

## Il Controllo Genetico della Glutationemia

### *Studio gemellare*

L. Gedda, R. Tatarelli

Il glutatione è un tripeptide solforato che trova la sua specifica funzione quale sistema ossido-riduttivo a servizio della respirazione tissulare anaerobia, grazie appunto alla sua doppia presentazione nelle fasi ridotta (GSH) e ossidata (GSSG), che costituiscono, completandosi, il « sistema glutationemico ». Esso è presente nel protoplasma delle cellule viventi dei tessuti e del sangue.

Il fenomeno dell'isoglutationemia gemellare fu rilevato da uno di noi (Gedda, 1943) in una coppia di gemelli MZ, in cui il dosaggio del glutatione ematico dimostrò un'esatta corrispondenza nei due individui; i dosaggi eseguiti su di una coppia qualunque di individui non gemelli non dettero mai cifre identiche.

Altre ricerche gemellari (Gedda e Guarino, 1943, 1945; Gedda e Benigni, 1947), effettuate oltre che sull'uomo anche sul coniglio, dimostrarono che vi erano alcuni casi di discordanza glutationemica (anisoglutationemia), che però nei casi di coppie MZ era soltanto transitoria, e cioè si trasformava, in successive analisi a distanza di tempo, in una isoglutationemia. In un ristretto numero di coppie DZ l'isoglutationemia non poté mai essere dimostrata.

La necessità di riprendere l'argomento dell'isoglutationemia gemellare deriva dal dover verificare il metodo precedentemente impiegato (metodo tritometrico di Binet e Weller) usando metodi diversi e migliori, e fornire una quantificazione possibilmente più precisa del controllo genetico del fenomeno in esame.

Il campione gemellare, composto da due serie di coppie gemellari MZ e DZ, è stato scelto tra le coppie assistite nell'Istituto Mendel il più casualmente possibile per quanto riguarda sesso ed età. Per ogni coppia si è verificata la diagnosi di zigotismo controllando i più comuni criteri delle concordanze o discordanze morfologiche e soprattutto la determinazione dei gruppi sanguigni.

Le determinazioni glutationemiche sono state eseguite con due metodi, l'uno di titolazione *iodometrico* (Woodward e Fry, 1932), l'altro *spettrofotometrico mediante allossana* (Dohan e Woodward, 1939; Kay e Murfitt, 1960).

Con il primo metodo (simile a quello di Binet e Weller usato nelle ricerche precedenti) abbiamo determinato solamente il GSH.

Al fine di ridurre al minimo l'errore sperimentale, per ciascuna determinazione glutathionemica il procedimento è stato eseguito contemporaneamente su due campioni dello stesso sangue; la media aritmetica dei due risultati ottenuti si è considerata come dato definitivo.

Al primo esame dei risultati (Tab. I) si mette subito in evidenza il diverso andamento del fenomeno della glutathionemia nelle due serie zigotiche. Nella serie MZ,

Tab. I. Risultati ottenuti con ambedue i metodi (mg/100 ml di sangue)

MZ	M. iodometrico	M. spettrofotometrico			DZ	M. iodometrico	M. spettrofotometrico		
	GSH	GSH	GSSG	GSH + GSSG		GSH	GSH	GSSG	GSH + GSSG
263		32.4 32.0			640		30.7 23.4		
5943		23.8 25.3 25.2			9294		22.8 22.0	5.7 6.0	28.5 28.0
5387		27.5 28.2	7.9 8.7	35.4 36.9	5498	21.9 41.9	25.4 35.2	3.1 3.6	28.5 38.9
6912	26.3 28.5	25.3 29.9	3.9 4.5	29.2 34.4	5109	26.8 24.3	24.5 20.4	2.3 8.7	26.8 29.1
8685	39.9 38.3	36.7 37.2	15.8 13.6	52.5 50.8	890	21.5 24.5	23.2 26.7	1.4 2.3	24.6 28.0
9326	28.0 29.5	30.1 30.1	1.4 1.5	31.5 31.6	1135	24.6 23.0	24.7 22.8	5.8 3.6	30.5 26.5
6323	31.7 35.5	31.0 35.1	2.8 3.1	33.8 38.2	9352	27.9 24.0	28.3 24.5	3.9 1.9	32.2 26.4
5235	25.4 26.7	24.5 24.1	3.4 4.9	27.9 29.0	9144	24.7 24.6	25.0 23.8	4.3 6.2	29.3 30.0
225	30.7 29.4	28.8 28.8	0.9 1.7	29.7 30.5					

due coppie (9326 e 225) presentano valori assolutamente identici del GSH ottenuto spettrofotometricamente; nella stessa serie MZ appare inoltre un caso di trigemine (5943) che mostra valori secondo noi altamente indicativi. Nella serie DZ nessuna coppia presenta valori identici.

