
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

MAURO BOLOGNA

Cancro mammario: ricerche a livello cellulare

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 70 (1981), n.6, p. 289–296.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1981_8_70_6_289_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/>

MAURO BOLOGNA (*)

CANCRO MAMMARIO: RICERCHE A LIVELLO CELLULARE (**).

I tumori della mammella sono tra le forme neoplastiche più diffuse: essi rappresentano infatti non solo la più frequente forma cancerosa nella donna ma anche quella responsabile della più alta mortalità. Negli U.S.A. si riscontrano oltre centomila nuovi casi di cancro mammario ogni anno con oltre trentamila decessi [1]; in Italia vengono diagnosticati circa ventimila nuovi casi di carcinoma mammario ogni anno.

Cifre siffatte non hanno bisogno di commenti: fin troppo chiara è l'imponenza del problema. Da sottolineare è invece il fatto che il sesso maschile non sia del tutto indenne dal carcinoma mammario: sebbene il numero dei casi sia estremamente più basso rispetto al sesso femminile, il tasso di mortalità relativo è ugualmente elevato per la notevole malignità della forma morbosa e per la tardività con cui la diagnosi spesso avviene.

L'epidemiologia del carcinoma mammario pone in evidenza alcuni dati interessanti, come ad esempio l'incidenza nettamente più elevata in età posteriore alla menopausa e le notevoli differenze di frequenza in diverse aree geografiche.

L'Inghilterra e l'Olanda, infatti, presentano i più alti tassi di mortalità annua da carcinoma mammario (dati 1974-75) con 27.7 e 26.6 decessi per centomila abitanti rispettivamente e sono seguite da vicino da molti altri paesi industrializzati quali gli U.S.A. (21.1) ed i paesi dell'Europa occidentale in genere, inclusa l'Italia (18.4); fanno riscontrare invece tassi di mortalità nettamente più bassi il Giappone (4.8), le Filippine (5.7), il Messico (5.7) ed altri paesi del centro e del sud America e dell'Africa [1].

Negli U.S.A. le donne bianche sono più colpite delle negre (72 contro 54 per centomila) ma tra queste ultime la mortalità è più elevata, probabilmente a causa di una assistenza medica meno tempestiva [2]. Se però si considera l'incidenza di carcinoma mammario in donne giapponesi che vivono negli U.S.A., si costata che essa è superiore a quella riscontrata in Giappone e tende addirittura a raggiungere quella delle donne statunitensi [3].

(*) Assistente presso la Cattedra di Patologia Generale dell'Istituto Universitario di Medicina e Chirurgia - L'Aquila.

(**) Relazione predisposta dall'Autore, vincitore della borsa di studio « Angela Bossolasco », in conformità con quanto stabilito dal bando di concorso della borsa stessa.

Altri rilevamenti epidemiologici svelano una maggiore incidenza del cancro mammario in donne che non contraggono gravidanze, che ne contraggono poche e magari solo tardi nella loro vita o che allattino poco. Pure più soggette sono donne con stretti rapporti di parentela (madri, sorelle) con persone colpite dalla malattia [3, 4]. È stato rilevato che una donna che abbia il suo primo figlio oltre il trentesimo anno di età ha un rischio di ammalare di carcinoma mammario uguale a quello di una nullipara e doppio rispetto ad una donna che abbia partorito prima dei venti anni di età.

Molti di questi dati sono tuttora spiegabili soltanto in termini speculativi, ipotizzando l'intervento di non meglio identificati fattori genetici o ambientali o magari adducendo la costatazione della consuetudine delle donne giapponesi a sposarsi ed aver figli in media assai prima delle donne « occidentali ». Più scientificamente convincenti, sebbene i risultati non siano affatto omogenei, sono stati invece numerosi rilevamenti dei livelli ormonali (estrogeni, prolattina) nelle popolazioni o nei gruppi a diversa incidenza: alti tassi di tali ormoni possono predisporre all'insorgenza del tumore. Questo dato può contribuire a spiegare la familiarità della malattia o il perchè questo tumore colpisca molto di più i soggetti a menopausa tardiva, in cui gli stimoli ormonali hanno operato per lungo tempo, e sia invece molto raro in donne ovariectomizzate, ma solo con difficoltà può essere ricondotto a spiegare l'effetto protettivo delle gravidanze e dell'allattamento.

