

Misc. B. 70/6.

6

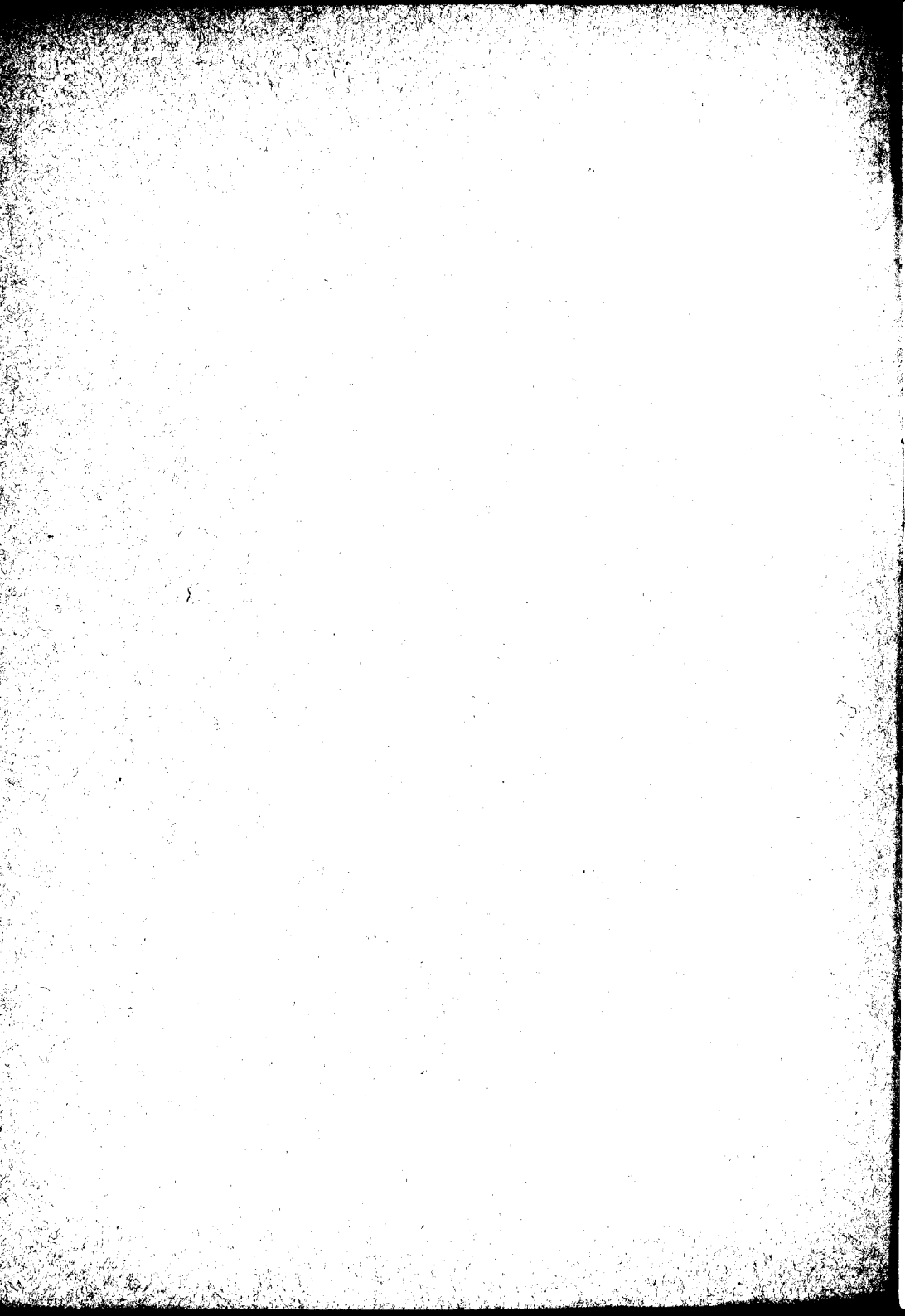
PROF. ALDO SPIRITO



Sulle cause di alcune proliferazioni  
cellulari abnormi

ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA", - VOL. III, 1943-XXI

Esemplare fuori commercio per  
la distribuzione agli effetti di  
legge.



PROF. ALDO SPIRITO

Sulle cause di alcune proliferazioni  
cellulari abnormi

*ESTRATTO DA "MEDICINA E BIOLOGIA", - VOL. III, 1945-XXI*

aberranti, di isolare e di analizzare causalmente i dati differenziali per una migliore conoscenza del modo di agire di entrambi. Egualmente interessato all'argomento è l'embriologo, che di fronte al normale susseguirsi di divisioni cellulari dall'uovo fino all'individuo adulto (nel quale la continuazione di tale fenomeno in determinati tessuti è deputata al mantenimento del raggiunto equilibrio morfologico e fisiologico proprio di una determinata specie) e al contemporaneo affermarsi di tutto un insieme di correlazioni sempre più spiccate, rilevabili in forma di differenziamento istologico e organologico del germe in sviluppo è portato ad occuparsi di quelle divisioni abnormi di alcune cellule, non più soggette ai normali legami con il resto dell'individuo e quindi alteranti, nel luogo ove si affermano, l'armonia stessa dei tessuti e degli organi. È chiaro infatti che la conoscenza dei fattori liberanti un determinato distretto cellulare dall'insieme delle correlazioni stabilenti e perpetuanti la fisionomia armonica propria di un tessuto o di un insieme di tessuti, potrebbe essere di grande aiuto per una più esatta valutazione della natura delle correlazioni stesse e del meccanismo con cui esse sorgono e si affermano nello sviluppo dell'individuo.

Lo studio delle cellule risultanti da divisioni abnormi interessa poi il fisiologo e più particolarmente il chimico biologo. Essi, infatti, nelle indagini sulle varie forme di metabolismo delle cellule normali (a partire dall'uovo fino a giungere a quelle costituenti l'individuo adulto) vanno alla ricerca di quelle manifestazioni fisiologiche e biochimiche che sarebbero peculiari attributi dell'aumento numerico cellulare, e pertanto hanno ritenuto molto interessante estendere il loro campo di studio anche alle cellule in moltiplicazione abnorme per poter stabilire proficui confronti. Nè minor interesse l'argomento ha destato nel campo della genetica, là dove, vedendo tutto in funzione del patrimonio ereditario insito nel protoplasma vivente, è apparso singolarmente seducente lo studio delle cellule neoplastiche come causate da alterazioni del predetto patrimonio e quindi da considerarsi a guisa di un insieme di cellule di altra fisionomia, ormai diverse da quelle del restante individuo e perciò conducenti vita autonoma, a volte danneggianti l'individuo stesso.

Degli studi precedenti e di altri ancora che non sto qui a riferire si vale, infine, il patologo generale, il quale, allo scopo precipuo di giungere alla conoscenza del fattore eziopatogenetico dei tumori, si è trovato costretto, forse più che per qualsiasi altra forma morbosa, a servirsi dei dati della biologia normale e quindi ad approfondire dai *più vari punti di vista* lo studio dei processi di moltiplicazione cellulare nei diversi momenti dello sviluppo e della vita dell'individuo. Infatti il confronto tra essi e gli stessi processi che si verificano nei tumori avrebbe potuto essere molto utile per l'isolamento di un dato intrinseco differenziale da considerare come causa dell'espressione patologica in questione.

Ed è appunto perciò che ad ogni nuova scoperta o maggior progresso di alcuni rami della scienza più attinenti al problema che ci interessa, lo studio delle neoplasie ha avuto periodi di intensa ripresa in varie direzioni, per ciascuna delle quali i reperti, i metodi, le acquisizioni raggiunte dalla scienza stessa venivano attivamente impiegati. Si è avuto così il periodo della teoria dei residui embrionali di Durante e Cohnheim; quello della dottrina irritativa; quello della teoria parassitaria; quello delle culture *in vitro*; quello degli agenti cancerogeni; quello degli organizzatori embrionali; quello biochimico; quello genetico; quello dei *virus* ed altri ancora antichi e recenti, più o meno discussi, più o meno accettabili, tutta una gamma di studi e ricerche che, anche se non hanno portato ai risultati auspicati, hanno fatto tuttavia progredire notevolmente le nostre conoscenze sull'argomento.

