

19. L. TENTORI e G. VIVALDI. — Sulla attività dell'uracile e della metionina somministrati separatamente e contemporaneamente nella anemia macrocitica sperimentale del ratto. (*)

Riassunto. — E' stata studiata l'attività dell'uracile, della metionina e di uracile e metionina somministrati contemporaneamente nella anemia macrocitica sperimentale del ratto carente di acido folico. Sia la metionina, somministrata per via orale alla dose di mg. 20 pro die per 15 giorni, che l'uracile, anche esso somministrato per via orale alla dose di mg. 100 pro die, hanno provocato un miglioramento definito dei dati ematologici presi in considerazione. Risultati migliori sono stati ottenuti somministrando per via orale uracile e metionina contemporaneamente alle dosi precedentemente specificate e per un uguale periodo di tempo. La risposta favorevole ottenuta con la somministrazione del solo uracile suggerisce la possibilità che esso sia un precursore della timina. L'effetto parziale ottenuto con la somministrazione della metionina può essere dovuto ad un apporto massivo di gruppi metilici, utilizzabili per la formazione di timina attraverso processi di transmetilazione in animali in cui esista una carenza di sostanze attivanti tali processi. Questa ultima ipotesi si accorda con i risultati migliori ottenuti con la somministrazione di uracile e metionina contemporaneamente.

Résumé. — Les auteurs ont étudié l'activité de l'uracile, de la méthionine, et de l'uracile et méthionine administrés en même temps, dans l'anémie macrocytique expérimental du rat en carence d'acide folique. Soit la méthionine administrée par voie orale à la dose de 20 mg. par jour pendant 15 jours, soit l'uracil administré lui aussi par voie orale à la dose de 100 mg. par jour, ont causé une amélioration sérieuse des données hématologiques prises en considération. De meilleurs résultats ont été obtenus en administrant par voie orale de l'uracile e de la methionine en même temps aux doses déjà indiquées et pour une même période de temps. La réaction favorable obtenue par l'administration de l'uracile seul suggère la possibilité qu'il soit un précurseur de la thymine. L'effet partial obtenu par l'administration de la méthionine se doit peut-être à un apport massif de groupes méthyliques utilisables pour la formation de thymine à travers des processus de transméthylation chez des animaux où il y a une carence de substances activantes

(*) Comunicazione presentata al II Congresso Internazionale di Biochimica di Parigi (21-27 luglio 1952).

de ces processus. Cette dernière hypothèse s'accorde avec les résultats meilleurs obtenus par l'administration contemporaine d'uracile et de méthionine.

Summary. — The Authors have studied the therapeutic effects of uracil, of methionine and of both these substances added together in the experimental macrocytic anemia of folic acid deficient rats. the oral administration of methionine at the dose of 20 mg. daily for 15 days and of uracil at the dose of 100 mg. daily for 15 days have produced a marked improvement of the hematological syndrome. The best results were obtained with the simultaneous oral administration of both these substances added together at the same doses. The activity shown by uracil suggests that this substances could behave as a precursor of thymine. Methionine could be a source of methyl groups necessary for transmethylation processes which leads to the formation of thymine particularly in animals deficient of substances activating these processes. The results obtained with the simultaneous administration of uracil and methionine confirm this hypothesis.

Zusammenfassung. — Die Verfasser haben die Wirkung des Urazils, des Methionins, sowie des Urazils und Methionins bei gleichzeitiger Verabfolgung, bei der experimentellen makrozytären Anämie der Ratte infolge von Folsäuremangel untersucht. Sowohl das Methionin bei oraler Verabfolgung einer Dosis von 20 mg täglich zwei Wochen lang, wie auch das Urazil, ebenfalls in oraler Verabreichung bei einer Dosierung von täglich 100 mg, haben eine beträchtliche Besserung der untersuchten hämatologischen Daten gezeitigt. Noch bessere Ergebnisse wurden erzielt bei gleichzeitiger Verabfolgung von Urazil und Methionin unter der angegebenen Dosierung und für den gleichen Zeitraum. Die günstige Reaktion, die erzielt wurde durch die Verabfolgung des Urazils allein legt die Möglichkeit nahe, das Urazil als Vorläufer des Thymins anzusehen. Die nur teilweise Wirkung, die bei der Verabfolgung von Methionin allein erzielt wurde, ist vielleicht auf einen massiven Beitrag von Methylgruppen zur Bildung von Thymin vermittelt von Transmethylierungsprozessen bei Tieren zurückzuführen, bei denen ein Mangel an aktivierenden Substanzen für diese Prozesse besteht. Diese letzte Hypothese stimmt mit der Tatsache überein, dass durch die gleichzeitige Verabreichung von Urazil und Methionin bessere Erfolge erzielt wurden.