La terapia di elezione del carcinoma mammario resta quella chirurgica, ma anche con l'intervento più radicale, con chemoterapia collaterale e la più accurata sorveglianza postoperatoria, la sopravvivenza a cinque anni dalla diagnosi e dall'intervento non si discosta mai molto dal 50 % dei casi [5].

Per avere un quadro completo del problema sanitario e sociale del tumore mammario, assieme a quanto sopra ricordato non bisogna dimenticare di considerare l'impatto psicologico e materiale della mutilazione personale che l'intervento di mastectomia necessariamente provoca e che non è sempre ovviabile dalla chirurgia plastica.

Su questa patologia, la cui importanza e imponenza è dunque di primissimo piano, sono stati svolti innumerevoli studi clinici, ma tuttora mancano una gran parte di dati cellulari e biochimici che possano consentire una comprensione biologica completa del problema e da questa approcci nuovi ed auspicabilmente risolutivi per la diagnosi precoce e la terapia dei tumori mammari.

La trasformazione neoplastica della cellula implica la attivazione o derepressione di un gene trasformante che codifica per una proteina trasformante responsabile dei cambiamenti biochimici e morfologici conseguenti. Che il gene trasformante appartenga ad un virus che abbia infettato la cellula recentemente o che esso sia un provirus integrato nel genoma cellulare da molte generazioni o ancora, che esso sia un gene cellulare proprio, normalmente represso, riveste una importanza senza dubbio notevole, ma ovviamente non per lo studio dei processi cellulari che conducono all'attuarsi dello stato trasformato. Il punto chiave sembrerebbe essere la comprensione dei fenomeni che portano alla attivazione di tale gene e delle modificazioni biochimiche della cellula che ne conseguono e non la spiegazione del come mai tale gene esista all'interno delle cellule normali.

Ma a monte di questo problema, se si vuol procedere coerentemente e coscienti dei limiti della nostra conoscenza, sta la comprensione dei fenomeni del differenziamento cellulare normale, ovvero di quella ordinata ed armonica attivazione e repressione genica che porta una cellula ad una completa maturazione morfologica e funzionale caratteristica del tessuto cui essa appartiene. Solo quando sarà decifrato il fenomeno del differenziamento nei suoi aspetti di messaggi biochimici intercellulari che determinano il controllo delle caratteristiche di riproduzione, di orientamento e di maturazione funzionale tra cellule vicine si potrà presumere di essere pronti a capire come, in questo ordinato ed organico programma maturativo, possa inserirsi un elemento perturbatore quale quello della trasformazione neoplastica che risulta essenzialmente in un blocco dei processi di differenziamento, in una stimolazione riproduttiva abnorme ed in una perdita dei normali rapporti intercellulari che si traduce in capacità di invasione e di metastatizzazione.

Mosso da questa convinzione basilare, il prof. Renato Dulbecco si pose a partire dal 1977 allo studio del problema tumori mammari, riunendo un gruppo di ricerca, di cui chi scrive ha avuto l'opportunità e l'onore di far parte, presso il Salk Institute di San Diego, California, U.S.A.

L'obiettivo è quello di dare un contributo alla soluzione del problema studiando il differenziamento cellulare di cellule mammarie nel ratto, specie animale per la quale, come per l'uomo, non esiste una evidenza di trasmissione virale del carcinoma mammario (« milk factor » nel topo [6]) ed altre analogie di ormonodipendenza tumorale. Come materiale biologico di ricerca sono state scelte delle linee cellulari isolate da Dorothy Bennett e collaboratori [7] nel 1977 presso l'Imperial Cancer Research Fund di Londra, a partire da un tumore mammario indotto nel ratto con dimetilbenzantracene per os. Queste linee cellulari, denominate Rama (rat mammary), hanno caratteristiche morfologiche epiteliali e si ritiene che derivino dagli apici germinativi dei dotti mammari. Esse sono capaci di crescere in coltura in terreno liquido con formazione di uno strato monocellulare su supporto solido ed alcune di esse presentano chiari fenomeni di differenziamento.

