

formations structurales que peuvent subir les protéines sous l'influence des fixateurs. En conclusion notre étude doit surtout engager à la prudence quant à la précision qu'on peut attendre du microscope électronique dans le cas tout au moins de populations granulaires aussi fragiles que les nôtres.

B. RYBAK¹ et M. BRICKA

Centre national de la Transfusion sanguine, Institut Pasteur, Paris, le 8 mars 1952.

Summary

Heteropolar proteic systems of which the anisotropy, determined by means of streaming birefringence technique, can be compared with that of myosinic systems, appear in the electronic microscope, not like filaments but like granules, more or less elliptic, and two of these are often in coaxial bonds. Osmic fixation seems to favour these coaxial linkages with appearance of short filamentations.

¹ Adresse actuelle: Institut Wenner Gren, Stockholm (Suède).

Aspetti strutturali dell'actina studiata al microscopio elettronico nella distrofia muscolare da avitaminosi E

Lo studio delle proteine muscolari, ed in particolare dell'actina, al microscopio elettronico è stato realizzato con tecniche varie da JAKUS e HALL¹, da PERRY e REED², da ROSZA, SZENT-GYÖRGYI e WYCKOFF³.

In una serie di ricerche comparative, sia sulla struttura submicroscopica delle fibre muscolari desumibile dalle osservazioni al microscopio polarizzatore⁴, sia sul comportamento quantitativo⁵ e qualitativo⁶ delle proteine contrattili (actomiosina, miosina, actina), in conigli normali ed in avitaminosi E, abbiamo avuto l'opportunità di eseguire alcuni rilievi sul comportamento dell'actina osservata al microscopio elettronico.

Nostre precedenti osservazioni⁵ ci avevano permesso di stabilire che in conigli in avitaminosi E, la quantità di miosina estraibile va man mano diminuendo con il progredire della distrofia muscolare. Negli stadi avanzati e gravissimi della avitaminosi, ormai non più reversibili, la miosina non compare più negli estratti, mentre l'actina, ottenuta in forma globulare (forma G), non è più suscettibile di attivarsi, cioè di trasformarsi in actina filamentosa (forma F) in presenza di KCl, di NaCl, di LiCl, di NaI. Quest'ultimo fenomeno è stato da noi rilevato mediante lo studio della birifrangenza di flusso⁶.

Nelle presenti ricerche i preparati sono stati allestiti da soluzioni adeguatamente diluite di actina G e della stessa trattata con KCl o LiCl. Essi sono stati «ombrati» con cromo o con oro. L'actina proveniva sia da muscoli di conigli normali, sia da muscoli di conigli in vario grado di distrofia. Le osservazioni sull'actina F sono state condotte in tutti gli esperimenti con le stesse modalità di attivazione (tempo, sostanza attivante).

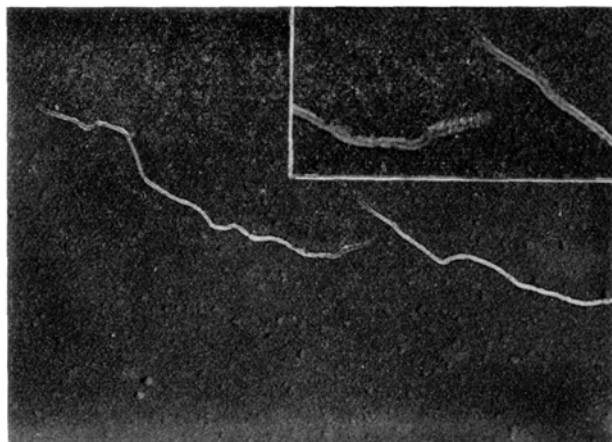


Fig. 1. Actina F di coniglio normale. Ingrandimento, 18000 $\times$. Ingrandimento del particolare, 39000 $\times$.

Le osservazioni sono state eseguite col microscopio elettronico dell'Istituto superiore di Sanità in Roma all'ingrandimento di 18000 $\times$. I reperti sono stati registrati in oltre 60 microfotografie.

I risultati possono venire riassunti come segue:

1° L'actina G estratta da muscoli di conigli normali appare sotto forma di globuli irregolari di dimensioni diverse, di solito però piuttosto piccole.

2° L'actina estratta da conigli normali ed attivata con KCl o con LiCl rivela una struttura tenuemente filamentosa per aggregazione lineare di globuli minuti, in accordo con i rilievi di ROSZA, SZENT-GYÖRGYI e WYCKOFF¹. Detti filamenti dimostrano inoltre la tendenza ad appaiarsi per un processo di aggregazione laterale, derivandone filamenti più grossolani.

