

Azione mitostatica dell'idrazina  
sulle cellule del tumore-ascite del topo  
Azione combinata con la colchicina

**Prof. Mario Torrioli**  
Istituto del Cancro di Roma

**Prof. Letizia Riggio Bevilacqua**  
Istituto Botanico «Hanbury» dell'Università di Genova

**Prof. Giuseppina Torrioli Riggio**  
Istituto «Gregorio Mendel» di Roma

**Dr. Alfonso Alfieri**  
Istituto «Gregorio Mendel» di Roma

In una serie di lavori, in questi ultimi anni, uno di noi (1) ha lungamente studiato l'azione dell'idrazina sui vegetali superiori. Le conclusioni, stralciando solo quanto a noi interessa, possono essere sintetizzate nei seguenti punti:

1) L'idrazina dimostra di possedere uno spiccatissimo potere di inibizione sulla crescita delle piante superiori.

2) Detta azione si manifesta, su piano cellulare, con un blocco meta-anatelo-fasico completo, ad opportune concentrazioni (su radice di *allium cepa*).

3) Il meccanismo principale di detta azione va, presumibilmente, ricercato in un blocco dei sistemi enzimatici aventi per coenzima il piridossalsolfato.

Scaturiva da queste conclusioni l'affermazione che l'idrazina andava annoverata nel gruppo di quelle sostanze agenti sulle mitosi, che si fa ogni giorno più folto e che interessa da un punto di vista pratico gli oncologi che le usano in terapia, e, da un punto di vista sperimentale, i genetisti che, tra l'altro, le impiegano nello studio dei cromosomi.

Questa la ragione della impostazione del presente lavoro e del gruppo di ricercatori che vi ha partecipato, nell'intento di controllare l'ipotesi che i dati di fatto osservati sulle piante superiori si ripetessero anche sugli animali superiori.

Su questa strada indirizzavano anche lavori di precedenti ricercatori, come Klaus Simon (2) che nel 1952 aveva ottenuto risultati incoraggianti, sperimentando numerosi derivati dell'idrazina sul tumore-ascite, Trabucchi e Garattini sul Walker (3), e Brambilla e Baldini (4) che nel 1959 avevano sperimentato l'azione dell'idrazide dell'acido nicotinico sullo sviluppo del sarcoma Galliera, ottenendo una inibizione del 28%. Risultati praticamente negativi avevano invece ottenuto con molti derivati dell'idrazina Freedlander e Furst (1952) sperimentando sulla leucemia murina.

### Tecnica

Come test da usare si presentavano due principali possibilità: le culture di tessuti e i tumori trapiantabili degli animali di laboratorio. Non escludendo l'utilità della prima, per mezzo della quale intendiamo, in un secondo tempo, completare le attuali ricerche, seguendo le mitosi a contrasto di fase in vivo, abbiamo preferito iniziare con la seconda, che costituisce ormai un test classico, tanto più maneggevole, quanto più conosciuto.

Abbiamo ritenuto inoltre utile, dopo le prime ricerche di orientamento, abbinare l'azione della idrazina a quella di un citostatico ormai perfettamente conosciuto, la colchicina. La ragione di questo risulterà evidente dal protocollo degli esperimenti.

Scegliemmo il tumore ascite di Ehrlich, che si presta molto bene per lo studio delle mitosi, usando il ceppo dell'Istituto del Cancro di Roma, già largamente impiegato da tempo in molti lavori. In detto ceppo la comparsa delle cellule nel peritoneo regolarmente avviene al V giorno dal trapianto. Da notare solo che di quando in quando, nei trapianti, si verificano attenuazioni spontanee con percentuali di attecchimento più basse o maggior durata del periodo di incubazione. Da notare anche che rispetto alle cifre di Edwards e coll. (5) avemmo nei controlli cifre leggermente superiori di interfase, che superarono più di una volta l'80%.

Non appena nel topo inoculato era evidente l'ascite, con una densità cellulare media di 120.000-150.000 cellule mmc la sostanza in esame veniva iniettata e il topo veniva sacrificato alcune ore dopo (vedi protocolli). Il prelevamento del materiale veniva eseguito pipettando il liquido ed eseguendo strisci con la comune tecnica ematologica. I preparati essiccati venivano fissati in alcool metilico per 4 minuti e colorati con soluzione di Giemsa (una goccia per centimetro cubo) per 25 minuti; differenziazione per qualche minuto in acqua corrente (pH 6,8).

