

Cancro e denaturazione delle proteine

Di P. RONDONI, Milano

Le ricerche sperimentali di questi ultimi anni hanno dimostrato l'azione cancerogena di un gran numero di sostanze, delle radiazioni ionizzanti e di alcuni parassiti (vermi), vale a dire la molteplicità eziologica di questa forma di degenerazione cellulare, rappresentata dalla malignità biologica. In realtà noi possiamo considerare la trasformazione maligna della cellula proprio come una degenerazione, vale a dire come l'allontanamento di uno stipe cellulare dal tipo normale, con sottrazione di esso alle leggi della correlazione organica, con perdita di alcune differenziazioni e di certe polarità, nonchè della sensibilità ai fattori regolatori. Inoltre la cellula cancerizzata è molto labile, come hanno particolarmente sostenuto A. FISCHER¹, A. FISCHER e PARKER²: questi autori hanno anzi ammesso che il carattere fondamentale di questa cellula non è la sua attività proliferativa, ma piuttosto la sua *tendenza a morire*, mentre la moltiplicazione sfrenata non ne sarebbe che una conseguenza secondaria, considerabile come uno sforzo rigenerativo continuo che non conduce mai alla riparazione («il cancro è una piaga che non guarisce mai»). Senza aderire completamente a questa opinione estrema, bisogna riconoscere che in questa cellula c'è una profonda disorganizzazione dei sistemi colloidali del citoplasma, di cui certe alterazioni morfologiche sono l'espressione ad una scala superiore e microscopica, ma che verosimilmente consistono in alterazioni ultrastrutturali, a livello delle relazioni intermolecolari, al di sotto della visibilità microscopica e al di sopra delle strutture intramolecolari ed atomiche di dominio della chimica. Noi adottiamo qui questa espressione di *ultrastruttura* nel senso di RINNE³, e secondo la applicazione che ne ha fatto in biologia H. H. PFEIFFER⁴, che parla di *leptonica* del protoplasma o *citoleptonica*, per significare le strutture intermedie fra quelle puramente chimiche e quelle microscopiche, ossia un dominio il cui studio dovrebbe essere soprattutto attaccato con metodi fisici. Questo studio potrebbe rivelare dei fatti interessanti in riguardo alla cellula neoplastica. Le note ricerche di KÖGL⁵ e collaboratori trovano qui il loro posto: l'anomalia delle proteine tumorali (la cui presenza regolare nei tumori e specificità incontrata oggi dei dubbi) non concerne la composizione chimica, ma la configurazione molecolare e precisamente la disposizione delle masse atomiche nello spazio, con una perfetta egualanza delle proprietà non vettoriale dei composti. Questa anomalia puramente stereochimica dovrebbe pro-

durre semplicemente una anormalità nelle relazioni tra le molecole proteiche da un lato, coi loro isolotti di aminoacidi della serie non fisiologica d- lungo le catene peptidiche, e le molecole degli enzimi proteolitici normali dei tessuti dall'altro: questi enzimi, avendo una elevata specificità sterica, non potrebbero esercitare la loro funzione demarcante e difensiva e permetterebbro dunque alla proteina patologica di essere continuamente riformata. Non si è generalmente disposti a spiegare in questo modo un po' semplicista la malignità, ma in ogni caso le osservazioni di KÖGL hanno il merito d'avere richiamato i biologi su di una nuova via, la quale si distacca dalla ricerca puramente chimico-analitica dai risultati fino ad ora assai modesti in riguardo alla composizione dei tessuti neoplastici.

Fino dal 1933 io¹ ho parlato di *sdifferenziazione chimica* del protoplasma nel cancro: io intendeva con ciò una semplificazione chimico-strutturale con perdita di certe proprietà normali, ciò che più recentemente GRAFFI² ha espresso, affermando che questo protoplasma è diventato *sordo* agli stimoli della coordinazione e della differenziazione. La cellula neoplastica vive ad un livello più basso della cellula normale d'origine, essa attinge sovente l'energia necessaria per la sua moltiplicazione a delle reazioni di tipo fermentativo, alla glicolisi, meno esigente della respirazione od ossidazione integrale in riguardo alla conservazione delle integrità strutturali. Proprio come nella cellula cancerosa si comporta il metabolismo ossido-riduttivo delle cellule danneggiate da un veleno, da azioni meccaniche o fisiche, insomma delle cellule in stato di degenerazione, ossia in preda ad un processo regressivo. Ci pare che anche la cancerizzazione debba classificarsi tra i processi regressivi, ad onta della attitudine della cellula a moltiplicarsi: un processo regressivo del tutto speciale, che rispetta gli apparecchi della divisione cellulare, del resto anch'essi più o meno alterati.