L'impressione iniziale è avvalorata dall'esame dei valori differenziali assoluti e della loro media aritmetica nelle due serie zigotiche (per il GSH ottenuto spettrofotometricamente: MZ 0.94; DZ 4.05) come risulta dalle Tabelle II e III.

Tuttavia i valori finora considerati non sono molto rappresentativi, in quanto risentono della notevole variabilità che presenta la grandezza del fenomeno glutattonemia in esame.

Perciò si sono presi in considerazione gli scarti relativi dei valori assoluti della glutattonemia in ciascuna coppia gemellare rispetto alla media aritmetica degli stessi valori assoluti.

Degli scarti relativi ottenuti per i due tipi di gemelli si è calcolata la media aritmetica. Essa è risultata pari a 0.042 per la serie MZ e a 0.153 per la serie DZ, sempre per quanto riguarda i valori del GSH ottenuti con il metodo spettrofotometrico (Tabelle II e III).

Tab. II \*

MZ	M. iodometrico		M. spettrofotometrico			
	GSH		GSH		GSH + GSSG	
	$x' - x''$	$\frac{x' - x''}{x' + x''}$ 2	$x' - x''$	$\frac{x' - x''}{x' + x''}$ 2	$x' - x''$	$\frac{x' - x''}{x' + x''}$ 2
263			0.4	0.012		
5943**			1.4	0.056		
5943**			1.3	0.052		
5943**			0.1	0.003		
5387			0.7	0.025	1.5	0.041
6912	2.2	0.080	4.6	0.166	5.2	0.163
8685	1.6	0.040	0.5	0.013	1.7	0.032
9326	1.5	0.052	0.0	0.000	0.1	0.031
6323	3.8	0.113	4.1	0.124	4.4	0.122
5235	1.3	0.049	0.4	0.016	1.1	0.038
225	1.3	0.043	0.0	0.000	0.8	0.026
Media	1.9	0.063	0.9	0.042	2.1	0.065

\*  $x'$  = valore glutattonemico maggiore in ciascuna coppia;  
 $x''$  = valore glutattonemico minore in ciascuna coppia;  
 $x' - x''$  = scarto tra i due valori in ciascuna coppia;  
 $\frac{x' + x''}{2}$  = media aritmetica dei due valori in ciascuna coppia.

\*\* Queste trigemine MZ sono state considerate, nelle tre possibili combinazioni, come coppie gemellari.

I dati riassunti nella Fig. 1 permettono una duplice serie di considerazioni.

In primo luogo, è possibile stimare l'influenza dell'eredità sul fenomeno glutattonemia, nel senso che l'applicazione dell'indice di eredità conduce a una stima di H pari al 65%, per il GSH valutato iodometricamente; al 72%, per il GSH valutato spettrofotometricamente; e al 49%, per il glutattonione totale (GSH + GSSG).

Tab. III

DZ	M. iodometrico		M. spettrofotometrico			
	GSH		GSH		GSH + GSSG	
	$x' - x''$	$\frac{x' - x''}{x' + x''}$	$x' - x''$	$\frac{x' - x''}{x' + x''}$	$x' - x''$	$\frac{x' - x''}{x' + x''}$
		2		2		2
640			7.3	0.269		
9294			0.8	0.035	0.5	0.017
5498	20.0	0.627	9.8	0.323	10.4	0.308
5109	2.5	0.097	4.1	0.182	2.3	0.082
890	3.0	0.130	3.5	0.140	3.4	0.129
1135	1.6	0.063	1.9	0.080	4.0	0.140
9352	3.9	0.150	3.8	0.143	5.8	0.198
9144	0.1	0.004	1.2	0.049	0.7	0.023
Media	5.2	0.178	4.0	0.153	3.9	0.128

