

Morfologia dei polinucleati neutrofilii studiata con il metodo gemellare

Nota seconda. Ancora sulla formula di Arneth

G. Torrioli Riggio,¹ L. Marchetti Reggiani² e G. Brenci³

Nel lavoro da noi pubblicato, nel maggio 1956, su « Acta Geneticae Medicae et Gemellologiae » col titolo « Morfologia dei polinucleati neutrofilii studiata con il metodo gemellare », ci proponevamo di studiare l'influenza dell'eredità sulla Formula di Arneth.

È noto che il nucleo dei neutrofilii mostra, in genere, una struttura notevolmente complicata: in alcuni neutrofilii esso appare con la forma di un bastoncino ricurvo, in altri appare, invece, costituito da vari segmenti, in numero di 2, 3, 4 e anche più, riuniti fra loro da esili ponti di sostanza nucleare.

Arneth, che studiò accuratamente questo tipo di cellule ematiche, divise i neutrofilii in classi, in base al numero dei segmenti che costituiscono il nucleo. Si parla, quindi, di I, II, III, IV e V classe di Arneth. La distribuzione media percentuale dei neutrofilii, nelle varie classi, nel sangue normale, è, come è noto:

I: 5,20%
II: 35,33%
III: 40,93%
IV: 16,60%
V: 1,94%

Quando nel 1920 Arneth pubblicò i suoi lavori sul diverso aspetto dei nuclei dei polimorfonucleati neutrofilii, fondò le sue premesse sul concetto enunciato da Erlich che il polinucleato derivasse da una cellula mononucleata, e costruì tutta una diagnostica dello stato rigenerativo dei neutrofilii, basandosi sulla considerazione che se il processo maturativo, dal mielocita al granulocita, consisteva in una strozzatura e lobatura del nucleo, quanto maggiore era l'età dell'elemento, tanto maggiore era il numero dei segmenti costituenti il nucleo. Quindi: quadro giovane (spostamento a sinistra) nelle attive rigenerazioni, quadro vecchio (spostamento a destra) nelle forme con scarsa attività rigenerativa.

¹ Libero Docente

² Dottore in Medicina

³ Metodologo statistico

Come già da noi pubblicato nel lavoro precedente, molte furono le critiche a tale teoria. Non ci soffermiamo di nuovo su di esse, ma ricordiamo solo che il nostro intento era di verificare, con il metodo gemellare, l'esattezza della teoria di Pappenheim, per il quale solo l'unicità o la lobatura del nucleo forniscono un dato sulla maturità o immaturità della cellula, mentre il numero delle eventuali lobature deve essere considerato la manifestazione di un carattere determinato.

Partendo da questo presupposto, abbiamo distinto fra il significato da attribuire alla I classe della Formula di Arneth e quello delle altre classi, giungendo alla conclusione, nella I nota del nostro lavoro, che il fattore maturativo è influenzato, quasi esclusivamente, dalle condizioni fisiopatologiche del soggetto, e solo in grado molto modesto da un fattore genico.

In questa II nota abbiamo voluto studiare l'influenza dei fattori patologico e genetico sulle classi successive alla I.

Assumendo come tesi da controllare quella sostenuta da Pappenheim, abbiamo voluto controllare se la distribuzione dei polimorfonucleati subisse l'influenza di un fattore genotipico, oltre quello patologico.

Al fine di rendere minima l'influenza dei fattori che non sono oggetto di studio in questa nota, abbiamo considerato come subsperimentali quelli dipendenti dalle condizioni fisiologiche dei soggetti, nel momento in cui è stato eseguito il prelievo, e quelli conseguenti alle tecniche del prelievo stesso. Le ipotesi nulle, nei confronti di questi fattori, sono state realizzate eseguendo i prelievi con la medesima tecnica su soggetti nelle stesse condizioni fisiologiche.

Per la tabulazione dei dati, l'ordine usato nell'interno delle coppie è quello della primogenitura, accertata mediante accurato esame anamnestico.

Per ogni individuo, il criterio mediante il quale ciascun neutrofilo è stato assegnato ad una classe, è quello seguito da Arneth.

Rimandiamo alla prima nota per quanto riguarda la tecnica sperimentale da noi usata.