La vita è un fenomeno estremamente improbabile dal punto di vista fisico-matematico: come dice LECOMTE DU NOÜY³ in un libro veramente geniale (pag. 167): «Si l'on concevait un savant, mathématicien et physicien parfait, mais totalement ignorant de la chimie biologique et de la biologie, il est probable qu'il démontrerait facilement qu'il ne peut exister de molécules telles que les protéines ou les diastases, et que la vie est inconcevable». Le sintesi biologiche infatti portano la materia da uno stato più probabile ad uno stato meno probabile, poichè esse creano delle

¹ A. FISCHER, Le cancer, n° 2 (1935).

² A. FISCHER and PARKER, Brit. J. exp. Pathol. 10, 312 (1929).

³ RINNE, Koll. Z. 61, 304 (1932).

⁴ H. H. PFEIFFER, Koll. Z. 96, 355 (1941).

⁵ KÖGL und ERXLEBEN, H. S. Ztschr. phys. Chem. 258, 57 (1939); 264, 198 (1940).

¹ RONDONI, Cancro, 4, 203 (1933).

² GRAFFI, Z. Krebsforsch. 50 (1936), 499 (1940).

³ LECOMTE DU NOÜY, L'homme devant la Science. Flammarion, Paris 1939.

polarità, delle differenziazioni, delle dissimmetrie, dunque un *ordine* con delle disposizioni specifiche e della finalità. Si può dire quindi che i fenomeni più caratteristici della vita (sintesi) sono marcati da una diminuzione del grado di probabilità del sistema organico. Ora in tutte le trasformazioni di energia del mondo inorganico (processi irreversibili) c'è sempre una parte di energia che è sottratta ad una qualsiasi trasformazione ulteriore e che quindi refluisce verso uno stato di uniformità, di equilibrio e di livellamento: è questa quota di energia che si chiama *entropia*, la quale dunque in tutti questi processi presenta un aumento (seconda legge della termodinamica o legge di CARNOT-CLAUSIUS). Si può esprimere secondo BOLTZMANN la entropia anche in termini di probabilità: l'entropia è proporzionale al grado di probabilità di un sistema:

$$E = k \cdot \ln P + C.$$

Ciò vuol dire che nei fenomeni più comuni dell'universo si ha con l'aumento costante dell'entropia un aumento del grado di probabilità nella distribuzione della energia e della materia; ossia si passa sempre dal meno probabile al più probabile; e la disposizione casuale delle parti tende sempre a crescere in ogni sistema. I fenomeni della vita rappresentano invece una *eccezione* a questa legge generale: ivi si ha una diminuzione del grado di probabilità ossia della entropia. La legge di CARNOT-CLAUSIUS sembra in certo modo transitorialmente sospesa o differita. In una originale trattazione FANTAPPIÉ¹ ha definito i fenomeni vitali come *diectropici*; si potrebbe anche parlare di fenomeni *antientropici*. Bisogna tuttavia osservare che solo i fenomeni sintetici negli organismi hanno questo carattere anti-entropico, appunto perché conducono alla costituzione di materiali complessi a partire da sostanze più semplici, con un accumulo di energia liberabile; mentre i processi di demolizione dei costituenti protoplasmatici con liberazione di energia seguono la legge comune dell'aumento dell'entropia, ossia evolvono con passaggio da uno stato meno probabile ad uno più probabile, come nei fenomeni del mondo inorganico.

Dal punto di vista dunque delle variazioni dell'entropia o punto di vista probabilistico, si potrebbero classificare i processi patologici elementari, classicamente suddivisi in progressivi e regressivi, a seconda che essi comportano una diminuzione oppure un aumento dell'entropia. Nei processi progressivi si ha un aumento del potenziale biologico ed una neoformazione di sostanza vivente (rigenerazione, ipertrofia ed iperplasia, ecc.), con predominio della assimilazione sulla dissimilazione, con conservazione o accentuazione di differenziazioni e di polarità: insomma una evoluzione del biosistema verso uno stato meno probabile con diminuzione della disposizione casuale delle parti e quindi dell'entropia. Si può dire che si accentua il

fattore *anticaso* che domina la vita (fenomeni antientropici). Al contrario nei processi regressivi (necrosi, atrofia, degenerazione) si trova un predominio di fatti demolitivi sulle sintesi, soprattutto scomparsa di polarità e differenziazione, per cui il sistema cellulare va verso uno stato *più probabile*, in cui l'utilizzazione dell'energia è meno perfetta, le differenze di livelli energetici si attenuano e l'entropia del sistema dunque aumenta più o meno nettamente. La cancerizzazione dunque deve essere inclusa al lato di questi ultimi processi a carattere regressivo: è vero che nel cancro si ha neoformazione di sostanza vivente, ma questa sostanza ha una differenziazione minore che nella cellula normale, lo sforzo dissimmetrizzante delle sintesi organiche vi deve essere meno pronunziato, essendo più basso il livello energetico da raggiungere: l'entropia del sistema e quindi l'influenza del caso vi è aumentata in confronto alla cellula normale da cui la cellula cancerosa deriva. Infatti il disordine morfologico e funzionale della cellula maligna è *più probabile* dell'ordine regnante nella cellula normale; ed il *non-cancro*, ossia lo sviluppo normale dell'organismo con le normali correlazioni fra i tessuti, è in realtà un problema epistemologico più difficile di quello del cancro.

