

denti incisivi e per la precoce apertura della rima palpebrale, fenomeni entrambi dovuti alla cheratinizzazione dei rispettivi epiteli di rivestimento.

All'esame istologico l'iperplasia della cute negli animali trattati appare evidente e marcata ovunque, così come la ipercheratosi (Figura).

Nella Tabella sono riportati i risultati delle determinazioni degli acidi ribonucleico e desossiribonucleico nell'epidermide degli animali trattati e degli animali controllo. I valori sono espressi in termine di $\mu\text{g}/\text{Unità di area}$, essendo quest'ultima una sezione esattamente circolare di 2 cm di diametro.

Come si osserva, il trattamento con EGF determina un significativo aumento sia dell'RNA, come del DNA ed il rapporto tra il valore medio sperimentale e il valore medio di controllo risulta essere di 1,33 per il DNA e di 1,31 per l'RNA.

Ancora più sensibile appare invece l'aumento a carico del peso secco, come si osserva nella Tabella. Per il peso secco infatti, il rapporto tra sperimentale e controllo risulta essere 1,65, mentre il contenuto percentuale in azoto rimane invariato.

Nella Tabella infine, sono riportati i valori della determinazione di alcune attività enzimatiche; si osserva come nell'epidermide degli animali sperimentali la istidasi e la fosfatasi acida e la deidrogenasi lattica sono costantemente e marcatamente aumentate.

I risultati del presente lavoro dimostrano che l'iniezione di EGF stimola selettivamente l'accrescimento della epidermide, confermando le precedenti osservazioni morfologiche. L'effetto del fattore si riflette in un significativo aumento del contenuto di proteine ed acidi nucleici/unità di area di cute negli animali trattati; tale aumento appare particolarmente marcato (fuori del 100%), quando si considerano i valori relativi al peso secco/unità di area, fatto questo dovuto alla abbondante cheratinizzazione che si osserva negli animali sperimentali.

In conclusione, la iniezione sottocutanea di piccole dosi di EGF stimola vivacemente i processi di sintesi e di accrescimento delle cellule epiteliali della cute; il meccanismo attraverso il quale si verifica tale effetto rimane ancora da spiegare; la sua delucidazione potrà forse portare un notevole contributo alla chiarificazione di quei processi che regolano la crescita e la differenziazione cellulare.

Effetto dell'EGF sugli acidi nucleici, proteine ed enzimi della epidermide di ratto. Ogni valore rappresenta la media di 6 esperimenti

	Controlli	Sperimentali	Rapporto s.c.
Peso secco mg/unità di area ^a	9 ± 1,5	15 ± 1,4	1,65
N%	14,9	15,01	+1,0
DNA $\mu\text{g}/\text{unità di area}$	277 ± 21	371 ± 41	1,33
RNA $\mu\text{g}/\text{unità di area}$	529 ± 36	693 ± 86	1,31
Istidasi U/ml/h ^b	485 ± 59	849 ± 48	1,8
Fosfatasi acida U/ml/h	13,9 ± 1,5	24,5 ± 3,8	1,7
Lattico-deidrogenasi $\mu\text{M}/\text{ml}/\text{h}$	28,5 ± 2,6	41,3 ± 4,2	1,4

^a Unità di area = 3.14 cm². ^b Unità arbitrarie.

Summary. The biological effect has been investigated of a specific protein with a growth-stimulating activity on epidermal cells.

Injection of minute amounts of this factor (EGF) into newborn rats produces hyperplasia of the epidermis with a marked increase in the protein and nucleic acid content per unit of skin area. The activity of a number of epidermal enzymes per unit area is also increased by the epidermal growth factor.

P. U. ANGELETTI, M. L. SALVI,
R. L. CHESANOW e S. COHEN

Istituto Superiore di Sanità, Laboratori di Chimica Biologica e Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università Cattolica S. Cuore, Roma (Italia), il 18 novembre, 1963.

The Measurement of the Renal Clearance of γ -Emitting Tracers by the Use of External Counting

Introduction. The renal clearance rate of substances which undergo elimination through the kidneys is usually measured by venous infusion of the tested substance and collection of the urine by means of urethral catheterization.

It seems possible, if the indicator substance is labelled with a γ -emitting isotope, to derive the data required for the calculation of the clearance rate taking counts over the bladder, thus avoiding the need of urethral catheterization and continuous infusion¹.

The purpose of this note is briefly to report the experiments which have been made in order to test such a possibility, the technique which has been developed, and the results obtained.

Method. The renal clearance of a substance circulating in the blood and eliminated, at least in part, by the kidneys is:

$$Cl = \frac{\Delta X_E}{\int_t^{t+\Delta t} x_p(t) dt} \quad (1)$$

where ΔX_E is the amount of the substance eliminated during the time interval Δt , and $x_p(t)$ the plasma concentration of the substance. When γ -emitting tracers are used, ΔX_E can be evaluated by external counting over the

¹ C. BIANCHI and P. TONI, *Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung*, Sonderbd. Strahlentherapie 53, 301 (1963).

bladder and used for the calculation of the clearance rate, since a calibration factor for the external counts can be obtained by dividing the radioactivity of a spontaneously emitted urine sample by the variation of the counting rate over the bladder, consequent to the urine emission.