3° Quest'ultimo reperto chiarisce le osservazioni di PERRY e REED², secondo le quali l'attivazione dell'actina con KCl determina la formazione di filamenti più larghi di quelli ottenuti per attivazione mediante abbassamento del pH, seguendo la tecnica adottata da JAKUS e HALL³.

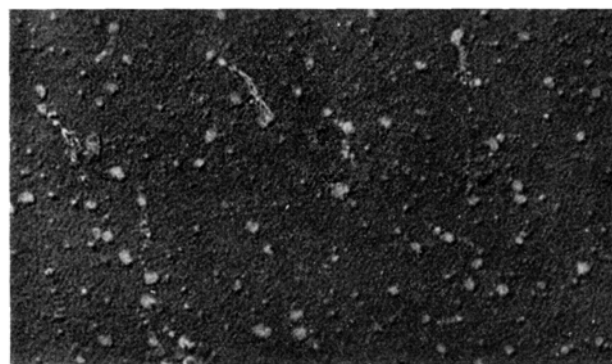


Fig. 2. Actina G di coniglio gravemente distrofico trattata con LiCl. Aggregazione difettosa di brevi filamenti sparsi tra abbondanti globuli grossolani ed irregolari. Ingrandimento, 18000 $\times$.

4° L'actina G preparata da conigli tenuti a dieta priva di vitamina E, sacrificati in stadi avanzati e non più reversibili della distrofia muscolare, si caratterizza per

¹ M. A. JAKUS e C. E. HALL, J. Biol. Chem. 167, 705 (1947).

² S. V. PERRY e R. REED, Biochim. biophys. Acta 2, 674 (1948).

³ G. ROSZA, A. SZENT-GYÖRGYI e R. W. G. WYCKOFF, Biochim. biophys. Acta 3, 561 (1949).

⁴ M. ALOISI, A. ASCENZI e E. BONETTI, J. Path. Bact. (in stampa).

⁵ E. BONETTI, M. ALOISI e P. MERUCCI, Exper. 8, 69 (1952).

⁶ M. ALOISI, A. ASCENZI e E. BONETTI, Biochim. biophys. Acta (in stampa).

¹ G. ROSZA, A. SZENT-GYÖRGYI e R. W. G. WYCKOFF, Biochim. biophys. Acta 3, 561 (1949).

² S. V. PERRY e R. REED, Biochim. biophys. Acta 2, 674 (1948).

³ M. A. JAKUS e C. E. HALL, J. Biol. Chem. 167, 705 (1947).

la struttura a globuli irregolari e grossolani, di dimensioni superiori a quelle dell'actina G estratta da conigli normali.

5° La stessa actina trattata con KCl e con LiCl denuncia, in armonia con la constatazione della mancata birifrangenza di flusso¹, una quota molto elevata e talora (negli stadi avanzati della distrofia) esclusiva di aggregati globulari (del tipo actina G). Quando sono presenti forme filamentose, queste sono caratterizzate da una notevole brevità e da una spiccata o totale difficoltà di appaiamento.

Le presenti osservazioni permettono di concludere che negli stadi avanzati della distrofia muscolare da avitaminosi E del coniglio l'actina subisce alterazioni tali da difficoltarne o addirittura annullarne la capacità di aggregazione lineare e laterale, qualora venga trattata con KCl o con LiCl.

Desideriamo esprimere il nostro vivo ringraziamento al Prof. MAROTTA, Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità, per l'ospitalità concessaci. Al Prof. TRABACCHI ed ai suoi Collaboratori vada, in particolare, l'espressione della nostra riconoscenza per l'assistenza tecnica prestataci.

M. ALOISI, A. ASCENZI e E. BONETTI

Dal Centro per lo Studio della Fisiopatologia del Consiglio nazionale delle Ricerche, presso l'Istituto di Patologia generale, Università di Roma, e dall'Istituto di Anatomia patologica, Università di Roma, Marzo 3, 1952.

Summary

Actin F from normal muscles is seen under the electron microscope as single filaments which tend to aggregate in couples side by side. These single filaments are themselves built up of a linear series of minute globular elements lying end to end.

In muscular dystrophy of E avitaminosis, the capacity for linear association of actin globules, and particularly the side-by-side aggregation of single filaments, is markedly impaired or suppressed.

¹ M. ALOISI, A. ASCENZI e E. BONETTI, *Biochim. biophys. Acta* (in stampa).