### Protocolli

#### 1. Controllo di tossicità

Idrazina	mg. 3	mg. 1,8	mg. 0,9
Topi iniettati	4	4	6
Morti	4 (12 h)	2 (36 h)	1

I topi morti presentavano tutti evidenti lesioni epatiche (fegato grosso, congesto, molle). Venne pertanto scelta come dose massima da impiegare nelle esperienze mg. 1,5 di idrazina in una sola iniezione. Col progredire delle esperienze detta dose venne ulteriormente, notevolmente abbassata (vedi protocolli). L'idrazina veniva iniettata sotto forma di solfato non neutralizzata. I topi sono stati sempre scelti del peso di circa 25 g. ciascuno.

Tab. 2. Azione della sola idrazina

Animali	Data	Giorno dal trapianto	Sostanza	Dose	Aspetto cromosomico	Formula mitotica <sup>1</sup>	Osservazione
A <sub>1</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	I <sub>93</sub> P <sub>2</sub> M <sub>3</sub> T <sub>1</sub> A 1%	12 h
A <sub>2</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	97-0-2-0-0-1%	12 h
A <sub>3</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	96-4-0-0-0-0%	12 h
A <sub>4</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	97-1-1-0-0-1%	16 h
A <sub>5</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	94-5-0-0-0-1%	16 h
A <sub>6</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	97-1-2-0-0-0%	16 h
B <sub>1</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 0,95	Normali	95-3-0-0-0-2%	12 h
B <sub>2</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 0,95	Normali	96-1-2-0-0-1%	12 h
B <sub>3</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 0,95	Normali	91-5-1-1-1-2%	12 h
B <sub>4</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 0,95	Normali	95-1-0-4-0-0%	16 h
B <sub>5</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 0,95	Normali	94-3-2-0-0-1%	16 h
B <sub>6</sub>	4-7-59	5°	Idrazina	mg. 0,95	Normali	96-2-0-0-1-1%	16 h
C <sub>1</sub>	16-7-59	6°	—	—	—	Vedi testo	Controllo 20 h
C <sub>2</sub>	16-7-59	6°	—	—	—	Vedi testo	Controllo 20 h
C <sub>3</sub>	16-7-59	6°	—	—	—	Vedi testo	Controllo 20 h
C <sub>4</sub>	16-7-59	6°	—	—	—	Vedi testo	Controllo 20 h
C <sub>5</sub>	16-7-59	6°	—	—	—	Vedi testo	Controllo 20 h
Co <sub>1</sub>	16-7-59	6°	Colchicina	mg. 0,03	Alterazioni metafasiche	75-0-25-0-0-0%	20 h
Co <sub>2</sub>	16-7-59	6°	Colchicina	mg. 0,03	Alterazioni met.	74-0-26-0-0-0%	20 h
Co <sub>3</sub>	16-7-59	6°	Colchicina	mg. 0,03	Alterazioni met.	72-0-25-3-0-0%	20 h
Co <sub>4</sub>	16-7-59	6°	Colchicina	mg. 0,03	Alterazioni met.	Metafasi bloccate 20%	20 h
Co <sub>5</sub>	16-7-59	6°	Colchicina	mg. 0,03	Alterazioni met.	Metafasi bloccate 24%	20 h
A <sub>7</sub>	16-7-59	6°	Idrazina	mg. 1,5	—	Illeggibile	Morto spontaneamente
A <sub>8</sub>	16-7-59	6°	Idrazina	mg. 1,5	—	Illeggibile	Morto spontaneamente
A <sub>9</sub>	16-7-59	6°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	Interfasi 94%	20 h
A <sub>10</sub>	16-7-59	6°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	Interfasi 95%	20 h
A <sub>11</sub>	16-7-59	6°	Idrazina	mg. 1,5	Normali	Interfasi 93%	20 h

<sup>1</sup> Cifre percentuali I = Interfase P = Profase M = Metafase T = Telofase A = Anafase

I risultati, quali appaiono dai protocolli, sono sufficientemente eloquenti e la loro notevole uniformità ci esime dall' eseguire il calcolo statistico sulla loro significatività.

Prendendo come punto di partenza le cifre di Edwards e coll. del 1960 (4) sul ciclo mitotico del tumore di Erlich non trattato, abbiamo:

interfase	profase	metafase	anafase	telofase
78,2%	18,1%	1,3%	0,9%	1,5%

Possiamo dire che dette cifre corrisposero per lo più a quelle riscontrabili nel ceppo da noi usato. Solo nel periodo di attenuazione spontanea e transitoria, accanto al ritardo di comparsa delle cellule nel peritoneo si osservò uno spostamento verso le interfasi che raggiunsero e superarono l'80%. Non si tenne conto delle esperienze eseguite in quegli animali in cui l'ascite e le cellule nel peritoneo comparvero dopo il 10° giorno dal trapianto.

