

TWIN STUDIES IN METABOLISM AND ENDOCRINOLOGY

Centro Studi di Genetica Umana
dell'Università di Milano
(Direttore: Prof. L. Gianferrari)

Istituto di Genetica Medica e Gemellologia
Gregorio Mendel, Roma
(Direttore: Prof. L. Gedda)

Ricerca Gemellare sul Polimorfismo delle Ceruloplasmine

V. Gualandri, R. Tatarelli, P. Lamparelli

Per diverse frazioni proteiche plasmatiche, fra le quali alcune proteine di trasporto come le aptoglobine e le transferrine, è stato osservato con metodi biochimici e/o immunologici un polimorfismo fenotipico ed è stato dimostrato un corrispondente polimorfismo genetico, risultando così definiti i gruppi plasmatici. Per le ceruloplasmine, che sono, com'è noto, le proteine plasmatiche con specifica funzione di trasporto del rame, non è stato ancora dimostrato un sicuro polimorfismo negli individui sani: la presente ricerca è appunto intesa a dimostrare l'esistenza di una variabilità individuale per questa proteina, come primo passo per poterne studiare la eventuale correlazione genetica.

È stata studiata la velocità di migrazione delle ceruloplasmine mediante elettroforesi a disco su gel di poliacrilamide: in realtà non è stato rilevato direttamente questo parametro, ma il rapporto fra lo spostamento delle ceruloplasmine e quello del Blu Bromofenolo (BBF) sottoposti contemporaneamente all'elettroforesi. Il BBF ha, com'è noto, una migrazione prealbuminica, mentre le ceruloplasmine migrano con le α -globuline: dopo l'elettroforesi e la colorazione specifica delle ceruloplasmine restano evidenti nel cilindro di gel i soli due dischi del BBF e della ceruloplasmina. Il rapporto di migrazione della proteina rispetto al BBF è stato ricavato direttamente da un tracciato elettroforetico ottenuto dalla lettura del cilindro di gel con un elettrofotometro adatto allo scopo.

Con questo metodo sono stati sottoposti ad elettroforesi 130 campioni di plasma appartenenti ad altrettanti individui così suddivisi: 22 coppie di gemelli MZ, 18 coppie di gemelli DZ e 25 coppie di soggetti estratti a caso da un grande campione di determinazioni eseguite sulla popolazione generale. Nella Tab. I sono riportati tutti i valori sopra descritti: ciascuno di essi dunque rappresenta la migrazione elettroforetica della ceruloplasmina espressa come frazione percentuale della migrazione del BBF.

Tab. 1. Rapporto percentuale di migrazione elettroforetica delle ceruloplasmine rispetto al BBF

Coppie	MZ	DZ	Casuali
1	65-63	60-58	80-80
2	57-63	60-62	71-83
3	63-60	61-57	80-70
4	61-59	48-59	61-72
5	53-54	59-64	81-67
6	60-64	60-60	71-67
7	66-70	56-56	74-78
8	54-63	52-53	75-70
9	67-67	61-60	68-74
10	56-56	75-73	70-68
11	62-63	78-76	71-68
12	70-73	68-74	66-72
13	75-69	71-71	72-68
14	75-78	71-73	55-44
15	69-70	68-70	68-65
16	85-85	74-73	62-66
17	82-86	60-63	52-68
18	55-69	77-75	78-70
19	71-70		68-62
20	71-73		74-65
21	75-73		58-65
22	78-75		75-68
23			62-68
24			80-58
25			79-68

Sulle tre classi di coppie è stata eseguita un'analisi completa della varianza, le cui conclusioni sono esposte nella Tab. II: da essa risulta chiaramente che per i gemelli MZ e DZ la variabilità fra le diverse coppie è maggiore con alta significatività statistica di quella entro le coppie, mentre per gli accoppiamenti casuali le due variabilità non differiscono in modo statisticamente rilevante. Nella stessa Tab. II sono riportati anche i valori del parametro della correlazione intraclassa, calcolati, secondo il metodo di Snedecor, con la formula:

$$r_I = s_A^2 / (s^2 + s_A^2)$$

dove s^2 è la varianza intracoppia e s_A^2 , o componente individuale della varianza, è data dalla differenza fra le due varianze divisa per il numero dei componenti ogni gruppo, cioè, due nel caso delle coppie gemellari $[(M_A - M)/n]$. Appare evidente come per i gemelli MZ e DZ la correlazione intraclassa, che si deve interpretare in questo

