

UČINAK AKTINOMICINA D NA NEKE  
AKTIVNOSTI ŽIVE STANICE

ĐURĐA HORVAT

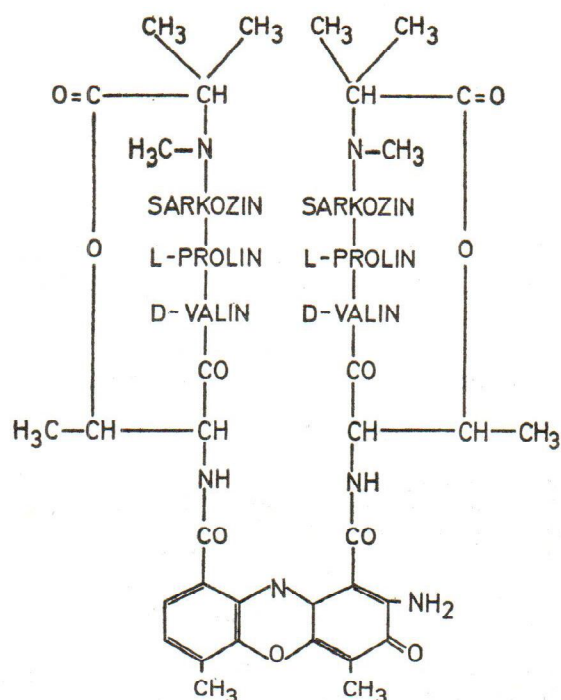
*Iz Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada JAZU, Zagreb**(Priljeno 13. VI 1972)*

U doba široke primjene antibiotika radi terapije i istraživanja u ovom su radu iznesena neka gledišta djelovanja aktinomicina D (AMD) kao antibiotika osobitoga djelovanja. Koristi se u humanoj medicini, a kao osobito svrsishodan agens primjenjuje se u praćenju niza metaboličkih procesa žive stanice. Učinak AMD je izrazita citotoksičnost na *in vivo* i *in vitro* sustave, a temelji se na izravnoj inhibiciji RNK polimeraze, što sprečava sintezu informativne (messenger) RNK.

Još 1940. godine *Waksman* i *Woodruff* izdvojili su aktinomicin iz *Streptomyces* antibiotikusa (1). U toj skupini je kasnije izdvojeno oko 50 drugih tipova aktinomicina s vrlo malim strukturalnim razlikama. Mnogi od njih pokazuju izrazito baktericidna svojstva, dok drugi uz to djeluju i kao antineoplastički agensi. Iz te skupine izdvaja se aktinomicin D koji je prvenstveno korišten u terapijske svrhe pri liječenju određenih plućnih i bubrežnih oboljenja (2, 3, 4), te u dječjoj onkologiji (5, 6). Kasnije je u medicinskoj praksi zbog svoje izrazite toksičnosti većim dijelom napušten. Međutim, široko se primjenjuje u rasvjetljivanju nekih temeljnih procesa normalne, žive stanice. Kao agens izbora koristi se u praćenju metabolizma nukleinskih kiselina, njihovoj ulozi u genetskoj replikaciji, celularnoj diferencijaciji, sintezi proteina, multiplikaciji virusa, te u praćenju reparatornih procesa nakon zračenja.

Strukturalno-kemijski aktinomicin D predstavlja molekulu koja se sastoji iz dva dijela – jezgre, koja je kromofornog karaktera (3-amino-1, 8-dimetil-2-fenoksazon-4,5-dikarbonska kiselina) i dva peptidna lanca vezana na tu jezgru (slika 1) (7, 8, 9).

U ustrojstvu djelovanja aktinomicina D poznat je prvi stupanj – stvaranje skupa deoksiribonukleinske kiseline – AMD. Naime, nativna helikalna DNK sadrži određen broj mjesta – udubina na koje se može vezati aktinomicin D. Guanin – citozin par baza na lancu DNK sadrži gvaninske ostatke koji predstavljaju bitne točke za hidrogensko vezanje AMD (slika 2).