Una linea cellulare epiteliale a morfologia poligonale, Rama 25, dopo il raggiungimento della confluenza nella piastra di coltura dà vita con una certa frequenza anche a cellule fusiformi: queste, denominate Rama 29, generano, a differenza delle Rama 25, sempre cellule uguali a se stesse, ovvero con morfologia allungata e caratteristiche costanti.

Si tratta cioè di un chiaro fenomeno di differenziamento irreversibile, per cui a partire da una popolazione di cellule con una serie chiara di proprietà morfologiche, biochimiche e funzionali si ottiene una nuova popolazione cellulare con proprietà stabilmente diverse. Tale fenomeno è parso di notevole interesse, tanto da meritare un approfondimento sia a livello cellulare che biochimico ed ultrastrutturale.

Le cellule Rama 25 ed una linea da esse derivata, LA 7, sono capaci di formare in vitro tre tipi di strutture multicellulari, anche esse indici di differenziamento: pertanto in questo sistema le Rama 25 sembrerebbero essere delle cellule stami-

nali epiteliali della ghiandola mammaria, ovvero corrispondere ai bottoni terminali germinativi dei dotti mammari in via di sviluppo. Le strutture multicellulari comprendono *cupole* (« domes » o « hemicysts ») formate da 5 a 20 cellule adiacenti che si distaccano dal fondo della piastra di coltura a creare una sorta di bolla emisferica ripiena di liquido, *protuberanze* o proiezioni (« lumps » o « projections ») realizzate dalla crescita in un cilindro solido di cellule con 3-5 elementi per base e 10-20 per altezza, protendenti in alto perpendicolarmente allo strato basale di cellule e *creste* (« ridges ») ramificate, formate da ispessimenti dello strato basale di cellule a dare cordoni ramificanti, spessi 3-4 cellule e giacenti sullo strato basale [8].

Osservazioni sistematiche delle colture hanno permesso di stabilire che le cupole si formano a partire da un piccolo gruppo di cellule contigue (forse talora anche da una singola cellula) che si allargano, assottigliano il citoplasma ed iniziano a pompare liquido dalla superficie a contatto col terreno di coltura, dotata di microvilli, a quella sottostante, distaccandosi dal fondo della capsula di Petri e formando una bolla rilevata, grazie anche alle giunzioni intercellulari strette - « tight junctions » o zonulae occludentes - da cui le cellule della cupola risultano legate tra loro, all'esame al microscopio elettronico. Il contenuto delle cupole è formato principalmente da acqua e sali, è elettricamente isolato dal terreno di coltura soprastante e non sembrerebbe comprendere proteine caratteristiche di una secrezione lattea (il livello di α -lattoalbumina è inferiore al limite di sensibilità del metodo di 3 ng per mg di proteine totali), sicché la somiglianza puramente morfologica di queste cupole con gli acini secernenti della ghiandola mammaria non è confortata da una analogia funzionale in vitro. Le cupole sembrerebbero invece, dato che anche altre linee cellulari epiteliali (per esempio di rene) ne formano di analoghe, l'espressione della capacità delle cellule di riassorbire liquido da un secreto, come avviene ad esempio nei tubuli del rene: nella ghiandola mammaria queste strutture potrebbero avere la funzione di concentrare il secreto latteo a livello dei dotti per riassorbimento di acqua e sali dal materiale più diluito, elaborato a monte dagli acini secernenti.

Le colture giovani di cellule LA 7 non presentano altro che uno strato monocellulare continuo ed omogeneo; nel giro di poche ore cominciano a comparire le cupole che aumentano progressivamente di numero e che all'inizio si gonfiano e si collassano, aparendo e scomparendo più volte, ma poi diventano stabili, specie quando la coltura si arricchisce anche di cellule fusiformi che tendono a disporsi attorno alle cupole e talora anche al di sotto.

Le creste ramificate sono strutture che si formano spesso nelle colture dopo diversi giorni dalla confluenza e la loro morfologia non può non far pensare immediatamente all'albero duttale della ghiandola mammaria [8]: è noto d'altra parte che la formazione embriologica dei dotti ha luogo a partire dai bottoni germinativi terminali con lo sviluppo di cilindri cellulari che sviluppano presto la cavità interna. È probabile che queste creste siano un abbozzo della formazione dei dotti, anche per i rapporti che esse talvolta contraggono con le cupole.