In un precedente esperimento (1) è stato osservato che la timina dimostra una attività terapeutica subottimale nella anemia macrocitica sperimentale indotta nel ratto con una dieta carente di acido folico contenente l'1 per mille di streptomicina. Una analoga risposta favorevole era stata precedentemente ottenuta da VILTER e da altri Autori nella anemia perniciosa umana. Gli stessi AA. avevano studiato la risposta ematologica dell'anemico pernicioso dopo la somministrazione di uracile e successivamente di metionina per 10 giorni. I risultati ottenuti con la somministrazione dell'uracile sono stati incostanti, ma la successiva somministrazione di metionina ha provocato un ulteriore miglioramento del quadro anemico (2).

Nel presente lavoro è stata studiata l'attività dell'uracile e della metionina somministrati per via orale, sia separatamente che contemporaneamente, nella anemia macrocitica sperimentale del ratto carente di acido folico.

Un gruppo di ratti albini, del peso di circa 50 gr., provenienti dall'allevamento del nostro Istituto, sono stati alimentati con la dieta sintetica purificata carente di acido folico e contenente l'1 per mille di streptomicina precedentemente descritta. Anche per le altre modalità sperimentali rimandiamo ai lavori precedenti (1, 3, 4, 5). Dopo circa 180 giorni dall'inizio dell'esperimento il 60% degli animali ha presentato chiari segni ematologici di carenza di acido folico consistenti in leucopenia ed anemia macrocitica ipercromica. Sono stati pertanto selezionati 32 animali e divisi in 4 gruppi di 8 animali ciascuno che hanno ricevuto il seguente trattamento:

I gruppo: acido folico alla dose terapeutica di 250 μ g alla settimana per via intramuscolare;

II gruppo: uracile alla dose di 100 mg pro die somministrati per via orale;

III gruppo: metionina alla dose di 20 mg pro die per via orale;

IV gruppo: uracile 100 mg al giorno più metionina 20 mg al giorno somministrati contemporaneamente per via orale.

(1) L. TENTORI, G. VIVALDI: Rendiconti Istituto Sup. Sanità in stampa.

(2) VILTER, R. W., HERRIGAN, D., MUELLER, J. F., JARROLD, Th., VILTER, C. F., HAWKINS, V., SEAMAN, A.: Blood V, 695 (1950).

(3) L. TENTORI, G. VIVALDI: Rendiconti Istituto Sup. Sanità XIV, 194 (1951).

(4) L. TENTORI, G. VIVALDI: Rendiconti Istituto Sup. Sanità XIV, 768 (1951).

(5) L. TENTORI, G. VIVALDI: Compt. Rend. III Congr. Soc. Int. Europ. Hémat. pag. 515, Rome oct. 1951.

La durata dell'esperimento è stata di 15 giorni durante i quali sono state studiate le modificazioni del quadro ematico periferico degli animali prendendo in considerazione i seguenti dati: numero dei globuli rossi e dei globuli bianchi per mm^3 , emoglobina in g per cento ematocrito, reticolociti per cento cellule; sono stati inoltre calcolati l'emoglobina media e il volume medio dei corpuscoli.

I risultati ottenuti sono riportati in sintesi nel grafico e nella tabella. Come è evidente dall'esame di essi si può concludere che l'uracile ad una dose veramente massiva, quale quella somministrata, influisce favorevolmente sul quadro anemico degli animali in esperimento modificando in gran parte le caratteristiche peculiari di esso; la risposta comunque non è completa permanendo un certo grado di anemia e valori leggermente superiori alla norma per l'emoglobina ed il volume corpuscolare medio.

