

grenzt ist, ein den Forderungen der aeroben Atmung entsprechender Sauerstoffzustrom nicht gesichert werden, was zur Einschränkung der aeroben Atmung führt, die eine Voraussetzung für das Streckungswachstum ist. Im Zusammenhang damit entstehen im Stoffwechselverlauf Änderungen, die in der Bildung der Hemmstoffe und in Lipoidanhäufung in den Grenzschichten des Plasmas resultieren, wodurch Wachstumseinstellung und Ruheeintritt verursacht werden. Solche Änderungen des Stoffwechselverlaufes können aber nicht bei ausgeruhten Vegetationspunkten hervorgerufen werden, obgleich sie dieselben Sauerstoffdiffusion begrenzenden, einhüllenden Strukturen besitzen. Gewisse Beobachtungen lassen vermuten, dass die Leistungsfähigkeit der enzymatischen Systeme, der sogenannten Atmungsketten, welche die Übertragung des Wasserstoffes bzw. der Elektronen von den reduzierten Pyridinnukleotiden (DPNH, TPNH) und Dehydrasen auf den molekularen Sauerstoff vermitteln, bei jungen meristematischen Zellen merklich geringer ist als bei den ausgeruhten. Die oben erwähnten Stoffbildungen können bei hohen Temperaturen offenbar nur durch Zusammenwirken beider Umstände zustande kommen. Allem Anschein nach be-

grenzen die bei hohen Temperaturen entstehenden Hemmstoffe die Wasserstoffübertragung in jungen meristematischen Zellen noch mehr. Allerdings kann die Leistungsfähigkeit der erwähnten Übertragungssysteme bei hohen Temperaturen, so lange sie nicht zu hoch liegen, auch in jungen meristematischen Zellen, zum Beispiel denen vieler Knospen, durch eine hinreichend lange tägliche Lichtperiode mehr oder weniger lange auf einem Niveau erhalten werden, bei welchem das Streckungswachstum fortauern kann und Ruheeintritt unmöglich ist. Es scheint möglich zu sein, dass dabei Wuchsstoffwirkung von Bedeutung ist. Im Laufe der Nachruhe werden die oberflächlichen Lipoidanhäufungen des Plasmas aufgelöst, und die Wasserstoffübertragung auf molekularen Sauerstoff wird immer mehr durch viel effektivere Systeme übernommen. Eine Zunahme des Sauerstoffverbrauches steigert offenbar auch die Geschwindigkeit der Sauerstoffdiffusion. Völlig ausgeruhte Vegetationspunkte sind in viel weiteren Temperaturgrenzen wachstumsfähig und können durch die Wirkung hoher Temperaturen nicht mehr in Ruhe versetzt werden. Das Streckungswachstum tritt bei ihnen unabhängig von der Tageslänge ein.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Inhibition par le phényléthylacétate et le phényléthylpropionate de la formation des radicaux acétyles actifs

Dans l'étude thérapeutique de l'action hypocholestérolémiant de l'acide phényléthylacétique COTTET, MATHIVAT et REDEL¹ suggèrent que ce médicament agit en bloquant le coenzyme A nécessaire aux réactions d'acétylations qui aboutissent à la formation du cholestérol.

Nous avons étudié l'action des acides phényléthylacétique (PEA) et phényléthylpropionique (PEP) sur la formation de l'acétyl-coenzyme A, qui est un intermédiaire important dans la synthèse du cholestérol.

Dans les organismes supérieurs, on connaît deux réactions principales formatrices d'acétyl-coenzyme A, selon que le substrat est l'acétate ou le pyruvate. La réaction utilisant l'acétate a été trouvée par LIPMANN et KAPLAN² dans le foie de pigeon, celle utilisant le pyruvate par GREEN et coll.³ dans le muscle pectoral de pigeon. Notre étude a porté sur l'une et l'autre réaction.