Le protuberanze, infine, a differenza delle creste crescono in senso perpendicolare allo strato basale delle cellule e finiscono col formare dei cilindri

solidi di cellule che, diciamo, si ergono a mò di torri. Poco tempo dopo la comparsa delle protuberanze, le colture cominciano ad arricchirsi di cellule fusiformi, capaci di crescere tra le cellule poligonali e talvolta anche sotto di esse. La comparsa delle cellule fusiformi (Rama 29) è uno dei fenomeni di differenziamento più interessanti riscontrati in questo sistema sperimentale. L'ipotesi che un fenomeno differenziativo prenda le mosse non a partire da singole cellule ma da aggregati cellulari sembra confermata dagli esperimenti eseguiti sulle protuberanze. Prelevando ripetutamente con una micropipetta singole protuberanze da colture di cellule poligonali o, come controllo, gruppi di cellule poligonali di colture giovani, non ancora producenti protuberanze, è stato possibile dimostrare per clonazione di questi campioni (ovvero disperdendoli in singole cellule poste poi ciascuna in una coltura separata a generare colonie - cloni - tutte derivate da un'unica cellula progenitrice) che le cellule fusiformi vengono generate a partire dalle protuberanze: la frequenza di cloni a morfologia allungata ottenuti per clonazione di protuberanze è stata addirittura di 380 volte maggiore del controllo. Ciò prova che è nel microambiente dell'aggregato cellulare che qui chiamiamo protuberanza che si creano le condizioni necessarie per l'indirizzo differenziativo irreversibile verso la formazione delle cellule fusiformi.

Questo fenomeno è stato da noi studiato anche con un diverso approccio che tende a dimostrare alla superficie cellulare con metodi immunologici la presenza di molecole diverse in cellule a diversi stadi maturativi. La presenza di marcatori chimici di superficie che fossero specifici per un particolare stato differenziativo della cellula sarebbe di grande interesse perché da un lato permetterebbe di riconoscere, con tecniche immuno-istologiche, nel contesto di un tessuto le cellule nelle loro diverse fasi maturative biochimiche non ancora evidenti morfologicamente e dall'altro fornirebbe un appiglio per tentare di influenzare dall'esterno il processo differenziativo: capacità che potrebbe permettere un approccio alla terapia dei tumori mediante la stimolazione esogena del processo differenziativo normale nelle cellule trasformate.

Le cellule fusiformi Rama 29 sono risultate possedere in superficie una glicoproteina nota come antigene theta o Thy-1 che è pure presente sui linfociti T maturi di varie specie animali, sulle cellule nervose, su fibroblasti di topo e su mioblasti di topo e di ratto. Questa molecola, assente invece sulle cellule Rama 25, sembrerebbe legata al differenziamento cellulare anche in altri organi: per i timociti, ad esempio, è noto che essa è assente sulle forme immature o pre-timiche ma è presente sulle forme mature dei linfociti T nel timo e nel sangue periferico; per le cellule muscolari viceversa è stato dimostrato nel ratto che l'antigene Thy-1 è presente sulle forme immature mioblastiche ma scompare nelle cellule differenziate in modo terminale [9].

Le cellule Rama 25 non possiedono tale molecola in superficie, mentre le cellule fusiformi da esse derivate sì, come risulta da esperimenti di immunofluorescenza indiretta [10]. Ma se le cellule vengono fissate con acetone a 0 °C (trattamento che rende la membrana cellulare permeabile a molecole delle dimensioni degli anticorpi) le Rama 25 mostrano di possedere l'antigene Thy-1 nel citoplasma senza esprimerlo in superficie. Ancor più interessante è il dato rilevato

in colture ancora prive di cellule fusiformi ma con presenza di protuberanze. Queste ultime strutture presentano in prossimità dell'apice alcune cellule Thy-1 positive, mentre la base delle protuberanze stesse e tutto il resto della coltura sono assolutamente negativi [10]. Questo risultato conferma che la sede del differenziamento da cellule poligonali (Thy-1 negative) a cellule fusiformi (Thy-1 positive) sono proprio le protuberanze, come avevano indicato gli esperimenti di clonazione.

