

INDICE DI BLASTIZZAZIONE, INDICE MITOTICO E INDICE DI RIARRANGIAMENTO IN CRONOGENETICA

L. GEDDA, G. BRENCI, G. DEL PORTO, E. D'ALESSANDRO, B. DI TONTO, L. CIACCI

Istituto di Genetica Medica e Gemellologia Gregorio Mendel, Roma
Cattedra di Genetica Medica, Istituto Universitario di Medicina e Chirurgia, l'Aquila

Blast Index, Mitotic Index, and Rearrangement Index in Chronogenetics

Blast index, mitotic index, and rearrangement index, have been assessed and compared in a sample of male MZ and DZ twin pairs belonging to two age groups: 10 and 60 years. For all three indexes, both the hereditary conditioning and age modifications could thus be confirmed.

Gli studi concernenti l'invecchiamento cellulare di colture prolungate in vitro di vari tessuti hanno dimostrato (Swim e Parker 1957, Swim 1959, Hay 1970) che le diverse metodiche utilizzate non confermano l'ipotesi di Carrel della vita cellulare illimitata, ma permettono di concludere che i cloni cellulari in coltura sono sottoposti agli stessi processi degenerativi che caratterizzano il fenomeno dell'invecchiamento.

Le curve del grafico (Fig. 1) mostrano infatti come nelle colture prolungate vi sia una diminuzione della vitalità caratterizzata da decremento della riproduttività con contemporaneo aumento dell'aneuploidia.

Inoltre gli esperimenti di Macieira-Coelho (1970) hanno evidenziato una correlazione tra l'età dell'individuo dal quale erano stati prelevati i frammenti di tessuto e la velocità dell'invecchiamento sotto lo stress colturale (Fig. 2).

Essendo quindi noto che il comportamento nei riguardi del fenomeno invecchiamento in vitro è individuale, si è voluto impostare una ricerca per verificare, su colture prolungate di linfociti di sangue umano periferico, il condizionamento genotipico mediante una disposizione sperimentale gemellare (coppie bimaschili) come quella mostrata nella Fig. 3.

L'invecchiamento citologico è stato controllato per mezzo dei seguenti parametri:

1) indice di blastizzazione, definito come rapporto tra il numero di blasti osservati sul totale delle cellule;

2) indice mitotico, definito come rapporto tra il numero delle cellule in divisione e totale delle cellule osservate;

3) indice di riarrangiamento, o di aneuploidia, definito come rapporto tra le piastre metafasiche aneuploidi sul totale delle piastre osservate.

Le colture sono state effettuate da una unica équipe, utilizzando sempre il microtest liofilizzato della GIBCO, per una migliore standardizzazione del metodo.

Le cellule dall'inizio della coltura sono state sottoposte a controllo periodico ogni tre giorni,

Proc. 4th Int. Congr. Neurogenet. Neuroophthalmol. (1973)

