
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ENRICO CIARANFI, ALBERTO FONNESU

Sui rapporti fra metabolismo energetico e incorporazione di aminoacidi nelle proteine delle cellule di tumori-ascite

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 32 (1962), n.6, p.
835-844.*

Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1962_8_32_6_835_0

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Patologia. — *Sui rapporti fra metabolismo energetico e incorporazione di aminoacidi nelle proteine delle cellule di tumori-ascite*^(*).
Nota di ENRICO CIARANFI e ALBERTO FONNESU, presentata ^(**) dal
Corrisp. E. CIARANFI.

Uno degli aspetti fondamentali del problema del cancro è rappresentato dal metabolismo energetico della cellula tumorale e dai rapporti fra questo metabolismo e i processi di sintesi. Il concetto stesso di tumore, infatti, implica la crescita, cioè formazione di nuovo protoplasma o, se vogliamo, prevalenza dell'anabolismo sul catabolismo della materia vivente. E anche se alla crescita tumorale riconosciamo caratteri particolari (autonomia, progressività, ecc.), resta il fatto fondamentale che i processi di sintesi prevalgono su quelli di scissione.

Queste brevissime considerazioni sono più che sufficienti a giustificare il piano di ricerca che stiamo cercando di svolgere e cioè lo studio sistematico dei rapporti fra processi fornitori di energia e sintesi di materiali protoplasmatici nella cellula neoplastica.

Il merito di aver aperto la strada a questo genere di studi è, senza dubbio, di Otto Warburg, al quale dobbiamo non soltanto l'importante scoperta della spiccata capacità glicolitica dei tumori, ma anche l'introduzione di tecniche biochimiche che risultano indispensabili per lo studio del metabolismo della cellula neoplastica [13]. Se è vero che Warburg ha studiato soprattutto il metabolismo energetico dei tumori, dobbiamo riconoscere che, fino a non molto tempo fa, mancando le tecniche per studiare quantitativamente la sintesi di materiali protoplasmatici, era praticamente impossibile aggredire il problema delle relazioni fra metabolismo energetico e processi di sintesi. Warburg, tuttavia, era talmente convinto dell'importanza di queste relazioni da formulare la ben nota ipotesi che attribuisce alle alterazioni del metabolismo energetico un preciso valore causale nella genesi dei tumori. Non è il caso di discutere in dettaglio la teoria di Warburg [14, 15] sulla cancerogenesi e le numerose critiche mosse da più parti a questa teoria. È forse opportuno, però, ricordare la posizione opposta a quella del Warburg, e cioè la posizione di coloro che considerano il particolare metabolismo energetico del tumore una coincidenza piuttosto costante, che non ha alcun rapporto con l'essenza del processo neoplastico né con la sopravvivenza del tumore. Certamente il quesito fondamentale è se esiste o no una relazione fra il particolare metabolismo energetico della cellula tumorale e l'essenza del processo neoplastico. Allo

(*) Lavoro eseguito negli Istituti di Patologia Generale delle Università di Milano e Messina.

(**) Nella seduta del 12 giugno 1962.

stato attuale delle conoscenze è impossibile dare una risposta concreta, ed il propendere per l'uno piuttosto che per l'altro orientamento è soprattutto una questione di inclinazione personale, giacché ciascuna delle ipotesi prospettate ha dati a favore e dati contro. È difficile, comunque, immaginare come si possa trovare una risposta al quesito posto sopra prima di aver chiarito i rapporti fra metabolismo energetico e processi di sintesi nella cellula tumorale.

Nel programmare le nostre ricerche abbiamo dovuto limitare il campo d'indagine o, per meglio dire, abbiamo dovuto stabilire un certo ordine di precedenza. Per varie considerazioni, in gran parte intuibili, abbiamo per ora concentrato la nostra attenzione sui rapporti fra processi fornitori di energia e sintesi proteica, prendendo come indice di sintesi proteica l'incorporazione di aminoacidi marcati nelle proteine. Gli esperimenti riferiti in questa Nota riguardano l'incorporazione *in vitro* di leucina- $1-C^{14}$ nelle proteine di cellule di tumori-ascite incubate in varie condizioni. Sono inoltre descritti altri esperimenti con i quali si è voluto studiare l'azione della DL-gliceraldeide sulla glicolisi anaerobia, sulla respirazione e sull'incorporazione della leucina nelle proteine di cellule neoplastiche.

