
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

CESARE AGOSTINI, ANGELA SESSA

**Modificazioni dell'incorporazione del P^{32} nell'acido
ribonucleico di cellule di epatoma ascile di Yoshida
in presenza di DL-eritro, treo- α ,
 β -diidrossibutirraldeide e di DL-gliceraldeide**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 40 (1966), n.3, p. 498-501.*

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1966_8_40_3_498_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/>

Patologia. — *Modificazioni dell'incorporazione del P^{32} nell'acido ribonucleico di cellule di epatoma ascite di Yoshida in presenza di DL-eritro, treo- α, β -diidrossibutirraldeide e di DL-gliceraldeide (*)*. Nota di CESARE AGOSTINI e ANGELA SESSA, presentata (**) dal Corrisp. E. CIARANFI.

SUMMARY. — Labeled phosphate incorporation into RNA and C^{14} -leucine incorporation into protein of Yoshida ascites hepatoma cells have been studied, *in vitro*, in the presence of DL-glyceraldehyde and DL-erythro, threo- α, β -dihydroxybutyraldehyde. Both aldehydes decrease protein synthesis to a similar extent, whereas differential effects are seen on P^{32} -incorporation into RNA. Glyceraldehyde inhibits RNA synthesis after a lag period of 30 minutes, reaching inhibition values of approximately 30% at 120 minutes of incubation. Inhibition by dihydroxybutyraldehyde does not show lag period and reduces P^{32} incorporation into RNA to 50% of control values at 120 minutes of incubation.

È stato recentemente dimostrato che varie aldeidi alifatiche inibiscono l'incorporazione *in vitro* di aminoacidi nelle proteine di cellule di tumore ascite; poiché è noto che le aldeidi si condensano con la cisteina dando luogo ad acidi tiazolidin-4-carbossilici si è supposto che l'azione inibitrice sulle sintesi proteiche dipenda dallo sbilanciamento del pool intracellulare degli aminoacidi che in tal modo si provoca [4]. Non si può escludere tuttavia l'esistenza di altri meccanismi di inibizione, tra i quali una eventuale interferenza delle aldeidi nel metabolismo degli acidi nucleici.

La presente Nota riguarda l'incorporazione del P^{32} nell'acido ribonucleico (RNA) e della leucina- $1-C^{14}$ nelle proteine delle cellule dell'epatoma ascite di Yoshida in presenza di due aldeidi alifatiche: la gliceraldeide (GA), che inibisce la glicolisi e le sintesi proteiche [4] e la eritro, treo- α, β -diidrossibutirraldeide (DBA), che inibisce con grande prevalenza quest'ultime [4].

MATERIALE E TECNICA.

Gli esperimenti sono stati eseguiti su cellule di epatoma ascite di Yoshida, prelevate da ratti Wistar, dopo 8-10 giorni dal trapianto. Le cellule tumorali venivano isolate come descritto da Guidotti e coll. [3]. L'incubazione era effettuata in apparecchio di Warburg a $38^{\circ} C$ usando vaschette della capacità di 15 ml. munite di appendice laterale. La quantità di cellule per vaschetta era di 10-12 mg (peso secco). Il miscuglio di reazione (volume finale: 3 ml) era costituito da un Krebs-Ringer-bicarbonato [7] ed il gas ambiente era

(*) Lavoro eseguito nell'Istituto di Patologia Generale dell'Università di Milano.

(**) Nella seduta del 12 marzo 1966.

95 % O₂ - 5 % CO₂. Le appendici laterali delle vaschette contenevano 0,5 μ Mole di DL-leucina-1-C¹⁴ (attività specifica 3,8 μ Curie/ μ Mole) oppure 10 μ Curie di fosforo inorganico radioattivo (P³²-ortofosfato « carrier free ») in presenza di GA e di DBA. Questi inibitori erano usati in quantità tale da ottenere una soluzione finale 5 mMolare. L'osmolarità finale del miscuglio di reazione era aggiustata a circa 0,30.

Il contenuto delle appendici laterali veniva travasato nelle cavità principali dopo un periodo di equilibratura di 10 minuti. Al termine dell'incubazione le reazioni venivano bloccate con acido tricloracetico (concentrazione finale 1 % nelle vaschette contenenti leucina, 5 % in quelle contenenti fosforo).