La trasformazione maligna della cellula ha un altro carattere importante: essa è irreversibile, si perpetua nella razza cellulare affetta, anche se il fattore cancerogeno ha cessato di agire. Si ha dunque a fare con una variazione brusca ereditaria dello stipite cellulare, la quale può essere paragonata ad una *mutazione somatica* nel senso dei genetisti (teoria mutativa del cancro) o a una *modificazione durevole* o anche all'azione di un *organizzatore anormale*: in ogni caso la reazione cancerogena deve propagarsi a guisa di una reazione a catena nelle successive generazioni cellulari. La malignità biologica corrisponde ad un *quid* endocellulare che si riproduce con la cellula e che fa parte del sistema cellulare come un nuovo elemento ultrastrutturale. Nella cancerizzazione si ha dunque in atto una specie di autocatalisi.

La trasformazione della cellula normale in cellula cancerosa sembra avere il carattere «tutto o nulla», al pari di molte altre reazioni biologiche. Infatti c'è una ben netta differenza fra la cellula maligna e la normale: la malignità ci si impone per delle proprietà biologiche ben definite, se anche di grado diverso. La malignità rappresenta qualcosa di discontinuo in rapporto alla normalità ed è un *fatto nuovo* nella storia della vita cellulare.

Vi sono delle ragioni per supporre che la reazione della cancerizzazione presenti un elevato *calore di attivazione* (energia critica relativa): il calore di attivazione esprime la soglia di energia da superare affinché una reazione si svolga. O. SCHMIDT¹, basandosi su interessanti riflessioni e su osservazioni personali, ha appunto

¹ FANTAPPIÉ, Mem. R. Accad. d'Italia (1939).

¹ O. SCHMIDT, Ber. dtsch. chem. Ges. 73, A. 97 (1940).

ammesso che la cancerizzazione si svolga con un alto valore del calore di attivazione: gli idrocarburi cancerogeni sarebbero dotati di un debole calore di attivazione ed aiuterebbero pertanto i costituenti cellulari interessati ad oltrepassare il detto livello di potenziale, funzionando dunque come dei catalizzatori. Inoltre essi possederebbero secondo quest'autore una certa densità degli elettroni B (elettroni non impegnati nei legami fra gli atomi di carbonio e mobili nel piano dell'anello benzolico), di guisa da costituire dei centri attivi in certi punti della molecola dell'idrocarburo.

Le azioni cancerogene si esercitano soprattutto sulle proteine protoplasmatiche. La solubilità di molte sostanze cancerogene nei lipidi serve evidentemente a favorire la loro penetrazione nella cellula ed a condurle nei centri ricettivi. Io ho considerato sempre il problema della cancerizzazione come un problema di sintesi proteica anormale, *su di un falso modello*, indotto ad opera di certi agenti chimici e fisici che perturbano in un certo modo la struttura chimico-fisica e forse soprattutto l'ultrastruttura del protoplasma. Si sa che le sintesi normali si svolgono secondo un modello rappresentato dalle preesistenti proteine oppure, nello sviluppo embrionale, da quegli organizzatori primordiali che sono i *geni*. Ma può darsi che il modello venga alterato o che un altro modello possa essere imposto alle forze sintetizzanti, le quali allora riprodurranno delle proteine deformate secondo il nuovo modello. Noi possiamo considerare quali esempi di una *sintesi proteica su modello anormalmente imposto*, la neoformazione delle virus-proteine e la produzione degli anticorpi. Nel primo caso abbiamo un modello che proviene dall'esterno della cellula, rappresentato dalla molecola del virus la quale riesce ad imporre il proprio piano strutturale alle sintesi proteiche e quindi si riproduce nella cellula stessa. Nel secondo caso è l'antigene, sostanza pure estranea alla cellula, che, depositato in certe cellule, come ad esempio quelle del sistema reticoloendoteliale deputato alla fabbricazione delle plasma-proteine, modifica i processi sintetici e induce sulla superficie della molecola di certe frazioni globuliniche la propria impronta corrispondente alla struttura dei gruppi determinanti dell'antigene: sono queste globuline modificate durante la loro sintesi nella cellula che passano nel sangue come anticorpi (teoria sintetica della formazione degli anticorpi secondo BREINL e HAUROWITZ¹, MUDD², HAUROWITZ³). L'antigene funziona come un organizzatore della sintesi globulinica, allo stesso modo che la molecola di un virus costituisce un nuovo centro organizzatore entro la cellula invasa. Ma nel caso del virus la influenza è ben più profonda, potendo condurre alla disorganizza-