PARTE SPERIMENTALE.

I tumori usati in questi esperimenti erano in massima parte tumori-ascite, e precisamente: 1° *epatoma-ascite* (AH 130) di Yoshida (ratto albino); 2° *mieloma-ascite* (ratto albino) ottenuto trasformando in forma ascitica il mieloma solido di Oberling e Guerin; 3° *adenocarcinoma-ascite* di Ehrlich (topo albino). Solo alcune prove sono state fatte con sezioni del suddetto mieloma solido. Al momento dell'esperimento i tumori-ascite erano tutti di 6-10 gg.

Le cellule di tumore-ascite erano lavate per due volte, a temperatura ambiente, con un Krebs-Ringer-fosfato della seguente composizione: NaCl 0,128M; KCl $1,3 \times 10^{-2}$ M; $CaCl_2$ $1,83 \times 10^{-3}$ M; $MgSO_4$ $6,5 \times 10^{-4}$ M; tampone di fosfato sodico — pH 7,4 — 0,005 M.

L'incubazione e le misure manometriche erano effettuate in apparecchio di Warburg a 38° C. La quantità di cellule per vaschetta era di 15-20 mg (peso secco).

Il *consumo di ossigeno* era determinato con il metodo diretto di Warburg con aria come gas ambiente; il miscuglio di reazione (vol. fin.: 3 ml) era un Krebs-Ringer-fosfato che differiva da quello usato per lavare le cellule per una più alta concentrazione del tampone di fosfato sodico (0,01 M) e una più bassa concentrazione del NaCl (0,12 M).

La *glicolisi* era determinata manometricamente oppure dosando l'acido lattico con il metodo colorimetrico di Barker e Summerson [1]. Nelle prove di *glicolisi* e di *incorporazione* il miscuglio di reazione (vol. fin.: 3 ml) era un Krebs-Ringer-fosfato-bicarbonato della seguente composizione (conc. finali): NaCl 0,1 M; KCl $1,3 \times 10^{-2}$ M; $CaCl_2$ $1,83 \times 10^{-3}$ M; $MgSO_4$ $6,5 \times 10^{-4}$ M; tampone di fosfato sodico — pH 7,4 — 0,005 M; $NaHCO_3$ 0,025 M. Quando

indicato, il miscuglio comprendeva 42 μ mole di glucosio (conc. fin.: 0,015 M) e, nelle prove di incorporazione, 1,04 μ mole (= 5,7 μ C) di DL-leucina-1- C^{14} . L'isotopo era contenuto nell'appendice laterale e veniva travasato nella cavità principale al termine del periodo di ambientamento (10 min.). Quando si usava questo miscuglio il gas ambiente era 95 % O_2 — 5 % CO_2 per le prove in aerobiosi e 95 % N_2 — 5 % CO_2 per quelle in anaerobiosi. Nelle prove con inibitori questi venivano aggiunti all'inizio dell'incubazione, nelle concentrazioni indicate, al miscuglio contenuto nella cavità principale della vaschetta di Warburg.

Al termine dell'incubazione le proteine erano precipitate con acido tricloroacetico (conc. fin. 1 %), purificate come indicato da Rabinovitz, Olson e Greenberg [11] e contate, allo stato secco, con contatore a finestra di mica. In ogni caso si registrava un numero di impulsi tale da ridurre l'errore probabile al di sotto del 2 %.

Maggiori dettagli tecnici saranno dati nel lavoro *in extenso*.

RISULTATI.

A) *Incorporazione di leucina-1- C^{14} nelle proteine di cellule neoplastiche incubate in varie condizioni.*

L'incorporazione di leucina marcata nelle proteine di cellule neoplastiche *in vitro* è stata studiata in condizioni in cui l'energia era fornita dalla sola glicolisi (anaerobiosi con glucosio), dalla sola respirazione (aerobiosi senza substrato aggiunto) o da entrambi questi processi (aerobiosi con glucosio). In esperimenti preliminari si è potuto accertare che in anaerobiosi in assenza di glucosio, quando cioè non esistono vie energetiche funzionanti, l'incorporazione è nulla.