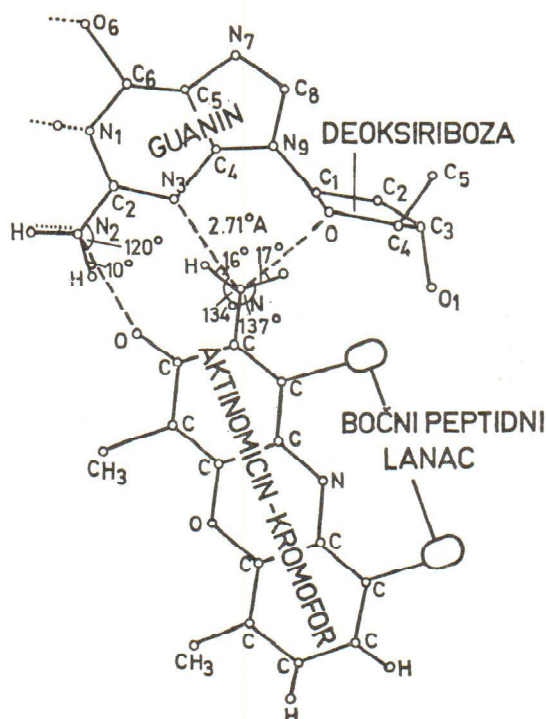
Sl. 1. Struktura aktinomicina D (Reich, E. and Goldberg, I. H.) (37)

Budući da molekule DNK, prema svom celularnom porijeklu, variraju u sadržaju guanin-citozina, to će i količina vezanog AMD biti u svakom slučaju drugačija. Tu su čak moguće i određene količinske procjene vezanog AMD, iako postoji i niz drugih čimbenika koji utječu na količinu vezanog AMD (10).

Fiziološko-metabolička posljedica nastalog skupa DNK-AMD direktna je inhibicija RNK-polimeraze, što dovodi do inhibicije sinteze informativne (messenger) RNK (11, 12). Taj primarni učinak smanjene sinteze informativne RNK uzrokuje i poremećaj u sintezi proteina žive stanice, što opet povlači za sobom lanac enzimatsko-katalitičkih poremećaja (13).

Posljedice djelovanja AMD na živu stanicu mogle bi se svesti na slijedećih nekoliko točaka:

- a) citomorfološko gledište
- b) ultrastrukturalne promjene
- c) dinamičko gledište
- d) djelovanje AMD na biosintetske procese
- e) antireparatorno djelovanje.



Sl. 2. Interakcija između aktinomicina D i deoksiribonukleinske kiseline (Reich, E., Goldberg, I. H.) (37)

U daljnjem izlaganju razmotrit ćemo posebno svaku od navedenih točaka.

a) Citomorfološko gledište

Ovisno o tipu celularnog materijala i koncentraciji AMD, obrađivane stanice pokazuju određene intracelularne promjene. Jedan od vidljivih učinaka jest izrazito bubrenje stanične jezgre viđeno kod *Amoeba proteusa* pri dozi od  $50 \mu\text{g/ml}$  AMD (4), a isto i kod HeLa-stanica koje su humanog porijekla, ali i kod koncentracije  $1 \mu\text{g/ml}$  (15). Upravo kod HeLa-soja ta se neobičnost koristi pri simuliranju enukleacije tog materijala. Paralelno s bubrenjem stanične jezgre dolazi i do smanjenja citoplazme, što konačno dovodi do potpunog raspada stanične mase (14).

b) Ultrastrukturalne promjene

Praćenjem intracelularne osjetljivosti na AMD uočeno je da su nukleoli najosjetljivija mjesta u stanici životinjskog porijekla (16). Ovisno o primijenjenoj koncentraciji antibiotika u toku inkubacije dolazi do komadanja i nestajanja nukleola kod mnogih sojeva životinjskih stanica.

*Fraccaro* i suradnici uočavaju da koncentracija AMD od 0,1  $\mu\text{g/ml}$  pri trosatnoj izloženosti EUE-stanica čovječjeg porijekla uzrokuje rastuće smanjenje broja nukleola koje redovno dovodi do potpunog nestajanja nukleolarne zone (17). Krajnji učinak viđen je nakon šestosatne izloženosti EUE-stanica toj koncentraciji. Koncentracija od 10  $\mu\text{g/ml}$  AMD izaziva u ovom tipu celularnog materijala već nakon 30 minuta potpuno uništenje nukleola, a nakon 2 sata i ostale jezgrene strukture potpuno su uništene.

