

Acknowledgement: We wish to express our thanks to Prof. MELVIN CALVIN for his kind interest in this work.

IRVING GRAY¹, PATRICIA ADAMS, and HEINRICH HAUPTMANN²

Radiation Laboratory and Department of Chemistry,
University of California, Berkeley, May 15, 1950.

Zusammenfassung

Auf Grund von Versuchen über den Metabolismus der carboxyl- und methylsignierten Isobuttersäure im Stoffwechsel der Ratte wird ein Abbaumechanismus für diese Verbindung vorgeschlagen.

¹ Major, Medical Service Corps, United States Army.

² Rockefeller Fellow. While on leave from the Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Azione dei raggi X sul metabolismo degli acidi nucleinici in cellule proliferative e cellule secretive

Numerosissime sono le ricerche che da vari anni si sono svolte sull'azione dei raggi X sulla cellula vivente. In particolare sono state descritte le anomalie della mitosi e della meiosi e le alterazioni dei cromosomi.

Le indagini sono state condotte da un punto di vista principalmente morfologico, mentre il lato chimico è stato completamente trascurato. Solo il MITCHELL¹ trovò per effetto dell'irradiazione, un accumulo di ribonucleotidi nel citoplasma, dovuto, secondo la sua interpretazione, a mancata sintesi di acido desosiribonucleico (DN) a spese dell'acido ribonucleico (RN).

La presente ricerca ha avuto lo scopo di studiare non tanto le alterazioni morfologiche del nucleo, quanto quelle del metabolismo nucleinico, che è alla base della riproduzione cellulare; e contemporaneamente di indagare le modificazioni che subiscono cellule secretive non proliferative. Per tale ragione si è scelto come materiale il testicolo di *Asellus aquaticus*, che presenta il duplice vantaggio di essere conosciuto nel suo metabolismo nucleinico durante la spermatogenesi² e di essere fornito di cellule follicolari di rivestimento, delegate a secernere acido RN, e il cui nucleo poliploide presenta variazioni caratteristiche e bene identificabili, in relazione al ciclo di secrezione. In questo materiale si è quindi potuto studiare contemporaneamente l'azione dei raggi X su due tipi di cellule molto diverse, per struttura e per funzione.

I risultati generali indicano che le cellule irradiate subiscono profondi cambiamenti nel contenuto di acidi nucleinici; la sintesi dell'acido DN si arresta e questo ultimo si trasforma lentamente in acido RN, che la cellula successivamente espelle fin quando, rimasta completamente vuota di acidi DN e RN, muore. Tale trasformazione, benché con modalità lievemente diverse, avviene in entrambi i tipi di cellule studiate, proliferative e secretive.

Tecnica e osservazioni. Gli animali, narcotizzati con CO₂, venivano irradiati con una unica applicazione, con dosi variabili da 250 r a 5000 r, dati con apparecchio Gilardoni, senza filtro a 1030 r minuto.

Le gonadi venivano prelevate in tempi successivi a cominciare dalla venticattresima ora ed esaminate sia in sezione sia in preparati per schiacciamento con le seguenti colorazioni: FEULGEN, UNNA-PAPPENHEIM (secondo BRACHET), ematossilina ferrica, carminio acetico.

L'effetto ottenuto con le varie dosi è sostanzialmente lo stesso, solo con le dosi più alte esso è più intenso ed evidente e i nuclei di tutte le cellule si trasformano in breve in acido RN. Il meccanismo di azione appare identico e verrà descritto come unico.

Nella gonade si assiste ad una rapida scomparsa delle cellule germinali, mentre le cellule follicolari scompaiono

più lentamente. Dopo circa 63 giorni la gonade è ancora reperibile, benché il numero delle cellule sia ridottissimo.

Le spermatogonie appaiono a prima vista le meno colpite. Subito dopo l'irradiazione entrano ancora in mitosi, successivamente non sono più in grado di farlo. La mitosi appare normale fino alla metafase, dopo i cromosomi si contraggono e danno le caratteristiche figure della «stickiness». Il nucleo diviene picnotico e si trasforma lentamente in acido RN, che passa gradualmente nel citoplasma e di qui all'esterno. Le cellule goniali colpite durante la profase precoce si arrestano in metafase e degenerano; se colpite in metafase giungono fino alla anafase o telofase e poi degenerano come descritto precedentemente (fig. 2). Dopo i primi giorni le goni perdonano la capacità di entrare in mitosi e si impoveriscono gradualmente di acido DN: la cromatina appare prima positiva solo per l'acido RN e poi sprovista di entrambi gli acidi nucleinici.

Gli spermatociti entrano in meiosi solo nei primi due o tre giorni dopo l'irradiazione e appaiono piuttosto normali negli stadi di leptotene, zicotene, pachitene e diplotene. Nei giorni seguenti le alterazioni si manifestano già in questi stadi. Comunque dalla diacinesi inizia la «stickiness» e la degenerazione, analogamente a come già descritto, con la trasformazione di tutta la cromatina in acido RN.