zione della cellula. Del resto JORDAN¹ ha voluto considerare gli anticorpi come sostanze riproducenti per autocatalisi («*autokatalytische Selbstvermehrung*»); e quanto ai virus MORIYAMA², MORIYAMA e OHASHI³ hanno emesso delle opinioni analoghe comparando pure la neoformazione dei virus alla formazione degli anticorpi.

Un terzo caso di sintesi su modello anormale è rappresentato dalla cancerizzazione: il modello non è importato dall'esterno, ma è nato nella cellula per effetto di azioni deformatrici del reticolo protoplasmatico. Se si ammette con FREY-WYSSLING⁴, W. J. SCHMIDT⁵, ecc. che il protoplasma sia rappresentato da un *sistema di compenetrazione*, con due fasi continue, ossia da un gel, con catene peptidiche saldate a formare un labile reticolo (*Haftpunkttheorie*), si può supporre che questo reticolo possa subire delle deformazioni con modificazione nella disposizione delle catene peptidiche, costituzione di nuovi legami o abolizione di vecchi, comunque modificazioni dei campi di forza, le quali possono ripercuotersi sullo stato funzionale. Le sostanze cancerogene sarebbero dei perturbatori della normale struttura reticolare, atti ad interporsi come qualche cosa di estraneo fra le maglie del reticolo molecolare e a indurre così un rimaneggiamento che resta stabilmente impresso e crea il nuovo modello, quasi un centro sintetico ed organizzatore nuovo. Questa nuova organizzazione resta indebolibilmente impiantata attraverso alle generazioni cellulari, quasi impronta indebolibile creante la nuova razza cellulare. Anche O. SCHMIDT⁶ ammette che l'attacco degli agenti cancerogeni si svolga soprattutto sulle proteine cellulari; e recentemente CRABTREE⁷ ha anzi ammesso che il punto d'attacco degli idrocarburi sia rappresentato dai gruppi sulfidrilici (—SH) di certi costituenti protoplasmatici, che verosimilmente non possono essere che proteine. NEEDHAM⁸ ha emesso l'ipotesi che la sostanza cancerogena entri in un complesso proteico per costituirne un gruppo prostetico: si formerebbe dunque nella cellula un'entità caratterizzata da questo gruppo e conferente alla cellula il carattere maligno. Io penso piuttosto che la sostanza cancerogena modifichi il sistema tridimensionale del reticolo proteico: può darsi sicuramente che l'ingranaggio in certi gruppi atomici abbia una importanza decisiva per produrre questo rimaneggiamento molecolare che si impone come trasformazione maligna; ma la sostanza cancerogena non può entrare nella costituzione definitiva di

¹ JORDAN, Z. Immunitätsforsch. 97, 330 (1939/40).

² MORIYAMA, J. Shanghai Sci. Inst. IV, 3, 109 (1937).

³ MORIYAMA and OHASHI, J. Shanghai Sci. Inst. IV, 3, 161 (1937).

⁴ FREY-WYSSLING, Koll. Z. 85, Sonderh. 148 (1938); Arch. exp. Zellforsch. 22, 477 (1939).

⁵ W. J. SCHMIDT, Nova acta Leopoldina, F. 7, n. 45 (1939).

⁶ O. SCHMIDT, Ber. dtsch. chem. Ges. 73, A. 97 (1940)..

⁷ CRABTREE, Cancer res. 4, 688 (1944); 346 (1945).

⁸ J. NEEDHAM, Biochemistry and morphogenesis. Cambridge, Univ. Press 1942.

¹ BREINL und HAUROWITZ, H. S. Ztschr. phys. Chem. 192, 45 (1930).

² MUDD, J. Immunol. 23, 423 (1932).