Kod HeLa-stanica, također čovječjeg porijekla, nađen je razorni učinak na nukleole već nakon dvosatne izloženosti koncentraciji od 0,1  $\mu\text{g/ml}$  AMD (15). Međutim, pri ovoj koncentraciji i inkubacijskom razdoblju HeLa-stanica aktinomycinu D, odstranjenjem i ispiranjem AMD učinak je obratljiv.

Zanimljivo je da postoje sojevi životinjskih stanica čiji su pojedini klonovi posebno osjetljivi, ili pak osobito otporni na AMD. Važno je pri tome imati u vidu da je taj fenomen izazvan naknadno, izloženošću dotičnih sojeva stanica rastućim koncentracijama AMD. Pri tom se mijenja propustljivost celularnih i jezgrenih membrana. Osim toga smatra se da kod normalnih sojeva životinjskih stanica postoje tzv. aktivni čimbenici prijenosa AMD, koji nestaju kod izdrživog soja stanica (18, 19, 20, 21).

*Bernhard* i suradnici studiraju fenomen nukleolarnog razdvajanja kod stanica obrađivanih AMD (22). Nukleoli stanica jetre štakora inkubirani s AMD pokazuju ponovnu raspodjelu makromolekularnih sastojaka. Uklanjanjem antibiotika i držanjem u normalnoj, hranjivoj podlozi nukleoli poprimaju prvobitnu strukturu. U HeLa-stanicama AMD izaziva zrnatost kromatina.

*Journey* i *Goldstein* govore o nukleolarnoj disrupciji, danas poznatoj pod imenom »nukleolarno razdvajanje«, koja je često viđena kod HeLa-stanica, osobito kod AMD osjetljivog soja (23).

*Reinolds* i suradnici nalaze isti fenomen i za AMD, ali ga opisuju kao nukleolarne kape, što predstavlja samo morfološki izraz osobitog biokemijskog djelovanja (24).

*Deitch* i *Godman* nalaze u HeLa-stanicama nitaste oblike mitohondrija poslije postupka s AMD (25). Potpuno obrnuto u stanicama jetre *David* i *Uerlings* opažaju iza AMD nabubrene mitohondrije i vakuolizirani endoplazmatski retikulum. U mišjim L-stanicama djelovanjem AMD polisomi su raspršeni ili nestaju (26).

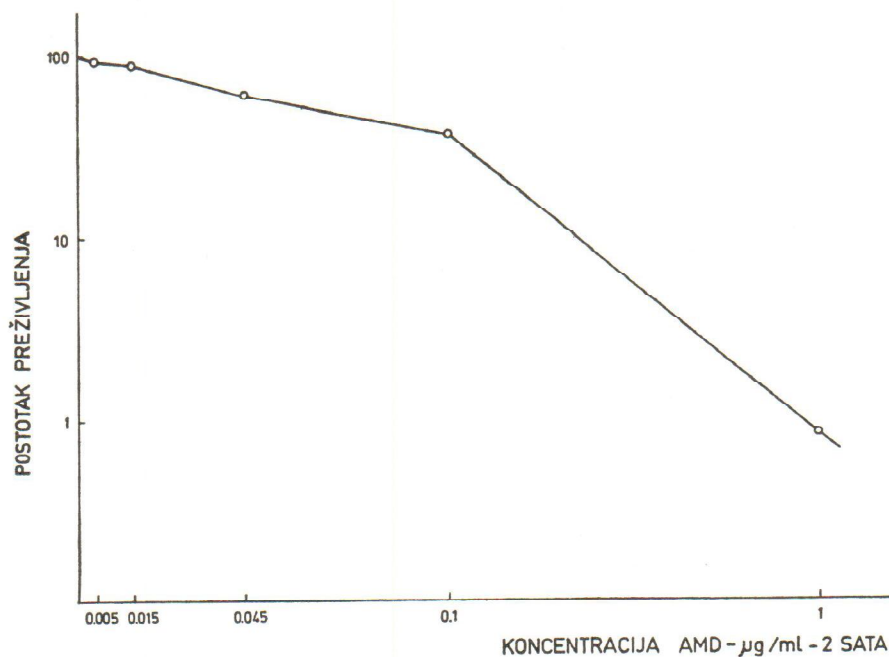
Aktomicin D kod životinjskih stanica uzrokuje lomove kromosoma. Učinak je uočen nakon dvosatne inkubacije stanica pri koncentraciji 0,1  $\mu\text{g/ml}$  AMD. Do promjena na kromosomima najvjerojatnije dolazi izravnim djelovanjem antibiotika na DNK (27, 28).