Gli spermatidi tondi appaiono piuttosto anormali soprattutto nella forma, spesso a falce. Con le dosi basse si sono trovati pieni di granuli di acido RN e DN, il che fa pensare che forse provenivano da cellule colpite in telofase o all'inizio della loro trasformazione in spermatidi (fig. 5).

Gli spermatozoi rappresentano lo stadio apparentemente più colpito. Già dopo 24 ore gli spermatozoi immaturi, a bastoncello, presentano strozzamenti, rigonfiamenti, grosse vacuole e diminuita colorabilità sia in diverse zone dello stesso elemento sia in un intero elemento (fig. 4). Si trasformano poi lentamente in acido RN. Gli spermatozoi maturi con coda, si trasformano anch'essi lentamente in acido RN.

Le cellule di rivestimento presentano un ciclo di secrezione con quattro fasi nucleari caratteristiche e seriabili nel tempo perché corrispondono strettamente alle diverse fasi della spermatogenesi. Le fasi sono: una di elaborazione, una di secrezione e due di riposo. Dopo l'azione dei raggi X le cellule continuano il loro ciclo, non vengono cioè bloccate in qualche stadio come le cellule proliferative. Esse però si impoveriscono gradualmente di acido DN e iniziano una intensissima secrezione di acido RN in tutti gli stadi del loro ciclo (fig. 1), anche in quelli che, come struttura, corrispondono agli stadi di riposo (fig. 3 e 6). Nel periodo successivo oltre alla secrezione, si nota la trasformazione dell'intero nucleo in acido RN, che si frammenta in masserelle più piccole le quali vengono espulse. Le cellule continuano il loro ciclo e muoiono quando sono completamente prive di acidi nucleinici.

Discussione. Dai dati riportati è possibile concludere che l'azione dei raggi X consiste essenzialmente in una alterazione del metabolismo nucleinico: cioè una alterazione della sintesi di acido DN e dell'equilibrio acido DN-RN.

Si può pensare che l'irradiazione produce anzi tutto arresto di sintesi di acido DN: infatti le cellule irradiate in riposo, quando cioè deve avvenire la sintesi dei nuovi cromatidi, non entrano in mitosi oppure danno luogo a mitosi anormali, che si bloccano poi in metafase.

Oltre a questo effetto ne compare un'altro: trasformazione dell'acido DN in acido RN. Il fenomeno è gene-

¹ J. S. MITCHELL, Brit. J. Exp. Path. 23, 285 (1942).

² G. MONTALENTI, G. VITAGLIANO e M. DE NICOLA, Heredity, 4, 75 (1950).

rale. Le gonie a riposo trasformano lentamente la loro cromatina in acido RN: ecco perchè dopo un certo tempo perdono la capacità di entrare in mitosi. I nuclei bloccati si trasformano in acido RN. Gli spermatozoi immaturi e maturi si trasformano in acido RN. I nuclei follicolari poliploidi secernono un eccesso di acido RN,

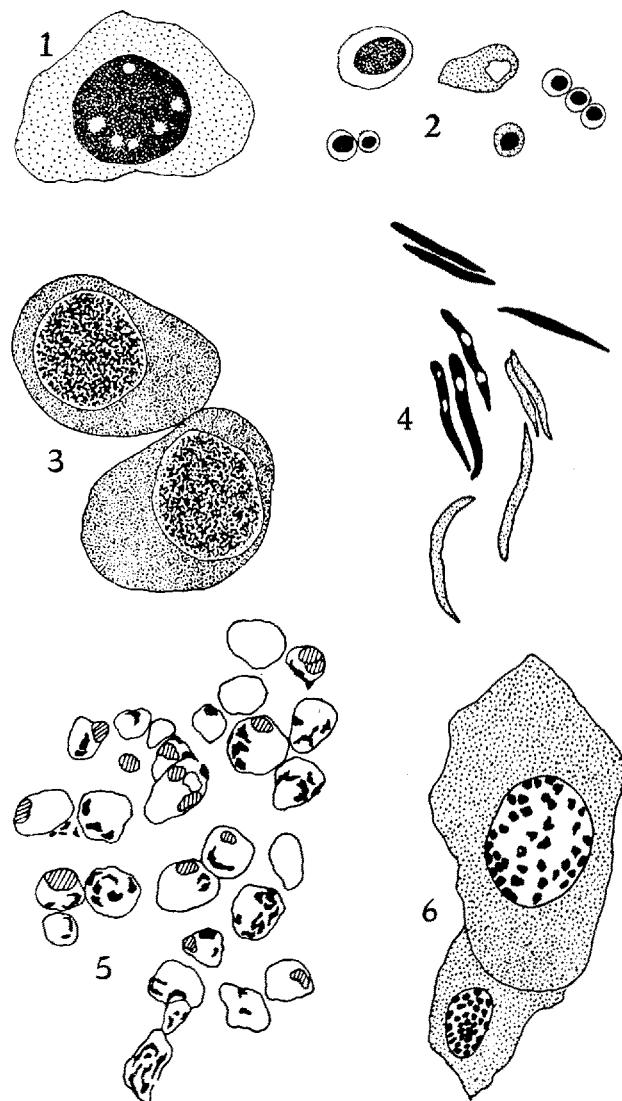


Fig. 1. - Trattamento: 3000 r. Cellula follicolare con nucleo in fase contratta, vacuoloso e in via di trasformazione in acido RN; citoplasma contenente una certa quantità di acido RN (746 x).