³ HAUROWITZ, Klin. Wschr. 1937, 257; Schweiz. med. Wschr. 73, 264 (1943).

questa nuova entità, perchè non la si ritrova indefinitamente all'analisi del tessuto neoplastico (ciò che per gli idrocarburi sarebbe facile a dimostrare). La sostanza attiva evoca questo cambiamento specifico che non ha bisogno di essere molto profondo per rendere la cellula ribelle alla correlazione organismica, per turbare dei processi enzimatici, per creare un centro organizzatore nuovo dotato di una certa autonomia. Sembra che l'azione cancerogena debba essere per così dire *ben dosata*, cioè avere un definito grado di intensità, al di sopra del quale si ha la necrosi o disorganizzazione totale del protoplasma, mentre che al di sotto si ha soltanto qualche modifica transitoria della cellula che non si trasmette alla discendenza, ma scompare in seguito all'influenza regolatrice delle prime mitosi. È in tal senso che io¹ dissi che gli agenti cancerogeni producono una *lesione zonale*, il che è stato accettato anche da HAMPERL, GRAFFI e LANGER².

Mi sono domandato^{3,4,5,6,7} se nella chimica fisica delle proteine si possa trovare un processo comparabile alla cancerizzazione o reazione cancerogena: mi sembra che la *denaturazione proteica* presenti, sia pure come fenomeno *in vitro*, le più grandi analogie con la reazione *in vivo*. Infatti la denaturazione ha al pari di questa ultima i caratteri seguenti:

1.º Molteplicità di cause (non occorre enumerare qui le numerose influenze denaturanti);

2.º Reazione tutto o nulla (ANSON⁸);

3.º Irreversibilità: PAULI e VALKO⁹ affermano che la denaturazione, questo rimaneggiamento molecolare che rende le proteine più facilmente flocculabili al punto isoelettrico, è omodromicamente irreversibile; ossia non presenta regressione per il semplice arresto od inversione dell'agente denaturante. Oggi veramente si conoscono delle denaturazioni suscettibili di reversione, non solo eterodromicamente, ossia per mezzo di agenti differenti da quelli denaturanti nel singolo caso, ma anche omodromicamente: così la denaturazione della emoglobina ad opera degli acidi (ANSON e MIRSKY¹⁰), della siero-albumina ad opera degli acidi (SPIEGEL-ADOLF, ANSON e MIRSKY^{11,12}) dell'emoglobina ad opera del salicilato di soda (ANSON e MIRSKY¹³) e certe forme di denaturazione della tripsina (ibidem); ma in generale resta fermo che la denaturazione è un

rimaneggiamento che turba l'ordine costituito nella molecola proteica, modificando la posizione di certi gruppi e la disposizione delle catene peptidiche; e quest'ordine è difficile a restituire anche se si allontana l'agente perturbatore.

4.º La denaturazione è accompagnata da un forte aumento di entropia (ANSON, MIRSKY e PAULING), in quanto la molecola passa da uno stato più specifico ed ordinato secondo un piano definito ad uno stato più casuale, vale a dire da uno stato meno probabile ad uno più probabile. Si hanno rotture di legami fra le catene peptidiche, di quei legami che assicuravano certe disposizioni («uniquely defined»: MIRSKY e PAULING¹) corrispondenti a certe attitudini funzionali, le catene liberate si dispongono in ordini nuovi meno caratteristici e più stabili; alcuni gruppi atomici emergono alla superficie della molecola, la quale perde certe differenziazioni e attività specifiche, ma può acquistare nuove reattività anormali. La proteina denaturata è infatti diversamente attaccata dagli enzimi, presenta modificazioni degli spettri d'assorbimento e dei Röntgendiagrammi; ha perso o modificato la specificità sierologica.

5.º La denaturazione offre un elevato calore di attivazione, essendo caratterizzata da rottura di molti deboli legami, anzichè da rottura di pochi legami solidi.

Si ritrovano dunque dei caratteri assai corrispondenti nella reazione evocante la cancerogenesi e nella denaturazione proteica: questa può essere un modello *in vitro* di quella. Ma c'è anche un altro punto che merita segnalazione: dalle ricerche di A. FISCHER^{2,3} e dalle mie^{4,5} risulta che la denaturazione proteica da riscaldamento (denaturazione termica) è una reazione trasferibile o inducibile nel senso che una piccola quantità di un sistema proteico già denaturato produce una netta accelerazione nella denaturazione di un sistema eguale. Sembra dunque che questo processo si comporti come una reazione a catena. Naturalmente nella reazione *in vitro* la catena si rompe presto, mentre che una deformazione o rimaneggiamento molecolare si può propagare molto più facilmente nel protoplasma vivo, che foggia le proteine secondo un certo piano via via che esse sono apprestate. Io ho creduto di potere ammettere che siano le proteine a molecola più voluminosa che presentano il fenomeno suddetto della induzione: così fra le proteine seriche lo presentano le globuline. Le molecole proteiche godono dunque di una grande plasmabilità; e una deformazione si può trasmettere da una molecola all'altra in un sistema proteico. ASTBURY, DICKINSON e BAILEY⁶

¹ RONDONI, Z. Krebsforsch. 47, 53 (1938).

