

Ricerche immunoelettroforetiche sul sangue funicolare nei gemelli

G. Abelli, A. Esposito

Le ricerche di elettroforesi ed immunoelettroforesi eseguite sul siero di feti in varie età di sviluppo e su neonati a termine, hanno dimostrato l'esistenza di caratteristiche differenze quantitative e qualitative tra i tracciati fetali e quelli dell'individuo adulto. In particolare, per quanto riguarda l'immunoelettroforesi Scheidegger e coll. hanno evidenziato nel neonato a termine l'assenza di almeno tre frazioni presenti invece nell'adulto (β_2 A, β_2 M e una a_2). Secondo Karte mancherebbe, oltre a queste frazioni, anche un'altra a_2 e una β_1 , e noi stessi in una precedente ricerca abbiamo osservato nel neonato l'assenza di 5 linee (2 a_1 , una a_2 , la β_2 A e la β_2 M).

Lo studio dei quadri elettro- ed immunoelettroforetici materno-fetali e la constatazione dell'indipendenza dello spettro proteico fetale da quello materno sia nelle gravidanze normali che in quelle complicate da manifestazioni gestosiche con disprotidemia (Centonze e coll., Gasparri e Leoni, Salvi e Mentasti) hanno portato un notevole contributo alla risoluzione del problema della genesi delle proteine fetali. Esclusa una regolazione diretta materna sulla protidogenesi fetale, appare anche poco probabile un'azione selettiva della placenta su corpi proteici preformati (Moore e coll., Du Pan). Tuttavia, che la placenta possieda un'attività protidoclastica e protidosintetica è stato dimostrato fin dal 1927 da Dellepiane e successivamente da Barbanti. Pommerenke inoltre riscontrò nel sangue venoso ombelicale una quantità di globuline maggiore che nel sangue arterioso, e Ewerbeck e Levens confermarono con l'elettroforesi la produzione da parte della placenta di molecole proteiche migranti con le albumine. Il problema è tuttora solo in parte risolto, anche perchè se da un lato non può essere negato che alcune proteine (anticorpi) siano di provenienza materna e attraversino la placenta o come tali o come semplice gruppo aptoforo (Calman e Murray), dall'altro sembra abbia anche importanza, per certe frazioni, il passaggio attraverso il liquido amniotico, nel quale con ricerche immunoelettroforetiche Strebel ha messo in evidenza in gravidanze al 3^o-5^o mese 8-13 costituenti e in gravidanze a termine 10-15 costituenti.

Per un ulteriore approfondimento del problema ci è sembrato particolarmente utile lo studio delle proteine del sangue funicolare proveniente da gemelli di varia

età. A questo riguardo le ricerche sono molto scarse. Nel 1955 La Torretta ha studiato con l'elettroforesi su carta quattro coppie di gemelli nati da gravidanze tra il 7° e il 9° mese. Di esse, due erano uniovulari e due biovulari. In tutte le coppie, l'A. ha osservato discordanza dei valori percentuali delle varie frazioni proteiche. Salvi e Mentasti con la microelettroforesi in fase libera hanno studiato cinque coppie di gemelli provenienti da gravidanze al 7°-9° mese, riscontrando una certa concordanza dei valori della protidemia totale, mentre le singole frazioni presentavano notevoli differenze sia nei gemelli monocoriali che nei gemelli bicoriali. Inoltre, assumendo il peso come indice di maturità, gli AA. non riscontrarono alcun rapporto tra questo ed il valore albumine/globuline che, come è noto, subisce delle progressive e caratteristiche variazioni dalle prime fasi di sviluppo fino alla nascita: gli AA. concludono pertanto per una completa autonomia della protidogenesi fetale.

