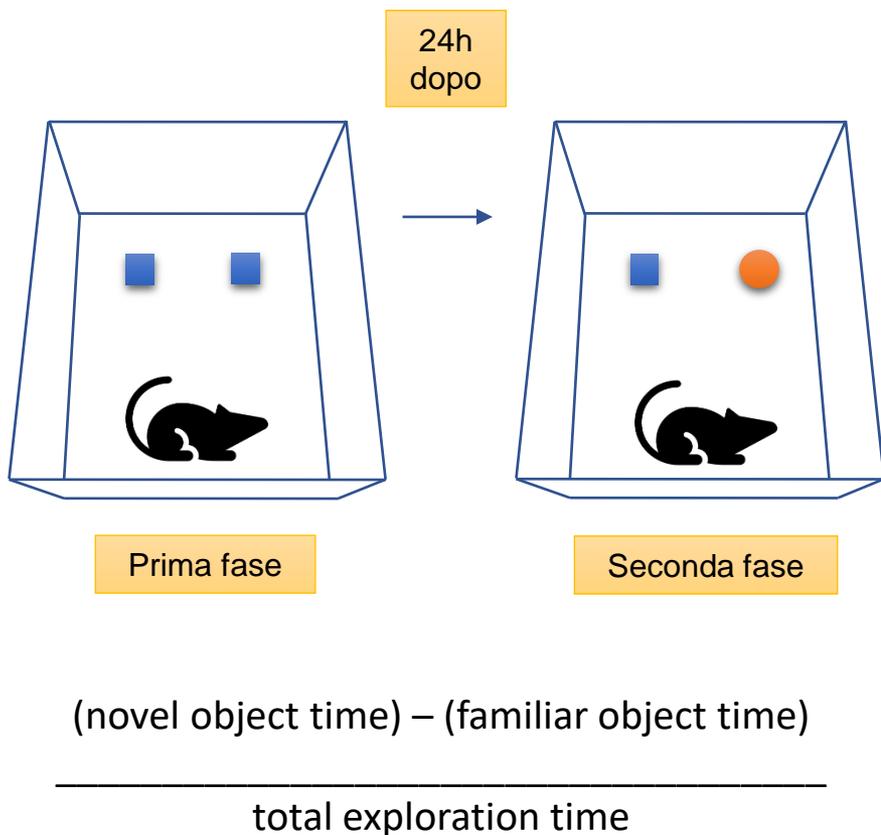
→ Ripristino AMPA



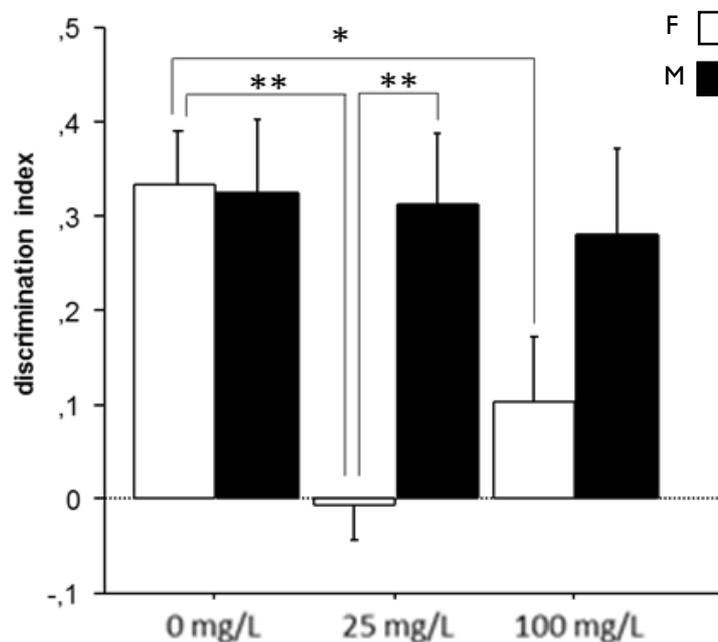
NO EFFETTO

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.



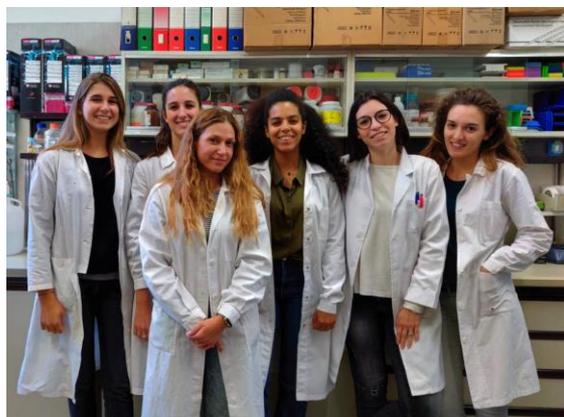
**Prof. B. Viviani**

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*