La ricerca delle cellule Thy-1 positive in vivo, in ghiandole mammarie di ratto al termine della gestazione (quando cioè le strutture dutto-alveolari sono quasi completamente sviluppate) ha permesso di rilevare che le uniche cellule che presentano questo antigene sono disposte alla periferia degli alveoli e dei dotti e possiedono dei prolungamenti che sembrano formare una rete attorno a tali strutture. Questi dati sono stati ottenuti con una metodica recente detta immunoenzimatica perché la marcatura dell'anticorpo è ottenuta mediante l'accoppiamento con una molecola di un enzima: il prodotto di reazione (colorato) che si forma dopo l'aggiunta del substrato per l'enzima permette di localizzare alla luce visibile la sede dove è presente l'antigene, il che consente di eseguire sui preparati le colorazioni istologiche tradizionali, cosa impossibile con l'immunofluorescenza [11].

Le cellule Thy-1 positive nella ghiandola mammaria di ratto occupano la sede anatomica caratteristica delle cellule mioepiteliali [12] e la positività delle cellule Rama 29 per la stessa molecola, la loro forma allungata ed il loro contenuto di organizzate fibre miosiniche autorizza ad ipotizzare che esse siano l'equivalente di cellule mioepiteliali.

Da una diversa serie di esperimenti è emerso che i fenomeni differenziativi costatati nel sistema Rama possono essere influenzati dall'esterno con l'aggiunta di ormoni o altre sostanze chimiche nel terreno di coltura. La formazione di cupole è il fenomeno che più si è prestato a questo tipo di studi, vuoi perché esso è facilmente quantizzabile numericamente al microscopio ottico a contrasto di fase, vuoi per la sua veloce riproducibilità. Fattori come l'idrocortisone, l'insulina, il progesterone, il growth hormone, l'epidermal growth factor e la prolattina determinano un aumento della velocità di riproduzione delle cellule Rama 25 o LA 7, mentre gli stessi fattori non hanno influenza sulla crescita delle cellule Rama 29. La comparsa delle cupole risulta invece stimolata dall'idrocortisone e inibita dall'insulina, nonché fortemente stimolata dal dimetilsulfossido (molecola nota per la sua capacità di indurre il differenziamento eritroide in cellule leucemiche proeritroidi [13]) e da fattori contenuti in terreno di coltura che sia stato in contatto con una coltura di cellule formanti abbondanti cupole (terreno condizionato) [14]. Quest'ultimo fenomeno apre un discorso fondamentale nello studio del differenziamento e del controllo della crescita cellulare: è evidente che nel microambiente tissutale esistono fattori prodotti dalle cellule stesse che controllano la riproduzione ed il differenziamento delle cellule vicine e che sono diversi dai fattori ormonali di crescita circolanti [15].

Molecole lipidiche sono sintetizzate dalle cellule mammarie, sicché è parso logico studiare l'eventuale attività di lipidi sulla formazione di cupole in vitro.

Nel saggiare tutta la serie degli acidi grassi saturi con catene fino a 24 atomi di carbonio è emerso che alcuni di essi, in particolare l'acido butirrico e l'acido miristico, sono dei potenti induttori di cupole in coltura [16]. Eseguendo un trattamento con etere sul terreno condizionato si riesce ad estrarne i fattori inducenti le cupole: questo fa pensare che siano proprio delle molecole lipidiche a svolgere in vivo la funzione di mediatori chimici intercellulari in questo sistema. Anche altre molecole dotate di una catena laterale a 14 atomi di carbonio sono risultate induttrici per le cupole (ad esempio la miristoil-lisolecitina) mentre un altro composto pure dotato della stessa caratteristica, il tetradecanoil-13-forbol-12-acetato (TPA), ma noto per la sua attività di promotore tumorale nella carcinogenesi cutanea [17] e per la sua attività di inibizione o stimolazione del differenziamento cellulare in numerosi altri sistemi [18, 19], ha avuto una azione inibitrice.

Dal rilevamento di questi effetti sembrerebbe che queste molecole possano riconoscere tramite la loro porzione alchilica un recettore specifico di membrana. (la dimostrazione della cui presenza è attualmente in corso nel laboratorio del Prof. Dulbecco) sulle cellule mammarie di ratto: l'occupazione del recettore determinerebbe un diverso indirizzo differenziativo dipendente dai diversi gruppi chimici presenti nella rimanente porzione della molecola.