Si tratta di un tema sul quale sono stati svolti innumeri lavori; sul quale si è detto tutto quello che via via era possibile dire sulla base delle nuove acquisizioni delle scienze biologiche, fisiche, chimiche, ecc. trasportate nel campo oncologico. A volte un motivo antico viene ripreso sotto una nuova luce servendosi dei progressi attuati dall'indagine scientifica, sì che vien fatto di pensare se al giorno d'oggi non siamo già in possesso della chiave del problema, che, pur non esplicita ancora e confusa in mezzo alle tante prospettate, abbia forse bisogno semplicemente di una più precisa individuazione.

Non è mio intendimento tracciare qui una rassegna, necessariamente incompleta, di tutto ciò che è stato fatto nel campo delle

proliferazioni cellulari abnormi: riviste sintetiche pregevolissime sono state compilate anche in Italia, e ogni tanto, ad opera di istituti ed enti vari, vengono promosse riunioni e conferenze per l'aggiornamento delle conoscenze sul problema, così interessante dal punto di vista scientifico e umano.

Ai fini del presente lavoro mi limiterò, invece, a riferire soltanto alcuni dati e poche idee di autori precedenti, che io desidero considerare in un modo diverso da quello finora prospettato, sì da servire all'interpretazione e alla valutazione delle ricerche, che per la prima volta espongo in questa Memoria.

\*  
\*  
\*

Ho già detto più sopra che nello studio dell'oncologia vi è stato, e non si può dire che oggi sia stato dimenticato, l'indirizzo biochimico. Accanto alle varie indagini (svolte in comparazione con i tessuti normali) sul contenuto di alcuni sali, di alcune sostanze organiche, ecc., vi è stato un insieme di ricerche che ha avuto, soprattutto in passato, larga accoglienza da parte degli studiosi del problema.

Queste ricerche, dovute essenzialmente al Warburg e alla sua scuola, hanno preso in esame le modalità del ricambio dei carboidrati delle cellule dei tumori in confronto a quello rilevabile nelle cellule normali dell'embrione o dell'adulto oppure nelle cellule soggette a determinati trattamenti sperimentali. E l'interesse che destarono non deve far meraviglia quando si pensi che, di fronte al processo di moltiplicazione cellulare irrefrenabile dei neoplasmi, che per compiersi ha necessariamente bisogno di grandi quantità di energia, sommamente importante è lo studio di quei fenomeni metabolici che questa energia sono capaci di fornire.

Essenzialmente Warburg e i suoi allievi (a prescindere da altri autori precedenti nei quali anche indirettamente c'è qualche indicazione al riguardo) giunsero alla dimostrazione che le cellule neoplastiche, oltre ad utilizzare i glucidi a mezzo di processi di ossidazione, sono capaci di sottoporli ad intensa fermentazione (glicolisi) traendone energia utilizzabile ai fini della loro vita. Si giunse

poi alla determinazione quantitativa dei due ordini di fenomeni e si rilevò che le cellule dei tumori, pur in presenza di ossigeno libero, per ogni molecola di glucosio ossidata, ne fermentano dodici, operando, in tal modo, quella che noi chiamiamo *glicolisi aerobica*. In condizioni anaerobiche queste cellule attingono dalla *glicolisi anaerobica* tutta l'energia necessaria per continuare a vivere e a proliferare.

Gli studi successivi misero in evidenza (seppur spesso si abusò di comparazioni arbitrarie) che anche i tessuti embrionali e le cellule delle culture *in vitro* sono capaci di comportarsi in anaerobiosi, e a volte anche in presenza di ossigeno, così come le cellule tumorali. Se vi si aggiungono altri tessuti, le cui cellule si dividono attivamente, quali, ad esempio, quelli in rigenerazione, diventa chiara la ragione per cui, ad un certo momento, molti, con Warburg, affermassero che « non c'è crescita senza glicolisi » e in quest'ultima vedessero la reazione fornitrice di energia, specifica delle cellule in attiva moltiplicazione.

Si volle così giungere ad una classificazione dei tessuti, proprio in base alle loro capacità di respirazione, di glicolisi aerobica e di glicolisi anaerobica, e ho avuto già modo in altra sede (« Mem. R. Accademia d'Italia », 1940; « Boll. di Zool. », 1940) di mettere in guardia contro questi schematismi, che non si preoccupano del valore biologico da attribuire alla glicolisi anaerobica in certi casi più che in altri, e non si curano soprattutto di precisare il significato di glicolisi aerobica non esattamente interpretato da parecchi autori precedenti.

Alla rapida fortuna che hanno avuto le idee del Warburg si può dire che sia seguita una non meno rapida decadenza: dopo le indagini che hanno posto in evidenza la possibilità di glicolisi aerobica anche in tessuti altamente differenziati non presentanti fenomeni proliferativi (per esempio, retina), si è portati a ritenerla espressione di lesioni cellulari, di danneggiamento del tessuto o comunque di minorazione delle capacità vitali delle cellule. E pertanto la glicolisi aerobica, che era stata ritenuta l'attributo specifico della sfrenata moltiplicazione delle cellule tumorali, oggi viene considerata in funzione della estrema labilità di essa, della brevità della sua vita, esprimente « non i fenomeni proliferativi,

bensi quelli regressivi di questa cellula profondamente compromessa funzionalmente » (Rondoni, « Med. e Biol. », vol. I, 1942).

D'altra parte, considerando il processo della moltiplicazione cellulare, sia normale che patologica, da un punto di vista energetico, rileviamo la necessità che l'energia necessaria alla intensa sintesi proteica, che in tal caso si opera, sia disponibile in larga misura: ciò che con difficoltà vien fatto dalla glicolisi in confronto con la respirazione, data l'enorme differenza di rendimento esistente tra i due processi (Rondoni, loc. cit.). E si va pertanto alla ricerca dei fatti (e molti se ne sono trovati) per dimostrare come, accanto ad una glicolisi aerobica delle cellule neoplastiche, semplice espressione di una lesione cellulare, vi sia anche larga possibilità respiratoria e come questa influenzi la crescita tumorale. Di più, tutto ciò vien posto in relazione al largo impiego dei fenomeni ossidativi là dove c'è crescita normale.

Nè queste idee sono in contrasto col fatto accertato dell'esistenza di una glicolisi aerobica e anaerobica nelle cellule neoplastiche. Basti ricordare quanto è scritto in letteratura a proposito dello scarso apporto di ossigeno, che, a volte, si verifica nei tumori, per riconoscere come sia molto utile per la loro vita la possibilità di operare la glicolisi in larga misura al fine di trarne, così come dalla respirazione, l'energia necessaria alla crescita: si tratta in tal caso di cellule disposte a vivere a mezzo di una doppia assicurazione, munite di tutti i requisiti per usufruire dei vantaggi di entrambi i processi produttori di energia.

Anche in cellule normali può verificarsi qualcosa che può essere ricondotto, almeno in parte, a quanto ho detto sopra: ricordo l'esempio da me posto in evidenza in *Discoglossus pictus*, le cui neurule, poste in assenza di ossigeno libero, continuano nel loro sviluppo attaccando col processo di glicolisi grandi quantità di glucidi, per trarne l'energia necessaria alla loro vita (sorta di adattamento rilevabile in questa specie, la cui ecologia rende necessaria, per lo meno in certi stadi, una tale possibilità per il normale sviluppo dell'individuo e per la conservazione della specie). E nel mio Istituto il D'Agostino, negli adulti di *Planaria torva*, ha posto in evidenza analoghi processi (« Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. », 16, 1941).

Ma se fin qui ho riferito a proposito della glicolisi nelle cellule tumorali e in quelle normali, ciò non dipende dal fatto che io sia portato a riesumarla per dare ad essa un particolare valore nei processi di moltiplicazione cellulare; chè anzi con i miei lavori precedenti ho chiarito alcuni punti, contribuendo alla precisazione del valore biologico da attribuire ad essa.