Calculation of the integral at the denominator of the second member of (1) is greatly simplified, demanding a minimum of two blood samples, if the clearance periods are started after the 'variation equilibrium' has been attained, i.e. while the plasmatic radioactivity decreases according to a single exponential law.

Technique. A $2'' \times 2''$ NaI(Tl) scintillation counter is used, placed into a conic-truncated collimator, as shown in Figure 1. The collimator is placed over the bladder, in contact with the abdominal wall just above the pubic symphysis (Figure 2). Pulses from the scintillation counter are fed to a scaler with the interposition of a single channel analyser.

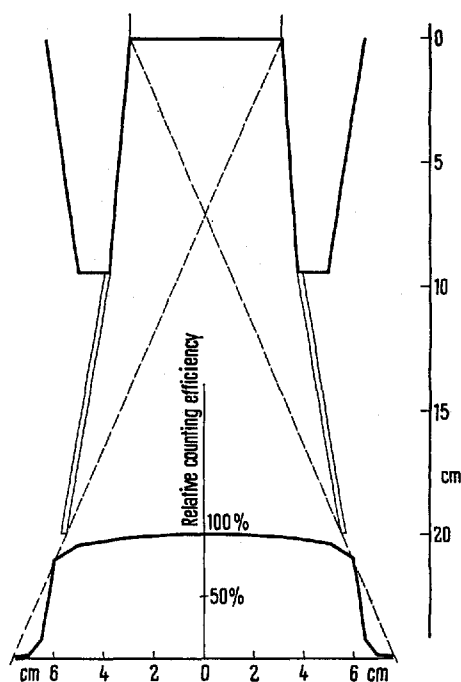


Fig. 1. Design of the scintillation counter used for the counting over the bladder.

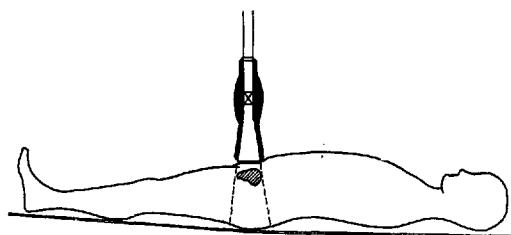


Fig. 2. Counter-to-bladder relationship for clearance measurement.

Results. (a) Testing the geometry counting: Increasing amounts of radio-iodine- I^{131} were introduced into the bladder by catheter, and the relationship between the activity in the bladder and the counting rate over the bladder was studied at different degrees of vesical filling. A linear correlation was found up to a vesical volume of about 80 ml (Figure 3).

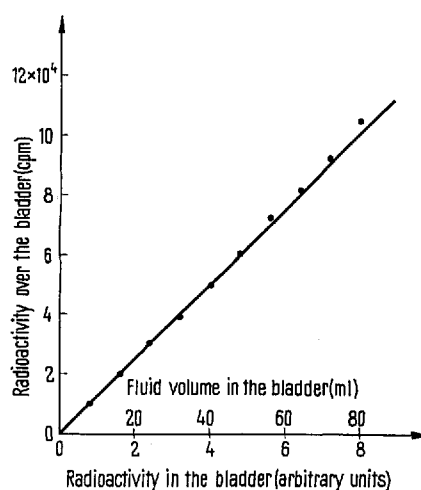


Fig. 3. On the abscissa the radioactivity and the fluid volume introduced into the bladder; on the ordinate the radioactivity recorded over the bladder.

In most cases, however, the linear correlation was maintained for larger volumes, even up to 150 ml.

(b) Clearance evaluation: 117 clearance rate measurements have been carried out with the present technique, using hypaque- I^{131} , hippuran- I^{131} , diodrast- I^{131} , neohydrin- Hg^{203} . The values obtained by external counting have been compared with those calculated from the eliminated and plasmatic activities, measured *in vitro*. A very satisfactory agreement has been observed between the two sets of measurements ($r = 0.94$; $P < 0.01$).

Conclusions. On the ground of the results reported above, it seems possible that external counting may be applied to the measurement of the renal clearance of γ -emitting tracers.

Zusammenfassung. Eine Methode zur Messung der Nierenclearance mit Hilfe markierter Stoffe (γ -Strahlern) wird beschrieben, was die Prozeduren der Katheterisierung und kontinuierlichen Veneninfusion erübrigt. Die Methode beruht auf der Messung der Blasenaktivität an der Körperoberfläche mittels Szintillationsmesskopf. Die markierten Stoffe werden intravenös injiziert.

C. BIANCHI and P. TONI

Centro di Medicina Nucleare, Clinica Medica, Università di Pisa (Italy), July 25, 1963.