

ACTA GENETICAE MEDICAE ET GEMELLOLOGIAE

Volumen XIII

N. 1 - Ianuarii 1964

Istituto di Genetica Medica dell'Università di Roma - Italia
(presso l'Istituto di Genetica Medica e Gemellologia G. Mendel)
Direttore: Prof. Luigi Gedda

Studio della Coagulazione normale del Sangue nei Gemelli con il Metodo tromboelastografico

L. Gedda, D. Poggi

Principi della ricerca

È molto antica la conoscenza che certe malattie che compromettono la coagulazione del sangue possono essere ereditarie. Furono specialmente le osservazioni che si riferivano alle emorragie in occasione della circoncisione che hanno sottolineato da tempi remoti la presenza di famiglie in cui queste emorragie sono così frequenti e gravi da sconsigliare la pratica di tale rito. L'importanza indicativa di questo riscontro esclusivo del sesso maschile è di chiara evidenza.

La medicina scientifica ha sempre riconosciuto nelle malattie della coagulazione un caso paradigmatico dell'eredità patologica nell'uomo e le conoscenze relative sono venute arricchendosi notevolmente negli ultimi tempi essendosi la scienza dell'eredità organizzata in disciplina anche nell'ambito delle scienze mediche.

Il principio stesso che considera i fenomeni patologici ereditari come derivati da azioni mutagene e queste come modificazioni di strutture geniche normali, induce a pensare che la normalità delle funzioni coagulative sia controllata da un genotipo specifico che l'evento mutativo può alterare.

Ma non è questa una prova e soprattutto non è un'analisi genetistica del fenomeno normale quale si rende necessaria per studiare più intimamente il meccanismo fenogenetico delle malattie della coagulazione.

L'argomento dell'eredità, come fattore causale dei fenomeni coagulativi nel caso della normalità fisiologica, non è finora stato affrontato nè in sede genealogica, nè popolazionistica, nè gemellare.

In relazione all'alto valore probante che una ricerca gemellare può rivestire e alla relativa facilità con la quale l'Istituto Mendel può disporre di una serie sperimentale di coppie di gemelli dei due zigotismi, si è pensato di affrontare, su questo materiale, l'argomento della causalità ereditaria normale dei fenomeni coagulativi.

Descrizione del materiale e metodo della ricerca

Il nostro materiale consta di 80 coppie di gemelli delle quali 40 monozigotiche (20 coppie di maschi e 20 di femmine) e 40 dizigotiche (20 coppie di maschi e 20 di femmine), ciò che, dal punto di vista statistico, rappresenta un esperimento a « blocchi completi »; il bilanciamento della sex ratio nel materiale sperimentale mira ad escludere l'influenza del sesso come causa d'errore.

I soggetti, di età variata fra i 7 e i 14 anni, erano tutti in buone condizioni di salute e vivevano nel proprio ambito familiare.

La distribuzione di tale materiale in classi di età, sesso e zigotismo, risulta dalla Tabella 1.

Tab. 1. Descrizione del materiale secondo lo zigotismo, il sesso e l'età

Età	MZ			DZ			MZ + DZ		Totale MZ + DZ
	♂♂	♀♀	Tot.	♂♂	♀♀	Tot.	♂♂	♀♀	
7	4	2	6	5	4	9	9	6	15
8	3	3	6	—	4	4	3	7	10
9	2	2	4	4	2	6	6	4	10
10	6	3	9	4	4	8	10	7	17
11	3	6	9	3	2	5	6	8	14
12	1	2	3	1	3	4	2	5	7
13	—	1	1	2	—	2	2	1	3
14	1	1	2	1	1	2	2	2	4
Tot.	20	20	40	20	20	40	40	40	80

Il metodo usato per studiare il comportamento della coagulazione è stato quello della tromboelastografia.

Il tromboelastografo Hellige, da noi adoperato, offre la possibilità di analizzare globalmente il decorso della coagulazione e di registrarne graficamente alcune fasi.