I. *Cas de l'acétate.* L'enzyme de foie de pigeon forme de l'acétyl-coenzyme A à partir du mélange acétate ATP

coenzyme A; son activité est déterminée en mesurant l'acétylation du p-aminophenylsulfamide⁴. Le phényléthyl-

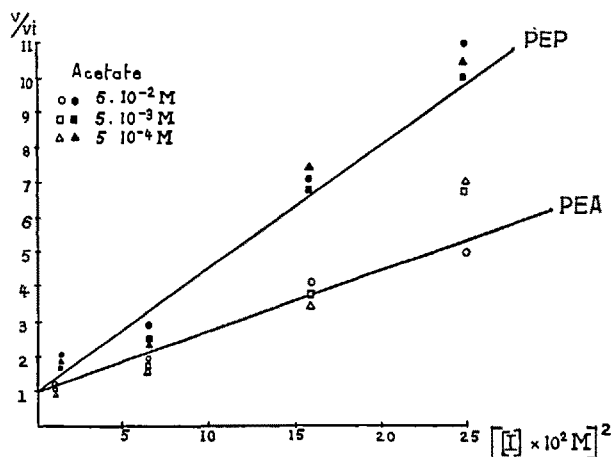


Fig. 1.

acétate⁴ et le phényléthylpropionate sont des inhibiteurs de cette réaction.

¹ J. REDEL et J. COTTET, C. r. Acad. Sci. 236, 2553 (1953). - J. COTTET, A. MATHIVAT et J. REDEL, Presse Méd. 62, 939 (1954).

² N. O. KAPLAN et F. LIPMANN, J. biol. Chem. 174, 37 (1948).

³ P. K. SRUMPF, K. ZARUDNAYA et D. E. GREEN, J. biol. Chem. 167, 817 (1947).

⁴ S. GARATTINI, C. MORPURGO et N. PASSERINI, Giorn. ital. chem. Ter. 2, 60 (1955).

A. *Influence de la concentration en acétate.* Les résultats de l'inhibition, calculés selon la méthode de LINEWEAVER et BURK⁵, sont portés sur la figure 1.

Mélange réactionnel: extrait de foie de pigeon: 0,25 ml, bicarbonate de sodium: 80 μ M, chlorhydrate de cystéine: 10 μ M, coenzyme A: 2 unités, ATP: 4 μ M, citrate de sodium: 20 μ M, sulfamide: 60 μ g, les concentrations en acétate de sodium sont respectivement: $5 \cdot 10^{-2}$ M, $5 \cdot 10^{-3}$ M, $5 \cdot 10^{-4}$ M, celles en inhibiteurs varient entre $1 \cdot 10^{-2}$ M et $5 \cdot 10^{-2}$ M, volume final: 1,03 ml. Temps d'incubation: 2 h. Température: 37°.

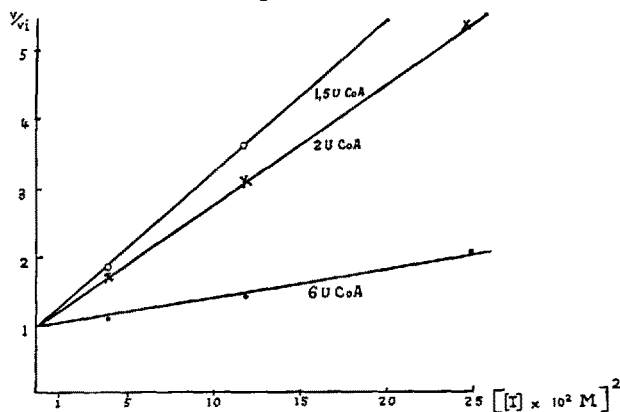


Fig. 2.

Figure 1 montre que les deux composés exercent une inhibition du type non compétitif pour l'acétate et que deux molécules d'inhibiteurs se combinent à une molécule d'enzyme.

B. *Influence de la concentration en coenzyme A.* Les figures 2 et 3 montrent que dans ce cas, l'inhibition est du type compétitif.