Abbiamo schematizzato l'ipotesi di lavoro nel modo seguente: chiamato A il fattore genotipico e B il fattore patologico, abbiamo attribuito all'indice₀ l'assenza del fattore in esame e all'indice₁ la sua presenza.

Il materiale sperimentale è risultato così diviso in 4 gruppi:

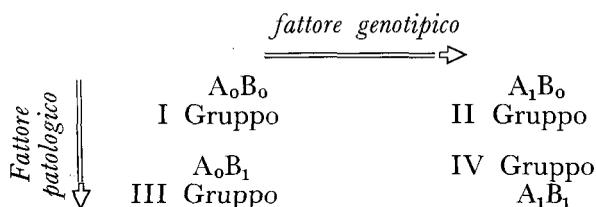
I Gruppo A₀ B₀ su cui non agiscono nè il fattore genotipico, nè il fattore patologico, rappresentato da 39 coppie di Mz sani.

II Gruppo A₁ B₀ su cui presumiamo che influisca il fattore genotipico e non il patologico, rappresentato da 38 coppie di Dz sani.

III Gruppo A₀ B₁ su cui presumiamo che influisca il solo fattore patologico, rappresentato da 10 coppie di Mz malati con malattia non concordante.

Il IV Gruppo A₁ B₁ ipotizzato, rappresentato da 20 coppie di Dz malati con malattia non concordante, non essendo indispensabile per rilevare l'azione dei 2 fattori, ma solamente utile per valutarne l'interazione, sarà oggetto di una prossima nota.

Da quanto esposto in precedenza, il lavoro può essere, quindi, riassunto da questo prospetto:



In questa nota esamineremo solamente i confronti, logici fra $(A_0B_0 - A_0B_1)$ e $(A_0B_0 - A_1B_0)$, di cui il primo permette di rivelare l'influenza del fattore B (fattore patologico) e il secondo l'influenza del fattore A (fattore genotipico).

Per eliminare la possibile variabilità tra coppie abbiamo analizzato i valori di una classe di primi nati confrontandoli con i valori della stessa classe dei secondi nati,

Esempio:

Coppia	I Nato					II Nato						
	I	II	III	IV	V	Classe	I	II	III	IV	V	Classe
I	a^1_1	a^2_1	a^3_1	a^4_1	a^5_1		a^1_2	a^2_2	a^3_2	a^4_2	a^5_2	
II	b^1_1	b^2_1	b^3_1	b^4_1	b^5_1		b^1_2	b^2_2	b^3_2	b^4_2	b^5_2	
III	c^1_1	c^2_1	c^3_1	c^4_1	c^5_1		c^1_2	c^2_2	c^3_2	c^4_2	c^5_2	
IV	d^1_1	d^2_1	d^3_1	d^4_1	d^5_1		d^1_2	d^2_2	d^3_2	d^4_2	d^5_2	

dove la lettera minuscola indica la coppia, l'indice in basso l'ordine di genitura e l'indice in alto indica la classe secondo Arneht.

Prendendo in esame una sola classe quindi avremo:

II classe		
Coppia	I Nato	II Nato
I	a^2_1	a^2_2
II	b^2_1	b^2_2
III	c^2_1	c^2_2
IV	d^2_1	d^2_2

Il metodo usato nel confronto è stato quello della « t » di Student.¹

$$t = \frac{M(\Delta) \sqrt{n}}{S(\Delta)}$$

$$M(\Delta) = \frac{\sum \Delta_i}{m}$$

$$S(\Delta) = \sqrt{\frac{\sum (\Delta^2_i)}{g} - M(\Delta) \frac{\sum (\Delta_i)}{g}}$$

$$\Delta_i = a_1 - a_2$$

I risultati sono i seguenti:

Differenze tra classi (I nato - II nato)				
Classi		M (Δ)	S (Δ)	t
Monozigoti sani (n = 39)	II	0,871	4,985	1,111
	III	0,230	5,106	0,281
	IV	1,256	5,914	1,326
Dizigoti sani (n = 38)	II	0,052	8,311	0,038
	III	1,237	11,168	0,637
	IV	0,579	10,607	0,332
Monozigoti ma- lati (n = 10)	II	1,200	8,117	0,467
	III	2,000	13,205	0,479
	IV	0,200	9,175	0,069

Di qui si deduce facilmente che la variabilità dovuta alle diverse coppie può essere trascurata, poichè i valori dell'indice « t » non sono significativi e non indicano quindi alcuna differenza sostanziale attribuibile ad un fattore dovuto alle singole coppie.