Ideato da Harteht, il tromboelastografo è schematicamente costituito da una celletta cilindrica (diametro cm. 8) e da un pistone di minor diametro (mm. 6). Tali elementi in acciaio speciale non bagnabile, con potenziale elettrico di superficie uguale a zero, presentano delle superfici ben levigate così da permettere una perfetta adesione del coagulo. Il pistone viene tenuto equidistante sia dalle pareti laterali

che dal fondo della celletta in modo da realizzare una distribuzione delle forze elastiche uniformemente.

La vaschetta viene sottoposta, per mezzo di un motore, ad un movimento laterale di andata e ritorno. Il pistone è sostenuto da un filo a torsione portante uno specchio che riflette un raggio di luce sopra una carta fotosensibile scorrevole e sopra una spia esterna.

Nella intercapedine tra vaschetta e pistone si mette il plasma ricalcificato che serve per la determinazione tromboelastografica.

Finchè i primi filamenti di fibrina non si sono formati e non aderiscono alle pareti della vaschetta e del pistone, i movimenti della vaschetta non si trasmettono al pistone nè da questo allo specchietto ed alla carta sensibile attraverso il filo di torsione.

Non appena i primi filamenti di fibrina si sono formati ed aderiscono alla vaschetta ed al pistone, i movimenti della vaschetta vengono trasmessi al filo di torsione ed alla carta sensibile. La carta registra soprattutto le posizioni estreme dell'escursione rotatoria del pistone prodotta dai movimenti rotatori della vaschetta con una serie di punti che tracciano due linee continue che divaricano in modo caratteristico dal tratto unico iniziale.

I prelievi di sangue per l'esecuzione della ricerca vennero effettuati alla piega del gomito la mattina a digiuno. Furono usate siringhe siliconate, onde evitare il contatto del sangue con superfici bagnabili e la conseguente lisi piastrinica. Egualmente siliconate erano le provette e le pipette che furono usate nelle operazioni successive. Il sangue venne prelevato con l'aggiunta di ossalato di sodio 0,1 M (1,34%), nella proporzione di una parte di anticoagulante su 9 parti di sangue. Si utilizzarono per la ricerca solo i prelievi perfettamente riusciti in entrambi i membri della coppia gemellare.

L'esame tromboelastografico fu effettuato su plasma piastrinico ottenuto in condizioni standard, mediante centrifugazione a 1.000 giri per cinque minuti. Nella vaschetta del tromboelastografo venivano posti 0,25 cc. di plasma ottenuto nella maniera descritta che furono, dopo alcuni minuti, ricalcificati con 0,10 cc. di cloruro di calcio all'1,29%; riempita la vaschetta ed abbassato il pistone, si ricopriva il plasma in esame con olio di paraffina.

I risultati delle determinazioni effettuate in triplo, furono letti direttamente sulla scala millimetrata posta nella parte anteriore dell'apparecchio, e registrati graficamente per mezzo del tracciato chimografico.

Di ogni tracciato tromboelastografico noi abbiamo considerato:

1. *Il tempo di reazione (r)* valutato in mm. e rappresentato dall'unica linea retta iniziale fino al punto in cui le linee che ne dipartono distano tra loro 1 mm.;

2. *Il tempo di formazione del coagulo (k)*, valutato in mm. con il quale si misura la distanza che intercorre tra la fine di r ed il punto in cui le linee divaricate distano tra loro 20 mm.;

3. *L'ampiezza massima (ma)* valutata in mm. che misura la massima distanza raggiunta dalle linee del tromboelastogramma;

Dall'ampiezza massima siamo partiti per calcolare *il modulo di elasticità* (ε) in rapporto con l'elasticità del coagulo per mezzo della formula:

$$\varepsilon = \frac{ma \times 100}{100 - ma}$$

Inoltre, per ottenere una valutazione complessiva del tromboelastogramma, abbiamo considerato anche l'*indice tromboelastografico* (i.t.) proposto da Cappelletti che consiste nel quoziente:

$$\text{i. t.} = \frac{r + k}{ma}$$

Per esemplificare la metodica del nostro rilievo nella sua fase finale documentaria, pubblichiamo quattro tracciati doppi (cfr. Figg. 1, 2, 3, 4) che rappresentano il tracciato tromboelastografico di 8 individui gemelli appartenenti a due coppie MZ e a due coppie DZ. A colpo d'occhio è possibile apprezzare in questi tracciati la maggiore rassomiglianza che distingue i tracciati di una coppia MZ nei confronti di una maggiore differenza che caratterizza i tracciati delle coppie DZ.