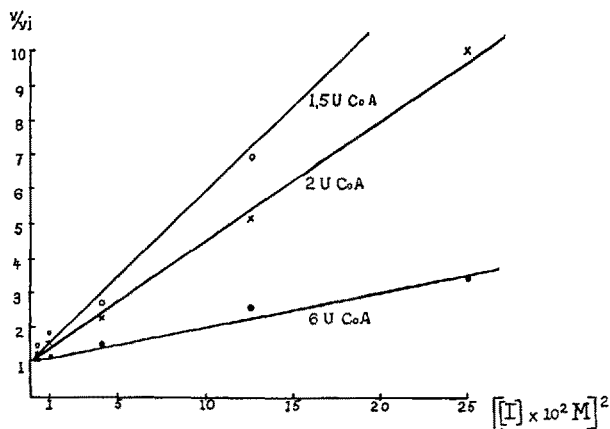


Fig. 3.

Le mélange réactionnel et les conditions expérimentales sont les mêmes que dans l'expérience précédente. La concentration en coenzyme A varie entre 1,5 et 6 unités, et celle des inhibiteurs est comprise entre $0,5 \cdot 10^{-2}$ M et $5 \cdot 10^{-2}$ M.

II. *Cas du pyruvate.* L'oxydase pyruvique, qui en présence de coenzyme A forme de l'acétylcoenzyme A, peut être étudiée en absence de coenzyme en mesurant le dégagement de CO_2 correspondant à l'oxydation du pyruvate en acide acétique⁶.

Le phényléthylacétate et le phényléthylpropionate sont des inhibiteurs de l'oxydation du pyruvate. L'inhibition est également du type non compétitif pour le substrat ainsi que le montre la figure 4.

Technique de Warburg. Atmosphère: CO_2 . Température: 37°. Mélange réactionnel: extrait purifié de muscle de pigeon: 20 unités, bicarbonate de sodium: 50 μ M, chlorure de magnésium: 20 μ M, cocarboxylase: 200 μ g, ferricyanure de potassium: 100 μ M, volume final: 3 ml. Les concentrations en pyruvate de sodium varient de $1,7 \cdot 10^{-3}$ M à $3,4 \cdot 10^{-2}$ M, celles en inhibiteurs sont de $2,5 \cdot 10^{-2}$ M et $5 \cdot 10^{-2}$ M.

Dans ce cas, seulement une molécule d'inhibiteur se combine à une molécule d'enzyme.

Discussion. Nous avons vérifié que des produits voisins, le benzoate et le phénylacétate de sodium n'inhibent pas l'acétylation du sulfamide et n'ont qu'une légère influence sur l'oxydase pyruvique. L'inhibition observée est donc liée à la structure même des composés étudiés.

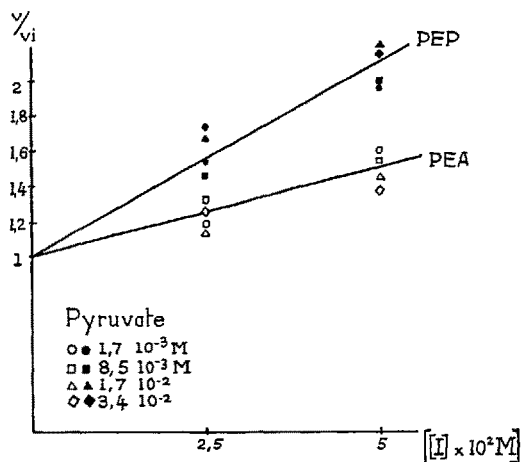


Fig. 4.

