

## **COLTURE NEURONALI DERIVATE DA CELLULE STAMINALI PLURIPOTENTI INDOTTE COME MODELLO UMANO PER LO STUDIO DEGLI EFFETTI NEUROTOSSICI DI INQUINANTI AMBIENTALI**

De Paola M., Mariani A., Mauri E., Fanelli R.

*Ambiente e salute, Irccs istituto Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano*

L'esposizione a inquinanti ambientali in età fetale e nella prima infanzia può indurre alterazioni anche gravi nel normale sviluppo del sistema nervoso centrale (SNC). Molti dei prodotti chimici attualmente in commercio non sono stati caratterizzati per i loro potenziali effetti neurotossici sullo sviluppo. Inoltre, i modelli per lo studio degli effetti degli inquinanti ambientali sullo sviluppo del SNC si basano sull'utilizzo di linee cellulari o colture primarie murine, producendo dati difficilmente interpretabili per la determinazione del rischio nell'uomo.

I neonicotinoidi sono una classe di insetticidi sintetici derivanti dalla nicotina, utilizzati in tutto il mondo per proteggere le colture e gli animali domestici da parassiti. Agiscono come agonisti dei recettori nicotinici (nAChR) e la loro tossicità selettiva è dovuta alla diversa affinità per nAChR nell'insetto rispetto al mammifero. Studi condotti in modelli animali suggeriscono che i neonicotinoidi possono indurre effetti neurotossici in colture neuronali e alterazioni nelle prestazioni sensomotorie, nella risposta immunitaria e del sistema neuroendocrino in vivo. Recenti evidenze mostrano, inoltre, che i neonicotinoidi (e i prodotti derivati dal loro metabolismo) sono in grado di legare nAChR anche nei mammiferi. Considerando la grande esposizione a questi insetticidi (le vendite annuali corrispondono a circa il 24% del fatturato totale dei pesticidi) e il ruolo chiave del nAChR nello sviluppo del sistema nervoso, sono richiesti nuovi studi volti a rivelare i possibili effetti neurotossici sul sistema nervoso centrale dei mammiferi e in modelli utili per determinare il rischio di esposizione a tali inquinanti per l'uomo.

In questa presentazione vogliamo mostrare le principali applicazioni, sia pratiche che potenziali, dell'uso di colture neuronali di origine umana derivate da cellule staminali pluripotenti indotte (IPSc) per la determinazione degli effetti neurotossici degli inquinanti ambientali. Illustreremo inoltre un esempio di applicazione pratica di questi metodi sperimentali, mostrando i dati che abbiamo ottenuto in uno studio sugli effetti neurotossici di pesticidi neonicotinoidi, che è stato condotto nei nostri laboratori.

In questo studio abbiamo caratterizzato gli effetti indotti dall'esposizione cronica a bassi livelli di neonicotinoidi (rappresentativi dell'esposizione umana) sullo sviluppo neuronale, in due modelli cellulari: a) colture primarie neuronali ottenute da cervello e midollo spinale di embrioni di topo e b) neuroni derivati da cellule staminali umane pluripotenti indotte (IPSc). Gli studi sul modello murino sono serviti per ottenere un profilo neurotossicologico completo di tre principali composti appartenenti a questa classe di insetticidi di sintesi, che risultano attualmente i più diffusi in commercio: Imidacloprid (neonicotinoide di I generazione), Clothianidin (di II generazione) e Dinotefuran (di III generazione). Imidacloprid (IMI) è risultato il composto più tossico, inducendo una significativa riduzione della sopravvivenza neuronale, alterazione di marker dello sviluppo quali sinaptofisina e arborizzazione dendritica, modificazione della risposta immunitaria dopo stimolazione proinfiammatoria con lipopolisaccaride a partire da concentrazioni submicromolari.

Abbiamo poi studiato gli effetti di Imidacloprid sulla sopravvivenza e la determinazione fenotipica di astrociti e neuroni umani ottenuti da IPSc. Dalla comparazione dei risultati sul modello murino e umano abbiamo quindi individuato differenze specie-specifiche nella risposta cellulare allo stimolo tossico di questi inquinanti che possono rappresentare aspetti determinanti nella caratterizzazione del rischio e mostrano come l'utilizzo di modelli in vitro più rappresentativi per l'uomo possano costituire un nuovo tool sperimentale utile per gli studi neurotossicologici delle tossine ambientali.