I risultati ottenuti in numerosi esperimenti eseguiti con diversi tipi di tumore dimostrano, nel loro insieme, che l'incorporazione in anaerobiosi in presenza di glucosio e in aerobiosi senza substrato aggiunto è praticamente la stessa. Ciò non significa però che i valori di incorporazione trovati nelle due condizioni erano identici; anzi, una certa differenza fra i valori relativi alle due condizioni è praticamente la regola, ma non è costantemente nello stesso senso; in altri termini, nelle diverse preparazioni cellulari anche di uno stesso tipo di tumore l'incorporazione può essere un po' maggiore ora nell'una ora nell'altra condizione. Al contrario, l'incorporazione in aerobiosi in presenza di glucosio è quasi sempre più alta che nelle altre due condizioni.

Nelle figg. 1, 2 e 3 sono riportati a mo' di esempio i risultati di esperimenti di incorporazione eseguiti rispettivamente con cellule di epatoma-ascite di Yoshida, di mieloma-ascite e di adenocarcinoma-ascite di Ehrlich. Gli esperimenti presentati come campione sono stati scelti in modo da dare un'idea delle variazioni d'incorporazione che si possono riscontrare con le varie preparazioni cellulari. I grafici riportati si riferiscono a tre tumori differenti, ma le oscillazioni osservate con diverse preparazioni dello stesso tumore erano dello stesso ordine di grandezza.

Nella fig. 1 sono riportati i risultati di un esperimento eseguito con cellule di epatoma-ascite di Yoshida. Si può notare che in questo caso l'incorporazione in presenza di glucosio, tanto in aerobiosi quanto in anaerobiosi, è significativamente maggiore dell'incorporazione in aerobiosi in assenza di glucosio.

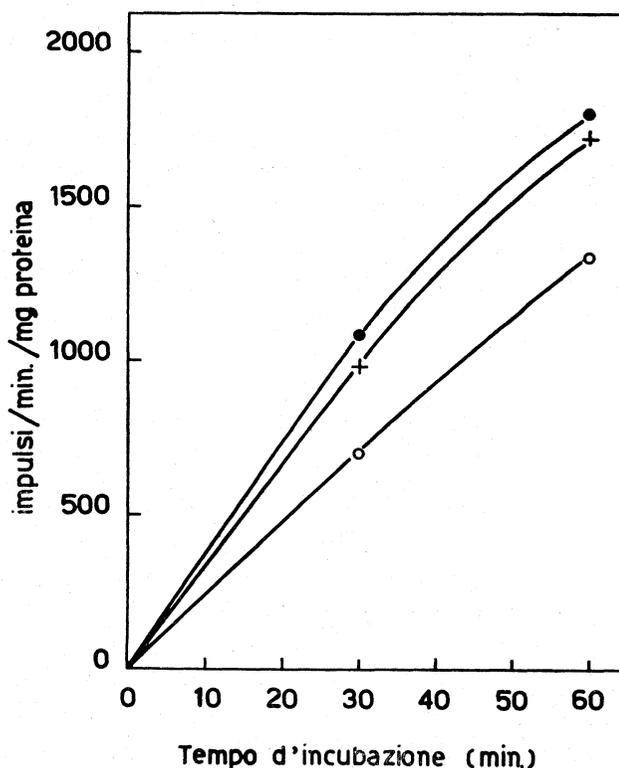


Fig. 1. - Incorporazione di leucina-1-C¹⁴ nelle proteine di cellule di epatoma-ascite di Yoshida incubate in varie condizioni.

○ — ○ aerobiosi; ● — ● aerobiosi con glucosio;
+ — + anaerobiosi con glucosio.

Nella fig. 2 sono presentati i risultati ottenuti con cellule di mieloma-ascite. In questo particolare esperimento l'incorporazione è pressoché uguale in tutte e tre le condizioni considerate.

La fig. 3 mostra i risultati di un esperimento eseguito con cellule di adenocarcinoma-ascite di Ehrlich. In questo caso l'incorporazione in aerobiosi in assenza di substrato aggiunto è sensibilmente maggiore di quella in anaerobiosi in presenza di glucosio. L'incorporazione in aerobiosi con glucosio è la più elevata.

I risultati dei pochi esperimenti eseguiti con sezioni di mieloma solido hanno dato risultati del tutto analoghi a quelli ottenuti con i tumori-ascite.

