

Controls		CCl ₄ treated		
Number of rats	Hydroxamate	Number of rats	h after CCl ₄	Hydroxamate
3	0.55	3	2	0.20
3	0.83	3	4	0.27
3	0.57	3	4	0.41
3	0.56	3	6	0.34
3	0.51	3	24	0.21

Results are expressed as micromoles of hydroxamate calculated on the basis of the molar coefficient¹⁰ from the value ΔE_{420} in the presence of amino acids minus that in the absence of substrates. The enzymes were obtained by precipitating once at pH 5.15 the soluble fractions of liver homogenates in 0.05 M KCl after centrifugation for 60 min at 105 000 $\times g$; from 1 g of liver, 15–18 mg of protein were obtained when dissolving the precipitate in 0.1 M tris-buffer pH 7.5. CCl₄ was administered by stomach tube at a dose of ml 0.75/100 g of body weight of a 1:1 solution in paraffin oil. All food was withdrawn 18 h before the administration (control animals received paraffin oil only).—Conditions of incubation (2 ml): Micromoles: ATP-K (neutralized) 20; MgCl₂ 20; NH₂OH · HCl (with KOH to pH 7.7) 1600; tris-buffer pH 7.7 100; amino acid mixture 24; enzyme: 10 mg of protein. Temperature: 38°C. Time: 60 min. The amino acid mixture contains 2 μ moles each of: alanine, arginine, phenylalanine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, serine, tryptophane, tyrosine, valine.—Under these conditions, the reaction was a linear function of the quantity of enzyme and of the time of at least 2 h.

decrease in fatty acid activation which has been demonstrated in the period when liver fat is rising^{11,12}.

Riassunto. La reazione di attivazione degli aminoacidi è significativamente diminuita nel fegato di ratti nelle prime ore dopo la somministrazione di CCl₄. Questa alterazione si accorda con la dimostrata diminuzione delle sintesi proteiche e può rappresentare uno dei fattori primitivi e principali nella genesi delle modificazioni biochimiche e morfologiche che si osservano in questa condizione patologica.

F. ROSSI and M. ZATTI

Istituto di Patologia Generale della Università di Padova e Centro di Studio «G. Vernoni» del C.N.R. per la Fisiopatologia, Padova (Italy), January 4, 1963.

¹⁰ H. BEINERT, D. E. GREEN, P. HELE, H. HIFT, R. W. VAN KORFF, and C. V. RAMAKRISHNAN, J. biol. Chem. 203, 35 (1953).

¹¹ F. ROSSI and M. ZATTI, Exper. 16, 513 (1960).

¹² Acknowledgment. We wish to thank Miss F. VIGNA for technical assistance.

Modification de la vitesse du courant cytoplasmique, induite à distance, par l'irradiation, chez *Nitella flexilis*

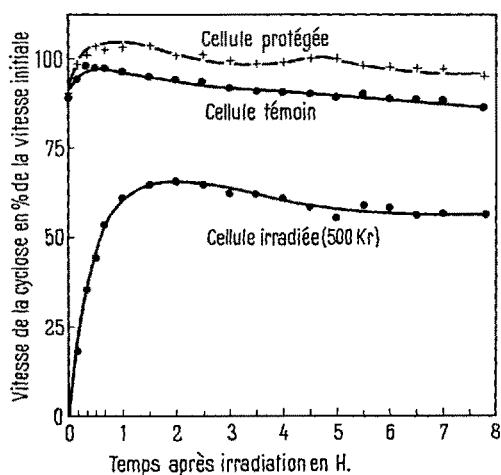
Introduction. La connaissance des effets qu'exerce, immédiatement après l'irradiation, une cellule traitée sur une cellule voisine protégée, relève plutôt de l'interprétation (théorie des poisons: BACQ et ALEXANDER¹) que de l'analyse proprement dite. A part les travaux de KRJUKOVA et KUZIN² montrant que la diffusion de métabolites toxiques à partir des feuilles, chez la Fève irradiée, inhibe la division cellulaire, aucun autre auteur n'a, à notre connaissance, abordé ce problème chez les plantes.