² HAMPERL, GRAFFI e LANGER, Z. Krebsforsch. 53, 133 (1942).

³ RONDONI, Ergeb. Hyg. 23, 1 (1940); Klin. Wschr. 1501 (1938).

⁴ RONDONI, Enzymologia 9, 380 (1941).

⁵ RONDONI, Österr. Chem. Zeitung 45, 97 (1942).

⁶ RONDONI, Rendic. Ist. Lomb. Sci. e Lett. Cl. Sci. 77, fasc. 2 (1943/44).

⁷ RONDONI, Scientia, Ann. 39, 77, n. 393—398, p. 34 (1945).

⁸ ANSON, in: L. A. SCHMIDT, Chemistry of the aminoacids and proteins. Ch. C. Thomas, Springfields and Baltimore 1938.

⁹ PAULI und VALKO, Kolloidchemie der Eiweißkörper, Zweite Auflage. Steinkopf, Dresden and Leipzig 1933.

¹⁰ ANSON and MIRSKY, J. gen. Physiol. 13, 133 (1931).

¹¹ ANSON and MIRSKY, J. phys. Chem. 35, 185 (1931).

¹² ANSON and MIRSKY, J. gen. Physiol. 14, 725 (1931).

¹³ ANSON and MIRSKY, J. gen. Physiol. 17, 393, 399 (1934).

¹ MIRSKY and PAULING, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 22, 439 (1936).

² A. FISCHER, Z. physik. Chem. 176, 260 (1936).

³ A. FISCHER, Nature 137, 576 (1936).

⁴ RONDONI, H. S. Ztschr. phys. Chem. 254, 207 (1938).

⁵ RONDONI, Schweiz. med. Wschr. 70, 273 (1940).

⁶ ASTBURY, DICKINSON and BAILEY, Biochem. J. 29, 2351 (1935).

hanno detto che le molecole proteiche esercitano un reciproco *cannibalismo*.

È possibile dunque che gli agenti cancerogeni noti od ignoti producano una specie di denaturazione di un complesso proteico (nucleo- e lipoprotico) del protoplasma. Quello che si è chiamato *ens malignitatis* sarebbe una specie di prodotto denaturativo dotato di nuove proprietà. Anche O. SCHMIDT^{1,2} ha espresso una opinione consimile: egli crede infatti che questo prodotto sia più *stabile* del costituente protoplasmatico normale originale e che questa formazione di una proteina più stabile condizioni una liberazione di energia atta a spiegare la intensa neoformazione di sostanza e la sfrenata moltiplicazione cellulare. Non so se sia possibile oggi un preciso bilancio energetico; ma si può comprendere che l'offerta di un modello più semplice alle forze sintetizzanti faciliti sintesi più abbondanti: infatti si vede semplificarsi il modello strutturale delle proteine là dove c'è una intensa neoformazione cellulare (istoni e protamine in aumento nei nuclei in mitosi).

Si potrebbe così comparare il prodotto della reazione cancerogena ad una virus-proteina endogena, adottando la teoria endogena dei virus, oggi appoggiata da alcuni autori: così un'autorità come DOERR³ ammette l'origine endogena del virus dell'herpes; e ACQUA ha sostenuto tale concezione per la poliedria del baco da seta. Ma è soprattutto per i virus blastomatogeni, ossia che producono i sarcomi dei polli tipo Rous e le leucemie dei polli, che è stata sostenuta con eccellenti argomenti dallo stesso DOERR³ e da altri l'origine endogena e non estrinseca dell'agente. I tumori aviari non sarebbero più una eccezione nella dottrina generale dei tumori: la sola differenza fra essi ed i tumori dei mammiferi consisterebbe nel fatto che il prodotto denaturativo o virus-proteina del cancro sarebbe più o meno dotato di autonomia: esso sarebbe facilmente separabile dalla cellula in cui si è originato nel caso dei tumori detti filtrabili degli uccelli; mentre sarebbe intimamente ancorato nella cellula nel caso della maggioranza dei tumori dei mammiferi e dell'uomo. Si potrebbe fare un paragone con la differenziazione dei lioenzimi e dei desmoenzimi secondo WILLSTÄTTER, come già hanno accennato FLASCHENTRÄGER e BULLE⁴. L'*enzimoproteina* di questi autori svizzeri, al pari dell'*enzimoide* autoriproduentesi della sintesi proteica secondo v. EULER⁵, corrisponderebbe ad un prodotto denaturativo secondo il mio modo di vedere, che naturalmente non è che una ipotesi di lavoro. MORIYAMA e OHASHI⁶ hanno ammesso che i virus in

generale siano degli agenti denaturanti o *denaturasi*, che evocherebbero nelle cellule la neoformazione di altri radicali di virus capaci di agire su altre cellule.