Partendo da dette premesse, basta un'occhiata ai protocolli per rendersi conto che l'idrazina, in tutte le dosi usate negli esperimenti, e con un periodo di osservazione dalla 12<sup>a</sup> alla 20<sup>a</sup> ora dopo l'iniezione, provoca un netto spostamento della formula mitotica a favore delle interfasi, che oscillarono in tutti gli animali intorno al 95%. L'aumento delle interfasi avviene per lo più a scapito delle profasi, mentre le altre fasi oscillano intorno a cifre normali. Si tratta quindi, evidentemente, di una inibizione della mitosi che si svolge in periodo interfascico. È evidente l'analogia con quanto già osservato nelle piante superiori e resta valida l'ipotesi che si tratti di una inibizione nella sintesi dell'ADN.

Questi fatti e questa ipotesi ci hanno indotto a saggiare l'azione dell'idrazina abbinata a quella della colchicina, iniettata a dosi efficienti o contemporaneamente alla prima o poche ore dopo (vedi protocolli). Fummo indotti a questo dalla ben nota azione della colchicina di indurre le cellule in mitosi e di bloccarle in metafase. Si presumeva così di ottenere il massimo della azione mitotossica usando contemporaneamente un veleno interfascico ed uno metafascico. I risultati furono quanto mai interessanti e, meglio di qualsiasi descrizione, crediamo possa risultare utile l'ampia documentazione fotografica che segue e le relative didascalie.

Si noti che in queste ultime esperienze fu necessario ridurre notevolmente la dose dell'idrazina perchè, abbinata alla colchicina, in dosi di mg. 1,5 dava un'altissima mortalità.

Tab. 3. Azione dell'idrazina e colchicina

Animali	Data	Giorno dal trapianto	Sostanza	Dose	Aspetto cromosomico	Formula mitotica	Osservazione
I+C <sub>1</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>2</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>3</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>4</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>5</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>6</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>7</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>8</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>9</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente
I+C <sub>10</sub>	16-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 1,5 mg. 0,03	Alterazioni gravissime	Illeggibile	Morto spontaneamente

Tab. 3. (segue)

Animali	Data	Giorno dal trapianto	Sostanza	Dose	Aspetto cromosomico	Formula mitotica	Osservazione
I <sub>1</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Alterazioni Metafasiche	Metafasi Bloccate 25%	Ucciso alla 18 h
I <sub>2</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Alterazioni Metafasiche	Metafasi Bloccate 24%	Ucciso alla 18 h
I <sub>3</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Alterazioni Metafasiche	Metafasi Bloccate 24%	Ucciso alla 18 h
I <sub>4</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Alterazioni Metafasiche	Metafasi Bloccate 23%	Ucciso alla 18 h
I <sub>5</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Alterazioni Gravi	Illeggibile	Morto spontaneamente
I <sub>6</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Alterazioni Metafasiche	Metafasi Bloccate 22%	Ucciso alla 18 h
II <sub>1</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Alterazioni Metafasiche	Metafasi Bloccate 26%	Ucciso alla 18 h
II <sub>2</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,015	Alterazioni metafasiche	Metafasi 24%	Ucciso alla 18 h
II <sub>3</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,015	Alterazioni metafasiche	Metafasi 22%	Ucciso alla 18 h
II <sub>4</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,015	Alterazioni metafasiche	Metafasi 19%	Ucciso alla 18 h
II <sub>5</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,015	Alterazioni metafasiche	Metafasi 26%	Ucciso alla 18 h
II <sub>6</sub>	23-7-59	4°	Idratzina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,015	—	Illeggibile	Morto spontaneamente

Tab. 3. (segue)

Animali	Data	Giorno dal trapianto	Sostanza	Dose	Aspetto cromosomico	Formula mitotica	Osservazione
A <sub>1</sub>	3-8-59	5°	Idrazina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Metafasi anorm.	60-2-36-2-0%	Ucciso alla 12 h
A <sub>2</sub>	3-8-59	5°	Idrazina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Alterazioni profonde	65-6-24-5-0%	Ucciso alla 12 h
A <sub>3</sub>	3-8-59	5°	Idrazina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Vedi foto	69-7-21-3-0%	Ucciso alla 12 h
A <sub>4</sub>	3-8-59	5°	Idrazina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,03	Vedi foto	58-8-30-4-0%	Ucciso alla 12 h
B <sub>4</sub>	4-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,02	Vedi foto	Illeggibile	Morto spontaneamente
B <sub>1</sub>	4-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,02	Degenerazione in metafase	73-2-25-0-0%	Ucciso alla 24 h
B <sub>2</sub>	4-7-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterazioni metafasiche	70-4-25-1-0%	Ucciso alla 24 h
B <sub>3</sub>	4-8-59	6°	Idrazina Colchicina	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterazioni metafasiche	68-3-28-1-0%	Ucciso alla 24 h
D <sub>1</sub>	2-9-59	8°	Idrazina Colchicina 5 ore dopo	mg. 0,35 mg. 0,025	Alterazioni metafasiche	95-0-3-2-0%	Ucciso alla 24 h
D <sub>2</sub>	2-9-59	8°	Idrazina Colchicina 5 ore dopo	mg. 0,35 mg. 0,025	Alterazioni scarse	85-5-10-0-0%	Ucciso alla 24 h
D <sub>3</sub>	2-9-59	8°	Idrazina Colchicina 5 ore dopo	mg. 0,35 mg. 0,025	Gravi alterazioni	Interfasi 90%	Ucciso alla 24 h (Presenza di germi)
D <sub>4</sub>	2-9-59	8°	Idrazina Colchicina 5 ore dopo	mg. 0,35 mg. 0,025	Alterazioni scarse	Interfasi 90%	Ucciso alla 24 h
D <sub>5</sub>	2-9-59	8°	Idrazina Colchicina 5 ore dopo	mg. 0,35 mg. 0,025	—	Illeggibile	Morto spontaneamente