Slične promjene na kromosomima vide se i kod spermatocita skakavaca obrađivanih AMD (29).

## c) Dinamičko gledište

AMD sprječava diobu i izaziva nepravilnosti mitoze kod raznih sojeva stanica. Djelovanjem AMD dolazi u stanicama, koje tokom postupka nisu u mitozu, do prestanka diobe, dok na mitotske stanice AMD ne djeluje. U kulturi ljudskih stanica inkubiranih s AMD broj mitozu je izravno zavisno od primijenjene koncentracije antibiotika (slika 3) (15).

Goldstein i suradnici iznose da se HeLa-stanice nakon postupka s AMD koncentracije 0,1  $\mu\text{g/ml}$  nakon 48 sati ne mogu ponovno dijeliti unutar razdoblja praćenja 5 do 6 dana (30).



Sl. 3. Krivulja preživljenja HeLa-stanica nakon postupka s aktinomycinom D (Horvat, Đ.) (15)

Prema Clarku i suradnicima učinak AMD 0,1  $\mu\text{g/ml}$  u toku 12 sati nepovratljiv je u HeLa-stanicama. Međutim, djelovanje slabe koncentracije od 0,01  $\mu\text{g/ml}$  čak je i nakon inkubacije od 48 sati s antibiotikom povratljiv, te se poslije dva dana javljaju mitoze (31).

Neposredni učinak AMD u dozama od 0,01 i 0,001  $\mu\text{g/ml}$  pratili su Brubaker i Nardone na L-soju stanica. Nalaze da već i te relativno ni-

ske koncentracije uzrokuju odgađanja dioba i smanjenje broja mitotskih stanica. Obrazloženje nalaze u poremećaju makromolekularne sinteze (32).

#### d) Djelovanje AMD na biosintetske procese

AMD inhibira ukupnu sintezu RNK u životinjskim stanicama *in vivo* i *in vitro*. Mnoga istraživanja vršena su autoradiografskom i kvantitativnim biokemijskim metodama, te se pokazalo da već kod slabih koncentracija antibiotika dolazi do inhibicije nukleolarne sinteze RNK (33, 34, 35, 36).

Inkubacija asinkrone populacije HeLa-stanica koncentracijama AMD – 0,05, 0,015, 0,045, 0,1 i 1  $\mu\text{g/ml}$  pokazuju već kod navedenih koncentracija izrazitu inhibiciju nukleolarne RNK sinteze. Paralelno je kod tih koncentracija smanjena inkorporacija  $^3\text{H}$  uridina u karioplazmu i citoplazmu (15).

Osim izravnog inhibitornog učinka AMD na sve tipove RNK-sinteze *Reich* i *Goldberg* govore i o smanjivanju RNK u stanicama nakon postupka s AMD. Iznose podatke da i do 70% RNK može biti smanjeno. Osim toga nalaze zapreku prijelaza RNK iz jezgre u citoplazmu. Iz niza podataka zaključuju da je neposredna citotoksičnost AMD više posljedak smanjujućih procesa RNK nego produžene inhibicije sinteza bilo RNK ili DNK (37).