Tale risposta si avvicina a quella precedentemente osservata in seguito alla somministrazione di timina; è da rilevare però che le dosi di uracile usate nel corso del presente esperimento sono molto superiori a quelle della timina. La metionina, somministrata anche essa a dosi elevate, ha provocato analogamente un miglioramento del quadro anemico, per quanto, come risulta dai dati riportati, la risposta sia inferiore in modo significativo rispetto a quella ottenuta con l'uracile. Infine un risultato veramente soddisfacente è stato osservato in seguito alla somministrazione delle due sostanze alle stesse dosi. I dati ematologici sono stati riportati alla norma e la risposta ottenuta non si discosta in maniera apprezzabile da quella del gruppo di controllo trattato con dosi terapeutiche di acido folico.

Anche i risultati ottenuti nel corso del presente esperimento si accordano con l'ipotesi che l'acido folico abbia una effettiva importanza nei sistemi enzimatici implicati nella formazione delle purine e delle pirimidine. L'attività dell'uracile può essere spiegata ammettendo che esso sia un precursore della timina, dato che la sua formula differisce da quella di quest'ultima sostanza per la presenza di un gruppo metilico legato in C_5 , e che la sua trasformazione in timina avvenga quindi in vivo per un processo di transmetilazione; i gruppi metilici potrebbero essere donati da sostanze metilanti quali la colina e la metionina.

L'attività emopoietica esercitata dalla metionina nel presente esperimento, e che del resto era già stata saltuariamente osservata nella anemia perniciosa ed in altre anemie megaloblastiche (⁶), può farsi risalire ad un incremento, per azione di massa, di reazioni di transmetilazione di questo tipo. Del resto recentemente, con l'ausilio di isotopi radioattivi, si è giunti alla dimostrazione che il ratto adulto è capace di sin-

TABELLA I

GRUPPI	PRIMA DEL TRATTAMENTO						DOPO IL TRATTAMENTO					
	GR	GB	Hb	VPRC	Mcv	MCHb	GR	GB	Hb	VPRC	Mcv	MCHb
I	366±0,10	7,77±0,37	14,12±0,37	46,00±0,70	123,1±1,60	38,7±0,34	8,19±0,03	13,95±0,24	15,75±0,01	49,75±0,75	60,1±0,88	19,1±0,01
II	383±0,97	7,37±0,66	13,55±0,33	46,00±0,52	120,1±0,74	35,3±0,26	5,92±0,22	9,20±0,17	14,80±0,15	46,50±0,34	80,2±0,85	24,6±0,54
III	382±0,16	8,17±0,37	14,48±0,34	44,75±0,99	118,2±4,31	38,2±1,72	6,47±0,12	10,56±0,77	14,48±0,27	47,25±0,67	74,2±1,78	22,3±0,46
IV	366±0,34	8,25±0,57	13,47±0,34	44,37±1,06	121,7±4,91	36,9±1,51	8,08±0,14	13,75±0,96	15,18±0,44	48,50±0,12	60,0±1,18	19,0±0,52