C'est pourquoi nous avons entrepris cette étude tâchant de mettre en évidence, par le biais de la vitesse du courant cytoplasmique, l'influence d'une cellule irradiée sur une cellule non traitée durant la période qui suit l'irradiation. Dans cette note sont exposés les premiers résultats obtenus chez *Nitella flexilis* (L.e.p.) Ag., algue d'eau douce dont les longues cellules internodales sont animées d'une cyclose caractéristique.

Matériel et Méthodes. Cette plante provient d'un étang d'Ardenne (GILLET³) et est cultivée au laboratoire. Avant l'irradiation, deux cellules internodales séparées par les petites cellules de l'entre-nœud sont isolées du tétolome en sectionnant les cellules voisines. Elles sont laissées pendant 12 h minimum dans une solution de culture originale (GILLET⁴) puis la vitesse de leur flux protoplasmique respectif est déterminé suivant la technique déjà décrite dans l'article précédent. Au moment de l'irradiation, l'une ou l'autre de ces cellules est entièrement protégée par un écran en plomb de 2 mm d'épaisseur dans l'ouverture duquel s'engage l'extrémité de la cellule traitée. De cette manière, aucun rayon oblique ne peut frapper la cellule protégée. Le générateur de rayons X est un tube Machlett OEG à fenêtre de beryllium fonctionnant avec localisateur sous une tension de 50 kV et

une intensité de 30 mA. Son débit, mesuré dans l'air, à 7,1 cm du foyer est de 99 000 r/min. Aussitôt après l'irradiation, les cellules sont remplacées sous microscope et la vitesse du courant cytoplasmique déterminée à intervalles réguliers et exprimée en % de la vitesse initiale ($V_n = 100 t_0/t_n$). Les expériences ont porté sur 14 couples de cellules et eurent lieu en novembre.

Résultats. La Figure rend compte des résultats obtenus. Chaque point représente la valeur moyenne de 70 observations.



¹ Z. M. BACQ et P. ALEXANDER, *Fundamentals of Radiobiology*, second. édit. (Pergamon Press, Butterworth, London 1961).

² L. M. KRJUKOVA et A. M. KUZIN, *Fiziol. Rasten* (russe) 7, 220 (1960).

³ C. GILLET, *Bull. Soc. Roy. Bot. Belgique* 92, 197 (1960).

⁴ C. GILLET, *Acad. Sci. Belg. Bull. classe des Sci.* 48, 1161 (1962).

Après 20 min, le mouvement cytoplasmique de la cellule protégée est activé. Sa vitesse devient supérieure à celle qui l'animait avant l'irradiation de sa cellule voisine. Ce phénomène perdure 3 h environ.

Certaines cellules cependant manifestent à nouveau une courte accélération de leur flux protoplasmique après un temps de latence de 5 h. Pendant toute la durée de l'expérience, la vitesse de la cyclose chez la cellule protégée reste supérieure à celle de la cellule témoin. Cette différence de vitesse est statistiquement significative.

Dans la cellule traitée, la reprise de la cyclose a lieu 10 min après la fin de l'irradiation. Cette cellule ne retrouve cependant pas sa pleine vitalité puisque la circulation protoplasmique n'atteint plus au maximum que 65% de sa valeur initiale. Notons que cette valeur est supérieure à celle observée dans le cas d'une cellule isolée et irradiée à cette dose (55% : GILLET⁴).

Discussion. L'accélération du flux protoplasmique dans la cellule voisine de celle qui a été irradiée peut s'expliquer par le passage de certains métabolites de l'une à l'autre. Une action induite par la conduction d'un influx de nature électrophysiologique est en effet exclue après un temps de latence aussi long que 20 min.

FRIDVALSKY⁵ a observé que les membranes transversales des cellules internodales et nodales des Charophyceae sont percées de pores nombreux de 400 m μ de diamètre, permettant ainsi un échange métabolique aisé entre les différentes cellules. Le cytoplasme de la cellule irradiée est donc facilement en relation avec celui de la cellule protégée.

La nature de l'information chimique induite par l'irradiation et transmise à une cellule voisine reste cependant à préciser. S'agit-il de substances énergétiques libérées ou emmagasinées dans la cellule irradiée incapable de les utiliser, ou plutôt de métabolites toxiques diminuant la viscosité du cytoplasme de la cellule adjacente? Ces hypothèses sont à l'étude actuellement.