I confronti fra individui della medesima coppia sono stati eseguiti analizzando le funzioni di ripartizione delle distribuzioni dei polimorfonucleati, nelle classi di Arneth, con il test di Kolmogorov Smirnov. Esso ci dice che, per confrontare fra loro due distribuzioni A, B (nel nostro caso le distribuzioni dei polimorfonucleati nelle classi di Arneth del I e del II nato in una coppia gemellare), si ricavano le due funzioni di ripartizione e si confrontano fra loro per differenza.

Es.:

Distribuzione A					
	I	II	III	IV	V
I nato	2	26	41	26	5

Distribuzione B					
	I	II	III	IV	V
II nato	1	24	42	26	7

Funzioni di ripartizione

I nato	0,02	0,28	0,69	0,95	1,00
II nato	0,01	0,25	0,67	0,93	1,00
Differenze	0,01	<u>0,03</u>	0,02	0,02	0,00

Individuata la differenza massima D (in questo caso: $D = 0,03$), la si confronta con i valori tabellati, ponderando questi ultimi alla numerosità dei campioni con la formula $d \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 n_2}}$ in cui d è il valore di confronto tabulato, n_1 ed n_2 la numerosità delle due distribuzioni.

Se la differenza tra le due distribuzioni è significativa, deve essere:

$$D \text{ maggiore di } d \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 \times n_2}}$$

I risultati sono stati i seguenti:

Gruppo A ₀ B ₀ (Monozigoti sani)				Gruppo A ₁ B ₀ (Monozigoti sani)			
Coppie N.	D	Coppie N.	D	Coppie N.	D	Coppie N.	D
I	0,03	XXI	0,18 +	I	0,05	XXI	0,22 +
II	0,02	XXII	0,06	II	0,15	XXII	0,12
III	0,04	XXIII	0,03	III	0,10	XXIII	0,04
IV	0,04	XXIV	0,10	IV	0,18 +	XXIV	0,22 +
V	0,05	XXV	0,04	V	0,10	XXV	0,04
VI	0,07	XXVI	0,12	VI	0,08	XXVI	0,07
VII	0,08	XXVII	0,12	VII	0,16	XXVII	0,02
VIII	0,07	XXVIII	0,08	VIII	0,17 +	XXVIII	0,26 +
IX	0,02	XXIX	0,12	IX	0,14	XXIX	0,12
X	0,09	XXX	0,11	X	0,21 +	XXX	0,16
XI	0,04	XXXI	0,06	XI	0,11	XXXI	0,04
XII	0,04	XXXII	0,12	XII	0,10	XXXII	0,14
XIII	0,10	XXXIII	0,11	XIII	0,12	XXXIII	0,24 +
XIV	0,06	XXXIV	0,04	XIV	0,11	XXXIV	0,36 ++
XV	0,08	XXXV	0,12	XV	0,08	XXXV	0,18 +
XVI	0,06	XXXVI	0,08	XVI	0,18 +	XXXVI	0,16
XVII	0,08	XXXVII	0,04	XVII	0,06	XXXVII	0,10
XVIII	0,04	XXXVIII	0,16	XVIII	0,10	XXXVIII	0,24 +
XIX	0,02	XXXIX	0,02	XIX	0,08		
XX	0,20 +			XX	0,04		

Gruppo A₀ B₁
(Monozigoti malati con malattia non concordante)

Coppie N.	D	Coppie N.	D
I	0,09	VI	0,18 +
II	0,05	VIII	0,14
III	0,10	VIII	0,20 +
IV	0,16	IX	0,08
V	0,17 +	X	0,27 ++

Valori di confronto:

$$D_{0,1} = 0,1725$$

$$D_{0,001} = 0,2757$$

$$n_1 = n_2 = 100$$

Abbiamo indicato con una crocetta (+) i valori che hanno una significatività superiore al 10% e con due crocette (++) una significatività superiore all'1%.

Analizzando i risultati, conoscendo la sensibilità del test usato, possiamo stabilire che le discordanze rinvenute nel I gruppo A_0B_0 sono attribuibili al caso. Ciò è da escludere, invece, per gli altri due gruppi, dove le discordanze sono in numero assai rilevante.