Tab. 3. (segue)

Animali	Data	Giorno dal trapianto	Sostanza	Dose	Aspetto cromosomico	Formula mitotica	Osservazione
E <sub>1</sub>	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Idrazina Colchicina 8 ore dopo	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterato	74-20-6-0-0%	Ucciso alla 12 h
E <sub>2</sub>	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Idrazina Colchicina 8 ore dopo	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterato	90-1-9-0-0%	Ucciso alla 12 h
E <sub>3</sub>	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Idrazina Colchicina 8 ore dopo	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterato	90-2-8-0-0%	Ucciso alla 12 h
E <sub>4</sub>	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Idrazina Colchicina 8 ore dopo	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterato	96-1-3-0-0%	Ucciso alla 12 h
E <sub>5</sub>	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Idrazina Colchicina 8 ore dopo	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterato	92-2-6-0-0%	Ucciso alla 12 h
E <sub>6</sub>	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Idrazina Colchicina 8 ore dopo	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterato	94-1-5-0-0%	Ucciso alla 12 h
E <sub>7</sub>	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Idrazina Colchicina 8 ore dopo	mg. 0,30 mg. 0,02	Alterato	Illeggibile	Morto spontaneamente
CO <sub>14</sub> I	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Colchicina	mg. 0,02	Alterato	Metafasi bloccate 25%	Ucciso alla 16 h
CO <sub>14</sub> II	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Colchicina	mg. 0,02	Alterato	16%	Ucciso alla 16 h
CO <sub>14</sub> III	10-9-59	10 <sup>a</sup>	Colchicina	mg. 0,02	Alterato	15%	Ucciso alla 16 h