Le elaborazioni statistiche del materiale sono state realizzate mediante la collaborazione di Gianni Brenci dell'Istituto Mendel che desideriamo ringraziare.

I nostri risultati

Nelle Tabelle 2, 3, 4, 5 vengono esposte le Informazioni Generali e i Valori Tromboelastografici raccolti presso le singole coppie di gemelli MZ e DZ composti rispettivamente di due maschi oppure di due femmine.

Nelle successive Tabelle 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 i dati vengono ripresi ed elaborati secondo le singole voci tromboelastografiche e secondo il tipo di zigtismo: precisamente le Tabelle 6 e 7 si riferiscono al *tempo* (r), le Tabelle 8 e 9 al *tempo* (k), le Tabelle 10 e 11 al *valore* (ma), le Tabelle 12 e 13 al *modulo di elasticità* (ε), e le Tabelle 14 e 15 all'*indice tromboelastografico*.

In ogni Tabella dalla 6 alla 15 abbiamo elencato il valore sperimentale individuale nella finca a_i che riguarda il primo gemello, nella finca b_i che riguarda il secondo gemello. Nella finca x_1 viene poi indicata la differenza standard di ogni coppia dai valori medi calcolata secondo la formula:

$$x_1 = \frac{a_i - b_i}{(a_i + b_i) \frac{1}{2}} \times 100$$

Alla Tabella 16 vengono consegnati i risultati complessivi della elaborazione dei dati esposti nelle precedenti Tabelle consistenti nella sommatoria dei dati di coppia onde ottenere per ogni Tabella la media sperimentale (\bar{x}) e la varianza di tale media (D), inoltre nella ricerca della significatività del confronto fra i dati di opposto zigtismo nei riguardi di ogni voce. Tale significatività viene apprezzata mediante