Acta Genet. Med. Gemellol. (Roma), 23: 275-279

© 1974

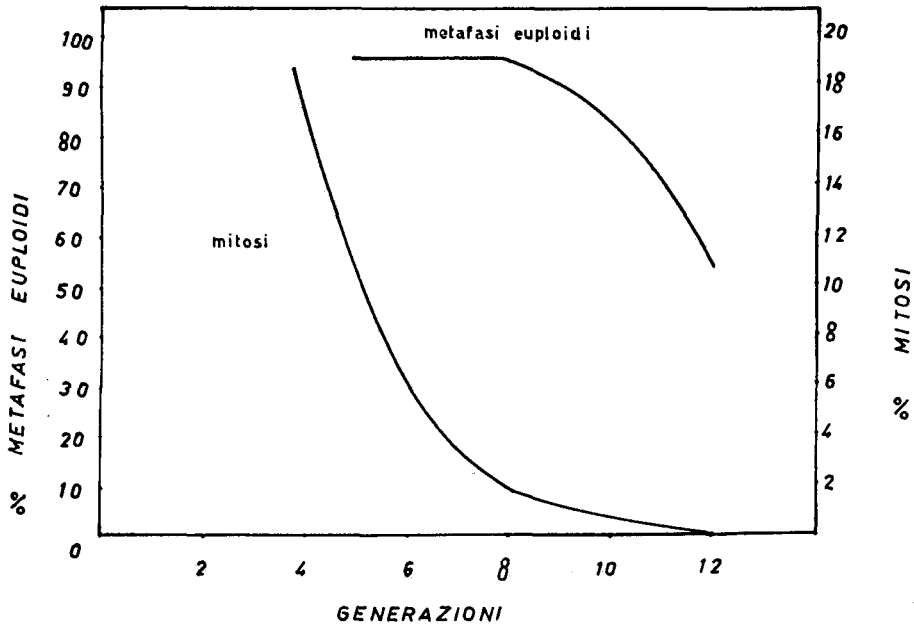


Fig. 1

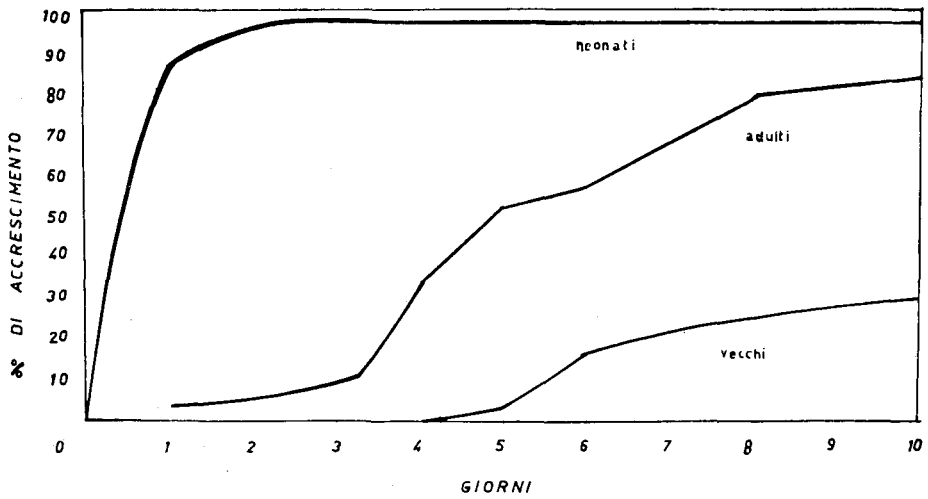


Fig. 2

alternando alla totale rimessa in coltura, previo lavaggio in Hanks, una divisione dicotomica del materiale per metà rimesso in coltura e per metà sacrificato.

Per ogni individuo sono stati allestiti 2 contenitori e quindi 2 serie di vetrini, per il controllo della variabilità del metodo.

L'indice di blastizzazione e l'indice mitotico sono stati ottenuti con l'esplorazione di almeno un vetrino per contenitore, con ingrandimento 40×10 ed esame di 5 campi di cui 2 ai margini e 3 centrali consecutivi osservando e contando gli elementi fino al massimo di 100 per campo.

L'indice di aneuploidia è stato ottenuto su un minimo di 20 piastre per individuo della coppia, considerando euploidi quelle a 46 cromosomi e aneuploidi quelle pari a $2n \pm m$. Le fotografie sono state realizzate da operatore estraneo.