Nella breve esposizione precedente, che riferisce dello stato attuale delle nostre conoscenze sul problema predetto, ho voluto anzi fermarmi di proposito sulle concezioni moderne che tolgono alla glicolisi il valore di reazione energetica specifica dell'accrescimento, poichè nell'impostazione del mio lavoro ero giunto a considerarla molto interessante, *ma non in sé e per sé*, bensì pei prodotti di essa (acido lattico) a proposito di una eventuale loro azione sui fenomeni di moltiplicazione cellulare abnorme.

E l'esposizione dei miei risultati mostrerà alcuni fatti che rendono pienamente ragione di tale modo di vedere.

## II.

La scelta del materiale per un tal genere di ricerche rappresenta forse una delle questioni più delicate e da molteplici aspetti.

A prescindere da quanto può dirsi dai più vari punti di vista nei riguardi della specie da usare - poichè non tutte le specie reagiscono nella stessa misura ad eguali azioni sperimentali, identicamente a quanto succede, nell'ambito di una stessa specie, relativamente ai vari individui e addirittura ai vari tessuti che li compongono - un fatto molto importante, a mio modo di vedere, è rappresentato dalla scelta del periodo di vita sul quale sperimentare.

Dirò subito che io ho preferito rivolgermi al periodo embrionale, e che la specie che mi ha dato i risultati descritti in questo lavoro è stata rappresentata dal *Bufo vulgaris*.

Nelle pagine seguenti si vedranno i vantaggi di alcune disposizioni morfologiche e funzionali degli embrioni di questa specie

per l'ottenimento dei risultati raggiunti: per ora desidero soltanto premettere qualche cenno sul valore biologico dello stadio prescelto in questo genere di ricerche. Con esse, infatti, come ho accennato nell'introduzione, si è voluto indagare la possibilità di ottenere moltiplicazioni cellulari abnormi per opera di alcuni fenomeni biochimici verificantisi nelle cellule stesse; si è voluto cioè ottenere produzioni aberranti, uscenti dal piano armonico dell'individuo, mancanti di una loro precisa finalità morfologica e fisiologica. E per questo fine ho creduto sommamente seducente rivolgermi proprio ad esemplari durante il periodo embrionale, e cioè durante quel periodo che è tutto caratterizzato dall'affermarsi sempre più deciso di quell'insieme di correlazioni che portano al differenziamento dei tessuti ed alla costruzione armonica dell'individuo, sulla base della divisione fisiologica del lavoro.

Nell'embrione infatti — nel periodo cioè dell'intensa, generale attività moltiplicativa che va di pari passo col differenziamento delle cellule stesse e dei tessuti, secondo il piano armonico della specie — anche se si riscontrano deviazioni dal normale sviluppo (e basta pensare a tal proposito a quel che succede nei fenomeni di cambiamento di destino ad opera degli organizzatori) si tratta, è vero, di produzioni nuove sommantisi con l'individuo che le ospita, ma presentanti in loro stesse una differenziazione ed una reciproca armonia nelle varie parti che le costituiscono, non aventi nulla a che vedere con quanto era mio scopo ottenere ed ho ottenuto. E perciò mi è sembrato che una deviazione, così come era da me desiderata, dall'armonia dell'individuo da parte di determinate cellule dell'embrione potesse avere in questi stadi un particolare valore, diverso da quello rilevabile nell'adulto, dove il mantenimento di questa armonia può essere considerata come un fenomeno più statico, per il grande predominio della parte altamente differenziata, e perciò incapace ormai di presentare fenomeni di moltiplicazione cellulare, su quelle ancora dotate di tali possibilità.

Nell'iniziare le esperienze per la verifica delle mie idee ho cercato, per prima cosa, di ottenere condizioni atte a produrre negli esemplari allo studio scarsa ossigenazione. Questa, a sua volta, avrebbe dovuto permettere l'accumularsi del prodotto (acido lattico) di una glicolisi, almeno in parte non mascherata dai successivi processi ossidativi, conducenti alla formazione dei prodotti terminali in forma di acqua e anidride carbonica.

La necessità di creare le condizioni di deficiente ossigenazione — per poter ottenere, secondo il piano delle mie ricerche, l'accumulo predetto — è chiara quando si pensi che di proposito avevo scelto del materiale non mostrante una *glicolisi aerobica* nel senso da me precisato. Durante gli stadi embrionali, infatti, gli esemplari normali di *Bufo vulgaris* in ambiente normalmente ossigenato fanno sì che la parte ossidativa del metabolismo dei glucidi sia del tutto sufficiente a far scomparire nelle cellule i prodotti della fase fermentativa che la precede. Si tratta cioè di un materiale per cui non si può parlare di processi fermentativi « fine a se stessi » (glicolisi aerobica), così come avviene, invece, per le cellule tumorali, dove essa è tanto elevata, che una parte dei suoi prodotti non va ulteriormente soggetta a demolizioni ossidative, e pertanto si accumula nelle cellule danneggiandole.

Da quanto ho detto risulta perciò chiara la necessità, più sopra prospettata, di rallentare o comunque diminuire i processi ossidativi dell'embrione, se si vuole ottenere un accumulo dei prodotti della fase fermentativa dei glucidi, così come si verifica quando si tratta di *glicolisi anaerobica* (\*).

Debbo aggiungere che, ai fini delle mie ricerche, non potevo far ricorso ad una completa anaerobiosi. Innanzi tutto proprio negli embrioni di *Bufo vulgaris* io avevo posto in evidenza, in tali condizioni sperimentali, la continuazione di processi ossidativi per opera di una riserva ossidante in essi contenuta. Non vi è quindi in

(\*) Salvo i casi in cui esiste negli esemplari in esperimento una riserva ossidante con cui possono essere continuati per qualche tempo processi ossidativi con formazione dei prodotti terminali: acqua e anidride carbonica (vedi oltre).

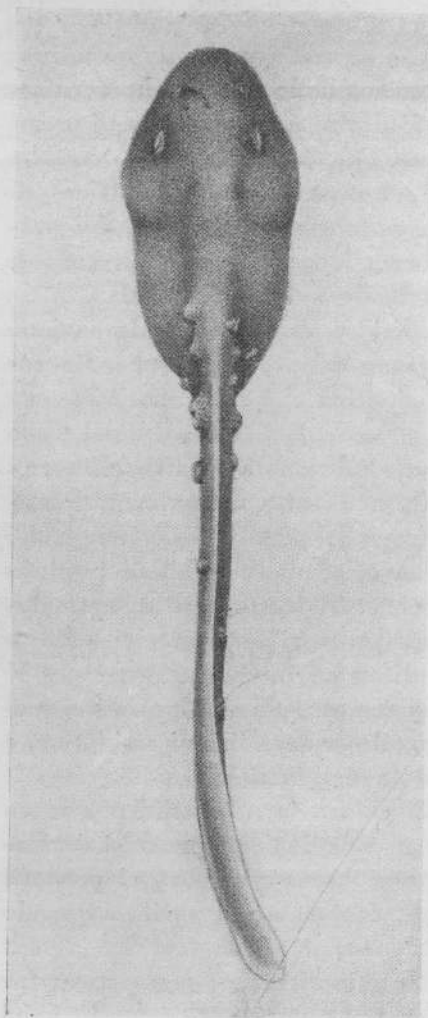


Fig. 1.

rere all'allevamento del materiale in piccole capsule, con scarsa acqua e soprattutto con l'uso di un'acqua, che, per le sue qualità intrinseche, fosse poco favorevole a un perfetto apporto di ossigeno per gli esemplari in esperimento: in tal senso diressi la mia attenzione ad alcune acque, tra le quali, principalmente, l'acqua

questa specie il ricorso, così come ho dimostrato in *Disco-glossus pictus*, ad una elevata glicolisi anaerobica con continua eliminazione all'esterno dell'acido lattico prodotto, anzi essa viene subito rallentata come sorta di difesa verso un processo, che, producendo una sostanza non eliminata all'esterno, porta in breve a morte l'animale. Di più, poi, il breve tempo di vita che in anaerobiosi rilevano gli embrioni già natanti, con circolazione in atto, non mi avrebbe permesso di poter ottenere i risultati desiderati. Una deficiente ossigenazione era quindi preferibile per le mie esperienze, tanto più in quanto con essa io pensavo si potesse ottenere una diversa risposta a seconda dei vari tessuti a proposito dell'affermarsi di una glicolisi, i cui prodotti si potessero accumulare, in alcune zone più che in altre, e in quantità più o meno notevole, per un insufficiente attacco ossidativo di essi.