I valori di glicolisi (anaerobia e aerobia) e di respirazione ottenuti con l'epatoma-ascite di Yoshida e con il mieloma-ascite sono praticamente gli stessi. Come valori medi approssimati per questi due tumori possiamo dare i seguenti:

Respirazione endogena (in assenza di substrato aggiunto): $Q_{O_2} = 7$;

Glicolisi anaerobia: $Q_{CO_2}^{N_2} = 30$;

Glicolisi aerobia: $Q_M^{O_2} = 14$.

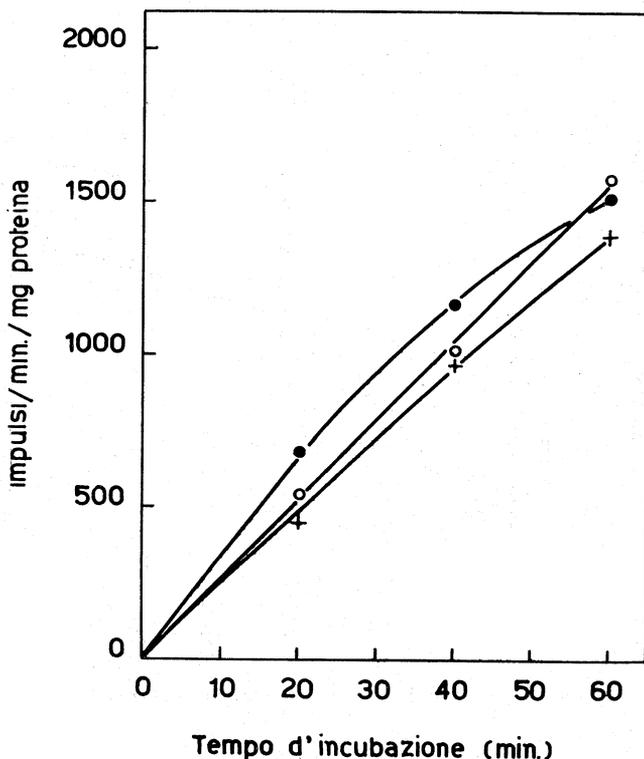


Fig. 2. - Incorporazione di leucina-1-C¹⁴ nelle proteine di cellule di mieloma-ascite incubate in varie condizioni

○ — ○ aerobiosi; ● — ● aerobiosi con glucosio;
+ — + anaerobiosi con glucosio.

Al contrario, i valori ottenuti con l'adenocarcinoma-ascite di Ehrlich sono tutti più elevati di quelli trovati con gli altri due tumori, come appare dalle seguenti cifre medie approssimate: $Q_{O_2} = 10$; $Q_{CO_2}^{N_2} = 40$; $Q_M^{O_2} = 21$.

In tutti e tre i tipi di tumore l'inibizione della respirazione provocata dall'aggiunta di glucosio 0,015 M (conc. finale), il cosiddetto « effetto Crabtree », oscillava fra il 30% e il 40%.

B) *Azione in vitro della DL-gliceraldeide sulla glicolisi anaerobia, sulla respirazione e sull'incorporazione di leucina-1-C¹⁴ nelle proteine.*

L'azione della DL-gliceraldeide sui processi fornitori di energia e sull'incorporazione di leucina-1-C¹⁴ nelle proteine è stata studiata nell'epatoma-ascite di Yoshida e nel mieloma-ascite con risultati pienamente concordanti. Nella Tabella I sono riassunti i risultati di un esperimento con epatoma-