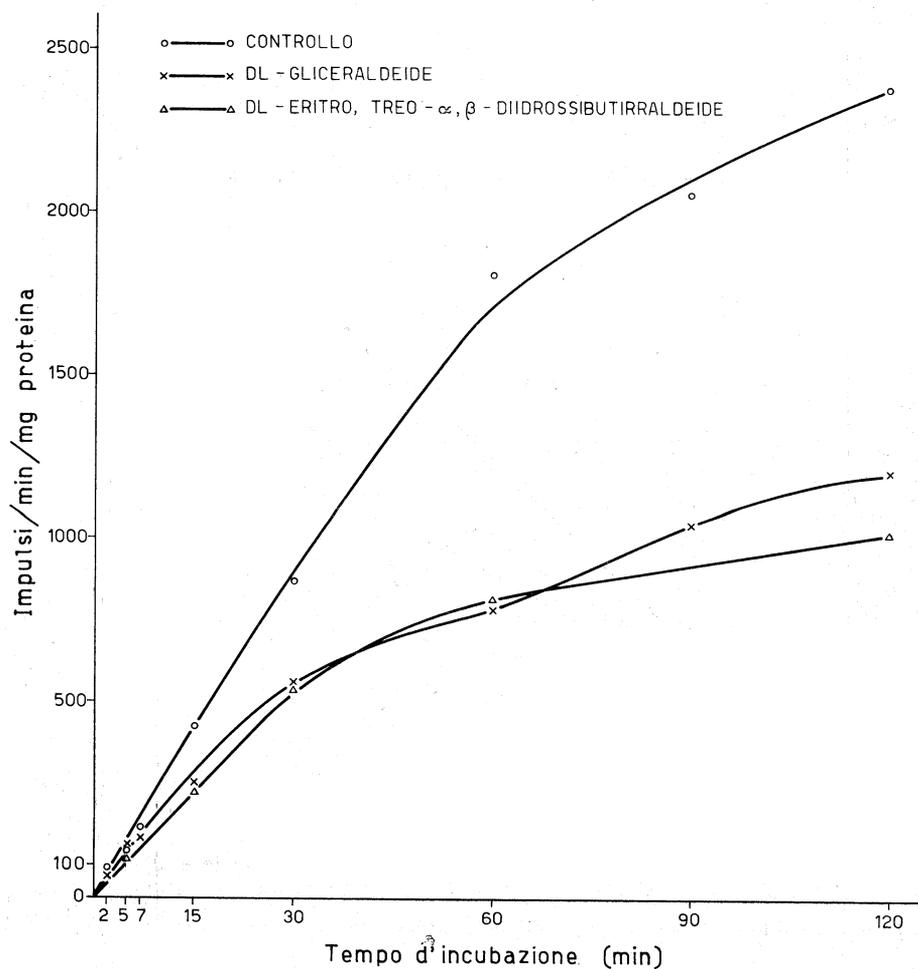


Fig. 1. - Azione *in vitro* della DL-eritro, treo- α,β -diidrossibutirraldeide e della DL-gliceraldeide sull'incorporazione di leucina-1-C¹⁴ nelle proteine di cellule di epatoma ascite di Yoshida.

I punti rappresentano il valore medio di tre esperimenti e l'Errore Standard di ciascun valore è di circa il 20%.

La radioattività delle proteine, purificate secondo Rabinovitz e coll. [6], veniva misurata allo stato secco con contatore a finestra di mica. L'RNA era isolato secondo Feigelson e coll. [2] e le radioattività del fosforo dell'RNA, dosato con il metodo di Berenblum e Chain [1], dopo incenerimento con una miscela di $H_2SO_4 : HClO_4$ (3 : 2 volumi), veniva misurata con un contatore per liquidi M6 (20th Century Electrics Ltd.).

RISULTATI E DISCUSSIONE.

Gli effetti delle due aldeidi studiate sulla incorporazione della leucina- $I-C^{14}$ nelle proteine e del P^{32} nell'RNA delle cellule dell'epatoma ascite di Yoshida sono riportate rispettivamente nelle figg. 1 e 2.