Più recentemente Antonini ha applicato il metodo immunoelettroforetico allo studio delle proteine sieriche dei gemelli ed ha osservato alla nascita in tutti i casi l'assenza di 3 frazioni (una α_2 e due β_2). Queste frazioni compaiono in età varia (da 4 settimane a 5 mesi). L'A. ha potuto dimostrare una differenza di comportamento tra i gemelli monozigoti ed eterozigoti: nei primi le frazioni mancanti alla nascita appaiono simultaneamente, mentre nei secondi appaiono in età diversa (seppure a breve distanza di tempo). Questo diverso comportamento viene spiegato considerando che la sintesi proteica è dovuta all'azione di un sistema enzimatico su un adatto substrato, e che gli enzimi sono sotto il controllo dei geni. Sebbene non sia ancora nota la correlazione tra geni e sistema enzimatico, secondo l'A. il diverso comportamento dei gemelli mono- e eterozigoti indica chiaramente l'importanza del fattore genetico anche nel campo della protidogenesi sierica.

* * *

Le nostre ricerche sono state eseguite su 19 coppie di gemelli di età compresa tra il 5° e il 9° mese di gravidanza. I prelievi sono stati eseguiti dal funicolo mediante agopuntura della vena ombelicale, e l'immunoelettroforesi con il micrometodo di Scheidegger, secondo la tecnica da noi precedentemente riportata. L'antisiero usato (siero di cavallo antisiero umano normale) ci è stato fornito dall'Istituto Pasteur di Parigi (13412).

Come può desumersi dalla tabella I, 14 coppie di gemelli erano bicoriali biamniotiche (9 con discordanza del sesso), le altre monocoriali biamniotiche.

I tracciati immunoelettroforetici mostrano in tutti i casi la presenza delle bande dell'albumina, dell' α_1 principale, della siderofilina e delle γ -globuline. Complessivamente le bande osservate sono state 9-13. Tale quadro è sovrapponibile a quello da noi osservato precedentemente in feti non gemelli. Non è stato dimostrato alcun rapporto tra peso del feto e numero di bande: anche in una stessa coppia di gemelli, talvolta il feto di peso inferiore possiede uno spettro proteico più completo. Tale comportamento può paragonarsi a quello osservato da Salvi e Mentasti con la microelettroforesi libera: secondo questi AA. infatti i valori percentuali delle varie frazioni proteiche ed il rapporto A/G non appaiono strettamente legati al peso dei feti.

Tabella 1

N.	Tipo Placenta	Sesso	Peso	Immunolettroforesi					
				A	α_1	α_2	β_1	γ	Tot.
1	bicoriale	♂	1750	1	2	6	2	1	12
	biamniotica	♀	1400	1	2	6	2	1	12
2	bicoriale	♂	280	1	2	5	2	1	11
	biamniotica	♀	290	1	2	5	2	1	11
3	bicoriale	♀	2900	1	2	5	2	1	11
	biamniotica	♂	2300	1	2	6	2	1	12
4	monocoriale	♀	2000	1	1	5	1	1	9
	biamniotica	♀	1700	1	1	5	1	1	9
5	bicoriale	♂	2060	1	1	4	2	1	9
	biamniotica	♂	2900	1	2	4	3	1	11
6	monocoriale	♀	2100	1	2	5	2	1	11
	biamniotica	♀	2750	1	2	5	2	1	11
7	bicoriale	♂	2870	1	2	4	3	1	11
	biamniotica	♀	1900	1	2	4	2	1	10
8	bicoriale	♀	1700	1	2	5	2	1	11
	biamniotica	♀	1400	1	2	4	2	1	10
9	monocoriale	♀	1800	1	2	6	3	1	13
	biamniotica	♀	1600	1	2	6	3	1	13
10	bicoriale	♂	2700	1	2	6	3	1	13
	biamniotica	♀	2400	1	2	6	2	1	12
11	monocoriale	♀	1350	1	2	5	1	1	10
	biamniotica	♀	1250	1	2	5	1	1	10
12	bicoriale	♀	800	1	2	4	2	1	10
	biamniotica	♀	800	1	2	5	2	1	11
13	bicoriale	♀	2090	1	3	6	2	1	13
	biamniotica	♀	2330	1	3	6	2	1	13
14	bicoriale	♂	1900	1	2	5	1	1	10
	biamniotica	♀	1900	1	2	5	1	1	10
15	monocoriale	♂	2700	1	3	4	1	1	10
	biamniotica	♂	2100	1	3	4	1	1	10
16	bicoriale	♂	1700	1	2	6	2	1	12
	biamniotica	♀	1500	1	2	6	2	1	12
17	bicoriale	♀	2000	1	2	5	1	1	10
	biamniotica	♂	1700	1	2	5	1	1	10
18	monocoriale	♂	2250	1	2	5	2	1	11
	biamniotica	♂	2650	1	2	5	2	1	11
19	bicoriale	♀	2800	1	2	4	3	1	11
	biamniotica	♂	2000	1	2	4	2	1	10

