
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GUIDO PALLADINI, ALDO PISTONE, STANISLAVA ZELAZEK

**Aspetti del differenziamento biochimico neuronale
nel sistema nervoso centrale: la sensibilità al rame
del sistema extrapiramidale del ratto**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 58 (1975), n.1, p. 64-68.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_58_1_64_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Biologia. — *Aspetti del differenziamento biochimico neuronale nel sistema nervoso centrale: la sensibilità al rame del sistema extrapiramidale del ratto.* Nota preliminare (*) di GUIDO PALLADINI, ALDO PISTONE e STANISLAVA ZELAZEK, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

RÉSUMÉ. — L'inoculation intracranique de solutions de cuivre, de plomb et de mercure a démontré chez le rat, l'existence d'une sensibilité tout-à-fait particulière des neurones des centres extrapyramidaux envers le cuivre. On a, en effet, observé la chromatolyse central avec vacuolisation des neurones des plusieurs centres extrapyramidaux (*globus pallidus*, *putamen*, *nucleus ruber*... voir Tableau II) avec intégrité des autres structures neuronales, ce qui n'advient pas avec des autres métaux lourds.

Nos observations sont aussi en accord avec les données physiologiques (Buchner et Fox, 1968), qui démontrent l'existence d'altérations motrices typiques après inoculation stéréotaxique de cuivre (et pas de Pb, Hg, Sn...) dans les noyaux striés et les données de la pathologie spontanée (maladie de Wilson) et expérimentale (intoxication à l'azide, Palladini *et al.*, 1973) où l'impregnation cuivrique est générale de tout le s.n.c., mais les lésions sont presque exclusivement à la charge de l'extrapyramidale.

Ça démontre l'existence dans les systèmes fonctionnels nerveux, bien que morphologiquement polymorphes, d'un substrat commun et spécifique du point de vue biochimique, probablement en relation avec un métabolisme particulier.

È di comune accezione che il tessuto nervoso presenta all'osservazione numerose varietà di neuroni dal punto di vista morfologico (Kuhlenbeck, 1970) che non riesce, però, agevole far corrispondere al differenziamento funzionale dimostrato dalle ricerche neurofisiologiche, o al differenziamento biochimico dimostrato alle ricerche isotopochimiche, ove le differenze regionali di comuni attività enzimatiche restano anch'esse mal definibili; più evidenti e più facilmente interpretabili le sistematizzazioni a livello di neurotrasmettitori ed enzimi coinvolti nel metabolismo di questi (Friede, 1966; Di Carlo *et al.*, 1973; Hoffmann e Sladek, 1973). Pur tuttavia, la dimostrazione più fine di una sottile citoarchitettura biochimica del sistema nervoso, i cui rapporti con la citoarchitettura morfologica ci risultano noti solo in parte e che sono evidentemente correlati al complesso differenziamento delle singole cellule nervose (Stefanelli 1955 a,b), è data, oltre che dai fenomeni di atrofia transneurone tipo Gudden, da quegli *experimenta naturae* che sono le c.d. «malattie abiotrofiche». Tali malattie, che sono molto verosimilmente da rapportare a deficit enzimatici genetici (Martin *et al.*, 1968; Guazzi e v. Bogaert, 1969), sono caratterizzate, infatti, dalla degenerazione di interi sistemi funzionali: così il sistema olivo-ponto-cerebellare (atassia di Menzel), le vie spino-cere-

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia Comparata «G. B. Grassi» e nella I Clinica di Malattie nervose e Mentali dell'Università di Roma.

(**) Nella seduta dell'11 gennaio 1975.

bellari (m. di Friedrich), etc. (cfr. Greenfield, 1971). Prossimo a questo concetto è quello della dimostrata maggiore vulnerabilità di determinati sistemi neurali (patoclisi secondo C. ed O. Vogt, 1922) di fronte a noxae particolari, presumibilmente riportabile alla vulnerabilità di speciali complessi enzimatici. È da riportare allo stesso ordine concettuale l'osservazione di uno di noi (Palladini, 1963) sul diverso modo di reagire all'ablazione del territorio periferico durante l'ontogenesi di centri motori cranici di significato morfologico differente.