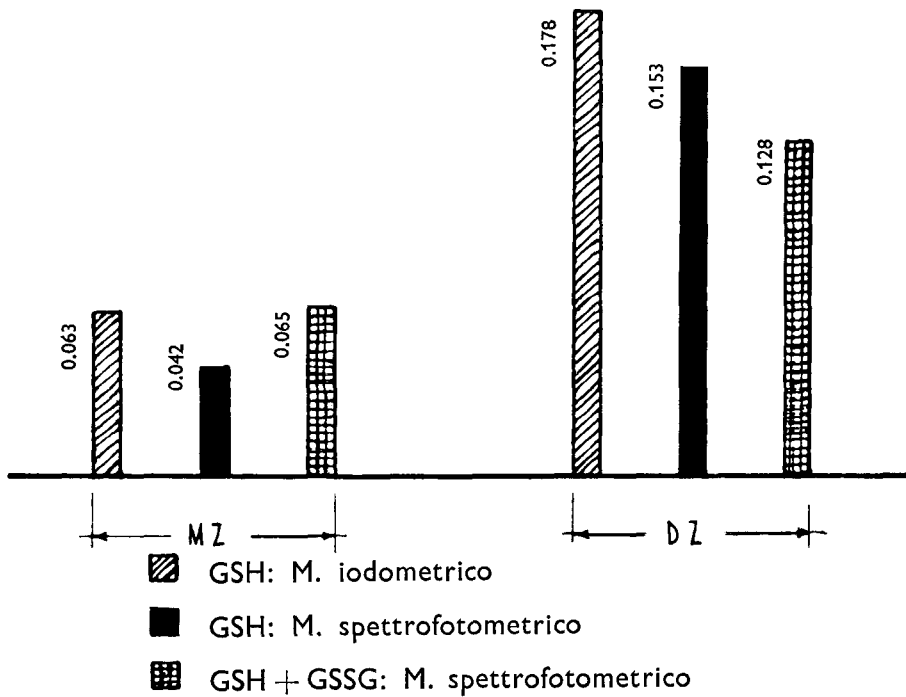


Fig. 1

In secondo luogo, se si calcolano i limiti di variabilità delle stime, si ottengono rispettivamente 11 e 10 per il GSH determinato con i due metodi. Questi valori permettono di affermare la pratica coincidenza delle stime ottenute iodometricamente e spettrofotometricamente, nel senso che il maggior valore dell'eredità, ottenuto attraverso la valutazione spettrofotometrica, differisce dall'altro solo per la sua maggiore sensibilità.

Il contributo ereditario della glutationemia totale sembrerebbe assumere una propria fisionomia, in quanto l'errore della stima (12) è il massimo rilevato; ciò in conseguenza della numerosità inferiore del campione su cui si è realizzata la determinazione del glutatione totale.

### Bibliografia

- DOHAN J. S., WOODWARD G. E. (1939). Electrolytic reduction and determination of oxidized glutathione. *J. Biol. Chem.*, **129**: 393.
- GEDDA L. (1943). Il fenomeno dell'isoglutationemia gemellare e le sue applicazioni. *Minerva Med.*, **2**: 29.
- GUARINO D. (1943). Ulteriori conoscenze intorno al fenomeno della isoglutationemia gemellare. *Atti Accad. Med.*, **69**: 7.
- — (1945). Intorno allo studio della glutationemia presso 115 casi di gemellanza umana. *Minerva Med.*, **1**: 21.
- BENIGNI A. (1947). Nuove esperienze intorno al fenomeno dell'isoglutationemia gemellare. *Arch. Sci. Med. (Torino)*, **83**: 2.
- KAY W. W., MURFITT K. C. (1960). The determination of blood glutathione. *Biochem. J.*, **74**: 203.
- WOODWARD G. E., FRY E. G. (1932). The determination of blood glutathione. *J. Biol. Chem.*, **97**: 465.

Prof. L. GEDDA, Istituto di Genetica Medica e Gemellologia Gregorio Mendel, Piazza Galeno 5, 00161 Roma, Italy.