Le mode d'inhibition de la formation de l'acétylcoenzyme A à partir d'acétate, d'ATP et de coenzyme A, montre que les inhibiteurs ne sont pas de faux métabolites; ils semblent agir en empêchant la formation du complexe apoenzyme-coenzyme A. Bien que nous ayons travaillé avec un système complexe, on peut affirmer que l'action porte sur l'inhibition de la formation d'acétylcoenzyme A et non sur le transport du groupe acétyle sur le sulfamide. En effet, lorsque le système contient 3 unités de coenzyme A, il est pratiquement saturé. Si l'inhibition portait sur le transfert du groupe acétyle, on ne comprendrait pas que, pour une même concentration en inhibiteurs, l'inhibition soit moins forte en ajoutant davantage de coenzyme A.

Enfin l'inhibition de l'oxydase pyruvique prouve que les composés étudiés agissent également dans une réaction indépendante du coenzyme A; dans ce cas l'inhibition est aussi non compétitive pour le substrat.

En conclusion les deux principales réactions aboutissant, dans les tissus des animaux supérieurs, à la formation de groupes acétyles actifs, sont inhibées par le phényléthylacétate et le phényléthylpropionate. Au point de vue thérapeutique, le caractère non compétitif pour le substrat de l'inhibition est important, puisqu'elle se manifeste indépendamment de la concentration cellulaire en acétate ou en pyruvate.

Note. Au moment de la correction des épreuves, nous avons pris connaissance du travail de C. A. Rossi et F. SANGUINETTI, Giorn. Bioch. 4, 240, 385 (1955), où ces

⁵ H. LINEWEAVER et D. BURK, J. Amer. chem. Soc. 56, 658 (1934).

⁶ V. JAGANNATHAN et R. S. SCHWEET, J. biol. Chem. 196, 551 (1952).

auteurs montrent que le PEA est inhibiteur de la réaction d'acétylation du sulfamide, que le CoA reverse cette inhibition, qui est du type non compétitif pour l'acétate.

G. MILHAUD et J.-P. AUBERT

Laboratoires des Isotopes, Institut Pasteur, Paris, le 2 décembre 1955.

Summary

In tissues of higher animals the two principal reactions which lead to the formation of active acetyl are inhibited by phenylbutyrate and phenylvalerate. The non competitive nature of the inhibition is important from the chemotherapeutic point of view; the inhibition is independent of the intracellular acetate or pyruvate concentration.

energy is absorbed by the body of the mouse. Figure 1 gives the calibration curves at different amplifier gains obtained with the help of precision thermometers. Theoretically 5×10^6 to 1×10^8 r/min should produce a temperature rise of several degrees in 1 min. According to the graphs the temperature increased approximately 0.3 to 0.7°C in 1 min.

Temperature Measurements on Mice Irradiated with Very High X-Ray Intensities

A certain dependency of average survival time of mice from high X-ray intensities has been observed by various authors¹. RAJEWSKY² reports on findings with high intensity irradiation that the animals died during the exposure or shortly afterwards; e.g., 50% of the mice were dead after 50 s exposure and the second half of the animals remained alive for 30 s after termination of the irradiation. The dose rate was approximately 190,000 r/min.

The lethal effect caused by such a high dose rate could be due to a different mechanism as it is usually the case at lower dose levels and dose rates. RAJEWSKY observed that the animals surviving such an experiment for a short time were apathetic but had increased breathing activity and ruffled fur. After a short time the animals become excited and go into cramp like conditions and die. This is different to the usual symptoms of low intensity and low dose reactions of animals.

The observations described above seem to indicate that the animals could have gone into a shock. Based on these reports, we have considered therefore the possibility of thermal shock to be the reason of the dramatic events taking place. To prove this assumption we used a thermocouple (constantan-copper) arrangement. The electrical signal created in the thermocouples was fed into a Liston-Becker d.c. braker amplifier, Model No. 14. The output signals were continuously recorded by an Esterline-Angus M. A. chart recorder.