Per ottenere quanto ho sopra esposto, ho pensato di ricor-

Pia Marcia di Roma, che precedenti osservazioni inedite mi avevano rivelato possedere tali proprietà.

Non starò qui a ripetere il grandissimo numero di esperimenti preliminari da me eseguiti prima di raggiungere i risultati desiderati: l'esposizione che segue vuol descrivere i vari tipi di esperienze nella stessa successione logica con la quale sono stati ideati e portati a termine, al fine di verificare l'attendibilità delle idee da cui ero partito nell'iniziare il presente lavoro.

#### A) LE ESPERIENZE DELLA I SERIE.

Sono state adoperate vaschette cilindriche di vetro, con coperchio ad incastro, delle seguenti dimensioni: diametro interno mm. 45; altezza mm. 28.

In ciascuna vaschetta sono stati posti cc. 10 di acqua Pia Marcia prelevata a Roma (\*) e 10 esemplari di *Bufo vulgaris* allo stadio in cui si accenna l'inizio delle ramificazioni delle branchie esterne. Dopo tre giorni di permanenza nell'acqua non rinnovata, un buon numero di esemplari in ciascun recipiente, esaminati al microscopio bino-

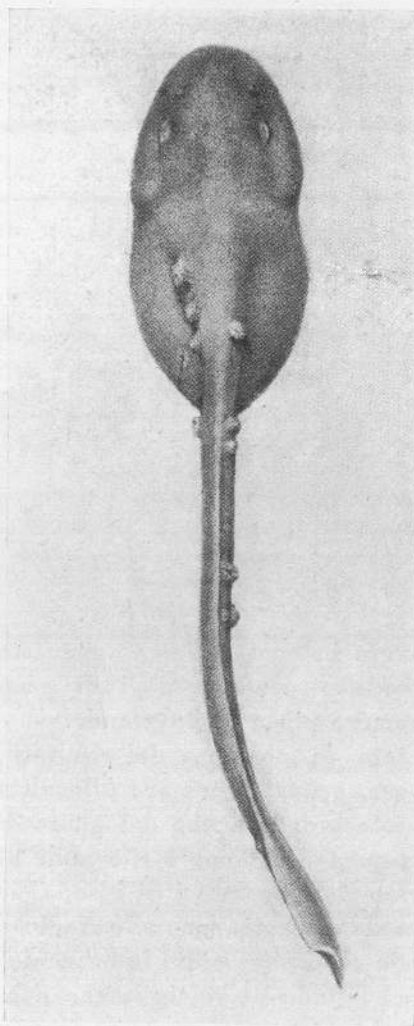


Fig. 2.

(\*) Desidero avvertire che la composizione chimica dell'acqua Pia Marcia, fortemente incrostante, è spesso soggetta a variazioni per l'allacciamento di nuove sorgenti (vedi

ciano la vita larvale col conseguente cospicuo aumento della mole corporea, e allora si notano fenomeni regressivi a carico delle protuberanze descritte, sì che, dopo un certo periodo, non rimane più traccia di esse (\*).

Queste disposizioni si sono verificate costantemente in tutte le esperienze eseguite.

\* \* \*

Naturalmente altre indagini sono state svolte variando la quantità del liquido usato e il numero degli esemplari posto in esso. Così, sempre nelle vaschette adoperate nella I serie, sono stati messi fino a 20 individui al solito stadio e si è raggiunta, per l'acqua, la quantità di cc. 20.

I risultati in tal caso sono stati del tutto paragonabili a quelli descritti precedentemente, ma il fatto d'avere ottenuto il ripetersi del fenomeno con 10 esemplari su cc. 20 di acqua, è stato largamente superato nelle prove eseguite con recipienti più grandi (diametro interno mm. 140; altezza mm. 68) contenenti cc. 450 di acqua e 150 esemplari. Con tali disposizioni si è avuta, quindi, per 10 esemplari, una quantità di acqua pari a cc. 50, e il fenomeno anche questa volta si è verificato con grande imponenza.

Naturalmente le esperienze di questa serie hanno avuto molteplici controlli eseguiti con identici recipienti e con le stesse quantità di acqua, ma rinnovate giornalmente: in tal caso, o non si sono avute le predette neoformazioni, pur dopo parecchi giorni di esperimento, o le si sono avute in scarsissimo numero, appena rilevabili a forte ingrandimento e su qualche raro esemplare. Ciò sta a dimostrare come l'impiego dell'acqua Pia Marcia, nella misura e nei recipienti descritti, fosse realmente adattissimo per i risultati che si volevano ottenere: di più, il non rinnovare il

(\*) Vedi nel capitolo ultimo il destino di queste proliferazioni abnormi, così come è risultato da esperienze preliminari di trapianto di esse su embrioni a stadio ancora lontano dal termine della riserva vitellina.

liquido ambiente è servito ad esaltare le sue capacità intrinseche, fino a stabilire quelle condizioni, per le quali sono state ottenute in misura imponente le neoformazioni descritte.

#### B) LE ESPERIENZE DELLA II SERIE.

Prima di iniziare la descrizione delle varie serie di esperienze ho fatto qualche accenno a proposito delle modalità tecniche da seguire per ottenere quelle condizioni di deficiente ossigenazione degli embrioni, da me desiderate.

Con tali modalità tecniche (che sono poi riassumibili nell'uso di scarsa acqua in rapporto al

numero di embrioni in esperimento e soprattutto nell'impiego di un'acqua non favorente la normale respirazione) si sono ottenuti realmente i risultati desiderati e descritti nella precedente serie di esperienze, ma ho creduto opportuno accertare se effettivamente, nelle vaschette in cui si trovavano gli esemplari di *Bufo vulgaris* mostranti le solite neoformazioni, vi fossero quelle condizioni sperimentali teoricamente ritenute causa di esse. Le prove eseguite a tal proposito si sono svolte in due direzioni: descrivo qui, in questa serie, le esperienze relative ad una di esse.

Dalle vaschette contenenti cc. 10 di acqua Pia Marcia o dalle vaschette più grandi, dopo che si sono verificati i soliti fenomeni di neoformazione, sono stati tolti tutti gli esemplari contenutivi: in alcuni casi vi sono stati anche lasciati. In questi stessi recipienti senza cambiare l'acqua, conservando cioè la stessa usata

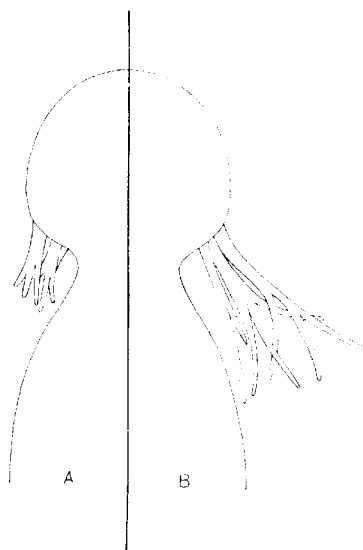


Fig. 5.

dall'inizio dell'esperienza — sono stati posti altri 10 esemplari al solito stadio di sviluppo e si è attesa la loro reazione di fronte al liquido ambiente (leggermente opalescente) che aveva già causato nei suoi primi abitanti le neoformazioni descritte.