Modifications de l'action antithyroïdienne de l'extrait de thymus chez le cobaye irradié aux rayons X

Dès les premières études de l'action des rayons X sur le thymus, il a été signalé¹ que le thymus irradié semble évoluer en deux temps. Dans les premiers jours après l'irradiation les lymphocytes sont détruits en grand nombre et digérés par des macrophages. Par la suite et pendant assez longtemps, le thymus montre une image très différente. Les pycnoses ont disparu; les mitoses sont particulièrement nombreuses et il y a de très nombreux petits corpuscules de HASSALL jeunes. Cependant, pendant assez longtemps, la régénération de l'organe n'est pas achevée: la limite entre la corticale et la médullaire reste effacée. Ces constatations, faites à la suite de l'irradiation directe et limitée du thymus, ont été retrouvées par BLOOM² à la suite de l'irradiation de l'animal

entier. D'après BLOOM, 40 jours après l'irradiation le thymus du cobaye montre toujours cette image.

Cette même image (limite effacée entre les deux zones, mitoses nombreuses, nombreux petits corpuscules de HASSALL jeunes) a été observée¹ chez le cobaye à la suite d'injections répétées de thyroxine à des doses dépassant la limite supérieure de l'action antithyroïdienne du thymus². On peut donc se demander si, chez l'animal irradié, cette image n'était pas également l'expression d'une baisse de l'efficacité de l'hormone thymique.

Expérience: Cobayes mâles, thymithyréoprives castrés, irradiés à l'aide d'un appareil Siemens-Halske; distance focale 45 cm; distance entre le tube et l'animal 40 cm; tension primaire 160 V; intensité 10 mA; champ 20/24 cm; filtre de 1 mm de cuivre; dose de rayons 100 à 400 r³. Par la suite, à des délais variés les animaux reçoivent des injections de 10 γ de thyroxine pour 100 g de poids vif et de quantités variables d'extrait de thymus de BEZSSONOFF et COMSA². Nous avons déterminé la dose d'extrait qui, injectée simultanément avec 10 γ de thyroxine à 4 cobayes thymithyréoprives castrés supprime chez tous les quatre l'augmentation du taux d'excrétion de créatine entre 24 et 48 h après l'injection. Les résultats sont résumés dans le tableau.

Quantités suffisantes d'extrait de thymus (BC 31) pour supprimer l'effet de 10 γ de thyroxine sur la créatinurie des cobayes thymithyréoprives castrés traités aux rayons X

Jours écoulés depuis l'irradiation	Dose efficace d'extrait de thymus (unités-cobaye par 100 g de poids vif) après:				
	200 r	250 r	300 r	350 r	400 r
2	70	100	130	155	200
7	40	53	70	82	110
9	—	—	54	—	—
12	22	28	33	39	60
14	—	—	23	—	—
16	12	12	—	14	26
17	—	—	12	—	—
18	10	—	—	—	16
20	10	10	10	10	—
22	—	—	—	—	10

Il résulte de ce tableau que l'exposition aux rayons X augmente notablement la dose d'extrait de thymus nécessaire pour supprimer l'effet d'une quantité donnée de thyroxine (en d'autres termes, elle diminue l'efficacité de l'extrait). Cet effet diminue avec le temps et disparaît en une vingtaine de jours environ. Pendant ces 20 jours, la diminution de l'effet des rayons X suit une courbe continue.

En exprimant la dose de rayons X en unités de 50 r⁴, on peut proposer la formule empirique suivante pour cette variation:

$$0,1 (r - 2) t^2 - 3,8 (r - 2) t + 37 (r - 2) + 10 = X_t,$$

où r est la dose de rayons X (en unités de 50 r);
 t le temps en jours;

X_t la dose de thymus suffisante pour annuler 10 γ de thyroxine chez des cobayes irradiés depuis t jours.

Cette formule postule que la dose de 100 r (soit 2 unités de 50 r) n'a pas d'effet sur l'efficacité de l'extrait de

¹ H. RUDBERG, *Arch. Anat. Physiol. Anat. Abt., supp.* 1907, 123. — C. AUBERTIN et E. BORDET, *C. r. Soc. Biol.* 66, 1091 (1909). — C. REGAUD et C. CREMIEUX, *C. r. Soc. Biol.* 72, 253 (1912).

² W. BLOOM, *Histopathology of irradiation* (McGraw-Hill Co., New York 1948).

¹ J. COMSA, *Ann. Endocrin.* 12, 230 (1951).

² J. COMSA, *C. r. Acad. Sci.* 228, 2061 (1949); *Amer. J. Physiol.* 166, 550 (1951).

³ Ceci uniquement pour faciliter les calculs, en évitant les fractions et les rangées trop longues de zéros.

⁴ Ceci uniquement pour faciliter les calculs, en évitant les fractions et les rangées trop longues de zéros.