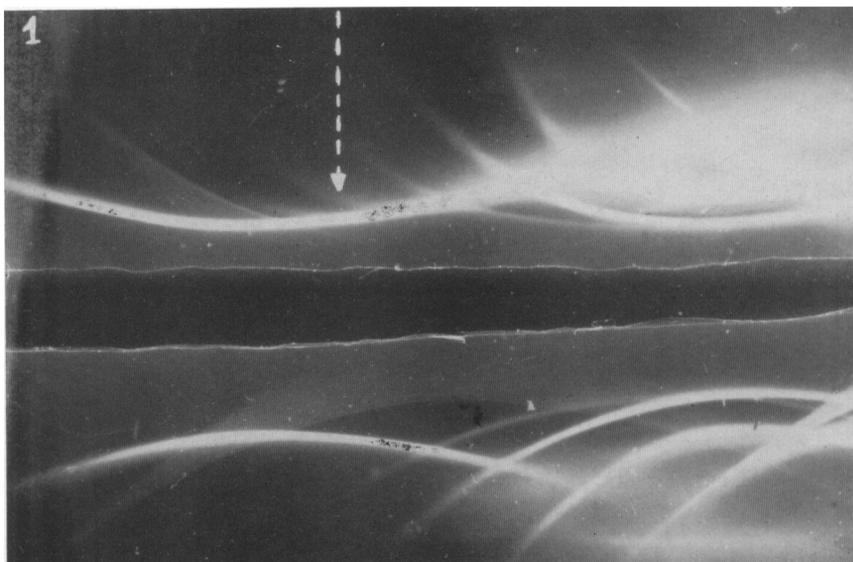


Fig. 1. Caso n. 5. Zona delle α_1 . In alto, una banda in più

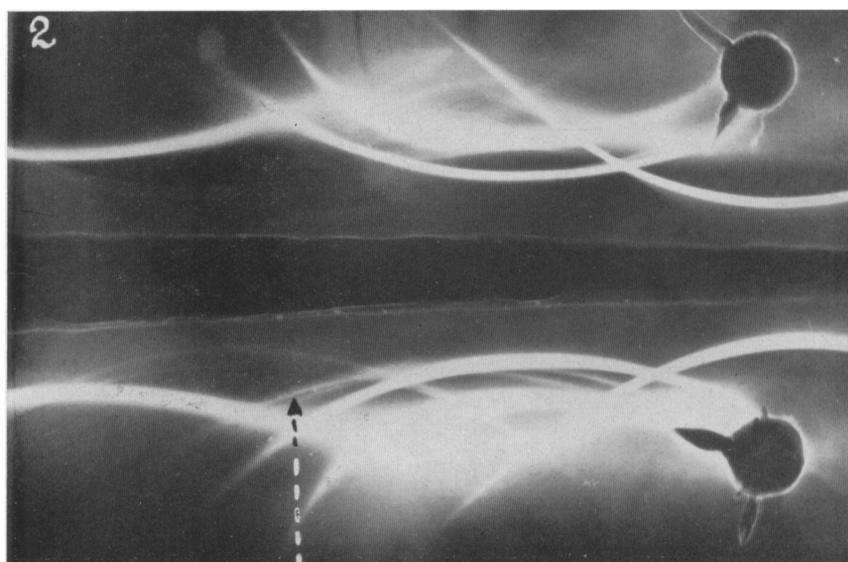


Fig. 2. Caso n. 8. In basso, una α_2 (la più intensa tra le due bande segnate dalla freccia) assente invece in alto