La faible diminution observée dans l'activité du protoplasme de la cellule-témoin après les premières minutes est sans doute due à la manipulation elle-même (exposition pendant 5 min à l'air sous le générateur de rayons X ne fonctionnant pas). Cette diminution est un peu plus forte que celle observée dans un travail précédent. Elle n'est pas surprenante car quelques auteurs ont déjà insisté sur le comportement différent des cellules internodales de *Nitella* pendant les mois d'hiver (KAMIYA⁶).

Conclusions. (1) L'irradiation d'une cellule internodale de *Nitella flexilis* détermine dans la cellule internodale voisine une accélération transitoire du courant cytoplasmique. De plus, pendant 8 h au moins, la vitesse de ce dernier demeure supérieure à celle observée chez les cellules internodales témoins. (2) Il est probable que ce phénomène ait lieu par la médiation de facteurs chimiques induits dans la cellule irradiée.

Summary. Irradiation of an internodal cell of *Nitella flexilis* induces in the adjacent internodal cell a transitory acceleration of cytoplasmic streaming; during 8 h at least the speed of this streaming is higher than in control internodal cells. It is probable that this phenomenon is due to transfer of certain substances from the irradiated cell.

C. GILLET

Institut de Morphologie Végétale et Laboratoire de recherches pour la protection des populations civiles, Liège (Belgique), le 17 janvier 1963.

⁵ L. FRIDVALSKY, *Nature* 182, 736 (1958).

⁶ N. KAMIYA, *Protoplasmic Streaming*, in *Handbuch der Protoplasmaforschung*, Bd. VIII (Springer Verlag, Wien 1958).

Hormonal Influence on Metastatic Spread of the Yoshida Sarcoma

BALLINI et al.¹ have recently reported that the transplantation of organs from Yoshida-bearing rats is able to produce tumor growth into recipient animals. The repeated observation by many of the absence of visceral metastasis in Yoshida-bearing animals, together with the findings mentioned above, indicates that metastasis formation is determined by multiple factors, perhaps related to the host, besides tumor cell viability and invasiveness.

The influence of cortisone on metastasis production was first demonstrated by AGOSIN et al.² in 1952. Since then several investigators, dealing with a varied spectrum of experimental tumors, have variously reported an increase, decrease or no alteration in the incidence of metastasis in cortisone treated animals³⁻⁵. BEUTHNER et al.⁶ reported that the metastatic localization of intravenously injected Yoshida sarcoma cells can be modified by treatment with ovarian hormones. In treated rats, the metastases were mainly in mammary glands, ovaries and uterus, whereas in untreated animals, the adrenals, intestines, lungs and the mesenteric and paravertebral lymph nodes were the sites affected.

That the site of tumor implantation can also influence the metastatic spread was shown by BASERGA et al.⁷

Working with a tumor that produced no metastasis when implanted into the subcutaneous tissue of the trunk, they obtained pulmonary secondaries by injecting tumor cell suspension into the subcutaneous tissue of the tails of mice.

In this paper we report the findings regarding the action of testosterone, estrogen and cortisone on the behaviour of the Yoshida sarcoma, implanted in the tails of Wistar rats.

Wistar female rats, weighing about 150 g were used. 10 ml of Yoshida ascites fluid was centrifuged, the supernatant discarded and the sediment suspended in 10 ml of sterile saline. Approximately 0.2 ml of this suspension was injected into the subcutaneous tissue of the middle of the tail in 39 rats. Care was taken to avoid the lateral vein, and the resistance set up by the plunger of the syringe

¹ I. BALLINI and J. P. GUIMARÃES, *Exper.* 18, 186 (1962).

² M. AGOSIN, R. CHRISTEN, O. BADINEZ, A. NEGHME, G. GASIC, O. PIZARRO, and A. JARPA, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 80, 128 (1952).

³ S. WOOD, E. DOUGLAS HOLYOKE, and J. H. YARDLEY, *Canadian Cancer Conference*, vol. 4 (1961).

⁴ T. C. POMEROY, *Cancer Res.* 14, 201 (1954).

⁵ M. S. ARONS, H. WEXLER, S. M. SABESIN, and N. MANTEL, *Cancer* 15, 227 (1962).

⁶ H. BEUTHNER and D. SCHMAHL, *Naturwissenschaften* 6, 138 (1960).

⁷ R. BASERGA and J. BAUM, *Cancer Res.* 15, 52 (1955).