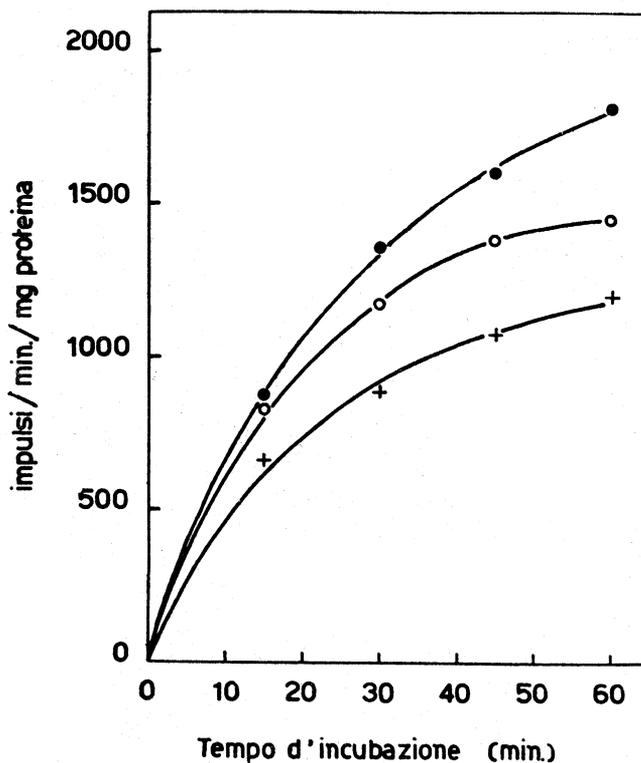


Fig. 3. - Incorporazione di leucina-1-C¹⁴ nelle proteine di cellule di adenocarcinoma-ascite di Ehrlich incubate in varie condizioni.

○—○ aerobiosi; ●—● aerobiosi con glucosio;
+—+ anaerobiosi con glucosio.

ascite di Yoshida. Come mostra la Tabella, la DL-gliceraldeide è stata saggiata in tre diverse concentrazioni: 0,001 M; 0,003 M e 0,01 M (conc. fin. nel miscuglio di reazioni completo). Per ragioni di praticità chiameremo queste tre concentrazioni rispettivamente bassa, media e alta.

Dall'esame della Tabella appare evidente che tutte e tre le concentrazioni saggiate inibiscono nettamente le glicolisi anaerobia e che l'inibizione aumenta con l'aumentare della concentrazione della DL-gliceraldeide. L'inibizione è infatti del 39, 74 e 88% rispettivamente con bassa, media e alta con-

centrazione di DL-gliceraldeide. L'incorporazione anaerobica di leucina- $1-C^{14}$ nelle proteine, misurata in parallelo alla glicolisi, risulta inibita in misura ancora maggiore della glicolisi; con le tre concentrazioni di DL-gliceraldeide provate, l'inibizione dell'incorporazione in queste condizioni è rispettivamente del 67, 99 e 100%. Evidentemente, allorché l'energia necessaria per l'incorporazione deriva esclusivamente dalla glicolisi, l'inibizione dell'incorporazione è praticamente totale, anche se il processo fornitore di energia è ancora operante per un 30%. Questa « dissociazione » della inibizione dei due processi è particolarmente evidente alla dose più bassa di gliceraldeide con la quale la glicolisi è inibita del 39% e l'incorporazione del 67%.

TABELLA I.

Azione in vitro della DL-gliceraldeide (GA) sulla glicolisi anaerobia, sulla respirazione (endogena) e sulla incorporazione di leucina- $1-C^{14}$ nelle proteine di epatoma-ascite di Yoshida ().*

Conc. fin. GA (mM)	0	1	3	10
<i>Anaerobiosi</i> (+ 15 mM Glucosio):				
Glicolisi ($Q_{CO_2}^{N_2}$)	28,5	17,5 (- 39%)	7,3 (- 74%)	3,3 (- 88%)
Incorporazione (imp/min/mg prot.)	1141	382 (- 67%)	16 (- 99%)	0 (- 100%)
<i>Aerobiosi:</i>				
Respirazione (Q_{O_2})	6,9	6,8 (- 1%)	—	5,3 (- 23%)
Incorporazione (imp/min/mg prot.)	992	1036 (+ 4%)	915 (- 8%)	181 (- 82%)
<i>Aerobiosi</i> (+ 15 mM Glucosio):				
Incorporazione (imp/min/mg prot.)	1124	1207 (+ 7%)	1055 (- 6%)	280 (- 75%)

(* Le cifre in basso, fra parentesi, indicano la variazione rispetto al relativo controllo senza DL-gliceraldeide.

Dalla stessa Tabella I risulta che, quando l'unica sorgente di energia è la respirazione (aerobiosi senza substrato aggiunto), anche la massima concentrazione di gliceraldeide inibisce relativamente poco (23%) il consumo di ossigeno, mentre riduce fortemente (82% d'inibizione) l'incorporazione.