La presunta stabilità di quella che si è chiamata virus-proteina endogena specifica del cancro non si oppone alla nota labilità della cellula maligna: infatti la presenza nella cellula di un complesso che si stacca per le sue proprietà fisiche e ultrastrutturali forse più che per quelle chimiche dal resto del protoplasma ed è così in certa guisa estraniato a questo, può pur rappresentare un serio turbamento dello stato colloidale ed importare una sofferenza della cellula. Questo complesso, vero nuovo centro organizzatore, può essere pure paragonato ad un gene anormale e per così dire ad un *intruso* nel sistema degli organizzatori endocellulari. Hanno gli agenti cancerogeni noti davvero un'azione denaturante *in vitro* sulle proteine? Le radiazioni ionizzanti pare la abbiano; quanto agli idrocarburi aromatici, la loro scarsa solubilità nei liquidi organici rende ben difficile lo studio della azione su dei colloidii idrofili come sono le proteine. Tuttavia ZAMBELLETTI¹ ha trovato alcune modificazioni di floccabilità di certe frazioni proteiche del siero per effetto di tracce di benzopirene. Queste sostanze penetrano molto lentamente nella cellula attraverso la via dei lipidi e forse modificano dei legami lipido-protidici, producendo così tutto uno spostamento di equilibri nell'edificio protoplasmatico. Si deve trattare in ogni caso di una denaturazione *sui generis* che colpisce qualche importante sistema proteico avente relazioni funzionali con le strutture nucleari regolanti la trasmissione dei caratteri ereditari (geni) o cogli organuli citoplasmatici dominanti i processi sintetici ed elaborativi (condrioma).

Si sa che un alto contenuto in acidi nucleinici marca i luoghi di intensa sintesi proteica: infatti si trova questo gruppo prostetico coniugato con le virus-proteine; lo si trova anche accumulato nei nuclei lungo i cromosomi, localizzato proprio là dove si allineano queste molecole autoduplicantesi ad ogni mitosi, che sono i geni. Anche nei tumori c'è una grande ricchezza di acido nucleinico e probabilmente non solo in stretto rapporto con l'aumento numerico dei nuclei, ma anche come acido nucleinico citoplasmatico (acido ribosio-nucleinico, CASPERSSON e SANTESSON²). Anch'io ho trovato nei sarcomi da benzopirene del ratto un aumento del contenuto in fosforo dell'acido nucleinico che arriva oltre 5 volte il contenuto del tessuto normale d'origine (pelle e sottocutaneo) e che non può essere tutto attribuito all'aumento dei nuclei^{3,4}. Ho visto anche⁵ un netto aumento delle proteine fosforate alcalisolubili. Si potrebbe anche ricordare una osservazione di PENTIMALLI e G. SCHMIDT⁶ secondo cui

¹ O. SCHMIDT, Naturwissenschaft. 29, 146 (1941).

² O. SCHMIDT, Tumori 27, 475 (1941).

³ DOERR, in: DOERR-HALLAUER, Handb. d. Virusforsch., Springer, Wien 1938/39.

⁴ FLASCHENTRÄGER e BULLE, Schweiz. med. Wschr. 74, 290 (1944).

⁵ H. v. EULER, Convegno Volta (Nutrizione) R. Accad. d'Italia 7 (1938).

⁶ MORIYAMA and OHASHI, J. Shanghai Sci. Inst. IV, 4, 63 (1939).

¹ ZAMBELLETTI, Tumori 29, 208 (1943).

² CASPERSSON and SANTESSON, Acta radiolog. Suppl. 46 (1942).

³ RONDONI, Enzymologia 9, 380 (1941).

⁴ RONDONI, Schweiz. med. Wschr. 71, n. 44 (1941).

⁵ RONDONI, H. S. Ztschr. phys. Chem. 265, 102 (1940).

⁶ PENTIMALLI e G. SCHMIDT, Biochein. Z. 265, 102 (1940).

nel sangue dei polli con sarcoma di Rous si trova un aumento del P proteico del plasma: l'agente cancerogeno, che qui circola sicuramente nel sangue, potrebbe essere rappresentato da una proteina fosforata.

La ricerca moderna dovrebbe essere indirizzata alla separazione e precisa dimostrazione dell'agente della malignità, dell'enzimoproteide riproducentesi con la cellula (FLASCHENTRÄGER e BULLET). Non mancano tentativi a questo proposito ed io pure ne ho fatto uno¹, con risultato tuttavia per ora incerto: io avevo praticato estrazioni acqueose, in soluzione alcalina, di sarcomi da benzopirene del ratto; e con questi estratti avevo ottenuto una volta un grosso tumore in un ratto. Tuttavia si potrebbe obiettare che con gli estratti si è trasportato una traccia del potente agente cancerogeno, il benzopirene. Bisognerebbe dunque ripetere l'esperimento su molti animali ed ottenere un trasporto in serie, escludendo la possibilità dell'aderenza di tracce dell'agente cancerogeno alle frazioni proteiche dell'estratto.