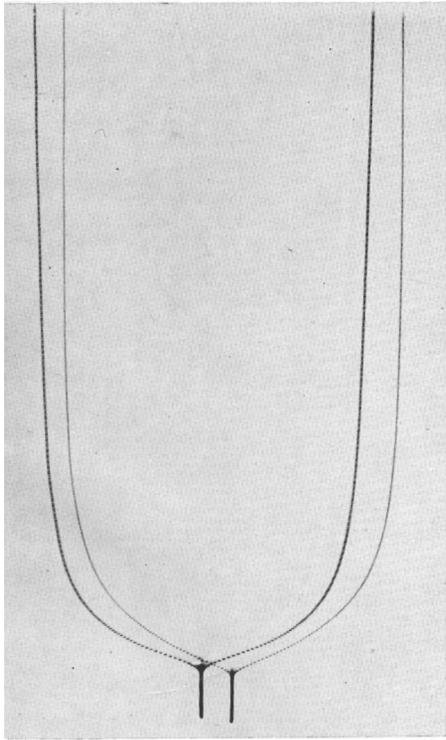


Fig. 1. Tracciato tromboelastografico della coppia MZ ♂ 17

r	k	ma	ε	i.t.
7	4	59	143,90	5,36
7	4	60	150,00	5,45

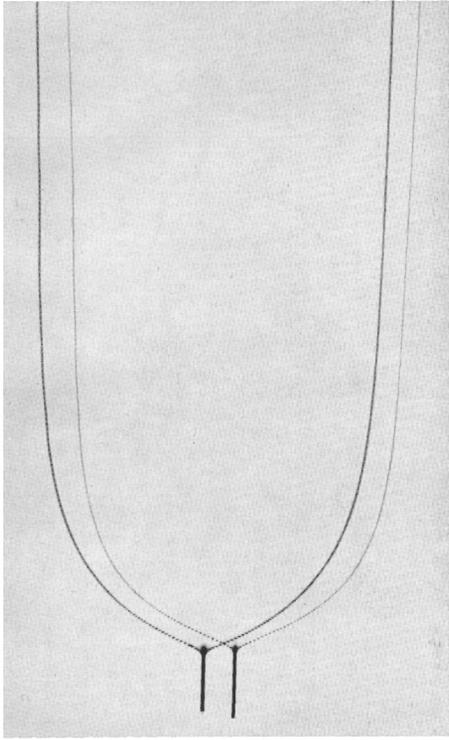


Fig. 2. Tracciato tromboelastografico della coppia MZ ♀ 20

r	k	ma	ε	i.t.
9,5	8	61,5	159,74	3,51
9	8	61	156,41	3,58

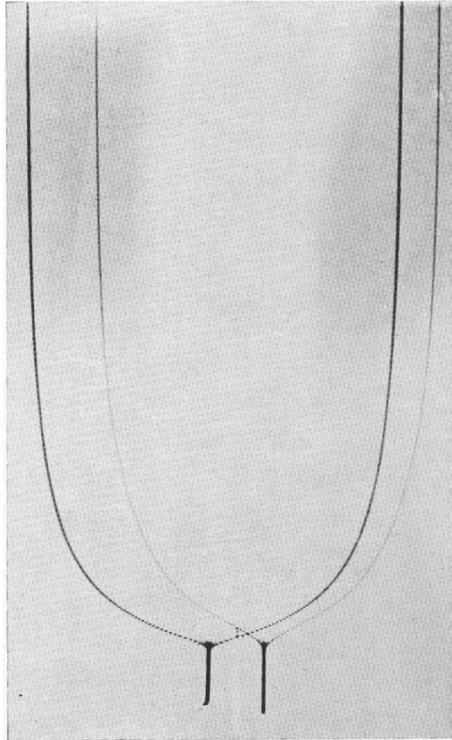


Fig. 3. Tracciato tromboelastografico della coppia DZ ♂ 17

r	k	ma	ε	i.t.
8	7	65	185,71	4,33
8,5	7	62	163,15	4,00

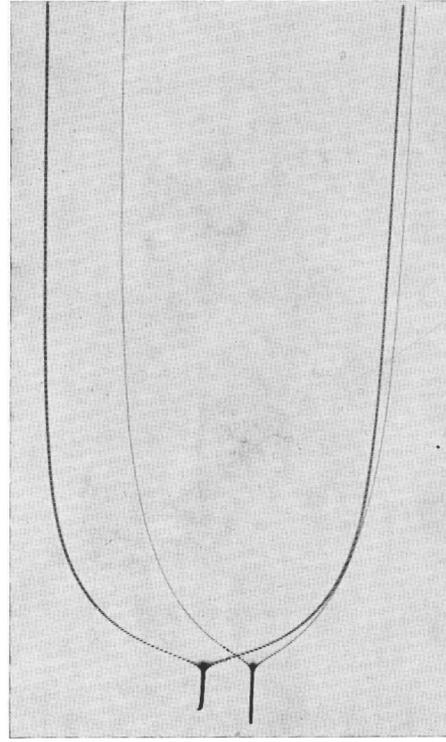


Fig. 4. Tracciato tromboelastografico della coppia DZ ♀ 1

r	k	ma	ε	i.t.
7	8	55	122,22	3,66
8	7	53	112,76	3,53

Tab. 2. Coppie MZ maschili: informazioni generali e valori tromboelastografici

Numero progr.	Numero Cartoteca	Cognome e nome	Età	Tempo r	Tempo k	Valore ma	Modulo di elasticità	Indice tromboelastografico
							$\varepsilon = \frac{100 + ma}{100 - ma}$	i.t. = $\frac{ma}{r + k}$
1	66	Ru. Gaspare Carlo	10	9	7	41	69,49	2,56
				9	7	40	66,66	2,50
2	6107	Al. Claudio Vincenzo	6	4	8	46	85,18	3,83
				4	8	46	85,18	3,83
3	218	Sa. Vincenzo Claudio	9	6	5	43	75,43	3,90
				6	5	43	75,43	3,90
4	2	Di. Aldo Renzo	14	6	7	48	92,30	3,69
				6	7	48	92,30	3,69
5	5894	Vi. Claudio Agostino	12	6,5	5	54	117,39	4,69
				6,5	5,5	54	117,39	4,50
6	382	Am. Bruno Roberto	11	5	4	52,5	110,52	5,83
				5,5	4	50,5	102,02	5,31
7	5789	Ce. Mauro Marco	7	7	4	58	138,09	5,27
				7	4	59	143,90	5,36
8	5746	Ca. Giuseppe Giulio	10	7	7	64	177,77	4,57
				7	6	64	177,77	4,92
9	1150	Li. Alessandro Leonardo	11	9,5	4	62,5	166,66	4,62
				8,5	4	60,5	153,16	4,84
10	5346	Sa. Vittorio Silvano	10	5,5	5,5	53	112,76	4,81
				5	6	51,5	106,18	4,68
11	5475	Sp. Guido Renato	10	8,5	7	56,5	129,88	3,64
				8,5	7	57,5	135,29	3,70
12	416	Sp. Luigi Luciano	9	6,5	7	48	92,30	3,55
				6,5	7	48,5	94,17	3,59
13	6155	Ma. Gianfranco Giancarlo	11	9	7	52	108,33	4,72
				9	7	52	108,33	4,72
14	1181	Gi. Armando Filippo	8	7,5	7	58	138,09	4,00
				7,5	7	58	138,09	4,00
15	5348	Bo. Antonio Massimo	7	9	4	48,5	94,17	3,73
