
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIOVANNI CRISTOFOLINI, LAURO GALZIGNA

Azione della colchicina in vivo in presenza di glutathione ridotto

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.5, p. 729-732.

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_5_729_0

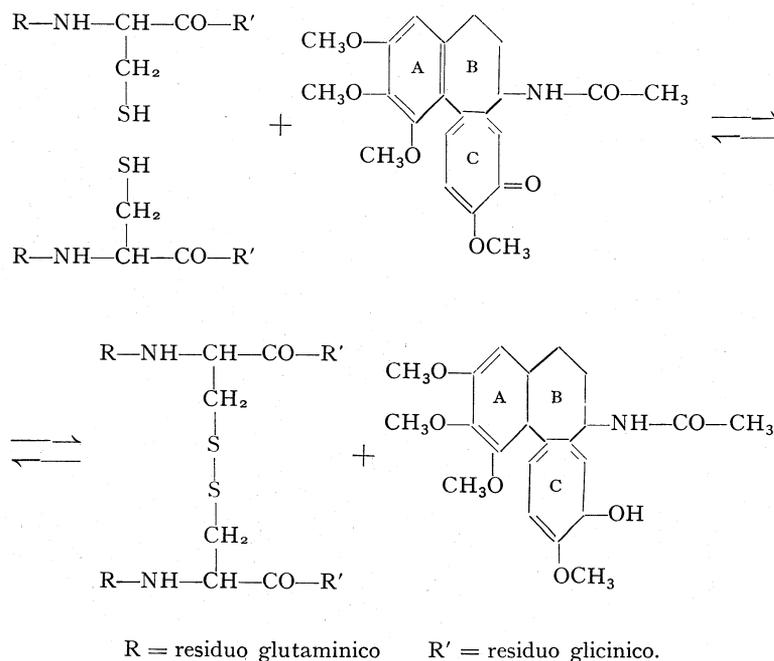
L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Biologia generale. — *Azione della colchicina in vivo in presenza di glutatione ridotto* (*). Nota di GIOVANNI CRISTOFOLINI e LAURO GALZIGNA, presentata (**) dal Socio C. CAPPELLETTI.

In un precedente lavoro [1] è stato messo in evidenza un processo ossido-riduttivo tra colchicina e glutatione ridotto (GSH):



La possibilità di tale reazione, costituiva la base per un'interpretazione del meccanismo d'azione della colchicina in accordo con le più recenti teorie [2]. Quest'interpretazione avvalorava l'osservazione [3], secondo la quale, nel corso della mitosi, si verificano spostamenti soprattutto a carico dell'ossido-riduzione del glutatione. Per di più, l'azione della colchicina sulla mitosi viene considerata una conseguenza di una primitiva azione su enzimi [4] e proteine di struttura [5] di tipo tiolico.

Era pertanto ragionevole studiare se il GSH proteggesse le cellule dall'effetto della colchicina. A tale scopo sono state compiute indagini istologiche

(*) Istituto di Botanica dell'Università di Padova — Dir. prof. Carlo Cappelletti, Istituto di Chimica Biologica dell'Università di Padova — Dir. prof. Noris Siliprandi.

(**) Nella seduta del 12 maggio 1962.

per studiare in particolare quale sia l'effetto del GSH sull'indice mitotico, valore che viene particolarmente alterato per azione della colchicina [6].

MATERIALI E METODO.

32 bulbi di *Allium Cepa* sono stati messi a germinare in locale ad illuminazione naturale, per 3 giorni a 15° C. 24 di questi bulbi sono stati quindi posti in altrettanti provettoni, contenenti H₂O distillata, soluzioni di colchicina, soluzioni di GSH e soluzioni di colchicina e GSH.

Il trattamento veniva effettuato per 14 ore, quindi 3 apici radicali per ogni bulbo sono stati fissati con il Carnoy e colorati secondo il metodo di Feulgen.

Con ciascun apice sono stati fatti 2 strisci che sono stati inclusi su vetrino con balsamo del Canada.

Su ciascun vetrino sono stati compiuti:

a) un conteggio di tutte le cellule comprese in 20-30 campi distribuiti a caso;

b) un conteggio totale delle metafasi e delle anafasi.

RISULTATI.

Le conte e gli indici mitotici da esse ricavati sono esposti in tabella. Sono state incluse nel numero delle metafasi anche le pseudo-anafasi, le pseudo-metafasi e le metafasi «glutacioniche». Si denominano pseudo-anafasi gli stadi mitotici che presentano migrazione di cromosomi, ma assenza di fuso; pseudo-metafasi le figure in cui cromosomi di aspetto irregolare sono raggruppati irregolarmente; metafasi «glutacioniche» quelle in cui cromosomi piuttosto contratti sono disposti in modo abbastanza simile al normale.