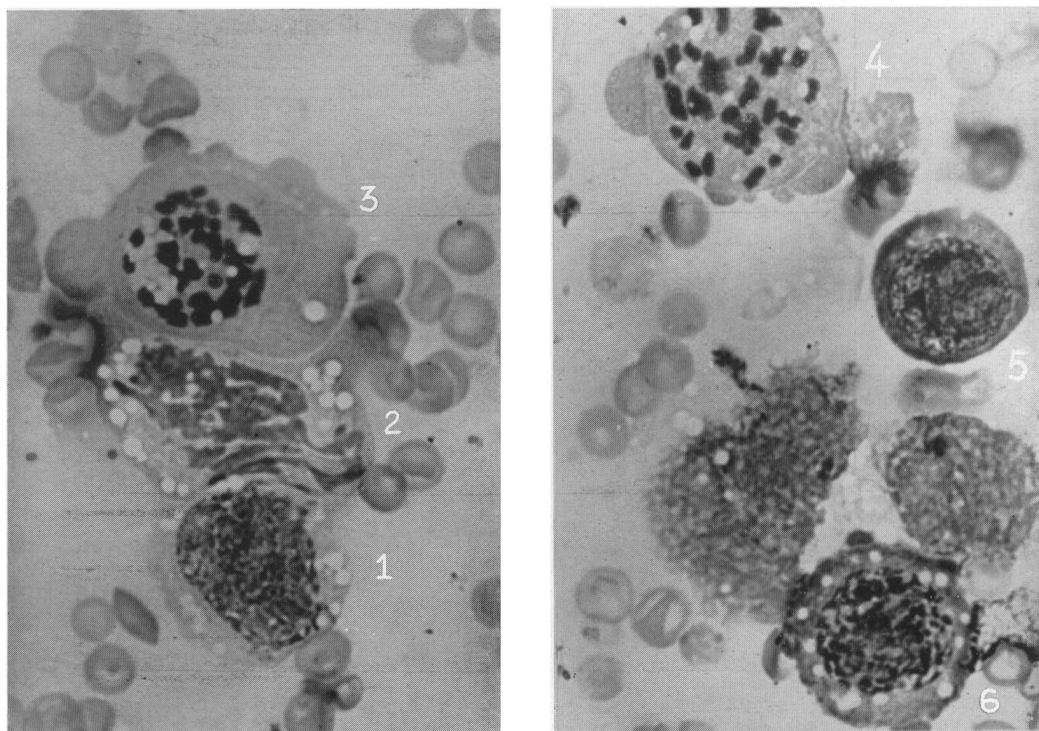


Fig. 1. Due campi microscopici non combinati (1000 ×)

1. Cellula neoplastica in interfase. Nucleo in interfase con nucleoli giganteschi ancora ben visibili.
2. Cellula deformata dallo striscio. Presumibile iniziale formazione cromosomica (?).
- 3 e 4. Ambedue le forme possono essere classificate come metafasi bloccate. In realtà è impossibile riportarle ad una fase tipica di mitosi. I cromosomi sono deformi, arrotondati; alcuni perfettamente isolati, altri presumibilmente conglutinati in piccoli gruppi. Detti cromosomi in 3) sono ancora raggruppati in una zona centrale, non circoscritta da membrana, mentre in 4) sono sparsi su tutto il protoplasma. Quest'ultimo è fortemente tingibile con i colori basici, vacuolizzato abbondantemente, circondato da estroflessioni pseudopodiali imponenti.
5. Come 1); nucleo in interfase con evidenti nucleoli.
6. Inizialissima profase. La cromatina nucleare è in fase di spirema. Vacuolizzazione ed irrequietezza del protoplasma.

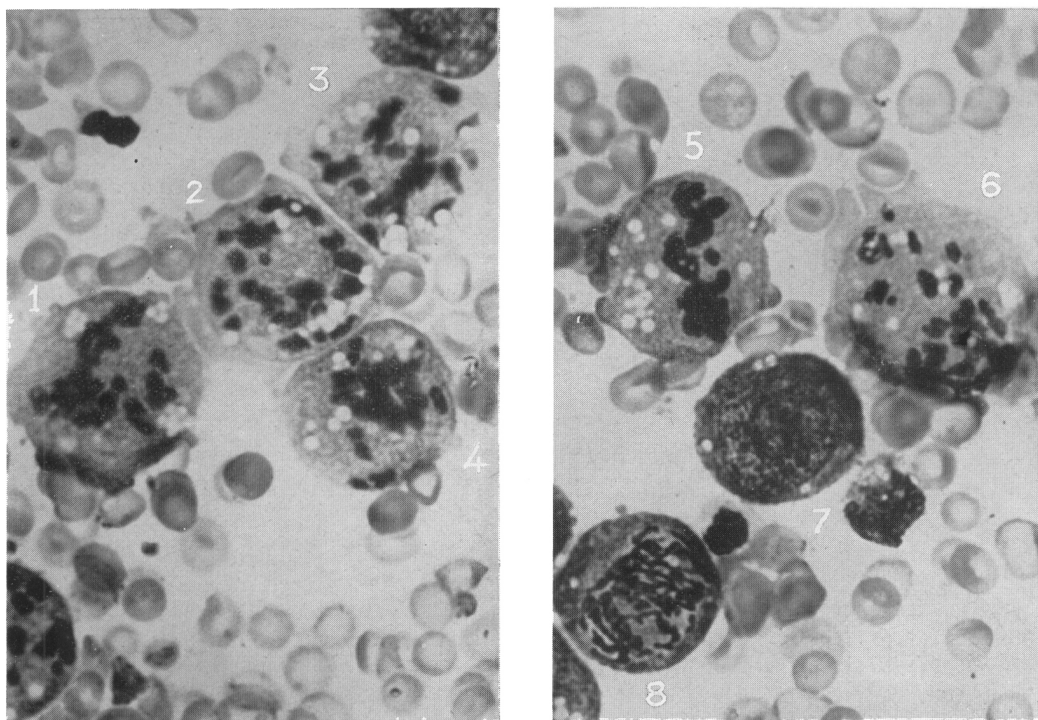


Fig. 2. Due campi microscopici non combinati (1000 ×)

1, 2, 3, 4, 5, 6. Cellule riportabili al tipo 3) e 4) della figura precedente. Non una è classificabile in fasi regolari della mitosi. Si noti che i cromosomi, sparsi abbastanza regolarmente nella cellula 2), sono in 1) e 3) agglutinati in piccoli gruppi; in 4) è un gruppo centrale notevole. In 5) e 6) l'agglutinazione raggiunge il massimo, centrale in 5), polare in 6).