				9,5	4,5	48,5	94,17	3,73
16	927	Di. Antonio Aldo	8	6,5	7	51	104,08	3,77
				6,5	7	52	108,33	3,85
17	648	Be. Maurizio Riccardo	7	7	4	59	143,90	5,36
				7	4	60	150,00	5,45
18	230	Fr. Massimo Dario	8	9	7,5	48	92,30	2,90
				8,5	7	48,5	94,17	3,12
19	622	Ma. Aldo Bruno	10	9	8	61,5	159,74	3,61
				9	8	60	150,00	3,52
20	5410	Se. Giancarlo Marcello	10	9	8,5	63	170,27	3,60
				10	8	63,5	173,97	3,52

Tab. 3. Coppie MZ femminili: informazioni generali e valori tromboelastografici

Numero progr.	Numero Cartoteca	Cognome e nome	Età	Tempo r	Tempo k	Valore ma	Modulo	Indice
							di elasticità $\epsilon = \frac{100 \times ma}{100 - ma}$	tromboelastografico i.t. = $\frac{ma}{r + k}$
1	6102	Zo. Elvira	7	8	6	42	72,41	3,00
				8	6	43	75,43	3,07
2	5897	To. Concetta	11	6	6	43	75,43	3,58
				6	6,5	43,5	76,99	3,48
3	638	Bo. Orietta	8	5	4	62	163,15	6,88
				5	4	62	163,15	6,88
4	5736	Fa. Paola	14	7,5	7	53	112,76	3,65
				7	7	53	112,76	3,78
5	6029	Ne. Silvana	12	7	6	49	96,07	3,76
				7	6	51	104,08	3,92
6	1038	De. Elena	11	6	5,5	60	150,00	5,21
				6	5,5	59	143,90	5,13
7	714	Do. Mirella	11	6	5	51	104,08	4,63
				6,5	5	51,5	106,18	4,47
8	166	Mo. Nicoletta	8	9	6	47	88,67	3,13
				8,5	6,5	47	88,67	3,13
9	1231	Sa. Assunta	9	10	7	54	117,39	3,17
				9,5	7	53	112,76	3,21
10	5334	D'A. Annarita	7	6	8	54	117,39	3,85
				6	8	54	117,39	3,85
11	5702	Di. Nadia	10	7	5	59	143,90	4,91
				7	5	59	143,90	4,91
12	155	To. Annamaria	11	6,5	6	56	127,27	4,48
				7,5	6	57,5	135,29	4,25
13	5128	Mi. Maria	11	8	5	54	117,39	4,15
				8,5	4	55,5	124,71	4,44
14	264	Fo. Paola	13	8	7	49,5	98,01	3,30
				8	6,5	49,5	98,01	3,41
15	1189	Sf. Serafina	10	7	6	50	100,00	3,84
				7	6	50	100,00	3,84
16	1055	Ch. Clelia	12	6,5	5	48	92,30	4,17
				6	5	47	88,67	4,27
17	149	Ba. Giuliana	11	6	5	52,5	110,52	4,77
				6	5	52,5	110,52	4,77
18	5145	Za. Giuseppina	8	8,5	6	57	132,55	3,93
				8,5	6	56	127,27	3,86
19	246	Pu. Rossana	9	9	8,5	62	163,15	3,54
				9	8	63,5	173,97	3,73
20	350	Na. Anna	10	9,5	8	61,5	159,74	3,51
				9	8	61	156,41	3,58