La Tabella I mostra inoltre gli effetti della gliceraldeide sull'incorporazione di leucina- $1-C^{14}$ nelle proteine di cellule di epatoma-ascite incubate

in aerobiosi in presenza di glucosio. Si può notare che anche in queste condizioni la DL-gliceraldeide in alte concentrazioni inibisce fortemente (75 %) l'incorporazione; a bassa e media concentrazione invece essa non ha praticamente alcun effetto.

DISCUSSIONE.

Si è detto all'inizio che l'incorporazione di leucina nelle proteine è stata presa come indice di sintesi proteica. Ovviamente non ci nascondiamo i limiti e i possibili inconvenienti della tecnica dell'incorporazione, ma, almeno per ora, non si vede altra via per studiare in senso dinamico e quantitativo la sintesi di materiali protoplasmatici. Inoltre, per quanto non sia ancora definitivamente accertato se l'incorporazione di aminoacidi nelle proteine significa sintesi di proteine *de novo* o soltanto scambio di aminoacidi, numerosi dati di fatto e varie considerazioni depongono a favore della prima possibilità.

In contrasto con l'abbondante letteratura esistente sul metabolismo energetico della cellula neoplastica, ben poche sono le ricerche dedicate allo studio dei rapporti fra processi fornitori di energia e sintesi, e ancor meno gli studi di questo tipo riguardanti specificamente la sintesi proteica.

Farber, Kit e Greenberg [4] e Kit e Greenberg [5] hanno studiato l'incorporazione *in vitro* di aminoacidi radioattivi nelle proteine di linfosarcoma di Gardner. Essi hanno trovato che l'aggiunta di glucosio stimolava l'incorporazione della glicina nelle proteine di tale tumore sia in condizioni di aerobiosi che in condizioni di anaerobiosi. In aerobiosi in presenza di glucosio l'incorporazione era più che doppia che non in aerobiosi senza glucosio, e cinque volte maggiore di quella osservata in anaerobiosi con glucosio. Sulla base di questi e di altri risultati, ottenuti aggiungendo al mezzo d'incubazione diversi inibitori della glicolisi e della respirazione e vari substrati ossidabili, detti Autori concludono che nel linfosarcoma di Gardner l'incorporazione ottimale di aminoacidi radioattivi nelle proteine richiede sia la respirazione che la glicolisi. Anche Blecher e White [2] hanno studiato gli effetti dell'aggiunta di glucosio sull'incorporazione aerobica e anaerobica di aminoacidi marcati nelle proteine di linfociti del timo e di cellule di linfosarcoma di Murphy-Sturm. Nei linfociti del timo l'incorporazione aerobica, sia in presenza che in assenza di glucosio, era maggiore dell'incorporazione anaerobica (con glucosio) e l'incorporazione massima si aveva in aerobiosi con glucosio. Al contrario, usando cellule di linfosarcoma di Murphy-Sturm, questi Autori hanno trovato che l'incorporazione massima si aveva in anaerobiosi con glucosio ed era circa tre volte maggiore di quella in aerobiosi con glucosio. Rabinovitz, Olson e Greenberg [12] hanno osservato che nelle cellule di adenocarcinoma-ascite di Ehrlich incubate in anaerobiosi in presenza di glucosio l'incorporazione di aminoacidi nelle proteine era pari al 60-70 % dell'incorporazione in aerobiosi senza substrato aggiunto. Secondo questi Autori, tuttavia, tale differenza non significa che la glicolisi è meno efficiente della respirazione nel sostenere l'incorporazione di aminoacidi nelle proteine, ma è dovuta ad una poco felice condizione sperimentale nelle prove in anaerobiosi. Noi stessi, in esperimenti non ancora pubblicati, abbiamo potuto stabilire con certezza che tale interpretazione di Rabinovitz e coll. è perfettamente corretta. Piuttosto di recente Quastel e Bickis [10] hanno pubblicato i risultati di uno studio sulla incorporazione di glicina marcata nelle proteine di cellule neoplastiche, tessuti embrionali e tessuti normali adulti. Essi hanno osservato che nelle cellule neoplastiche l'incorporazione era praticamente la stessa in aerobiosi con glucosio, in aerobiosi senza substrato aggiunto e in anaerobiosi con glucosio. Dal consumo di ossigeno e dal valore della glicolisi questi Autori risalgono alla quantità di ATP verosimilmente prodotto per via respiratoria e per via glicolitica e, mettendo in relazione il valore d'incorporazione trovato con l'ATP prodotto, cercano di stabilire se energia glicolitica e energia respiratoria sono diversamente efficienti nel sostenere l'incorporazione. Sulla base di questi calcoli essi concludono che energia glicolitica e energia respiratoria sono ugualmente efficienti

nel sostenere l'incorporazione di aminoacidi nelle proteine; casomai, è l'energia glicolitica che risulterebbe un pò più efficiente di quella respiratoria.

