

ALTERAZIONI ISTOPATOLOGICHE A CARICO DELL'IPPOCAMPO IN RATTI TRATTATI CON DENDROTOSSINA- α

CALÒ M., MACRÌ B., *IANNONE M., *PALMA E. & *NISTICÒ G.

Istituto di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria

Facoltà di Medicina Veterinaria - MESSINA

* Dipartimento di Biologia "Tor Vergata" - ROMA

La Dendrotossina- α (Dtx- α) è un polipeptide del peso molecolare di 7.000 Da estratto dal veleno del serpente *Dendroaspis Angusticeps* (Dolly, 1991). La microinfusione di basse dosi di questa tossina per via intracerebrale produce, nel ratto, effetti epilettogeni che possono durare per diversi giorni (Bagetta *et al.*, 1992).

Studi di elettrofisiologia eseguiti su singole cellule nervose hanno dimostrato che la Dtx- α è un inibitore dei canali del potassio voltaggio-dipendenti. Questo meccanismo, unitamente all'effetto facilitante il rilascio dei neurotrasmettitori, sarebbe alla base della potente azione convulsionante della Dtx- α (Silveira *et al.*, 1988). E' stato inoltre recentemente dimostrato come tale tossina, microinfusa nell'ippocampo dorsale del ratto sia in grado di determinare crisi simil-epiletiche che originano a livello ippocampale e si propagano a livello della corteccia cerebrale (Bagetta *et al.*, 1992).

Scopo del presente lavoro è stato quello di caratterizzare meglio gli eventuali effetti neuropatologici della microinfusione di Dtx- α sia a livello intracerebroventricolare che dell'area CA1 dell'ippocampo dorsale nel ratto.

MATERIALI E METODI

Per il presente studio sono stati utilizzati ratti adulti Wistar (250-300 g). Gli animali sono stati impiantati con una cannula guida a livello dell'area CA1 dell'ippocampo o del terzo ventricolo cerebrale. A tale scopo gli animali sono stati anestetizzati con cloralio idrato (400 mg/kg; i.p.) e posizionati in un apparecchio stereotassico (D. Kopf Instr.). Le aree di interesse sono state raggiunte mediante l'uso di coordinate ricavate dall'atlante stereotassico di Paxinos and Watson (1982).

Dopo 48 ore dal termine delle procedure chirurgiche gli animali sono stati

posti individualmente in gabbie di plexiglass per circa trenta minuti e, successivamente, hanno ricevuto la microinfusione di soluzione fisiologica o di Dtx- α (35 pmol). La somministrazione intracerebrale è stata effettuata attraverso una microcannula posizionata in modo da sporgere di 1 mm oltre l'estremità ventrale della cannula guida e collegato, attraverso un tubo di polietilene, ad una siringa Hamilton. Tutti gli animali hanno ricevuto lo stesso volume (1 μ l) di solvente o di Dtx- α .

Una settimana dopo la somministrazione gli animali sono stati nuovamente anestetizzati e perfusi, attraverso l'aorta ascendente con soluzione fisiologica (100 ml; 0.9% NaCl) seguita da 400 ml di formalina 10% tamponata (pH 7.4). I cervelli sono quindi stati processati con le normali tecniche istologiche; le sezioni coronali (10 μ m di spessore) sono state quindi colorate con il metodo di Nissl (Cresil Violetto) e con la procedura istochimica per l'acetilcolinesterasi.

L'analisi morfometrica per la conta cellulare e la misurazione degli assoni è stata eseguita mediante un analizzatore computerizzato di immagini (Mod. IBAS 2000).

RISULTATI E CONCLUSIONI

La somministrazione di Dxt- α a livello dell'area CA1 dell'ippocampo ha determinato una significativa diminuzione del numero delle cellule neuronali sia a livello del sito di iniezione che delle aree CA3 e CA4 ippocampali. La neurotossicità della Dxt- α è dovuta, probabilmente, al blocco dei canali del potassio.

Al contrario, la somministrazione di Dtx- α a livello del terzo ventricolo cerebrale non ha dato luogo ad alcun effetto neuropatologico. Tuttavia, è stato possibile mettere in evidenza, al contrario, un significativo aumento del numero di fibre colinergiche a livello ippocampale.

Ulteriori indagini sperimentali sono necessarie allo scopo di caratterizzare meglio il meccanismo alla base delle variazioni morfologiche descritte.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Bargetta G., Nisticò G. & Dolly J.O. (1992) *Neurosci. Lett.* 139:34-40.
- 2) Dolly J.O. (1991) in: *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer, Berlin.
- 3) Paxinos G. & Watson C. (1982) *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Academic press, London.
- 4) Silveira R., Siciliano J., Albo V., Viera L. & Dajas F. (1988) *Toxicon* 26: 1009-1015.