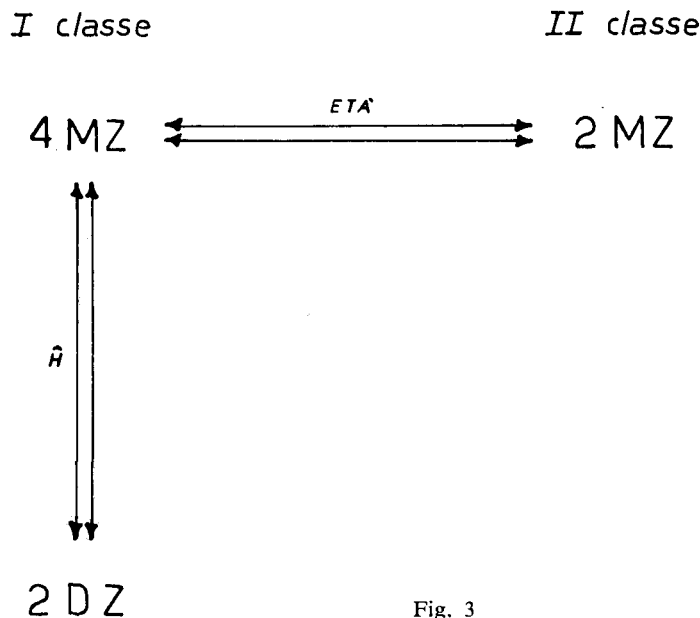


Fig. 3

I risultati ottenuti sono illustrati nelle Tabelle 1 e 2.

L'analisi condotta mediante la valutazione delle differenze medie intracoppia, nelle serie gemellari di diverso zigtismo e di diversa età, permette di affermare, naturalmente nei limiti determinati dalle ridotte dimensioni del campione, l'esistenza di:

- a) un condizionamento genetico dei tre parametri esaminati, dimostrabile sulla base della più ampia variabilità intracoppia nei gemelli DZ rispetto agli MZ;
- b) una variabilità dei parametri in funzione delle età valutabili direttamente per l'incremento dei valori medi nella seconda classe di età.

I risultati dell'analisi, oltre a confermare il condizionamento genotipico, depongono per un particolare tipo di invecchiamento delle cellule osservate, in quanto l'aumento dei tre indici con l'età ha un significato ben preciso.

L'aumento dei primi due indici depone infatti per un invecchiamento dei genotipi operativi che rendono più sensibili gli elementi cellulari all'azione dell'inducente mitotico.

TABELLA 1
RISULTATI

	Coppie MZ: I classe di età				Coppie MZ: II classe di età		Coppie DZ	
	N. 1	N. 2	N. 3	N. 4	N. 1	N. 2	N. 1	N. 2
<i>Indice di Blastizzazione</i>								
Gemello A	0,38	0,44	0,56	0,42	0,89	0,58	0,78	0,46
Gemello B	0,33	0,32	0,50	0,43	0,84	0,50	0,82	0,85
<i>Indice Mitotico</i>								
Gemello A	0,0073	0,0153	0,0060	0,0165	0,0138	0,0406	0	0,0183
Gemello B	0,0231	0,0111	0,0108	0,0140	0,0125	0,0530	0,0191	0
<i>Indice di Aneuploidia</i>								
Gemello A	0,45	0,38	0,71	0,33	0,52	0,66	0,32	0,28
Gemello B	0,37	0,37	0,38	0,30	0,44	0,46	0,17	0,55

TABELLA 2
ANALISI DEI RISULTATI

	Valori medi $\times 10^2$		Differenze medie intracoppia $\times 10^2$		H
	I classe di età	II classe di età	MZ	DZ	
Indice di blastizzazione	37,5	70,3	0,0741	0,1613	$\approx 0,5406$
Indice mitotico	1,301	2,997	26,16	100	$\approx 0,7384$
Indice di aneuploidia	41,1	52,0	0,1153	0,3157	$\approx 0,6342$

Questo risultato è confermato dall'aumento dell'indice di aneuploidia che dimostra come, a questa maggiore sensibilità, sia legata anche una maggiore probabilità di una divisione aberrante.

BIBLIOGRAFIA

- Hay R.J. 1970. Cell strain senescence in vitro: cell culture anomaly or an expression of a fundamental inability of normal cells to survive and proliferate. In Holeckova and V.J. Cristofalo (Eds.): *Aging in Cell and Tissue Culture*. [pp. 7-24]. New York: Plenum Press.
- Macieira-Coelho A. 1970. The decreased growth potential in vitro of human fibroblasts of adult origin. In Holeckova and V.J. Cristofalo (Eds.): *Aging in Cell and Tissue Culture*. [pp. 121-132]. New York: Plenum Press.
- Swim H.E., Parker R.F. 1957. Culture characteristics of human fibroblast propagated serially. *Am. J. Hyg.*, 66: 235.
- Swim H.E. 1959. Microbiological aspects of tissue culture. *Ann. Rev. Microbiol.*, 13: 141.