Possiamo riassumere tali risultati in questa forma:

$A_0 B_0$				$A_0 B_0$			
C		D		C		D	
f.a.	f.%	f.a.	f.%	f.a.	f.%	f.a.	f.%
37	94,88	2	5,12	6	60	4	40

$A_1 B_0$				Differenze ammesse come casuali dal test	
C		D		C	D
f.a.	f.%	f.a.	f.%	f.%	f.%
27	71,06	11	28,94	95	5

in cui C: concordanze
 D: discordanze
 f. a.: frequenza assoluta
 f%: frequenza percentuale

Questi risultati permettono di affermare che nei gruppi A_0B_1 e A_1B_0 intervengono fattori non casuali. Secondo l'ipotesi di lavoro (essendo stati eliminati tutti gli altri possibili fattori — tecnica di prelievo, condizioni fisiologiche —) sembra lecito affermare che questi fattori sono per il gruppo dei Dz sani, un fattore genetico e per il gruppo dei Mz con malattia non concordante, un fattore patologico.

Un ulteriore controllo (attualmente in corso) sui Dz con malattia non concordante permetterà, attraverso un confronto con gli altri gruppi già studiati, di stabilire l'entità di ciascun fattore.

Concludendo, per questa seconda nota, possiamo affermare che nella formula di Arneth la distribuzione delle varie classi successive alla prima, risente tanto dell'influenza di un fattore genetico, quanto di un fattore patologico.

L'entità di ciascuno di questi due fattori è in corso di studio in un gruppo di DZ con malattia non concordante.

Riassunto

Gli AA. studiano la distribuzione delle varie classi della formula di Arneth in 39 coppie di MZ sani, 38 coppie di DZ sani, 10 coppie di MZ malati con malattia non concordante. Concludono che sia il fattore genetico, sia il fattore patologico hanno importanza nel determinismo della formula stessa. Si riservano di stabilire l'entità di ciascun fattore con lo studio di un gruppo di DZ con malattia non concordante.

Bibliografia

- ARNETH: Die qualitative Blutlehre, Klinkardt 1920.
GRAWITZ: Hiller, *Fol. Haematol.* Bd. 2, S. 85.
MORAWITZ: Tratt. di medicina interna, 1929, p. 72.
NAEGELI, PAPPENHEIM, POLLITZER citati da Morawitz, Trattato di med. int., 1929.
TURPIN, PITON J. et CARATZALI M. A.: L'influence de l'hérédité sur les leucocytes sanguins. *Biol. méd.*, 31, 3, 4 (1941).
TURPIN et BERNYER G.: De l'influence de l'hérédité sur la formule d'Arneth. *Rev. d'Haematol.*, 2, 2, 189-206 (1947).
G. TORRIOLI RIGGIO e L. REGGIANI: Morfologia dei polinucleati neutrofilii studiata con il metodo gemellare. Nota 1, La formula di Arneth. *A. Ge. Me. Ge.* Vol. V, IV, 2 maggio 1956.

RÉSUMÉ

Les A.A. étudient la distribution des différentes classes de la formule d'Arneth chez 39 couples de MZ sains, 38 couples de DZ sains et 10 couples de MZ atteints par une maladie non concordante. Ils concluent que le facteur génétique et le facteur pathologique sont tous les deux importants dans le déterminisme de la formule même. Ils se réservent d'établir l'entité de chaque facteur par l'étude d'un groupe de DZ ayant une maladie non concordante.

SUMMARY

The Authors study the distribution of the various classes of Arneth's formula in 39 healthy MZ pairs, 38 healthy DZ pairs, 10 MZ pairs with non-concordant disease.

They conclude that both genetic and pathologic factors are relevant in the determination of the formula, and they will try to establish the importance of each factor through a further study on a group of DZ pairs with non-concordant disease.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser studieren die Verteilung der verschiedenen Klassen der Formel von Arneth auf 39 Paaren gesunden EZ, 38 Paaren gesunden ZZ und auf 10 nicht übereinstimmende Paaren kranken EZ. Sie kommen zum Schluss, dass nicht nur der genetische, sondern auch der pathologische Faktor im Determinismus der Formel Bedeutung haben. Sie vorbehalten sich, das Ausmass jedes Faktors mit der Beobachtung einer anderen Gruppe von nicht übereinstimmenden Paaren kranken ZZ aufzustellen.