Mice approximately 20 g of weight were used for our experiments. Two mice were tied each to a separate aluminum support in such manner that any movement of the body except the head was impossible. The thermocouples were inserted between the skin and muscle of one of the hind thighs of each animal and securely fastened with a small piece of tape. One animal served as the non-irradiated control. A Machlett AEC 50 Beryllium window tube operated at 43 KVp, 40 mA and without filtration served as source of radiation. Calibration of the X-ray output with a Grenz ray dosimeter (Physikalisch-Technische Werkstatt, Freiburg, Germany) gave an approximate dose rate of 6×10^5 r/min at 5 cm TSD taking air absorption into consideration. Measurements performed by ROGERS³ show that X-rays of such low energy are almost entirely absorbed within a few millimeters of tissue (1% transmission at a depth of 3.1 mm Al). Therefore practically all primary radiant

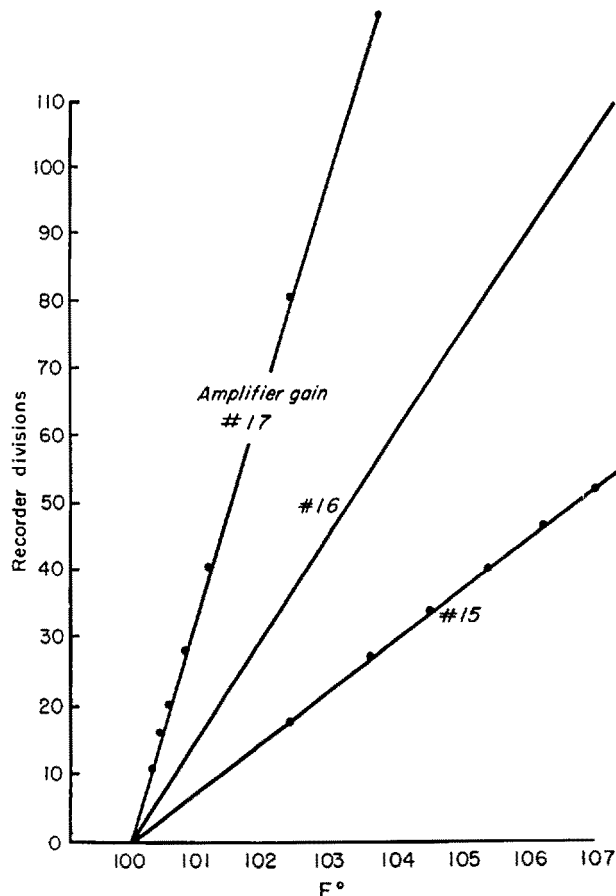


Fig. 1.

Figures 2 and 3, etc. show some examples of the temperature increase in the animals during X-ray exposure. Usually the temperature dropped again after irradiation was completed, except in two experiments where the temperature remained elevated for a longer period of

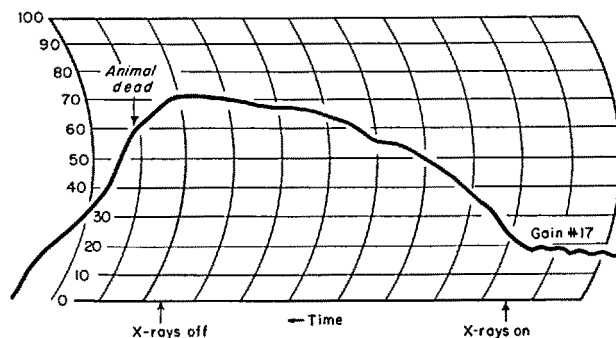


Fig. 2.

time. Also only in two cases animals died during the experiment after having received approximately 3×10^6 to 1×10^7 r. However all other animals died within 10 to 15 min after they were irradiated with 7×10^6 to 14×10^6 r.

¹ H. QUASTLER *et al.*, Amer. J. Physiol. 164, 546 (1951). – E. P. CRONKITE, Radiology 56, 661 (1951).

² B. RAJEWSKY *et al.*, Z. Naturforsch. 8, 157 (1953).

³ T. H. ROGERS, Radiology 48, 594 (1947).