Slične podatke iznose *Wiesner* i suradnici, te *Pileri* i suradnici (38, 39). Osim izravnog inhibitornog učinka na sintezu RNK, djelovanjem AMD dolazi do poremećaja u sintezi DNK. Kako je sinteza DNK enzimatski kataliziran proces, sinteze i RNK i proteina djeluju neprekidno u presintetskoj i sintetskoj fazi DNK.

*Kim* i suradnici misle da inhibicija sinteze RNK, ili sinteze proteina u DNK-presintetskom razdoblju smanjuje količinu potrebnih enzima, što smanjuje brzinu sinteze DNK (40). S druge strane *Littlefield* i *Jacobs* vide da inhibicija sinteze RNK i proteina u toku sinteze DNK dopušta da se ta sinteza završi ukoliko je prisutna dovoljna količina potrebnih enzima (41).

*Kim* i suradnici na sinkronoj populaciji HeLa-stanica nalaze da AMD dodan u G-1 fazi intermitotskog ciklusa stanice potpuno sprečava početak sinteze DNK. Izloženost stanica antibiotiku u DNK-sintetskoj fazi dopušta sintezu DNK tokom slijedeća dva sata, nakon čega se brzina sinteze naglo smanjuje. Iz toga proizlazi da je upravo G-1 najosjetljiviji stupanj na AMD u toku staničnog ciklusa (40).

Imajući u vidu djelovanje AMD unutar intermitotskog ciklusa, kao i međusobnu povezanost sinteza DNK–RNK–proteini, *Baserga* i suradnici misle da se G-1 stupanj – najosjetljiviji na AMD – može vjerojatno poistovjetiti sa sintezom neke vrste RNK (42).

Primjena AMD u nekoliko koncentracija na sinkronoj populaciji He-La-stanica pokazala je da niže doze vrlo malo smanjuju inkorporaciju  $^3\text{H}$  timidina. Istovremeno veće koncentracije pokazuju znatniji inhibični učinak (15).

#### e) Antireparatorno djelovanje

Djelovanjem niza agensa na živu stanicu dolazi do strukturalno-metaboličkih poremećaja i oštećenja. Zavisno od doze ili koncentracije agensa u određenim uvjetima nakon postupka, najčešće dolazi do uključivanja oporavnih procesa. Međutim, stanoviti agensi primijenjeni u kombinaciji s osnovnim izmjenjivačem pokazuju izrazito protuoporavno djelovanje. Tako AMD dodan prije ili nakon zračenja, bilo ionizirajućeg, bilo ultravioletnog, znatno mijenja oporavne procese (43, 33, 45, 46).

Za ultravioletno zračenje poznato je da su njegove posljedice najočitiže na razini deoksiribonukleinske kiseline. To povlači lanac poremećaja prvenstveno na razini sinteze ribonukleinske kiseline i proteina. Stupanj fotolezija u uskoj je zavisnosti s primijenjenom dozom ultravioletnog svjetla. Stoga osobit problem fotobiologije predstavlja oporavak fotooštećenja nastalih djelovanjem UV-svjetla. Oporavni procesi se uglavnom odnose na uklanjanje fotoprodukata s lanaca DNK, te na istovremeni oporavni odgovor oštećenog dijela lanaca DNK (47).

Kod nekih životinjskih stanica, posebno onih čovječjeg porijekla, poznate su određene osobitosti, upravo u procesu oporavka. Radi se, naime, o tzv. neprogramiranoj DNK-sintezi, koja se smatra samo oblikom oporavnog odgovora (48, 49, 50, 51). Zabilježena je nakon ultravioletnog zračenja u svim stadijima intermitotskog ciklusa.

Svi stupnjevi oporavnih procesa enzimatski su katalizirani. Kako AMD presijeca normalni lanac sinteze i RNK i proteina, njegov se učinak znatno odražava na brzinu i vrijednost oporavka fotolezija (40).

Primjena dviju doza ultravioletnog svjetla (250 i 500 erga/mm<sup>2</sup>) čiji se učinci znatno razlikuju, i uzastopnim dodavanjem AMD, također u dvije različite koncentracije (0,045 i 0,1  $\mu\text{g/ml}$ ) prije ili nakon zračenja, pokazalo je izrazito protuoporavno djelovanje AMD (15). Kao parametri praćenja poslužila je sinteza DNK i RNK u funkciji vremena nakon uzastopnog postupka s UV-svjetlom i antibiotikom (15).