Abbiamo ritenuto di particolare interesse, ai fini di questo tipo d'indagine, l'analisi del comportamento morfologico dei nuclei della base sottoposti direttamente all'azione di metalli pesanti; precedenti osservazioni, infatti, avevano dimostrato che l'introduzione stereotassica di minime quantità di rame in tali nuclei scatenavano un comportamento motorio particolare (Butcher e Fox, 1968), mentre l'introduzione intracranica di esso produceva la morte anche in dosi lievissime in animali a telencefalo formato quasi esclusivamente da centri omologabili agli striati, quali sono gli uccelli (Peters e Walshe, 1966).

MATERIALE E METODI

Sono stati utilizzati per l'esperienza ratti Wistar femmine del peso medio di 300 g. I ratti sono stati sottoposti ad inoculazione intratecale secondo la tecnica di Bignami e Palladini (1965) di ml 0,1 di soluzioni di:

- $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ allo 0,4% in acqua deionizzata (pH 4,68);
- HgSO_4 allo 0,0174% in acqua deionizzata;
- $\text{Pb} (\text{CH}_3\text{COO})_2$ allo 0,186% in acqua deionizzata (pH 5,90).

Gli animali sono stati sacrificati dopo 48 ore, gli encefali prelevati, fissati in formolo salato, inclusi in paraffina, sezionati al microtomo rotativo e colorati sec. Nissl alla tionina tamponata a pH 4,5 ed in emallume-eosina.

I nuclei encefalici sono stati riconosciuti e denominati secondo Craigie (1963).

Nella Tabella I è riassunto il protocollo sperimentale.

TABELLA I

	PIOMBO	RAME	MERCURIO
N. dei soggetti	5	13	10
Sopravvivenza a 48 h	4	4	2
Mortalità %	20	69	80

DESCRIZIONE DEI RISULTATI

a) *Animali inoculati al mercurio.*

La corteccia ed i nuclei della base del lato iniettato mostrano ampie aree necrotiche, con cellule granulo-grassose. Lesioni necrotiche appaiono anche a carico delle cellule del Purkinje, del mesencefalo e dell'ipotalamo dei due lati, prevalenti nel lato iniettato.

In conclusione, si osserva un danno grave e generalizzato, senza caratteri di specificità.

b) *Animali inoculati al piombo.*

Si osservano lesioni sia a carico degli astrociti che appaiono *swellings* (talora, come nella substantia reticularis mesencefalica, sovrapponibili a cellule di Alzheimer tipo II) sia a carico dei neuroni, *swellings*, vacuolizzati e con cromatolisi centrale; non lesioni della s. bianca.

Le lesioni appaiono sistematizzate a carico dei nuclei talamici e dei nuclei tegmentali mesencefalici (Tabella II).

TABELLA II

	RAME	PIOMBO
Nuclei olivari	+	o
Nucleo dentato del cervelletto	+	o
Nuclei del tegmento mesencefalico	o	+
Substantia grisea centralis	+	+
Nucleo rosso	+	o
Substantia nigra	+	o
Corpora genicolata medialis et lateralis	o	+
Nuclea thalamica:		
posterior	+	o
lateralis	+	+
paraventricolare e reuniens	o	+
Caudato	+	o
Globus pallidus	+	o
Putamen	+	o

c) *Animali inoculati al rame.*

Le lesioni appaiono ristrette ai soli neuroni (*swelling*, vacuolizzazione e cromatolisi centrale grave, Tav. I, fig. 1). Le lesioni appaiono nettamente sistematizzate a livello non solo dei nuclei della base, ma altresì di numerosi nuclei (Tabella II e Tav. I, fig. 2) appartenenti al sistema motorio extrapiramidale nel senso di Wilson (1914) (Calligaris, 1927; Delmas, 1970).

DISCUSSIONE

Le nostre indagini sperimentali confermano pertanto pienamente i dati surriportati della letteratura circa la peculiare sensibilità all'intossicazione cuprica degli striati ma l'ampliano, dimostrando come questa sensibilità si