In questo caso, pur dopo parecchi giorni di esperimento, i nuovi embrioni non hanno mai mostrato traccia, benchè minima, di protuberanze ectodermiche, ma — fatto molto importante — hanno rivelato anche uno sviluppo enorme delle branchie (fig. 5, *B*; a sinistra, *A*, le disposizioni di un embrione di controllo) e un permanere di esse all'esterno per un periodo di tempo molto maggiore che non quello dimostrato dai controlli (in tal caso i controlli sono formati da 10 esemplari posti, come nelle esperienze della I serie, in acqua non rinnovata, ma non usata in precedenza con altri embrioni, e perciò affetti dalle solite proliferazioni abnormi). E questa era, quindi, proprio la prova biologica (per quel che si sa a proposito dello sviluppo delle branchie in embrioni posti in mezzo povero di ossigeno — Babak -) dimostrante come nel liquido, dove avevano vissuto gli esemplari affetti dalle neoformazioni descritte, *l'ossigeno non potesse essere fornito in quantità sufficiente al materiale in esso vivente* (vedi esperienze della IV serie).

E il non essersi verificate le solite neoformazioni negli esemplari con le branchie ipersviluppatesi, rimaste esterne per un tempo maggiore che non negli altri casi, e pertanto dotati di una migliore respirazione, è servito a dimostrare che a questa migliore respirazione è dovuto il mancato apparire delle neoformazioni ectodermiche.

Desidero qui precisare che la differenza di comportamento tra i due lotti di individui è chiaramente e logicamente spiegabile. Infatti, nelle esperienze della I serie, gli esemplari posti in principio in acqua Pia Marcia si vengono a trovare gradatamente, per il mancato rinnovamento di essa (mentre lo sviluppo va progredendo e quindi l'apparato branchiale non è più atto a reagire nella maniera predetta), di fronte a condizioni di sempre più scarse possibilità respiratorie, che portano all'insorgere delle neoformazioni ectodermiche. Quando, invece, nella stessa acqua già adoperata si immettono altri esemplari (sempre allo stesso stadio iniziale), questi vengono a trovarsi subito in tali condizioni e pertanto rea-

giscono, dato lo stadio favorevole in cui si trova in tal caso l'abbozzo branchiale, nella maniera sopra descritta, impedendo l'affermarsi di quei fattori che portano alla genesi delle protuberanze ectodermiche abnormi.

*SULLE CAUSE  
DI ALCUNE  
PROLIE, ECC.*

### C) LE ESPERIENZE DELLA III SERIE.

A seguito delle esperienze delle serie precedenti si è ritenuto opportuno indagare anche se l'acqua impiegata potesse essere corretta nella sua azione dall'aggiunta di determinati sali, in quanto modificanti alcune peculiari proprietà del liquido di cui abbiamo fatto cenno precedentemente. Le prime esperienze eseguite per questo scopo furono condotte mantenendo inalterate tutte le condizioni sperimentali di cui alla I serie, salvo l'aggiunta, all'acqua adoperata, di soluzione di Ringer (ccm. 0,5 di Ringer triplo su ccm. 9,5 di acqua Pia Marcia): come controlli funzionavano vaschette con semplice acqua Pia Marcia nella stessa quantità e contenenti lo stesso numero di embrioni (esperienze della I serie). Con tali disposizioni sperimentali non si sono mai ottenute nell'acqua con l'aggiunta di Ringer le solite neoformazioni ectodermiche, mentre i controlli ne erano abbondantemente ricoperti e sempre, prevalentemente, nella solita localizzazione accennata. Ma in tal caso bisogna notare che contemporaneamente si è verificata una netta differenza di sviluppo tra gli embrioni in acqua e Ringer e quelli in sola acqua, in quanto i primi hanno avuto un ritmo di sviluppo più accelerato, raggiungendo una taglia ben più cospicua di quella mostrata dai secondi.

Le stesse differenze sono state notate, in confronto con i controlli in sola acqua, con esemplari posti in acqua Pia Marcia con l'aggiunta di cloruro di sodio o di cloruro di potassio.

Desidero ora prospettare che questi risultati potrebbero condurre a pensare che l'assenza di alcuni sali, nell'acqua impiegata in tutte le esperienze mostranti le neoformazioni descritte, fosse la causa diretta di esse, in quanto la semplice aggiunta di tali sali portava al risultato della non insorgenza, pur nel mantenimento di tutte le altre condizioni sperimentali.

Il reperto ottenuto, infatti, permette a prima vista una tale conclusione, ma occorre notare che la non insorgenza delle neoformazioni ectodermiche era stata ottenuta (esperienze della III serie) anche in altro modo, quando cioè agli embrioni, con uno sviluppo enorme delle branchie, si era resa possibile una migliore respirazione. Di più, poi, mentre in questi embrioni con branchie grandissime la taglia corporea e lo stadio di sviluppo sono riconducibili a quelli degli embrioni di controllo, negli esemplari allevati in acqua con l'aggiunta dei sali predetti lo sviluppo si mostra accelerato e la taglia ben più grande, ciò che rende arbitrario un confronto per la spiegazione causale della formazione o meno delle proliferazioni abnormi. Si pensò allora, anche per quel che ho detto più sopra, che l'aggiunta di quei sali avesse avuto, tra l'altro, l'effetto di permettere una completa assunzione di ossigeno da parte degli esemplari in esperimento. E nell'intento di verificare tale modo di vedere furono svolte le esperienze seguenti.

#### D) LE ESPERIENZE DELLA IV SERIE.

Per prima cosa si pensò di saggiare il contenuto in ossigeno dei liquidi usati (acqua semplice o con l'aggiunta dei sali predetti) dopo alcuni giorni di permanenza degli esemplari in esperimento, e più precisamente quando quelli in acqua semplice mostravano le solite abbondanti neoformazioni. Qualche analisi eseguita col metodo di Winkler permise di vedere che il contenuto in ossigeno è un po' più grande nell'acqua in cui sono stati aggiunti sali che non in quella semplice.

Ma anche a seguito di questi risultati si pensò che tale minore quantità di ossigeno, là dove si verificano i fenomeni di neoformazione, non fosse il fatto più importante ai fini dello scarso apporto di questo elemento agli embrioni in esperimento, e perciò si volle vedere la risposta di essi, allorchè posti in acqua non rinnovata, ma in cui gorgogliava continuamente aria fin dall'inizio del trattamento. Con tale disposizione sperimentale si sono ottenuti risultati dimostranti come gli esemplari viventi in queste condizioni non presentano uno sviluppo più rapido, nè crescono più di quelli in acqua non aereata: qualche piccola e isolata neoformazione sul tipo delle

solite descritte appare anche in esse, se pur soltanto in pochi casi. Pertanto viene così dimostrato che neanche l'aereazione continua dell'acqua adoperata riesce a togliere completamente ad essa le proprietà che sono state poste in evidenza dai miei risultati: proprietà non propizie per lo sviluppo dell'individuo e permettenti l'insorgere delle proliferazioni abnormi, attraverso un meccanismo non favorente la normale ossigenazione degli esemplari in esperimento.

Ulteriori indagini sono state svolte, poi, per vedere se nel liquido ambiente adoperato nelle altre serie, là dove gli individui mostravano il fenomeno imponente così come è stato descritto, si potesse mettere in evidenza almeno qualche traccia di acido lattico, il cui accumulo nell'embrione, e particolarmente in certe parti di esso, era stato previsto nell'impostazione di tutto il piano di ricerche come espressione di condizioni di deficiente apporto di ossigeno agli esemplari in esperimento. E non deve sembrare strana la presente indagine, apparentemente in antitesi con quanto ho detto in altri lavori a proposito dell'incapacità delle neurule di *Bufo vulgaris* ad eliminare l'acido lattico accumulatosi in anaerobiosi: negli esemplari mostranti le neoformazioni ectodermiche si è visto che molte di esse presentano nella parte centrale una zona in disfacimento, e attraverso questa soluzione di continuità era possibile pensare potesse versarsi all'esterno l'acido lattico, nel caso che questo si fosse realmente accumulato. Infatti, eseguendo le analisi del liquido ambiente con il metodo di Mendel e Goldscheider, s'è visto che nell'acqua dove sono vissuti gli esemplari affetti dalle neoformazioni ectodermiche, si possono riscontrare tracce di acido lattico, mentre non è stato mai possibile metterle in evidenza nell'acqua con l'aggiunta dei sali di cui alle esperienze della III serie.