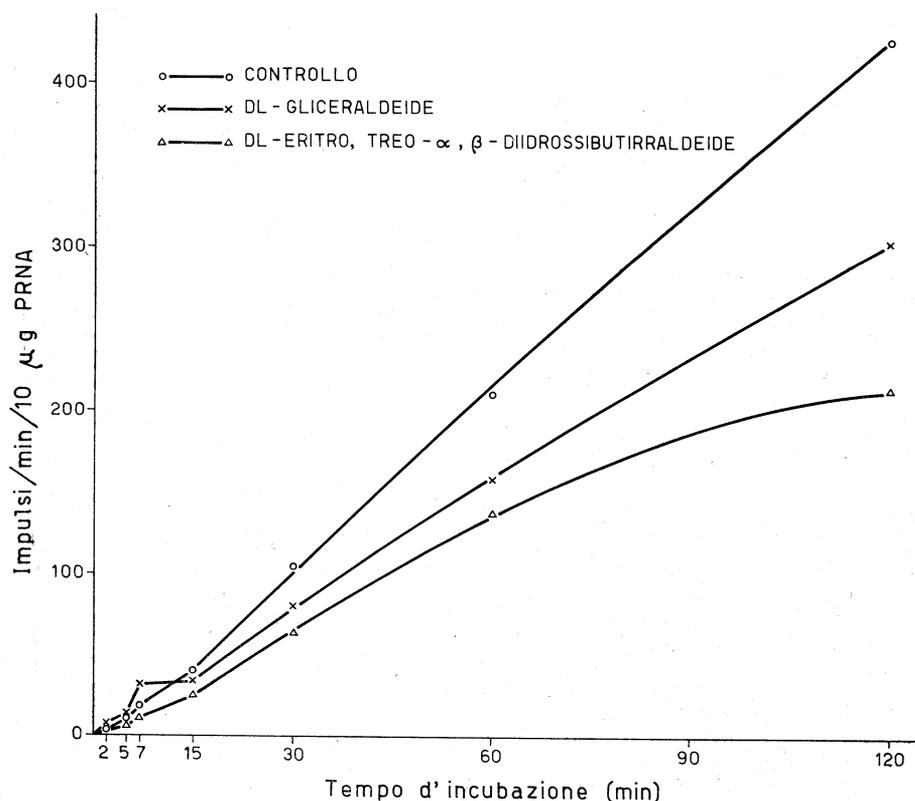


Fig. 2. - Azione *in vitro* della DL-eritro, treo- α, β -diidrossibutirraldeide e della DL-gliceraldeide sull'incorporazione di P^{32} nell'acido ribonucleico di cellule di epatoma ascite di Yoshida. I punti rappresentano il valore medio di tre esperimenti e l'Errore Standard di ciascun valore è di circa il 20 %.

Da questi dati risulta che sia la GA che la DBA hanno un effetto inibente simile sull'incorporazione della leucina nelle proteine. Questa inibizione, già evidente dopo 15 minuti di incubazione, raggiunge valori di circa 60 % dopo 60 e 120 minuti.

L'incorporazione del P³² nell'RNA è influenzata in modo differente dalle due aldeidi: in presenza di GA dopo un aumento iniziale, l'incorporazione comincia ad essere inibita a 30 minuti, raggiungendo il valore del 29 % a 120 minuti. La DBA sembra avere un effetto inibente già quasi dall'inizio, ben evidente a 15 minuti e raggiunge valori del 50 % a 120 minuti.

I nostri risultati con GA sono in accordo con quelli di Oelkers e coll. [5] che hanno trovato con ambedue gli isomeri della gliceraldeide una inibizione del 25 % dell'incorporazione dell'uridina-C¹⁴ nell'RNA.

L'aumentata incorporazione del P³² nell'RNA che appare con GA nei primi minuti potrebbe essere messa in relazione al fatto che questa aldeide, al contrario della DBA, inibisce la glicolisi [4], fenomeno che rende disponibile per la sintesi dell'RNA una maggiore quantità di fosforo inorganico.

Le misure eseguite non consentono una interpretazione sicura sul modo con cui queste aldeidi inibiscono la sintesi dell'RNA. Si può formulare l'ipotesi che tale inibizione non sia diretta ma secondaria a ridotta formazione degli enzimi implicati nella sintesi dell'RNA. A questo proposito si può ricordare che Vescia e coll. [8] hanno osservato che la leucil-sRNA sintetasi, ottenuta da fegati di ratti normali, è inibita da parecchie aldeidi fra cui la GA.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] I. BERENBLUM e E. CHAIN, « *Biochem. J.* », *32*, 295 (1938).
- [2] P. FEIGELSON, M. FEIGELSON e C. FANCHER, « *Biochim. Biophys. Acta* », *32*, 133 (1959).
- [3] G. G. GUIDOTTI, A. FONNESU e E. CIARANFI, « *Cancer Res.* », *24*, 900 (1964).
- [4] G. G. GUIDOTTI, L. LORETI e E. CIARANFI, « *Europ. J. Cancer.* », *1*, 23 (1965).
- [5] W. OELKERS, M. WENZEL e P. SCHMIALEK, *Federat. Europ. Biochem. Soc.*, 2nd Meeting Abstracts, p. 320, Vienna 1965.
- [6] M. RABINOVITZ, M. E. OLSON e D. M. GREENBERG, « *J. Biol. Chem.* », *210*, 837 (1954).
- [7] W. W. UMBREIT, R. H. BURRIS e J. F. STAUFFER, *Manometric Techniques*, 3^a ed. Burgess, Minneapolis 1959.
- [8] A. VESCIA, M. ROMANO e M. CERRA, « *Boll. Soc. It. Biol. Sper.* », *40*, 2047 (1964).