In una serie di prove che sono state oggetto di una Nota preliminare [3], noi stessi abbiamo studiato l'azione di un ben noto inibitore glicolitico, l'acido monoiodoacetico, sull'incorporazione di aminoacidi marcati nelle proteine di cellule di epatoma-ascite di Yoshida incubate in aerobiosi con glucosio, con o senza aggiunta di piruvato. Si è visto che in queste condizioni l'acido monoiodoacetico in concentrazione $2,5 \times 10^{-4}$ M inibiva fortemente l'incorporazione senza modificare sensibilmente la respirazione. Questo risultato deponeva a favore dell'ipotesi secondo la quale il processo glicolitico rappresenterebbe la principale sorgente di energia per la sintesi proteica della cellula neoplastica. Ma già in tale pubblicazione avanzavamo riserve e facevamo notare la difficoltà di interpretare i risultati di esperimenti con veleni enzimatici, che non sono mai strettamente specifici.

Da questi brevi cenni bibliografici risulta chiaro che i risultati dei vari Autori indicano concordemente che nella cellula neoplastica l'incorporazione di aminoacidi nelle proteine può essere sostenuta, dal punto di vista energetico, sia dalla respirazione sia dalla glicolisi. Tuttavia, circa l'aspetto quantitativo del fenomeno, cioè l'efficienza relativa dei due processi (glicolisi e respirazione) nel sostenere l'incorporazione di aminoacidi nelle proteine di cellule neoplastiche, i dati in letteratura appaiono notevolmente discordanti. E, mentre in certi casi si può pensare ad un diverso comportamento dei vari tipi di tumore, in altri casi la spiegazione deve essere necessariamente diversa. È verosimile che, perlomeno in questi ultimi casi, la diversità dei risultati dipenda dalle differenti condizioni sperimentali.

Agli effetti di questo problema i risultati riferiti in questa Nota appaiono di particolare interesse. Come si è detto nell'espone i risultati, la conclusione che si può trarre dai nostri esperimenti è che in tutti i tipi di tumori studiati l'incorporazione degli aminoacidi nelle proteine può essere sostenuta indifferentemente dalla respirazione e dalla glicolisi. È opportuno sottolineare che questa conclusione è stata raggiunta dopo un numero notevole di esperimenti. Può essere utile riferire che, se ci fossimo basati sui primissimi esperimenti, tutti concordanti, le nostre conclusioni sarebbero alquanto diverse da quelle presenti. C'è da chiedersi se qualcosa di analogo non sia la causa di certe discordanze di risultati. Nelle pagine precedenti, volutamente, si è messo l'accento sul fatto che i risultati possono variare sensibilmente da una preparazione cellulare all'altra anche di uno stesso tumore. Almeno per il momento non è possibile identificare le cause di questa relativa variabilità dei risultati, ma è verosimile che essa dipenda da variabili di difficile controllo, come ad esempio lo stato dei mitocondri, la concentrazione di substrati endogeni ecc.

Le varietà di tumore impiegate in questa ricerca sono troppo poche per consentire di escludere o affermare la possibilità che, nei diversi tipi di tumore, possa essere diversa l'efficienza relativa della glicolisi e della respirazione nel sostenere l'incorporazione di aminoacidi nelle proteine. Sta di fatto però che tumori decisamente diversi (epatoma-ascite e mieloma-ascite del ratto; adenocarcinoma-ascite di Ehrlich del topo) davano risultati sovrapponibili e presentavano la stessa variabilità.