Prove	Cellule a riposo	Cellule in mitosi	Indice mitotico	σ_m	
1	1462	64	4,19	± 3,02	
2	1660	182	9,88	± 5,52	
3	a)	718	25	3,37	± 1,06
	b)	1281	44	3,35	± 1,69
	c)	978	33	3,27	± 3,38
4	a)	1526	105	6,44	± 3,70
	b)	583	37	5,87	± 2,88
	c)	674	29	4,13	± 3,62

TABELLA I.

Indice mitotico = Percentuale di cellule in mitosi sul totale di cellule presenti.

1)	Prove in bianco (con H ₂ O distillata)		
2)	» con colchicina	$0,4 \times 10^{-2}$ M	
3 a)	» »	GSH $0,4 \times 10^{-2}$ M	
3 b)	» »	GSH $0,7 \times 10^{-2}$ M	
3 c)	» »	GSH $1,0 \times 10^{-2}$ M	
4 a)	» »	colchicina $0,4 \times 10^{-2}$ M e GSH $0,4 \times 10^{-2}$ M	
4 b)	» »	» $0,4 \times 10^{-2}$ M e GSH $0,7 \times 10^{-2}$ M	
4 c)	» »	» $0,4 \times 10^{-2}$ M e GSH $1,0 \times 10^{-2}$ M	

La Tabella mostra che l'indice viene aumentato del 146 % per azione della colchicina. L'aggiunta di GSH alle prove con colchicina provoca un abbassamento dell'indice pari al 37,7 % rispetto alle prove con colchicina sola.

ELABORAZIONE STATISTICA.

È stata effettuata l'analisi della varianza sulle differenze tra gli indici mitotici. Trattandosi di valori percentuali l'elaborazione è stata compiuta dopo aver trasformato i percenti in valori angolari con la formula:

$$\text{arc. sen } \sqrt{\text{percento}} = \text{angolo}$$

secondo il procedimento di Bliss [7]. Sono state impiegate le seguenti formule:

$$\sqrt{\frac{(x-M)^2 f}{n}} - \varepsilon = \sigma_m \quad \text{che è lo scarto quadratico medio o deviazione standard, dove } x \text{ è l'intensità, } f \text{ la frequenza, } M \text{ la media ed } n \text{ il numero dei campioni;}$$

$$\sqrt{\frac{(n_1-1)\sigma_1^2 + (n_2-1)\sigma_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} = \sigma_r \quad \text{che è la deviazione standard media;}$$

$$\frac{M_1 - M_2}{\sigma_r} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} = t \quad \text{che è il valore } t \text{ di Student nel caso della differenza tra medie;}$$

$P \pm \lambda$, che è la probabilità compresa entro i limiti $M \pm \lambda$ dove $\lambda = t : \sqrt{2}$.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.

Dalla valutazione dei risultati ottenuti si può constatare che esiste una indubbia interazione tra GSH e colchicina.

Il GSH, ha, di per sè, un certo effetto tossico, che cresce al crescere della concentrazione. Questo effetto è spiegabile con il fatto che, per il normale fun-

zionamento del fuso, è necessario un equilibrio tra gruppi-SH e ponti disolfuro [2]. Il GSH, in questo caso, agisce come altri veleni fusoriali contenenti gruppi-SH.

I risultati dell'elaborazione statistica mostrano che, mentre non sono significative le differenze tra gli indici mitotici delle prove in bianco e quelli dei trattati con GSH, sono nettamente significative le differenze tra gl'indici delle prove in bianco e dei trattati con colchicina, dei trattati con colchicina e dei trattati con colchicina e GSH. L'effetto protettivo del GSH si può considerare indipendente dalla sua concentrazione. L'interazione osservata non impedisce però del tutto che la colchicina eserciti un certo effetto sulle cellule.

In conclusione è chiaro che l'alcaloide, come già messo in evidenza [1], ha bisogno di condizioni particolari per reagire. Nelle prove *in vitro* la debole interazione messa in evidenza era dovuta all'assenza di azioni catalizzanti, mentre nelle prove *in vivo* l'interazione si manifesta con maggior intensità per la presenza di sistemi enzimatici che, evidentemente, la favoriscono.

Resta da vedere se l'azione della colchicina sia specifica [4] su qualche proteina-SH o aspecifica [5] nel senso che blocca indistintamente tutti i gruppi tiolici presenti nella cellula.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] L. GALZIGNA, « Atti Soc. ital. fisiol. vegetale » (1961), in corso di stampa.
- [2] O. J. EIGSTI, P. DUSTIN, *Colchicine in Agriculture, Medicine, Biology and Chemistry*, Iowa State College Press (1955).
- [3] L. RAPKINE, « Ann. Physiol. », 7, 382 (1931).
- [4] H. LETTRÈ, « Cancer Research », 12, 847 (1952).
- [5] D. MAZIA, « Symposia Soc. Exptl. Biol. », 9, 335 (1955).
- [6] A. LEVAN, « Hereditas », 40, 1 (1954).
- [7] I. C. BLISS, « Plant Protection », 12, 1 (1937).