Fig. 2. - Trattamento: 3000 r. Cellule germinali con nuclei «sticky», costituiti di acidi DN e RN. In alto due cellule follicolari, una con nucleo costituito interamente di acido RN, l'altro già esausto (746 x).

Fig. 3. - Trattamento: 500 r. Cellule follicolari con intensa secrezione di acido RN, pur essendo la struttura dei nuclei corrispondente alla fase di riposo (fase 1) (710 x).

Fig. 4. - Trattamento: 250 r. Spermatozoi a bastoncello, vacuolosi e alcuni con diminuita colorabilità (2240 x).

Fig. 5. - Trattamento: 500 r. Spermatidi tondi con granuli di acido DN (nero) e di acido RN (tratteggiato) (710 x).

Fig. 6. - Trattamento: 500 r. Cellule follicolari con intensa secrezione di acido RN, pur essendo la struttura dei nuclei corrispondente alla fase di riposo (fase IV) (710 x).

e non soltanto nella fase caratteristica, fino a trasformarsi completamente in esso. Poichè gli spermatozoi, elementi piuttosto poveri di enzimi e prodotti finiti dal punto di vista metabolico, si trasformano così rapidamente in acido RN, si può pensare che l'azione dei raggi X sia essenzialmente specifica sugli acidi nucleinici come tali e non su sostanze intermedie o regolatrici del loro metabolismo.

Occorre tener presente che le cellule secrettrici, pur trasformandosi in acido RN, continuano il loro ciclo. La loro alterazione appare quindi essenzialmente nel metabolismo degli acidi nucleinici. La «stickiness», il blocco delle cellule proliferative, appare dunque esser un effetto secondario dell'alterato metabolismo nucleinico.

MARINA DE NICOLA

Centro di biologia del Consiglio Nazionale delle Ricerche presso la Stazione Zoologica Napoli, 8 giugno 1950.

Summary

The action of X-rays on the metabolism of nucleic acids in proliferative and secretory non-proliferative cells has been investigated. X-rays determine a stop of DNA synthesis and a conversion of DNA into RNA. All germ cells, including spermatozoa, show this effect, and the same is true for the follicular secretory cells. The germ cells are blocked at different stages of mitosis or meiosis. On the contrary, the follicular cells continue their characteristic secretory cycle, until they are entirely deprived of both nucleic acids and eventually die.

The conclusion is drawn that the action of X-rays is essentially specific for the nucleic acids as such, and not for some intermediate substance of their metabolism, and that stickiness, metaphasic block, and chromosome abnormalities are probably a secondary effect of this action.

Azione di sostanze ad azione antistaminica sulla intossicazione sperimentale da Tiramina e da Tirosina

È stato osservato che, somministrando Tiramina con la dieta, si produce una diarrea fatale nei ratti piccoli e che la suscettibilità a queste amine sparisce con l'età (GALE¹). Anche una dieta che contenga dal 3 al 20% di Tirosina libera è altrettanto tossica (SULLIVAN *et al.*²) probabilmente per il fatto che si forma Tiramina per ossidazione della Tirosina nei reni (MARTIN³).

L'azione della Tiramina su una mucosa intestinale che non ha la capacità di inattivarne l'azione tossica o perchè non contiene l'enzima adatto, animali molto giovani (EPPS⁴), o perchè l'attività della ammina ossidasi è stata bloccata, produce fenomeni di congestione con iperemia vascolare ed aumento della permeabilità capillare e di ipercinesi (GALE¹), agisce cioè come un purgante drastico.

È stato osservato che la sostanza attiva tissulare che condiziona la congestione dei vasi e l'aumento della permeabilità capillare della mucosa intestinale quale si ha per azione di un purgante drastico, è l'istamina: l'inibizione dell'azione dell'istamina, ottenuta per somministrazione degli antistaminici di sintesi, inibisce l'azione del purgante (ERSPAMER e PAOLINI⁵). Si è voluto quindi sperimentare se anche l'azione della Tiramina e della Tirosina viene inibita dagli antistaminici.

¹ E. F. GALE, Chem. Ind. 19, 721 (1941).

² M. X. SULLIVAN, W. C. HESS e W. H. SEBRELL, Publ. Health Pap. Wash. 4783 (1932).

³ G. J. MARTIN, Arch. Biochem. 1, 937 (1942).

⁴ H. M. R. EPPS, Biochem. J. 39, 37 (1945).

⁵ V. ERSERAMER e A. PAOLINI, Arch. Int. pharmacodin. 11, 77, 415 (1948).