estenda a diversi centri collegati con gli striati nell'ambito del sistema extrapiramidale; in più, le nostre osservazioni ci permettono di localizzare nei neuroni il punto di attacco del tossico; è verosimile che le alterazioni gliali, riscontrabili nella patologia spontanea, umana ed animale (McHowell *et al.*, 1974) e che sono riferibili ad alterazioni del metabolismo ossidativo gliale (Mossakowski *et al.*, 1970; Renkawek *et al.*, 1973), non compaiano nel nostro modello sperimentale per la rapida eliminazione del rame dopo la singola somministrazione (infatti, esse sono riscontrabili nel trattamento da piombo, metallo che notoriamente mostra una forte affinità per le guaine mieliniche anche *in vitro*, Pearse, 1972). Risultano così avvalorati i dati ricavati sia dalla patologia spontanea (malattia di Wilson, Lowenthal, 1958) che dalle nostre osservazioni nell'intossicazione sperimentale da azide sodica (Palladini *et al.*, 1973, 1974) in cui l'alto tasso di rame « libero » nel sangue, per deficit (rispettivamente congenito e provocato dall'azide) di potere cuprochelante della proteina di trasporto (ceruloplasmina) provoca un'impregnazione cuprica di tutto l'asse cerebrospinale con danneggiamento solo extrapiramidale. I saggi condotti con concentrazioni molecolari comparabili di altri metalli pesanti e valori di pH delle soluzioni non lontane dimostrano, con la sostanziale diversità di sistematizzazione dei quadri, che le alterazioni cupriche non sono inquadrabili fra i danni banali da tossici generici. Dai nostri esperimenti non risulta alcun segno morfologico di alterazione dell'ATPasi di membrana (Bignami e Palladini, 1966; Bignami *et al.*, 1967) il che rende poco verosimile l'ipotesi di Peters (1966) sul rapporto fra inibizione di quest'enzima e tossicità cuprica sul s.n.c.; è verosimile che questa peculiare sensibilità dei neuroni dello extrapiramidale debba riportarsi all'esistenza di un peculiare sistema enzimatico cupro-sensibile essenziale per queste cellule; è al momento solo oggetto di speculazione teorica i rapporti intercorrenti fra l'ipotetico sistema enzimatico e l'alto contenuto dei detti neuroni in enzimi cuprici (dopamin-beta-idrossilasi, tirosinasi).

BIBLIOGRAFIA

- BIGNAMI A. e PALLADINI G. (1965) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 38, 253.
BIGNAMI A. e PALLADINI G. (1966) - « Nature », 209, 413.
BIGNAMI A., PALLADINI G., APPICCIUTOLI L. e MACCAGNANI F. (1967) - « Acta Neuropath. », suppl. III, 119.
BUTCHER L. L. e FOX S. S. (1968) - « Science », 160, 1237.
CALLIGARIS G. (1927) - *Il sistema motorio extrapiramidale*, SAIES, Milano.
CRAIGIE' S. (1963) - *Neuroanatomy of the rat* (W. Zeman, J.R. Maitland Innes eds), Academic Press, New York.
DELMAS A. (1970) - *Voies et centres nerveux*, Masson, Paris.
D. CARLO V., HUBBARD J. e PATE P. (1973) - « J. Comp. neurol. », 152, 347.
FRIEDE R. L. (1966) - *Topographic brain chemistry*, Academic Press, New York.
GREENFIELD J. D. (1971) - In *Greenfield's neuropathology* (W. Blackwood *et al.* eds) Arnold, London, p. 581.
GUAZZI G. C. e v. BOGAERT L. (1969) - In *The structure and function of nervous system* (G. H. Bourne ed.), Academic Press, New York, v. 3, p. 383.

- HOFFMANN D. L. e SLADEK JR J. R. (1973) - « J. comp. Neurol. », 151, 101.
- KUHLENBECK H. (1970) - *The central nervous system of vertebrates*, Karger, Basel, v. 3, p. 90.
- LOWENTHAL A. (1958) - *Composition du cerveau en certains éléments minéraux et essai sur leur signification en pathologie*, « Acta Medica Belgica », Bruxelles.
- MARTIN L., MARTIN J. J., GUAZZI G. C., LOWENTHAL A. e MANIEWSKI J. (1968) - « J. Neurol. Sci. », 6, 217.
- MCHOWELL J., BLACKEMORE W. F., GOPINATH C., HALL G. A. e PARKER J. H. (1974) - « Acta Neuropath. », 29, 9.
- MOSSAKOWSKI M. J., RENKAWEK K., KRASNICKA Z., SMIALEK M. e PRONASZKO A. (1970) - « Acta neuropath. », 16, 1.
- PALLADINI G. (1963) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 33, 490.
- PALLADINI G., REITANO M. e VENTURINI G. (1973) - « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 54, 84.
- PALLADINI G., CONFORTI A., MEDOLAGO-ALBANI L., VENTURINI G. e REITANO M. (1974) - « Acta Neurol. (Napoli) », 29, 417.
- PEARSE A. G. E. (1972) - *Histochemistry*, Churchill, London, v. 2, p. 794.
- PETERS R. A. (1966) - In *The biochemistry of copper* (J. Peisach *et al.* eds.), Academic Press, New York, p. 175.
- PETERS R. A. e WALSHE J. M. (1966) - « Proc. Roy. Soc. London », B 166, 273.
- RENKAWEK K., KRASNICKA Z., MAIDECKI T. e MONAKOWSKI M. J. (1973) - « Acta Neuro-path. », 26, 107.
- STEFANELLI A. (1955 a) - « Scientia », 49, 1.
- STEFANELLI A. (1955 b) - « Ric. Sci. », 25, 2778.
- VOGT C. e VOGT O. (1922) - « J. Psych. Neurol. », 28, 1.
- WILSON S. A. K. (1914) - « Brain », 36, 427.