Autoradiografskom metodom praćena je sinteza DNK i RNK. Uključen je  $^3\text{H}$  timidin i  $^3\text{H}$  uridin u uzorke nakon odvojene i uzastopne primjene ultravioletnog svjetla i AMD.

U uzastopnoj obradi stanica s AMD i ultravioletnim svjetlom pojačava se u svim slučajevima inhibični učinak na uključivanje  $^3\text{H}$  timidina, te se znatno razlikuje u odnosu na inhibiciju iz odvojenog postupka.

Najveći inhibični učinak na uključivanje  $^3\text{H}$  timidina nađen je nakon primjene obiju visokih doza spomenutih agensa ( $500 \text{ erga/mm}^2 \text{ UV}$  i  $0,1 \mu\text{g/ml AMD}$ ).

Uključivanje  $^3\text{H}$  uridina odnosno sinteza RNK mijenja se djelovanjem ultravioletnog svjetla i aktinomocina D. U odvojenom i uzastopnom postupku nakon navedenih agensa sinteza RNK pokazuje izrazito različitu intracelularnu osjetljivost na razini nukleola, karioplazme i citoplazme. U uzastopnom postupku nađen je jači inhibični učinak od inhibicije koju uzrokuje samo ultravioletno zračenje ili samo AMD. Dobiveni podaci dokaz su protuoporavne aktivnosti AMD, bez obzira na njegovu primjenu prije ili nakon ultravioletnog zračenja (15).

#### Literatura

1. Waksman, S. A., Woodruff, B. H.: Bacteriostatic and Bactericidal Substances Produced by a Soil Actinomyces. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 45 (1940) 609.
2. Colebatch, J. H., Howard, R., Williams, A. L., Kurrle, G. R., Clark, A. C. L.: Results of Actinomycin D Therapy for Wilms' Tumor, Acta Unio Intern. Contra Cancerum, 20 (1964) 491.
3. Howard, R.: Actinomycin D in Wilms' Tumor: Treatment of Lung Metastases. Arch. Dis. Child., 40 (1965) 200.
4. Koop, C. E.: Current Management of Nephroblastoma and Neuroblastoma, Am. J. Surg., 107 (1964) 497.
5. Tan, C. T. C., Dargeon, H. W., Burchenal, J. H.: The Effect of Actinomycin D on Cancer in Childhood, Pediatrics, 24 (1959) 544.
6. Keidan, S. E.: Actinomycin D in the Treatment of Cancer in Children, Brit. J. Surg., 53 (1966) 614.
7. Reich, E.: Biochemistry of Actinomycins, Cancer Res., 23 (1963) 1424.
8. Waksman, S. A.: Actinomycin - Nature, Formation and Activities, Interscience publishers, New York, 1968.
9. Henry, M., Sobell, S. C., Jain, H. K., Sakore, T. D.: Stereochemistry of Actinomycin-DNA Binding, Nature new biology, 231 (1971) 200.
10. Müller, W., Crothers, D. M.: Studies of the Binding of Actinomycin and Related Compounds to DNA, J. Mol. Biol., 35 (1968) 251.
11. Goldberg, I. H., Rabinowitz, M.: Actinomycin D Inhibition of Deoxyribonucleic Acid-Dependent Synthesis of Ribonucleic Acid, Science, 136 (1962) 315.
12. Goldberg, L. H., Reich, E., Rabinowitz, M.: Inhibition of Ribonucleic Acid Polymerase Reactions by Actinomycin and Proflavin, Nature, 199 (1963) 44.
13. Bassleer, R., Goessens, G.: Etude cytologique et cytochimique des effets de l'actinomycine D sur des fibroblastes de poulet ou de rat cultivés in vitro, Europ. J. Cancer, 6 (1970) 241.
14. Horvat, Đ.: Eksperimentalne modifikacije sinteze nukleinskih kiselina i proteina kod Amoeba proteus, Magistarski rad, Zagreb, 1967.
15. Horvat, Đ.: Osjetljivost HeLa stanica na aktinomocin D i ultravioletno svjetlo, disertacija, Zagreb, 1971.
16. Perry, R. P.: Selective Effects of Actinomycin D on the Intracellular Distribution of RNA Synthesis in Tissue Cultures Cells, Exp. Cell Res., 29 (1963) 400.
17. Fraccaro, M., Mannini, A., Tiepolo, L., Albertini, A.: Incorporation of Tritium-Labelled Actinomycin in a Human Cell. Line. Exp. Cell. Res., 43 (1966) 136.