In 7) interfase. Si noti la forte basofilia protoplasmatica, la conservazione della membrana nucleare e dei nucleoli.

In 8) profase, protoplasma come in 7). Scomparsa della membrana nucleare e dei nucleoli; ordinamento della cromatina in filamento con iniziale frammentazione. Si notino l'irregolarità e l'atipia.

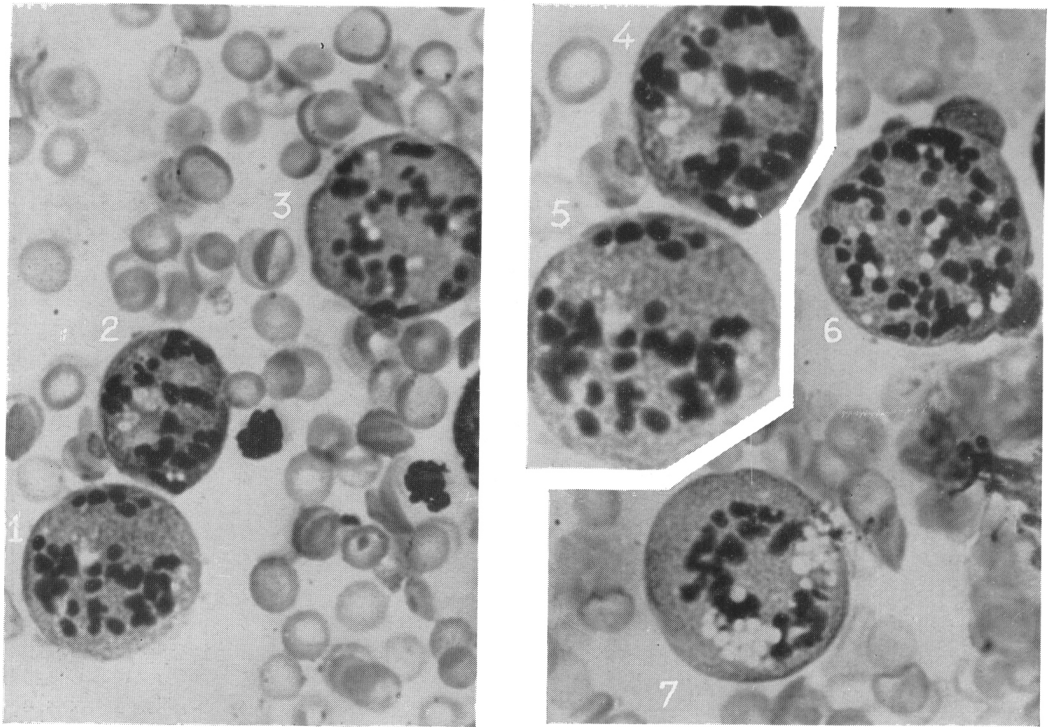


Fig. 3. Tre campi microscopici non combinati (1000  $\times$ )

1-7. Tutte le cellule rappresentate in queste fotografie appartengono al tipo 3) e 4) della fig. 1. Sono state riportate per documentare la estrema multiformità del loro aspetto. Si noti particolarmente: *a*) la spiccatissima anisocitosi che non sembra legata nè alla fase nè al numero dei cromosomi esistenti nella cellula. *b*) La grande differenza di numero, di forma e di disposizione dei cromosomi stessi da cellula a cellula.