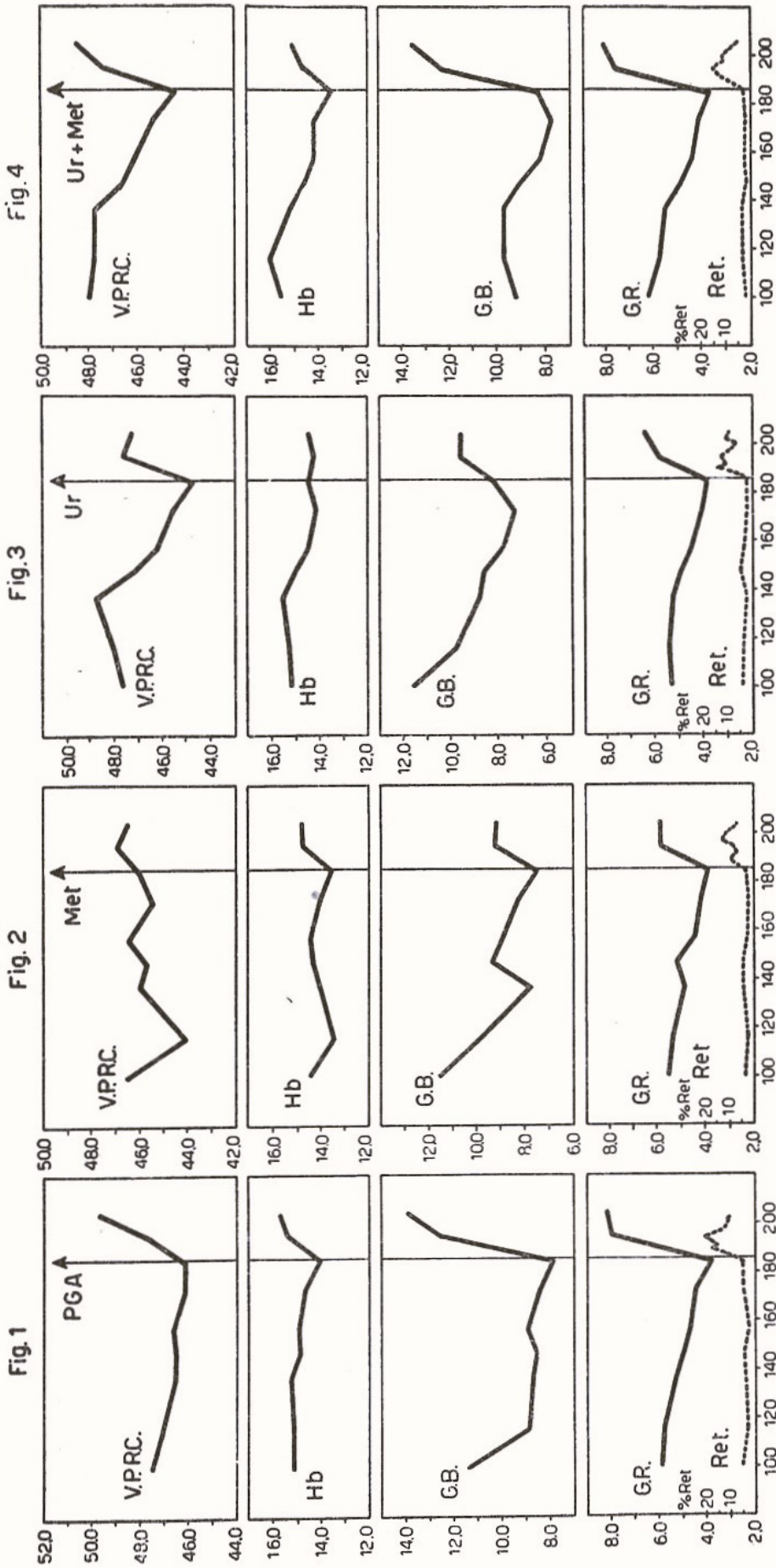
GR = globuli rossi x 10⁶/mmc.
 GB = globuli bianchi x 10³/mmc.

Hb = emoglobina g./100 cc.
 VPRC = ematocrito %

Mcv = volume globulare medio in μ³
 MCHb = concentrazione media di emoglobina per globulo in μγ

- GRUPPO I - acido pteroilglutamico (250 μg. alla settimana)
- GRUPPO II - metionina (20 mg. al giorno)
- GRUPPO III - uracile (100 mg. al giorno)
- GRUPPO IV - metionina (20 mg. al giorno) + uracile (100 mg. al giorno)

TABELLA II



GR = globuli rossi x 10⁶/mmc.
 Hb = emoglobina g./100 mmc.
 GB = globuli bianchi x 10³/cc.
 VPRC = ematocrito %

PGA = acido pteroilglutamico (250 µg. alla settimana)
 Met = metionina (20 mg. al giorno)
 Ur = uracile (100 mg. al giorno)
 Ur+Met = metionina (20 mg. al giorno) + uracile (100 mg. al giorno)

tetizzare la timina mediante metilazione in C_5 di composti pirimidinici (7). Nel quadro di queste azioni di massa possono essere interpretati i risultati ottenuti con la somministrazione contemporanea di uracile e di metionina a dosi assai elevate.

Roma — Istituto Superiore di Sanità — Laboratorio di Biologia.

(6) DAVIS, L. J., BROWN, A.: *Blood* II, 407 (1947).

(7) ELWYN, SPRINSON: *J. Am. Chem. Soc.* 72, 3317 (1950).