18. Goldstein, M. N., Slotnick, I. J., Journey, L. J.: In vitro Studies with HeLa Cell Lines Sensitive and Resistant to Actinomycin D, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 89 (1960) 474.
19. Goldstein, M. N., Hamm, K., Amrod, E.: Incorporation of Tritiated Actinomycin D into Drug-Sensitive and Drug-Resistant HeLa Cells, *Science*, 151 (1966) 1555.
20. Biedler, J. L., Riehm, H.: Cellular Resistance to Actinomycin D in Chinese Hamster Cells in Vitro: Cross-Resistance, Radioautographic, and Cytogenetic Studies, *Cancer Res.*, 30 (1970) 1174.
21. Simard, R., Cassingena, R.: Actinomycin Resistance in Cultured Hamster Cells, *Cancer Res.*, 29 (1969) 1590.
22. Bernhard, W., Frayssinet, G., Lafarge, G., LeBreton, E.: Lésions nucléolaires précoces provoquées par l'aflatoxine dans les cellules hépatiques du rat, *C. R. Acad. Sci.*, 261 (1965) 1785.
23. Journey, L., Goldstein, M.: Electron Microscope Studies on HeLa Cell Sensitive and Resistant to Actinomycin D, *Cancer Res.*, 21 (1961) 929.
24. Reynolds, R. C., Montgomery, P. O. B., Hughes, B.: Nucleolar »Caps« Produced by Actinomycin D, *Cancer Res.*, 24 (1964) 1269.
25. Deitch, A., Godman, G.: Cytology of Cultured Cells Surviving Actinomycin D, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 57 (1967) 1607.
26. David, H., Uerlings, I.: Leberparenchymzellveränderungen nach partieller Hepatektomie bei gleichzeitiger aktinomyzingabe, *Acta Biol. Med. Germ.*, 18 (1967) 275.
27. Ostertag, W., Kersten, W.: The Action of Proflavin and Actinomycin D in Causing Chromatid Breakage in Human Cells, *Exp. Cell Res.*, 39 (1965) 296.
28. Arighi, F. E., Hsu, T. C.: Experimental Alteration of Metaphase Chromosome Morphology. Effect of Actinomycin D, *Exp. Cell Res.*, 39 (1965) 305.
29. Jain, H. K., Singh, U.: Actinomycin D Induced Chromosome Breakage and Suppression of Meiosis in the Locust, *Schistocerca gregaria*, *Chromosoma*, 21 (1967) 463.
30. Goldstein, M. N., Hamm, K., Amrod, E.: Incorporation of Tritiated Actinomycin D into Drug-Sensitive and Drug-Resistant HeLa Cells, *Science*, 151 (1966) 1555.
31. Clark, A. M., Studzinsky, G. P., Love, R., Ellem, K. A. O.: A Correlated Morphological and Functional Study of the Effects of Actinomycin D on HeLa Cells-I. Effects on the Nucleolar and Cytoplasmic Ribonucleoproteins, *Exp. Cell Res.*, 45 (1966) 106.
32. Brubaker, P. E., Nardone, R. M.: The Effect of Actinomycin D on Growth and Division of Strain L Cells, *Curr. in mod. biol.*, 2 (1968) 7.
33. Reich, E., Franklin, R. M., Shatkin, A. J., Tatum, E. L.: Action of Actinomycin D on Animal Cells and Viruses, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 48 (1962) 1238.
34. Franklin, R. E.: The Inhibition of Ribonucleic Acid Synthesis in Mammalian Cells by Actinomycin D, *Biochim. Biophys. Acta*, 72 (1963) 555.
35. Stenram, U.: Radioautographic RNA and Protein Labelling and the Nucleolar Volume in Rats Following Administration of Moderate Doses of Actinomycin D, *Exp. Cell Res.*, 36 (1964) 242.
36. Schoefl, G. I.: The Effect of Actinomycin D on the Fine Structure of the Nucleolus, *J. Ultrastruct. Res.*, 10 (1964) 224.
37. Reich, E., Goldberg, J. H.: Actinomycin and Nucleic Acid Function. Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology, 3 (1964) 183, Academic Press, N. Y., London.
38. Wiesner, R., Acs, G., Reich, E., Shafiq, A.: Degradation of Ribonucleic Acid in Mouse Fibroblasts Treated with Actinomycin, *J. Cell Biol.*, 27 (1965) 47.
39. Pileri, A., Bernardelli, R., Brusa, L., Tarocco, R. P., Gavosto, F.: Degradation of RNA and Changes in Protein Metabolism in Human Acute Leukaemia Cells Treated with Actinomycin D, *Revue Française d'études cliniques et biologiques*, 12 (1967) 986.