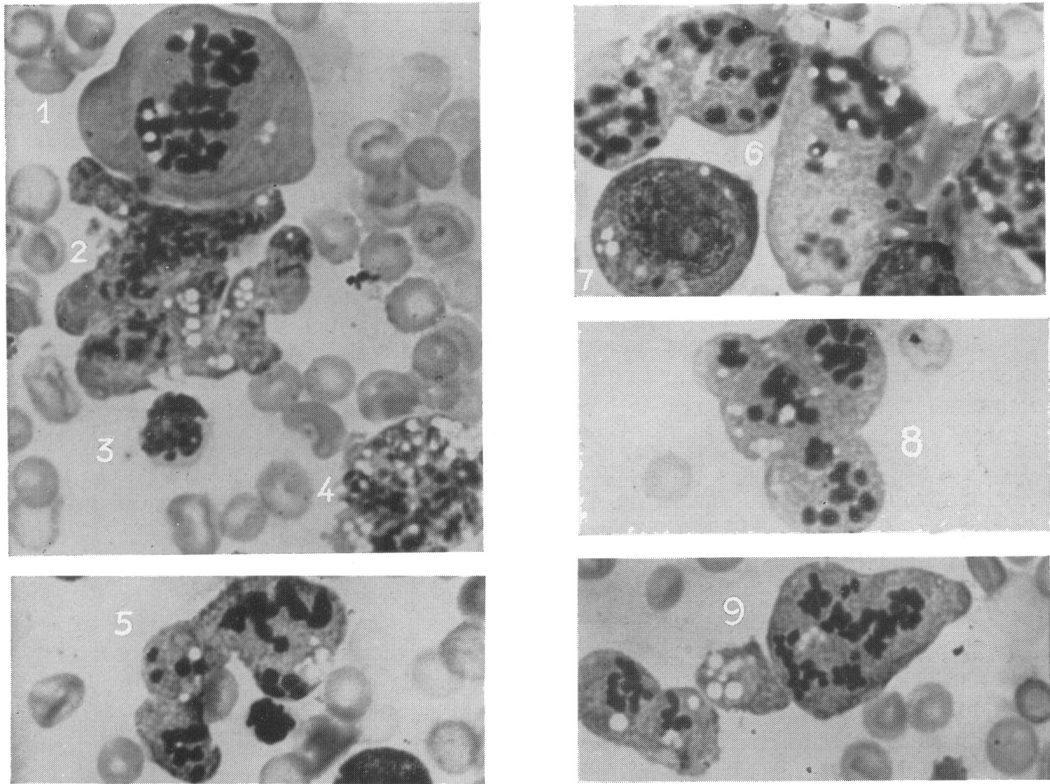


Fig. 4. Cinque Campi microscopici ravvicinati (1000 ×)

1. Ancora una metafase bloccata. Si riconosce ancora la membrana nucleare entro la quale i cromosomi sembrano esser contenuti.
2. Masserelle di cromatina nucleare, non più classificabili come cromosomi, sono diffuse nel citoplasma che presenta iniziali fatti di scissione diretta che sono più evidenti nelle foto successive.
3. Numerosi cromosomi conglutinati entro una piccola massa citoplasmatica.
4. Forma simile alla 2); meno evidenti i fatti di segmentazione, più evidente la vacuolizzazione (degenerazione grassa?).
- 5-6-8-9. Quattro aspetti diversi di un fenomeno non riportabile neanche in modo approssimativo, a fasi normali della mitosi. I cromosomi profondamente alterati, si dispongono a gruppi ed ognuno viene circondato da una porzione di citoplasma che tende a separarsi dagli altri, staccandosene infine completamente.
7. Interfase apparentemente normale.

Da quanto sopra, quindi, ci sentiamo autorizzati alle seguenti affermazioni:

1. L'idrazina conferma su cellule patologiche degli animali superiori l'azione mitostatica dimostrata sui tessuti normali delle piante superiori. Si tratta del più chiaro esempio di mitostasi in quanto detta azione si svolge nell'interfase e inibisce per circa il 60% l'entrata in profase. Pare dai nostri protocolli che le mitosi, sfuggite a detta azione interfascica, si svolgano poi su un piano approssimativamente normale, perchè normale è l'aspetto morfologico dei cromosomi e perchè dette cellule raggiungono la telofase e l'anafase in percentuali normali, tenendo conto della diminuzione delle profasi.

2. Se si accoppia a detta azione inibitrice a svolgimento interfascico un mitotossico ormai tipico, stimolante l'entrata in mitosi, bloccante in metafase, quale la colchicina, si ottengono dei risultati veramente notevoli. A parte la grande quantità di metafasi dimostranti in modo evidente il blocco, è la profonda atipia di forma e di comportamento che rende singolare il reperto. I cromosomi<sup>1</sup> appaiono tozzi, deformi, diffusi nel protoplasma della cellula, con tendenza ad agglutinarsi a gruppetti irregolari, attorno ai quali vanno a disporsi lembi di protoplasma senza nessuna tendenza alla ricostituzione di un nucleo e con la conseguente formazione di mostruosità cellulari, la cui fase ultima è la degenerazione grassa e la necrosi.

3. Da dette esperienze l'azione combinata della idrazina e della colchicina risulta essere ideale per ottenere una evidenziazione dei cromosomi ed un blocco mitotico. Detta azione dovrà essere usata con grande prudenza qualora si volesse impiegare nella conta dei cromosomi e nello studio della morfologia dei cromosomi stessi, date le notevoli alterazioni morfologiche e funzionali sopra descritte. Una uguale riserva però va indiscutibilmente fatta per tutti quei metodi di studio che sfruttano l'azione di veleni mitotici.

Estremamente promettente invece, si dimostra la detta associazione nel campo della terapia citostatica; su questo campo uno di noi sta già da tempo conducendo tentativi, che sembrano dare risultati incoraggianti soprattutto nel campo delle leucemie linfatiche.