Lo studio del cancro può essere considerato insomma come un problema di chimica fisica delle proteine. Questo indirizzo della ricerca è forse più fruttuoso di tutti i numerosissimi lavori concernenti i processi os-

sido-riduttivi (glicolisi, ecc.), i quali danno una indicazione sulla sorgente dell'energia nella cellula ma non dicono niente sul punto essenziale ossia sulla maniera con cui questa energia è utilizzata per costruire un edificio protoplasmatico abnorme.

Résumé

On met en évidence quelques caractères qui font ressembler la cancérisation de la cellule à ce remaniement moléculaire des protéines qui est connu sous le nom de dénaturation. En effet la réaction cancérogène, ainsi que la dénaturation protéique, est une réaction «tout ou rien», elle est irréversible et son étiologie n'est pas unique; en outre, dans la première aussi bien que dans la seconde, on a une augmentation de l'entropie du système de même qu'une forte chaleur d'activation. On rappelle le phénomène de l'induction de la dénaturation protéique et on admet l'hypothèse que l'agent de la malignité, évoqué dans la cellule par l'influence de facteurs externes connus (hydrocarbures aromatiques, radiations pénétrantes, parasites, etc.) ou inconnus, soit une sorte de produit de dénaturation comparable à une virus-protéine endogène. On rapporte certains de ses caractères présumables, par exemple sa reproduction pendant la multiplication cellulaire (il devient ainsi une acquisition permanente de la souche cellulaire), son lien intime avec les structures cellulaires, son association avec l'acide nucléique. La cancérogénèse, ainsi que la *reproduction des virus-protéines et la formation des anticorps*, doit être classée parmi les synthèses du type à *induction anormale*; elle est, en tous cas, un problème de synthèse protéique.

¹ RONDONI, Tumori 29, 143 (1943).

Zur Wasserpermeabilität des Protoplasmas

Von A. FREY-WYSSLING, Zürich

1. Problemstellung

In der Zytologie spielt die Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten, d. h. der Unterschied ihrer Durchlässigkeit für Wasser und gelöste Stoffe, eine große Rolle; denn hievon hängen alle osmotischen Erscheinungen, wie Turgorschwellung, Plasmolyse, Deplasmolyse, Plasmoptyse usw., ab. Trotz der zentralen Stellung dieses Problems gibt es im ausgedehnten Schrifttum über die Permeabilitätserscheinungen keine quantitativen Angaben, die gestatten würden, die Permeabilität für gelöste Moleküle und für Wasser physikalisch einwandfrei miteinander zu vergleichen. Dies röhrt daher, weil als Ursache für den Stoffdurchtritt Konzentrationsunterschiede, für den Wasserdurchtritt dagegen osmotische Druckunterschiede angenommen werden.

Als Folge hiervon haben die Permeationskonstanten ganz verschiedene Dimensionen, je nachdem es sich um den Durchtritt von Wasser- oder anderen Molekülen handelt. Die Konstanten für die Stoffpermeation geben an, wie viele Mole beim Konzentrationsunter-

schied 1 Mol pro Volumeinheit in der Zeiteinheit durch die Flächeneinheit durchgetreten; hieraus ergibt sich die Dimension Länge/Zeit, z. B. $\mu \cdot \text{min}^{-1}$; diese Konstanten sind sehr klein, sie werden daher häufiger in $\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$ angegeben. Bei der Wasserpermeation ist die Durchtrittskonstante jedoch definiert als das Volumen Wasser, das bei 1 Atmosphäre osmotischem Druckunterschied in der Zeiteinheit durch die Flächeneinheit durchtritt; das ergibt die Dimension Länge/Druck · Zeit; allgemein werden diese Konstanten in $\mu \text{Atm.}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ausgedrückt¹. Bei der Wasserpermeabilität geht man von der wohl falschen Vorstellung aus, daß es sich um einen Filtrationsprozeß handle, bei dem die Wassermoleküle vom osmotischen Druck durch die semipermeable Haut gepreßt werden. Nicht alle Zytologen sind jedoch von der Richtigkeit dieser Annahme ganz überzeugt, denn JACOBS und STEWART²

¹ FREY-WYSSLING und V. RECHENBERG-ERNST, Über die Wasserpermeabilität der Epithelzellen von Hydathoden, Flora 37, 193 (1943).

² JACOBS und STEWART, A simple method for the quantitative measurement of cell permeability, J. cell. comp. Physiology 1, 75 (1932).