40. Kim, J. H., Gelbard, A. S., Perez, A. G.: Inhibition of DNA Synthesis by Actinomycin D and Cycloheximide in Synchronized HeLa Cells, *Exp. Cell Res.*, **53** (1968) 478.
41. Littlefield, J. W., Jacobs, P. S.: The Relation between DNA and Protein Synthesis in Mouse Fibroblasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **108** (1965) 652.
42. Baserga, R., Estensen, R. D., Petersen, O., Layde, J.: Inhibition of DNA Synthesis in Ehrlich Ascites Cells by Actinomycin D. E. Delayed Inhibition by Low Doses, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **54** (1965).
43. Cleaver, J. E.: Repair Replication of Mammalian Cell DNA: Effects of Compounds that Inhibit DNA Synthesis or Dark Repair, *Radiation Res.*, **37** (1969) 334.
44. Elkind, M. M., Whitmore, G. F., Alescio, T.: Actinomycin D: Suppression of Recovery in X-irradiated Mammalian Cells, *Science*, **143** (1964) 1454.
45. Arlett, C. F.: A Failure of Specific Inhibitors to Affect Survival of Chinese Hamster Cells Exposed to Ultraviolet Light, *Int. J. Radiat. Biol.*, **13** (1967) 369.
46. Arlett, C. F.: The Influence of Metabolic Inhibitors on the Response of Chinese Hamster Cells to Ultraviolet Light, *Ann. Int. Super. Sanita*, **5** (1969) 367.
47. Rasmussen, R. E., Reisner, B. L., Painter, R. B.: Normal Replication of Repaired Human DNA, *Intern. J. Radiation Biol.*, **17** (1970) 285.
48. Painter, R. B.: Repair of DNA in Mammalian Cells. *Current Topics in Radiation Research Quarterly* **7**, No. 1 (1970) 45.
49. Painter, R. B., Cleaver, J. E.: Repair Replication, Unscheduled DNA Synthesis, and the Repair of Mammalian DNA, *Radiation Res.*, **37** (1969) 451.
50. Rasmussen, R. E., Painter, R. B.: Evidence for Repair of UV-Damaged Deoxyribonucleic Acid in Cultured Mammalian Cells, *Nature*, **203** (1964) 1360.
51. Rasmussen, R. E., Painter, R. B.: Radiation-Stimulated DNA Synthesis in Cultured Mammalian Cells, *J. Cell Biol.*, **29** (1966) 11.

#### Summary

#### THE EFFECT OF ACTINOMYCIN D ON SOME ACTIVITIES OF THE LIVING CELL

A survey is given of actinomycin D as an antibiotic of specific effect. Its application in medical practice is dealt with and the results of its action on cells in vivo and in vitro conditions are separately presented.

*Institute for Medical Research  
and Occupational Health,  
Zagreb*

*Received for publication  
June 13, 1972.*