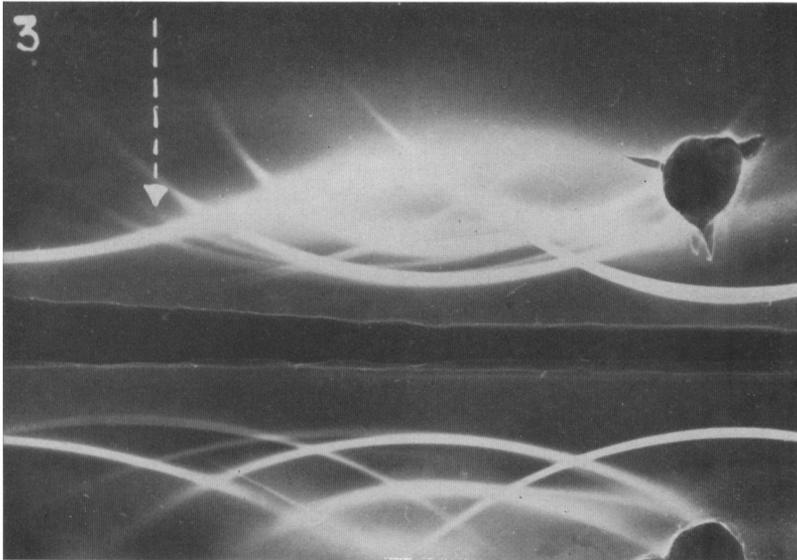


Fig. 3. Caso n. 3. In alto, 6 α_2 , in basso 5 α_2
La freccia indica la banda presente in un solo gemello

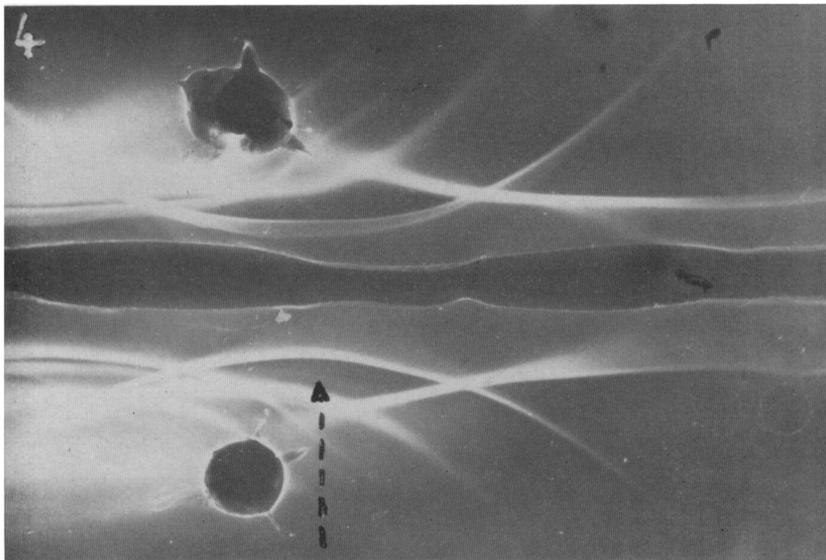


Fig. 4. Caso n. 10. Zona delle β_1 : La freccia indica, in basso,
la banda presente in un solo gemello

Non abbiamo osservato alcuna differenza sullo spettro proteico in rapporto al sesso.