### III.

Con il capitolo precedente, alla fine della descrizione dei risultati delle varie serie di esperienze, il lavoro poteva considerarsi terminato nella sua oggettiva lineare semplicità.

Ma l'esposizione delle mie indagini veniva a seguito del capitolo introduttivo, dove il fenomeno delle proliferazioni cellulari abnormi

è inquadrato nel più vasto campo delle formazioni tumorali, si che ho creduto di non potermi esimere dall'esporre alcune considerazioni che delucidino il mio modo di vedere sull'argomento. Innanzi tutto è necessario riassumere brevemente i risultati ottenuti e valutarli nella loro reale essenza.

Dal punto di vista della genesi delle neoformazioni da me ottenute negli embrioni di *Bufo vulgaris*, sono chiare le disposizioni che le hanno determinate. Le condizioni di non sufficiente apporto di ossigeno agli individui in esperimento hanno permesso l'accumularsi di acido lattico soprattutto là dove la sua produzione è più notevole in relazione alle peculiari proprietà del tessuto (tessuto muscolare), e in maggior misura dove quest'ultimo funzionando maggiormente (nella coda che in tali stadi è in continuo movimento) ne produce in maggiore quantità. Tale acido, raggiunta una determinata soglia di concentrazione là dove è venuto a contatto con le cellule dell'ectoderma, o per diffusione diretta o pel tramite della circolazione, vi ha scatenato una proliferazione abnorme (\*), uccidendo anche parte di esse.

Il rapporto tra causa ed effetto è in questo caso chiarissimo (\*\*): è bastato un maggior apporto di ossigeno all'embrione, (embrioni dalle branchie enormi delle esperienze della II serie), e cioè la possibilità di far scomparire l'acido lattico prodotto dalla fase fermentativa dei glucidi (glicolisi), pur mantenendo inalterato tutto il resto delle condizioni sperimentali perchè tali proliferazioni abnormi non si verificassero più.

E, se si volesse obiettare che la relazione tra causa ed effetto sta semplicemente nello scarso apporto di ossigeno (escludendo così l'azione dell'acido lattico), è semplice dimostrare che in tal

(\*) O per una azione direttamente eccitatrice la divisione cellulare, o per l'indebolimento, o addirittura per l'annullamento di eventuali forze che normalmente la frenino.

(\*\*) Dato il fatto che l'accumulo di acido lattico è conseguenza di una glicolisi, desidero subito avvertire che non è possibile, per i risultati delle mie esperienze, riesumare questa ultima per darle il valore di causa delle proliferazioni abnormi ottenute. Infatti, questa glicolisi si è stabilita nei miei casi in un tessuto che non è quello sul quale si è verificato il fenomeno delle neoformazioni abnormi, e quindi viene a perdere il valore che una volta le si sarebbe dato, in quanto reazione eccitante la cellula stessa nella quale riesce ad affermarsi.

caso tutto l'ectoderma si sarebbe trovato press' a poco nelle identiche condizioni, e che, se mai, proprio l'ectoderma della coda, per la sua ricca vascularizzazione, avrebbe dovuto essere una parte non più soggetta delle altre alle proliferazioni abnormi.

*SULLA CAUSE  
DI ALCUNE  
PROLIF. ECC.*

\* \* \*

Premesse queste brevi considerazioni sulla reale essenza delle cause conducenti alle neoformazioni ectodermiche descritte, c'è una questione particolarmente delicata, per la quale credo necessaria una precisazione; e cioè: come debbono essere considerate le neoformazioni ottenute e quale è la loro reale fisionomia? Tale questione per il presente lavoro riveste un carattere di grande interesse, per la diversa valutazione che dei risultati stessi può farsi dai più vari punti di vista.

Ripeto che si tratta di un punto che merita una particolare attenzione, ma che la sua trattazione è ancora più delicata quando si pensi alle grandi difficoltà che si incontrano nella delimitazione dei vari ordini di processi che hanno alla base fenomeni di riproduzione cellulare.

Ricordo a questo proposito un articolo non più recente (1926) del Barbacci nel quale veniva prospettato il quesito del posto che debbono occupare le proliferazioni tumorali nella catena continua di tutte le proliferazioni cellulari.

Infatti noi assistiamo nel mondo vivente a tutta una serie di moltiplicazioni cellulari; da quelle che si verificano dall'uovo fino alla formazione armonica dell'individuo adulto a quelle che si perpetuano in quest'ultimo per il mantenimento della sua fisionomia generale morfologica e fisiologica; da quelle che si attuano in forma di processi rigenerativi per la riparazione dell'integrità dell'individuo a quelle che si rilevano nelle iperplasie dei fenomeni di flogosi; da quelle proprie dei processi granulomatosi specifici e aspecifici a quelle conducenti alle mostruosità o malformazioni, vere deviazioni dei normali processi di sviluppo. E in tale catena v'è il posto delle moltiplicazioni cellulari dei tumori; tra i processi granulomatosi e le mostruosità: gruppo non omogeneo e sconfinante dalle due parti, senza che il modo mediante il quale

si attuano possa indicarci, dal punto di vista morfologico, una maniera decisa con cui poterli chiaramente caratterizzare e differenziare da tutti gli altri processi di moltiplicazione cellulare normale e patologica.

Dinnanzi a questo quadro schematico delle varie proliferazioni cellulari, io penso che quelle ottenute nelle mie esperienze per azione dell'acido lattico possano essere inserite proprio nel gruppo non omogeneo di quelle tumorali. Ed ecco le ragioni che giustificano una tale conclusione.

Dirò subito che non è mia intenzione ricorrere alla semplice, ma efficace caratterizzazione dei tumori considerati come « una atipica proliferazione di tessuto che si svolge fuori del piano normale della organizzazione »: nulla di più rispondente alla natura delle neoformazioni ottenute nelle mie ricerche. Desidero invece analizzare i caratteri più importanti di esse, al fine di stabilire paragoni e confronti.

V'è in primo luogo la grande varietà nella forma e nella grandezza delle cellule che compongono le formazioni descritte in questo lavoro. Pur non essendo carattere peculiare delle proliferazioni tumorali, in quanto tale fenomeno si riscontra anche in altre proliferazioni patologiche, si tratta di un attributo che ha anche la sua importanza, soprattutto se si tien conto di quanto abbiamo visto a carico dei nuclei. Infatti, nei riguardi di questi ultimi si è rilevato che vicino ad alcuni morfologicamente simili ai normali ne sono altri di maggiore grandezza, altri ancora più piccoli o piccolissimi, alcuni dei quali picnotici.

Più importante e più caratteristica è un'altra atipia che si riscontra nelle mie esperienze. Si tratta della atipica disposizione degli elementi che costituiscono le proliferazioni abnormi descritte, nel piano generale della organizzazione. Infatti in esse vediamo una massa di cellule ectodermiche che hanno perduto (considerandole partitamente come rivestimento esterno dell'embrione) i loro normali rapporti con gli altri tessuti e soprattutto col connettivo: quest'ultimo è rimasto al suo posto e non si è proteso nella massa ectodermica, in modo da permettere di considerare quest'ultima come una pieghettatura complicata del normale tessuto di rivestimento.