Con questa scoperta probabilmente si è centrato un elemento chiave per proseguire lo studio del differenziamento cellulare e forse anche per tentarne un controllo dall'esterno.

Un altro importante approccio che viene tentato è quello della produzione di anticorpi monoclonali [20] diretti potenzialmente contro tutti i determinanti antigenici superficiali delle cellule Rama: alcuni di questi anticorpi, nella cui laboriosa preparazione è occupato il Dr. Michael Unger nel gruppo del Prof. Dulbecco, potrebbero risultare degli strumenti indispensabili da un lato per uno studio in vivo di cellule equivalenti alle cellule Rama, da un altro per una possibile diagnosi istologica precoce dei tumori mammari, ove venisse riconosciuta una molecola superficiale specifica di un determinato tumore ed assente invece sulle corrispondenti cellule normali, ed infine per un sia pur ancor remoto approccio terapeutico al problema, visto che l'anticorpo potrebbe interagire con molecole superficiali coinvolte nei fenomeni differenziativi influenzando proprio questi ultimi in senso non tumorale.

Quanto qui esposto non è stata che una rassegna sugli obiettivi, sui metodi e sui risultati delle ricerche sui tumori mammari cui chi scrive ha avuto l'opportunità di collaborare grazie alla borsa di studio « Angela Bossolasco » conferita dalla Accademia Nazionale dei Lincei nel 1979; per i dettagli procedurali e per i risultati numerici completi si rinvia alle referenze bibliografiche numero 8, 10 e 16 qui di seguito riportate.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Cancer statistics 1980, CA, vol. 30 n. 1, 23-38, 1980.
- [2] WILLIAMS R. A. (1975) - «Textbook of black related diseases», Mc Graw-Hill Co., New York, p. 746.
- [3] MACMAHON B., COLE P. and BROWN J. (1973) - «J. Natl. Cancer Inst.», 50, 21-42.
- [4] ROBBINS S. L. (1970) - «Patologia, Piccin», Padova.
- [5] HENDERSON I. C., CANELLOS G. P. (1980) - «N. Engl. J. Med.», 302, 17-30.
- [6] LYONS M. J. and MOORE D. H. (1965) - «J. Natl. Cancer Inst.», 35, 549-565.
- [7] BENNETT D. C. PEACHEY L. A., DURBIN H. and RUDLAND P. S. (1978) - Cell, 15, 283-298.
- [8] DULBECCO R., BOLOGNA M. and UNGER M. (1979) - «Proc. Natl. Acad. Sci.», 76, 1256-1260.
- [9] LESLEY J. F. and LENNON V. A. (1977) - «Nature» (London), 268, 163-165.
- [10] DULBECCO R., BOLOGNA M. and UNGER M. (1979) - «Proc. Natl. Acad. Sci.», 76, 1848-1852.
- [11] NAKANE P. K. and PIERCE G. B. (1967) - «J. Cell. Biol.», 33, 307-318.
- [12] SARKAR K., KALLENBACH E. (1966) - «Am. J. Pathol.», 49, 301-307.
- [13] FRIEND C., SCHER M., HOLLAND J. G. and SATO T. (1971) - «Proc. Natl. Acad. Sci.», 68, 378-382.
- [14] DULBECCO R., OKADA S. (1980) - «Proc. R. Soc.», London Ser. B, in stampa.
- [15] HOLLEY R. W. (1975) - «Nature» (London), 258, 487-490.
- [16] DULBECCO R., BOLOGNA M. and UNGER M. (1980) - «Proc. Natl. Acad. Sci.», 77, 1551-1555.
- [17] BERENBLUM I. (1975) - in Cancer, 1, Tumor promotion ed. Becker E. F., Plenum, New York, pp. 323-324.
- [18] YAMASAKI H., FIBACH E., NUDEL U., WEISTEIN I. B., RIFKIND, R. A. and MARKS P. A. (1977) - «Proc. Natl. Acad. Sci.», 74, 3451-3455.
- [19] ROVERA G., SANTOLI D. and DAMSKY C. (1979) - «Proc. Natl. Acad. Sci.», 76, 2779-2783.
- [20] KÖHLER G. and MILSTEIN C. (1975) - «Nature» (London), 256, 495-497.