

INSETTICIDI NEONICOTINOIDI E SVILUPPO DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE: EFFETTI IN UN MODELLO ANIMALE MURINO

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

Ambiente e Salute, Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Milano, Italia

Durante lo sviluppo e la maturazione, il sistema nervoso centrale (SNC) è estremamente vulnerabile al danno da contaminanti ambientali. I neonicotinoidi (neonics) sono una recente classe di insetticidi sintetici utilizzati in tutto il mondo per la protezione delle colture agricole e degli animali domestici. Essendo derivati della nicotina, agiscono come agonisti dei recettori nicotinici dell'acetilcolina (nAChRs) e la loro tossicità selettiva è dovuta alla diversa affinità per i nAChRs dell'insetto rispetto ai mammiferi. Recenti evidenze mostrano, tuttavia, che i neonics sono in grado di legare i nAChRs anche nei mammiferi, inducendo l'attivazione di meccanismi intracellulari nei neuroni in coltura. Alcuni studi condotti in modelli animali suggeriscono che l'esposizione ad alte dosi può indurre alterazioni nelle prestazioni sensomotorie, nella risposta immunitaria e al sistema neuroendocrino. Considerando la grande esposizione a questi insetticidi (le vendite annuali corrispondono a circa il 24% del fatturato totale dei pesticidi) e il ruolo chiave dei nAChRs nello sviluppo del SNC, sono necessari ulteriori studi sui possibili effetti neurotossici nei mammiferi (come consigliato da diverse autorità internazionali).

Lo scopo di questo studio è quindi quello di indagare gli effetti indotti dall'esposizione a livelli realistici (ovvero che riproducano l'esposizione umana) di neonics sul SNC in via di sviluppo in un modello sperimentale murino. A tale scopo, la determinazione delle dosi di neonics da utilizzare negli esperimenti *in vivo* è stata basata sui livelli stimati nella dieta di donne in età fertile. Negli esperimenti *in vitro*, queste dosi sono state corrette considerando la correlazione riportata in letteratura tra l'assunzione orale di imidacloprid (IMI, il neonics più diffuso) e le sue concentrazioni plasmatiche.

Gli effetti indotti dall'esposizione dei neonics sono stati inizialmente valutati in colture primarie neuronali e gliali ottenute da tre aree cerebrali diverse (ippocampo, cervelletto e corteccia) di embrione di topo.

Il trattamento con neonics mostra un effetto tossico sui neuroni già a partire da concentrazioni nanomolari (paragonabili a quelle fetali) in colture ippocampali e corticali. Sono stati evidenziati effetti tossici anche sulle popolazioni gliali, con le cellule della microglia che mostrano vulnerabilità ai trattamenti con neonics, mentre la sopravvivenza degli astrociti rimane inalterata, concordando con la mancata espressione del recettore in questa popolazione nel nostro modello *in vitro*. In colture microgliali, inoltre, IMI è stato in grado di ridurre anche la produzione di TNF α indotta mediante uno stimolo pro-infiammatorio (LPS), suggerendo una possibile attività immunosoppressiva *in vitro*. Il coinvolgimento diretto dei nAChRs è stato verificato con un'antagonista non competitivo (mecamilamina) che, nel nostro modello *in vitro*, è stato in grado di bloccare gli effetti neurotossici indotti da neonics.

I risultati delle indagini *ex vivo* confermano i dati *in vitro*. L'espressione della proteina pre-sinaptica sinaptofisina e del marker dei neurofilamenti immaturi doublecortin, infatti, si riducono in seguito

ai trattamenti con IMI. È stata inoltre valutata la densità di cellule microgliali IBA1-positivo e degli astrociti GFAP-positivi in campioni autoptici di ippocampo e cervelletto ottenuti da topi esposti *in utero* a IMI. A somministrazioni orali pari alla dose massima ammissibile giornaliera, IMI induce una riduzione significativa della densità di microglia in entrambe le aree analizzate, mentre il numero di astrociti rimane pressoché invariato.

Questi dati dimostrano che l'esposizione a bassi livelli di neonics (rappresentativi dell'esposizione fetale umana e dell'assunzione massima ammissibile giornaliera) può indurre fenomeni neurotossici e immunomodulatori, fornendo al contempo una caratterizzazione preliminare del rischio derivante dall'esposizione *in utero* a questa classe di pesticidi.