Importante e caratteristica è pure l'assenza di ogni finalità nelle formazioni da me ottenute. Proprio in un periodo di vita come quello embrionale (e qui ricordo il valore della scelta dello stadio di sviluppo in questo genere di esperienze), in cui è tutto un affermarsi intenso di correlazioni conducenti alla costruzione armonica dell'individuo, si sono ottenute neoformazioni decisamente aberranti, estranee al piano generale dell'individuo. Nè esse possono essere ricondotte a tutte quelle altre produzioni che si attuano (e però si tratta di aggressioni sperimentali di ben altra natura) in questi periodi di sviluppo, perchè, siano tali produzioni fenomeni di organizzazione o siano episodi di cambiamento di destino di singole parti, siano produzioni abnormi o deviazioni di sviluppo, vi si riscontra sempre un certo mantenimento di relazioni tra i tessuti che li formano. In esse, inoltre, si rilevano fenomeni di naturale interdipendenza, e, a volte, addirittura una perfetta disposizione armonica tra le parti che le costituiscono, sì da farle considerare come altre entità sommatasi con l'intero individuo, e quindi semplici espressioni della totipotenza delle parti del germe in sviluppo. E ancora si può ricordare la labilità degli elementi che costituiscono le formazioni da me ottenute: non si tratta di cellule che, pur sfuggite al piano armonico dell'individuo, rimangono vive *a latere* di esso, ma di elementi destinati a breve durata di vita, e pertanto facile preda di processi regressivi che portano alla loro scomparsa.

Ma se tutte le peculiari proprietà delle neoformazioni da me ottenute rappresentano serie basi che permettono il raccostamento, o meglio l'inclusione di esse nel vasto campo delle proliferazioni tumorali, altre, proprie di queste ultime, o meglio di alcune di queste ultime, mancano nelle esperienze descritte. Occorre quindi chiarire il valore di queste mancanze, e soprattutto indagare se esse possano essere spiegate di fronte a tutti gli altri reperti che hanno dato ragione dell'inclusione delle predette neoformazioni nel campo delle proliferazioni tumorali.

In effetti, queste mancanze sono strettamente correlate fra loro in modo da poterle considerare tutte insieme: è mancato quello che può chiamarsi l'accrescimento illimitato, perchè raggiunta una certa taglia le neoformazioni si sono arrestate nel loro sviluppo; è

mancata la conseguente invadenza degli elementi costituenti nei tessuti circostanti normali; è mancata, per quel che ho potuto vedere finora, la conseguente possibilità di metastasi.

Sono mancate, quindi, in sostanza, alcune peculiari proprietà rilevabili, è vero, nei tumori maligni della specie umana, ma mancanti spesso in quelli trapiantabili dei roditori, i quali tuttavia vengono riconosciuti, pur nella realtà di queste e di altre differenze, analoghi a quelli umani, e mancanti nei tumori benigni.

E da un punto di vista biologico generale vorrei insistere su questo punto, in quanto differenze e analogie debbono sempre essere rigidamente vagliate, quando si tratta di fenomeni studiati su diverse specie e nei diversi momenti della vita: specie e momenti caratterizzati da precise e intrinseche proprietà che portano, a volta, a volta, risposte simili, per certi aspetti, e differenti per certi altri, all'azione di medesime condizioni sperimentali e a quelle di uno stesso stimolo. Ritornando perciò al fatto dell'arresto di sviluppo che si verifica a un certo punto a carico delle neoformazioni delle mie esperienze, occorre notare che si tratta ormai del periodo in cui gli individui portatori di esse sono vicini al termine del riassorbimento vitellino; in breve si inizierà la vita larvale con tutto il complesso di fenomeni propri di questa vita.

Pertanto è logico pensare che col cambiamento di stadio biologico, e forse col conseguente affermarsi di una migliore ossigenazione (infatti se si iniziano le esperienze con stadi più avanzati non si ottengono i risultati descritti nella I serie), sia terminata la possibilità di un accumulo di acido lattico nelle zone in proliferazione. E tutto ciò può essere chiamato in causa anche se pensiamo che, a seguito della prima eccitazione alla proliferazione anormale, nelle cellule stesse si sia verificata una glicolisi aerobica, che servirebbe a produrre continuamente tale acido in eccesso: il breve tempo trascorso tra il suo apparire e il cambiamento delle condizioni biologiche dell'individuo, si può presumere non sufficiente a che i cambiamenti della funzionalità cellulare siano così stabili da resistere a fenomeni tendenti a riportarla sul piano normale (\*).

(\*) Ad avvalorare quanto è detto sopra stanno i risultati molto importanti di alcune esperienze che, una volta terminate, costituiranno quelle della V serie. Si tratta di

Di più, poi, i due processi di arresto di accrescimento e di successiva regressione rilevati nelle proliferazioni ectodermiche delle mie esperienze, verificatisi nel periodo in cui si sta per attuare e si attua un cambiamento di stadio biologico, possono avere chiara spiegazione, riaccostandoli ad altri fenomeni che si verificano nei tumori trapiantabili dei roditori o nei tumori aviari; bisogna, infatti, ricordare che, nei miei casi, l'individuo, con l'inizio della vita larvale, va incontro ad un forte, generale accrescimento e all'esaltazione dei processi differenziativi, i quali insieme potrebbero agire come una sorta di agente di concorrenza sulle neoformazioni ectodermiche aberranti, che perciò, infine, risultano riassorbite.

SULLE CAUSE  
DI ALCUNE  
PROLIF. ECC.

\*  
\* \*

A voler accettare il mio modo di vedere, è chiaro ormai che su questa nuova via che ho tracciato è necessario andare avanti, anche a proposito delle già ovvie, se pur prevedibilmente complicate, esperienze che si faranno per impedire l'affermarsi o per far scomparire la causa da me precisata delle proliferazioni abnormi. Ma prima sarà utile ricordare ciò che la letteratura ci aveva detto sull'argomento.

Che l'acido lattico fosse uno stimolante della moltiplicazione cellulare, lo si sapeva da parecchio tempo per alcuni materiali (Bitmann, Kostoff ed altri): esso veniva anche definito (Rondoni) come uno dei cofattori umorali della flogosi. E si era visto, inoltre, che l'azione dell'acido lattico sulle cellule vegetali era tale da produrre, a volte, neoformazioni con elementi profondamente turbati: purtroppo un riaccostamento tra queste produzioni aber-

esperienze di trapianto delle proliferazioni ectodermiche da me ottenute, tolte quando il loro accrescimento è terminato e poste su embrioni di *Bufo vulgaris* allo stadio di Ectotome codale. In tal caso la neoformazione continua a crescere sul giovane embrione, dando luogo a lunghe escrescenze che strutturalmente conservano le stesse disposizioni descritte e illustrate a proposito delle esperienze della I serie. È chiaro, perciò, che bisognerà ritornare sulla questione dell'arresto dell'accrescimento, forse nel senso già da me accennato sopra, in quanto la continuazione di esso può essere ottenuta con disposizioni annullanti le altre considerate antagoniste.

ranti nei vegetali e i tumori animali non si è mai voluto stabilire nettamente, e ancora oggi v'è chi, da un punto di vista generale, teme pavidamente tutto ciò che può portare a sintesi prolifiche tra i fenomeni del regno animale e di quello vegetale.

Pertanto all'acido lattico nei tumori (Fulci, C. F. e G. T. Cori avevano già da molto tempo visto la sua abbondanza in essi e soprattutto nei maligni; da Warburg in poi sapevamo con precisione tutta l'imponenza del fenomeno) non s'era badato più di quanto fosse necessario per pensarlo come un prodotto della dimostrata elevata glicolisi aerobica delle cellule tumorali; glicolisi alla quale, un tempo, si era data tanta importanza nella genesi dei neoplasmi.

Infatti, vediamo, a volta a volta, tenuto in onore il concetto degli affollamenti cellulari del Burrows, nei quali la conseguente insufficiente ossigenazione di alcune cellule può essere chiamata in causa nella genesi dei tumori; vediamo, da Warburg in poi, considerata la glicolisi come la reazione specifica dell'accrescimento tumorale (\*); vediamo addirittura la teoria ischemica dei tumori, per la quale una parziale asfissia dei tessuti porterebbe forzatamente a un metabolismo soprattutto anaerobico e quindi alla degenerazione maligna delle cellule: in tutto ciò l'acido lattico non è altro che un semplice prodotto del metabolismo affermatosi nelle cellule del tumore.