Una notevole importanza invece sembra abbia lo zigotismo dei gemelli. Nelle gravidanze monocoriali i gemelli di ogni coppia hanno presentato un egual numero di bande, mentre nelle gravidanze bicoriali, la concordanza dei tracciati è stata osservata in 7 casi, e questo anche se la differenza di peso tra i due feti era notevole (come nel caso n. 2). Negli altri 7 casi i tracciati hanno presentato lievi differenze, consistenti nella presenza di una, o in un caso, di due bande in più in uno dei gemelli della coppia. Tali differenze si sono verificate a carico delle globuline α_1 (caso n. 5, fig. 1), delle α_2 (casi n. 3, 8, 12, figg. 2-3), delle β_1 (casi n. 5, 10, 19, fig. 4).

Volendo trarre delle conclusioni da queste ricerche, ci sembra che i nostri risultati possano avvalorare ancora di più l'ipotesi di una autonomia da parte del feto per l'elaborazione delle proteine sieriche. La differenza tra i gemelli mono- e bicoriali, può essere spiegata, in via del tutto presuntiva, ammettendo l'ipotesi già prospettata da Antonini circa la genesi delle frazioni assenti alla nascita: se cioè si ammette un controllo genico sulla protidogenesi, questo deve valere anche durante la vita intrauterina: i gemelli monocoriali, provvisti di egual corredo genetico, avrebbero pertanto uno spettro proteico qualitativamente sempre eguale sia durante la vita fetale che dopo; nei gemelli bicoriali invece le frazioni proteiche potrebbero comparire in età diversa, indipendentemente dal peso. Non abbiamo elementi sicuri per poter avvalorare tale ipotesi, occorrendo, a nostro avviso, l'esame di un numero elevato di coppie e, soprattutto, lo studio di coppie di gemelli nelle primissime fasi della vita intrauterina, quando incominciano a comparire le più importanti bande immunoelettroforetiche.

Riassunto

Gli AA. hanno studiato con l'immunoelettroforesi lo spettro proteico di 19 coppie di gemelli provenienti da gravidanze di 5-9 mesi. I gemelli monocoriali hanno mostrato un quadro concordante, mentre in 7 delle 14 coppie di gemelli bicoriali si sono osservate differenze lievi dovute alla presenza, in un gemello, di una o due bande in più. Gli AA. mettono in rapporto questi dati con l'ipotesi del controllo genico della protidogenesi.

Bibliografia

1. ANTONINI B.: Étude immunoelectrophorétique des protéines sériques des jumeaux nouveaux-nés. The International Society of Hematology. Proceedings of the VIIth Congress, vol. 3, 485, 1958.
2. BARBANTI A.: Valutazioni elettroforetiche segmentarie sieriche e plasmatiche nelle gravide a termine. Min. Gin., 7, 26, 1955.
3. CALMAN, MURRAY: cit. da MENTASTI P.
4. CENTONZE M.: Le variazioni protidoplasmatiche nelle gestosi. Mor. Ost. Gin., 25, 229, 1954.
5. — Il glicoprotidogramma elettroforetico nelle cardiopatiche a termine di gravidanza, in travaglio ed in puerperio. Quad. Clin. Ost. Gin., 18, 89, 1957.