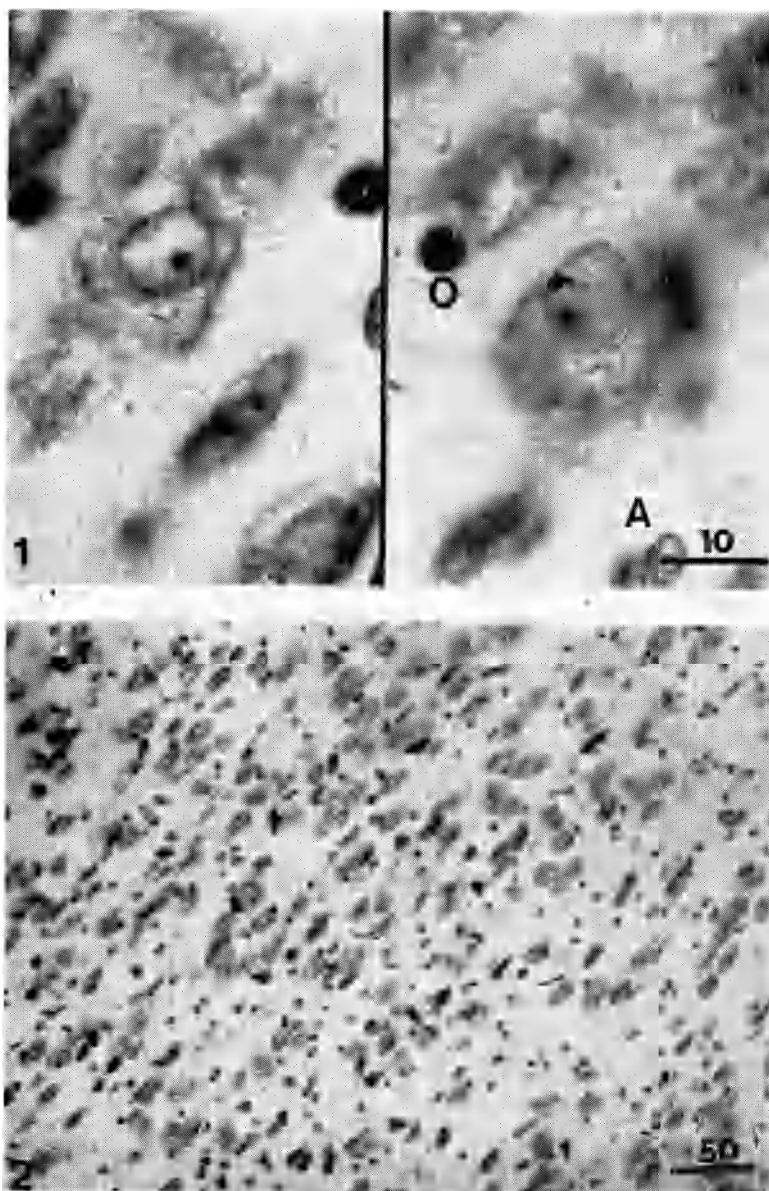


Fig. 1. - Nissl. Neuroni del globus pallidus di esemplari iniettati con solfato di rame. Notare la cromatolisi centrale e la vacuolizzazione citoplasmatica neuronale con integrità gliale (A = astroglia; O = oligodendroglia).

Fig. 2. - Nissl. Globus pallidus di esemplare trattato al solfato di rame a piccolo ingrandimento. Notisi la cromatolisi e la vacuolizzazione citoplasmatica di quasi tutti i neuroni presenti nel campo.