Dalle mie ricerche la situazione esce capovolta. L'acido lattico, raggiunta, per una insufficiente ossigenazione di una data zona, una determinata soglia di concentrazione (che si può presumere diversa per i vari tessuti, per le varie specie, e forse per i vari individui) stimola le cellule (\*\*) a una proliferazione aberrante (risultati delle mie ricerche). Di più, poi, per quel che si sa, è facile

(\*) A questo proposito ricordo come il Warburg considera la lesione della funzione respiratoria, di cui la glicolisi è poi conseguenza. Si avrebbero, secondo questo autore, tre diversi risultati: o la morte cellulare; o l'affermarsi temporaneo di una glicolisi aerobica come in molteplici esperimenti e nei tessuti infiammatori, con proliferazione cellulare caotica, che in breve si regolarizza; o la fissazione stabile della lesione respiratoria conducente al tumore.

(\*\*) Desidero qui mettere in risalto il fatto molto interessante (valutato alla rovescia dagli studiosi della glicolisi nelle cellule in accrescimento, ma che rappresenta per me

pensare che la lesione che ne consegue per l'azione dell'acido lattico sulle cellule stesse, minorate così funzionalmente, vi permette, entro un certo periodo di tempo, l'affermarsi di una forte glicolisi aerobica, propria dei tumori, per cui si viene a perpetuare la presenza in eccesso del predetto acido, e quindi l'eccitamento alla proliferazione abnorme, a meno che decisi cambiamenti di situazione non vengano ad abolirla, facendo fermare, o addirittura regredire, la proliferazione già effettuata.

La glicolisi aerobica viene quindi a porsi sul piano di un fattore secondario che permette semplicemente, dal primitivo accenno della proliferazione tumorale, il perpetuarsi del fattore primario in forma di un tenore in acido lattico più elevato del fisiologico. Ed è in questo che l'acido lattico viene a differenziarsi dai tanti agenti invocati come causa nella genesi dei tumori spontanei e sperimentali. Negli altri casi, infatti, si tratta di fattori chimici, fisici, parassitari, ecc., che portano alla formazione del tumore, ma, una volta iniziatosi il processo, questo continua anche se i predetti fattori non sono più presenti, sì che può pensarsi che essi servano semplicemente allo stabilirsi di condizioni generanti il vero fattore causale della crescita neoplastica. Per quel che riguarda l'acido lattico, sappiamo, invece, che la sua presenza in eccesso accompagna la proliferazione tumorale in tutto il suo svolgimento.

E non ha importanza l'ammissione che anche nei tumori abbiano il primo posto i fenomeni di ossidazione per la produzione della grande quantità di energia necessaria alle enormi sintesi proteiche che vi si attuano: è certo che produzione abbondante di acido lattico c'è sempre e che essa è dovuta all'esistenza di una elevata glicolisi aerobica; nè l'apporto, anche abbondante, di ossigeno, può riuscire a mascherarla totalmente.

uno dei punti di partenza nella concezione che ho avuto di questo problema) che nelle cellule nervose p. d. e nelle fibre muscolari differenziate, le quali non presentano o soltanto molto raramente trasformazione tumorale, vi è forte glicolisi e quindi abbondante produzione di acido lattico, a volte anche in aerobiosi, e che quindi si tratta di elementi nei quali è quantitativamente fisiologico ciò che per altri è patologico.

Molte altre considerazioni potrebbero farsi sulla base di quanto ho esposto finora: potrei, cioè, riferire tutto quell'insieme di risultati della letteratura che convalida il mio modo di vedere, appoggiato da esperienze semplici e chiare, o inquadrare fatti di indole generale nella presente esposizione.

Ma al termine del presente lavoro credo opportuno piuttosto dire qualche altra cosa, che serva ancor meglio a lumeggiare il valore dell'agente da me precisato come responsabile delle proliferazioni abnormi: soprattutto desidero insistere (proprio in un periodo in cui è in auge lo studio degli agenti esterni) sul fatto che esso è di natura endogena e che nelle cellule sulle quali agisce, anche se è derivato da altre, la sua produzione può perpetuarsi proprio in relazione alla minorazione funzionale che esse hanno subito. In tal modo diventa inutile ricorrere alle complicate ipotesi di una mutazione genetica operatasi nel patrimonio ereditario di tali cellule, che pertanto le estranei dal resto dell'individuo che le ospita, dando loro il carattere di autonomia proprio delle proliferazioni tumorali.

E per ultimo un breve accenno alla questione della specificità. Se volessi ora affermare l'unicità dello stimolo che provoca le sfrenate e caotiche proliferazioni cellulari, potrei indicare la via da seguire per arrivare alla dimostrazione di un tale asserto: basterebbe, infatti, studiare, soprattutto con i vari agenti chimici, fisici ecc., provocatori delle proliferazioni tumorali, durante gli stadi di precancerogenesi fino al netto insorgere del tumore, se nelle cellule della zona sperimentata si formi accumulo di acido lattico.

Ma desidero precisare sin da ora, prima che questa questione venga risolta, che logicamente è ammissibile l'esistenza di altre sostanze o di altri agenti di varia natura i quali agiscano, come l'acido lattico, scatenando in sè e per sè la proliferazione abnorme, senza passare, fino al momento dell'affermazione del tumore, attraverso uno stadio in cui ci sia accumulo di tale acido: è cosa nota in tutti i campi della biologia normale e patologica come diversi stimoli abbiano la stessa risposta da parte del protoplasma vivente.

Ma essi, anche se endogeni, non avrebbero la caratteristica principale dell'acido lattico, e cioè la capacità generalizzata di coesistere (\*) con la proliferazione tumorale durante tutto il suo svolgimento; non sarebbe, cioè, produzione intrinseca della cellula stessa che, minorata funzionalmente, lesa profondamente, continua indefinitamente a produrre l'agente che la spinge verso due ordini di fenomeni nettamente antitetici: proliferazione sfrenata ed estrema labilità di vita.

*Da San Pietro in Perugia il 4 ottobre 1942-VX.*

(\*) C'è una eccezione nel cosiddetto *circa* dei tumori aviari, estraibile dalle cellule neoplastiche e capace di riprodurre, iniettato in esemplari sani, il tumore stesso a spese delle cellule dell'ospite.

A voler inquadrare questi fenomeni con quanto è stato da me esposto in questo lavoro, prima che seri studi stabiliscano le interrelazioni tra i due ordini di fatti, c'è da prospettare qualche ipotesi: da parte mia accennerò ad una soltanto che può valere come ipotesi di lavoro.

Ricorderò, allo scopo, quanto Pentimalli ha affermato a proposito della struttura dell'agente causale dei tumori del pollo, avendo trovato una frazione proteica fosforata nel sangue (infettante) di esemplari portatori di questi neoplasmi. Vorrei, pertanto, in tal caso, accennare alla eventualità che l'introduzione nei tessuti dell'ospite del filtrato del tumore, già di per sé considerabile come provocante una lesione cellulare (ricordo che l'esito dell'inoculazione del filtrato è più facilmente positivo se ad esso si aggiungono piccole quantità di Kieselgur), possa significare uno stimolo potente su una glicolisi iniziale, in forma di un suo rapido potenziamento quantitativo ad opera della frazione proteica fosforata introdotta (ricordare l'importanza dei composti fosforati sul decorso della glicolisi). In tal senso si avrebbe subito l'affermarsi di una elevata glicolisi producete la ben nota grande quantità di acido lattico riscontrata nei tumori aviari, e si ritornerebbe così alla solita sostanza che è a base della concezione esposta in questo lavoro: a questo proposito è meritevole della più grande attenzione il fatto della rapidità dell'insorgere delle proliferazioni abnormi nelle mie esperienze (tre giorni circa) e nella formazione dei tumori aviari (pochi giorni), di fronte al maggior tempo occorrente per la produzione di tumori sperimentali mediante tutti gli altri agenti chimici e fisici.

#### RIASSUNTO

In questa Memoria, l'Autore, dopo aver impostato il problema delle proliferazioni cellulari abnormi da un punto di vista generale, giunge alla precisazione delle cause di alcune di esse, tracciando così una nuova via nel campo dello studio dei tumori.

97927

348145

legge

effetti di