Tab. 4. Coppie DZ maschili: informazioni generali e valori tromboelastografici

Numero progr.	Numero Cartoteca	Cognome e nome	Età	Tempo r	Tempo k	Valore ma	Modulo di elasticità	Indice tromboelastografico
							$\varepsilon = \frac{100 \times ma}{100 - ma}$	
1	6161	Fr. Giulio Piero	7	8	7	45	81,81	3,00
				7	7	43	75,43	3,07
2	1065	Ga. Maurizio Claudio	10	8	6	45	81,81	3,21
				8	6	45	81,81	3,21
3	5944	Mo. Renzo Roberto	11	9,5	8	41	69,49	2,34
				9	7,5	40	66,66	2,42
4	504	Ro. Dante Massimo	12	6,5	4	55	122,22	5,23
				6	5	55	122,22	5,00
5	326	Sp. Sergio Giuseppe	14	7,5	6	53	112,76	3,92
				7	6,5	49	96,07	3,62
6	392	Ca. Umberto Enrico	7	7	6,5	49	96,07	3,62
				7	6,5	50,5	102,02	3,74
7	384	Bo. Gianni Franco	7	6,5	7	52	108,33	3,85
				7	7	52	108,33	3,71
8	764	Ba. Claudio Stefano	9	8	6,5	55	122,22	3,79
				8	6	57,5	135,29	4,10
9	5350	To. Marcello Roberto	9	8	5	58	138,09	4,46
				8,5	6,5	58	138,09	3,86
10	6079	Na. Sergio Antonio	7	8	6	47	88,67	3,35
				7,5	6	47,5	90,47	3,51
11	766	Ga. Mauro Remo	11	9	6,5	51	104,08	3,29
				9	6	51,5	106,18	3,43
12	6169	Va. Antonio Aldo	9	5	5	49	96,07	4,90
				6	5	49	96,07	4,45
13	448	Ma. Pietro Paolo	7	6	4,5	52	108,33	4,95
				6	4,5	53	112,76	5,04
14	480	Gi. Paolo Luigi	9	6	4	59,5	146,91	5,95
				6	5	58,5	140,96	5,31
15	982	Ge. Aldo Loreto	10	5,5	5,5	54	117,39	4,90
				5	5,5	54	117,39	5,14
16	881	Ci. Emanuele Pietro	13	8	6	56	127,27	4,00
				8	6	57	132,55	4,07
17	5204	Pe. Giovanni Franco	10	8	7	65	185,71	4,33
				8,5	7	62	163,15	4,00
18	5194	Mo. Angelo Mario	10	8	6,5	61	156,41	4,20
				8	6,5	60,5	153,16	4,17
19	579	Lo. Roberto Tonino	11	7,5	7,5	59,5	146,91	3,96
				6	7,5	60	150,00	4,44
20	190	To. Riccardo Carlo	13	8	7,5	62,5	166,66	4,03
				7	8	62	163,15	4,13