#### Riassunto

Gli AA. dimostrano che l'azione mitostatica dell'idrazina, accertata sulle piante superiori, è presente anche nelle cellule del tumore-ascite di Erlich dei topi. Associando all'idrazina la colchicina, si ottiene un blocco metafascico spiccatissimo, sia per il numero di cellule colpite, sia per la patologia cellulare che ne consegue. Si segnala detta associazione come utile nello studio della patologia mitotica ed estremamente promettente nel campo della terapia citostatica delle leucosi e dei tumori.

<sup>1</sup> Le alterazioni descritte sono tali da mettere in dubbio se ancora possa parlarsi di cromosomi. Torneremo su questo punto in un prossimo lavoro.

### Bibliografia

1. RIGGIO BEVILACQUA LETIZIA: Azione fisiologica dell'idrazina sui vegetali superiori. I. Effetto sulla dominanza apicale. Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale, Vol. XXXII, Fasc. 6, 1956.
- BALBI GIANNA: Azione fisiologica dell'idrazina sui vegetali superiori. 4. Effetto sulla crescita per moltiplicazione cellulare e su quella per distensione. Atti dell'Accademia ligure di Scienze e Lettere, Vol. XIII, 1956.
- Azione fisiologica dell'idrazina sui vegetali superiori. VI. L'effetto sulle mitosi. Atti dell'Accademia Ligure di Scienze e Lettere, Vol. XIV, 1957.
- SANTO TERESA: Azione fisiologica dell'idrazina sui vegetali superiori. VIII. Confronto tra le dosi letali di idrazina e di idrazide isonicotinica e la reagibilità delle due sostanze col piridossalfosfato ed alcuni cheatoacidi. Atti dell'Accademia Ligure di Scienze e Lettere, Vol. XVI, 1959.
- Sulla esistenza di una idrazina-deidrogenasi e sulla sua rivelazione in plantule di *pisum sativum*. Atti dell'Accademia Ligure di Scienze e Lettere, Vol. XI, 1954.
2. SIMON KLAUS: The cytostatic action of hydrazine derivatives on ascites tumor in mice. *Z. Naturforsch.* 7b, 531-6 (1952).
3. TRABUGCHI E., GARATTINI S.: Ricerche su alcuni antimitotici: interferenze su particolari processi metabolici e attività nei confronti del tumore di Walker trapiantato in sedi diverse. Atti del I Simposio sugli Antimitotici. Sanremo 10-11 giugno 1955.
4. BRAMBILLA G. e BALDINI L.: Azione inibitrice dell'idrazide isonicotinica sullo sviluppo del sarcoma Galliera del ratto. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim.*, 1959, XXXV, 1169.
5. EDWARDS J. L., ARTHUR M. D., KOCK L., YONCIS PAULINE, FREESE HERBERT L., MELVILLE B., LAITE and THOMAS DONALSON: Some Characteristics of DNA Synthesis and the Mitotic Cycle in Ehrlich Ascites Tumor Cells. *J. Bioph. and Bioch. Cytol.*, 1960, 7, 273.

RÉSUMÉ

Les Auteurs démontrent que l'action mitostatique de l'hydrazine — trouvée dans les plantes supérieures — est également présente dans les cellules de la tumeur-ascites d'Erlich des rats. Par l'association de la colchicine à l'hydrazine l'on obtient un bloc métaphasique extrêmement remarquable, soit pour le nombre de cellules atteintes, soit pour la pathologie cellulaire qui en résulte. L'association en question est signalée comme étant très utile dans l'étude de la pathologie mitotique et pouvant l'être dans la thérapie cytostatique des leucoses et des tumeurs.

SUMMARY

The Authors show that the mitostatic action of hydrazine, ascertained on higher plants—is also present in the cells of Erlich's tumor-ascites in rats. Through the association of colchicine with hydrazine a metaphase-block is obtained, in which the number of affected cells as well as the ensuing cellular pathology are remarkably clear. The Authors stress out the usefulness of the above association in mitotic pathology and its great possibilities in the field of the cytostatic therapy of leucoses and tumors.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser beweisen, dass die bei höheren Pflanzen festgestellte mitostatische Wirkung des Hydrazins auch in den Zellen der Erlich'schen Tumor-Aszites bei Mäusen auftritt. Wenn man das Hydrazin noch mit Colchizin verbindet, so erreicht man eine ausgesprochene Blockierung der Metaphase, die sich erstens zahlenmässig und demzufolge zweitens auch zellpathologisch auswirkt. Diese Verbindung wird deshalb hervorgehoben, da sie beim Studium der Mitose-Pathologie nützlich und auf dem Gebiet der zytostatischen Behandlung von Leukosen und Tumoren äusserst vielversprechend sein dürfte.