6. — DE SALVIA F., CHIAIA F. E., COLORI M.: Il quadro glico-lipoprotidoplasmatico del feto nelle varie epoche di sviluppo. Suoi rapporti con il quadro materno. *Min. Gin.*, 10, 69, 1958.
7. DELLEPIANE G.: Citato da BARBANTI A.
8. DU-PAN M.: Contribution à l'étude des relations entre l'âge et l'immunité pendant la jeunesse. *Bibliot. Pediatr.*, 52, 126, 1952.
9. ESPOSITO A., ABELLI G.: Le proteine del feto. Elettroforesi su carta ed immunoelettroforesi. *Min. Gin.* 13, 671, 1961.
10. EWERBECK H., LEVENS H. E.: Die Bildung der Serumeiweisskörper des kindlichen Organismus bis zur Geburt und ihre Beziehung zum mütterlichen Serumeiweisspektrum während der Schwangerschaft. *M Schr. Kinderhk.*, 98, 436, 1950.
11. GASPARRI F., LEONI R.: Il quadro sieroproteico materno e fetale nelle gravidanze normali e nelle tossicosi. *Riv. Ost. Gin.*, 11, 406, 1956.
12. KARTE H.: Immunoelektrophoretische Befunde beim Neugeborenen und Frühgeborenen. *M Schr. Kinderhk.*, 107, 108, 1959.
13. LA TORRETTA G.: Il quadro proteico nel neonato. Indagini elettroforetiche. *Arch. Ost. Gin.*, 60, 270, 1955.
14. MENTASTI P.: Il comportamento del protidogramma durante lo sviluppo fetale. Considerazioni sulla genesi delle proteine fetali. *Riv. Ost. Gin.*, 14, 703, 1959.
15. MOORE H. D., DU-PAN M., BUXTON C. L.: An electrophoretic study of maternal, fetal, and infant sera. *Am. J. Obst. Gyn.*, 57, 312, 1949.
16. POMMERENKE W. T.: Placental interchange. I. On the concentration of certain nitrogenous substances in the blood, before and after passing through the placenta. *J. Clin. Invest.*, 15, 485, 1936.
17. SALVI F., MENTASTI P.: Le caratteristiche dell'emoprotidogramma materno e fetale nelle gravidanze multiple. *Min. Gin.*, 9, 731, 1957.
18. SCHEIDEGGER S. S., MARTIN E., DU-PAN R.: Étude immuno-électrophorétique des protéines sériques du nouveau-né. *Etud. Néo-Nat.*, 6, 135, 1957.
19. — — RIOTTON G.: L'apparition des diverses composantes antigéniques du serum au cours du développement fœtal. *Schweiz. Med. Wschr.*, 86, 224, 1956.
20. STREBEL L.: Immunoelektrophoretische Untersuchungen im Fruchtwasser. Vergleich mit Nabelschnurblutserum und mütterlichen Venenblutserum. *Biol. Neonat.*, 2, 55, 1960.

RÉSUMÉ

Les Auteurs ont étudié par la méthode immuno-électrophorétique le cadre protéique du sang du cordon ombilical de 19 couples de jumeaux provenant de gestations de 5 à 9 mois. Les jumeaux monochoriaux présentaient un cadre concordant, tandis que dans 7 des 14 couples de jumeaux bichoriaux des petites différences ont pu être observées, dues à la présence dans l'un des jumeaux d'une ou de deux bandes en plus. Les Auteurs mettent ces résultats en rapport avec l'hypothèse du contrôle génique de la protidogénèse.

SUMMARY

The Authors have investigated by means of the immuno-electrophoretic method the protein composition of the funicular blood of 19 twin-pairs from pregnancies of 5 to 9 months. Monochorionic twins showed a concordant picture, while in 7 of the 14 bichorionic twin-pairs slight differences could be observed, due to the presence in one of the twins of one or two more lines. The Authors put these results in correlation with the hypothesis of a genic control of the production of proteins.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser haben mittels Immunoelktrophorese die Zusammensetzung der Proteinen des Nabelschnurblutes von 19 Zwillingspaaren aus 5-bis 9 monatigen Schwangerschaften untersucht. Die monochorischen Zwillinge zeigten ein übereinstimmendes Bild, während bei 7 der 14 bichorischen Zwillingspaaren kleine Unter-

schiede beobachtet wurden, und zwar die Erscheinung bei einem der Zwillinge von einer oder zwei Linien mehr. Die Verfasser stellen diese Resultate in Beziehung mit der Hypothese einer von den Genen ausgeübten Kontrolle über die Bildung der Eiweisskörper.