Tab. II. Analisi della varianza e studio della correlazione intraclasse

Sorgenti della variazione	MZ		DZ		Casuali	
	gl	V	gl	V	gl	V
Intracoppia	22	10.295	18	6.611	25	35.060
Intercoppia	21	143.619	17	127.352	24	79.250
Totale	43	75.418	35	65.257	49	59.650
F	13.95		19.26		2.26	
P	<0.01		<0.01		0.05-0.01	
Correlazione intraclasse	0.866		0.901		0.386	

caso proprio come effetto della costituzione genetica degli individui esaminati, sia decisamente più alta rispetto alle coppie casuali. Infine, è stata anche statisticamente studiata la correlazione fra le coppie appartenenti alle tre classi ed i dati ottenuti sono riportati nella Tab. III. Da essa si possono trarre diverse conclusioni: anzitutto, gli indici di correlazione sono ampiamente più elevati per i gemelli rispetto alle coppie casuali, inoltre i loro limiti fiduciali, calcolati all'1% di probabilità, sono decisamente spostati verso la correlazione $r \approx 1$ per i gemelli, mentre sono oscillanti intorno al valore $r \approx 0$ per le coppie casuali. D'altra parte, analizzando con il test t di Student

Tab. III. Studio della correlazione

Parametri	MZ	DZ	Casuali
Indice di correlazione	0.878	0.895	0.323
Limiti fiduciali all'1%	0.651-0.961	0.655-0.971	0.230-0.705
Analisi dell'ipotesi $\neq 0$	t = 8.204; gl = 20 P < 0.001	t = 8.024; gl = 16 P < 0.001	t = 1.636; gl = 23 0.20 < P < 0.10

Confronti fra gli indici di correlazione

Confronti	t	P
MZ — DZ	0.226	>0.50
MZ — casuali	3.296	≈ 0.001
DZ — casuali	3.317	<0.001

l'ipotesi che ciascuno dei tre indici di correlazione non sia significativamente deviato da zero — cioè ponendo un'ipotesi nulla — si può concludere che essa deve essere respinta con ampio margine di significatività per le coppie gemellari, mentre non può essere rifiutata per le coppie casuali. Infine, eseguendo tutti i confronti possibili fra i tre indici di correlazione, si può osservare che non risultano signifi-

cativamente diversi quelli relativi ai gemelli MZ e DZ, mentre lo sono con alta *significatività quelli delle coppie gemellari rispetto alle coppie casuali.*

Da tutte le analisi eseguite sembra lecito concludere quanto segue: le ceruloplasmine, studiate dal punto di vista della velocità di migrazione elettroforetica, mostrano una certa variabilità individuale; nell'ambito di questa, esiste una sostanziale uniformità di comportamento entro le coppie di fratelli, mentre per gli accoppiamenti casuali la variabilità individuale o intracoppia equivale sostanzialmente a quella fra le coppie. Il fatto che non si manifesti una differenza significativa fra le coppie di gemelli MZ rispetto alle DZ può essere interpretato come dovuto all'insufficiente ampiezza del campione, alle difficoltà intrinseche della diagnosi di zigotismo che la rendono in pratica una conclusione probabilistica, ed infine al fatto che il parametro preso in esame come rappresentativo del fenotipo ceruloplasminico non manifesta una gamma molto ampia di valori, i quali anzi sono distribuiti in modo piuttosto raccolto con un intervallo relativamente piccolo fra gli estremi.

Il metodo dell'elettroforesi a disco su gel di poliacrilamide, seguito per la casistica della presente ricerca e per un'altra molto più ampia tratta dalla popolazione generale e tuttora in studio, permette dunque di rilevare un carattere quantitativo quasi certamente continuo ed invero sembra assai difficile giungere a dimostrare mediante esso un polimorfismo nella popolazione generale ed individuarne le modalità fenotipiche. Tuttavia, questo stesso metodo, applicato ad una casistica geneticamente affatto particolare, come sono i gemelli, sembra indicare che questo polimorfismo esiste e che ha una correlazione idiotipica: per definirne le modalità di manifestazione ed il modello di eredità, sarà forse necessario studiare altre caratteristiche biochimiche e/o immunologiche della frazione plasmatica in esame sia nella popolazione generale, sia in ambito familiare. I dati della presente ricerca consentono di prevedere che ricerche appropriate approderanno a risultati concreti.

Prof. V. GUALANDRI, Centro Studi di Genetica Umana, Corso Venezia 55, Milano, Italy.