I risultati degli esperimenti in cui si è studiata l'azione della DL-gliceraldeide richiedono qualche breve commento. È chiaro che per lo studio dei rapporti fra metabolismo energetico e processi di sintesi sarebbe notevolmente vantaggioso poter disporre di sostanze che inibiscono specificamente determinati processi o reazioni. Un composto interessante, ai nostri fini, è appunto la gliceraldeide, la quale, come risulta dalle vecchie osservazioni di Mendel [7], è capace di inibire la glicolisi a concentrazioni che non modificano apprezzabilmente la respirazione. Non è il caso di passare in rassegna, sia pure per sommi capi, tutta la bibliografia relativa alla gliceraldeide come inibitore della glicolisi. Basterà ricordare che l'attività inibitrice della DL-gliceraldeide è dovuta unicamente alla forma L mentre l'isomero D è completamente inattivo [9]. Il diverso comportamento dei due stereoisomeri della gliceraldeide dipende dai due diversi prodotti che si formano in seguito alla condensazione aldolica di tali stereoisomeri con il diidrossiacetonfosfato [8]. Infatti, mentre a partire dalla D-gliceraldeide si forma un composto fisiologico, il D-fruttosio-1-fosfato, dalla L-gliceraldeide si forma L-sorbose-1-fosfato, il quale è il vero inibitore e agisce bloccando l'esochinasi [6].

Quanto all'inibizione da parte della DL-gliceraldeide dell'incorporazione di aminoacidi nelle proteine di tumori-ascite, è difficile per il momento trarre conclusioni che non siano azzardate. Dato che la DL-gliceraldeide è un forte inibitore della glicolisi, non è difficile capire come essa inibisca l'incorporazione allorché la glicolisi è l'unica sorgente di energia (anaerobiosi con glucosio). Anche in queste condizioni, tuttavia, inibizione dell'incorporazione e inibizione della glicolisi, studiate in funzione della concentrazione di DL-gliceraldeide, non vanno di pari passo, come sarebbe da aspettarsi se l'azione della gliceraldeide sull'incorporazione fosse solo indiretta, cioè dovuta all'inibizione della glicolisi. Ciò fa pensare che la DL-gliceraldeide possa agire sull'incorporazione anche per altra via e cioè direttamente. A favore di questa possibilità sta il fatto che la DL-gliceraldeide inibisce l'incorporazione anche in aerobiosi in assenza di glucosio allorché l'energia è fornita soltanto dalla respirazione, la quale risulta solo leggermente inibita. Analogamente si può ragionare per quanto riguarda l'inibizione dell'incorporazione indotta dalla DL-gliceraldeide in aerobiosi in presenza di glucosio.

Sono in corso esperimenti intesi a chiarire il meccanismo biochimico della inibizione della incorporazione aerobia da parte della gliceraldeide e, allo stesso tempo, si stanno provando composti analoghi alla gliceraldeide.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] J. B. BARKER and W. H. SUMMERSON, « J. Biol. Chem. », 138, 535 (1941).
- [2] M. BLECHER and A. WHITE, « J. Biol. Chem. », 233, 1161 (1958).
- [3] E. CIARANFI e A. FONNESU, « Arch. De Vecchi Anat. Pat. », 32, 359 (1960).
- [4] E. FARBER, S. KIT and D. M. GREENBERG, « Cancer Research », 11, 490 (1951).
- [5] S. KIT and D. M. GREENBERG, « Cancer Research », 11, 495 (1951).
- [6] H. A. LARDY, V. D. WIEBELHAUS and K. M. MANN, « J. Biol. Chem. », 187, 325 (1950).
- [7] B. MENDEL, « Klin. Wschr. », 8, 169 (1929).
- [8] O. MEYERHOF, K. LOHMANN und P. SCHUSTER, « Biochem. Z. », 286, 319 (1936).
- [9] J. NEEDHAM and H. LEHMANN, « Biochem. J. », 31, 1210 (1937).
- [10] J. H. QUASTEL and I. J. BICKIS, « Nature », 183, 281 (1959).
- [11] M. RABINOVITZ, M. E. OLSON and D. M. GREENBERG, « J. Biol. Chem. », 210, 837 (1954).
- [12] M. RABINOVITZ, M. E. OLSON and D. M. GREENBERG, « J. Biol. Chem. », 213, 1 (1955).
- [13] O. WARBURG, *Über den Stoffwechsel der Tumoren*, Springer, Berlin 1926.
- [14] O. WARBURG, « Science », 123, 309 (1956).
- [15] O. WARBURG, « Science », 124, 269 (1956).