Tab. 5. Coppie DZ femminili: informazioni generali e valori tromboelastografici

Numero progr.	Numero Cartoteca	Cognome e nome	Età	Tempo r	Tempo k	Valore ma	Modulo di elasticità	Indice tromboelastografico
							$\epsilon = \frac{100 \times ma}{100 - ma}$	i.t. = $\frac{ma}{r + k}$
1	5171	Pa. Maria Antonella	14	8	7	53	112,76	3,53
				7	8	55	122,22	3,66
2	440	La. Ornella Marina	7	7,5	5,5	42	72,41	3,23
				7,5	6	46,5	86,91	3,44
3	6091	Le. Alessandra Graziella	9	7,5	5,5	52	108,33	4,00
				7,5	5,5	51	104,08	3,92
4	5669	In. Rossella Simonetta	8	5	5	47	88,67	4,70
				5,5	6	50	100,00	4,34
5	5188	Ri. Patrizia Stefania	8	6	6	52,5	110,52	4,37
				6	6	53	112,76	4,41
6	5632	An. Rossana Mirella	10	7	7	51	104,08	3,64
				7	6,5	51	104,08	3,77
7	767	La. Lidia Irene	7	9	5	50	100,00	3,57
				8	5	50,5	102,02	3,88
8	560	Co. Bruna Anna	7	6	6	55	122,22	4,58
				6	5,5	54	117,39	4,69
9	189	Lu. Wanda Clara	8	8	5	60	150,00	4,61
				8,5	5,5	60	150,00	4,28
10	5991	Fr. Anna Maria	7	9	6,5	55,5	124,71	3,58
				9	6,5	55	122,22	3,54
11	5671	Ca. Concetta Anna	10	8	4,5	58	138,09	4,64
				8	4	58	138,09	4,83
12	5255	Sa. Elena Irene	9	6	8	52	108,33	3,71
				6,5	8	51	104,08	3,51
13	436	Tr. Paola Patrizia	8	7,5	5	49,5	98,01	3,96
				7	5,5	50	100,00	4,00
14	854	Di. Giuseppina Paola	11	6,5	5	57	132,55	4,95
				6,5	5	55,5	124,71	4,02
15	1013	Cu. Paola Teresa	10	9	5,5	58,5	140,96	4,03
				8	6	58	138,09	4,14
16	84	Va. M. Antonietta Annamaria	12	8	6	53	112,76	3,78
				8	6	53	112,76	3,78
17	354	De. Luigina Marialuisa	11	6	5,5	59	143,90	5,13
				5,5	5	59	143,90	5,61
18	829	Ce. Luciana Adriana	10	8,5	6,5	53	112,76	3,53
				8,5	8	55	122,22	3,79
19	5338	Sc. Nadia Laura	12	8	8	51,5	106,18	3,21
				8	8	50	100,00	3,12
20	1034	Lo. Lorenza Paola	12	7	8	54	117,39	3,60
				8	8	54	117,39	3,37

Tab. 6. Valori sperimentali e differenze intracoppia standardizzate del tempo r nelle coppie MZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a_i	b_i	x_i	a_i	b_i	x_i
1	9	9	0	8	8	0
2	4	4	0	6	6	0
3	6	6	0	5	5	0
4	6	6	0	7,5	7	6,9
5	6,5	6,5	0	7	7	0
6	5	5,5	9,5	6	6	0
7	7	7	0	6	6,5	8,0
8	7	7	0	9	8,5	5,7
9	9,5	8,5	11,1	10	9,5	5,1
10	5,5	5	9,5	6	6	0
11	8,5	8,5	0	7	7	0
12	6,5	6,5	0	6,5	7,5	4,3
13	9	9	0	8	8,5	6,1
14	7,5	7,5	0	8	8	0
15	9	9,5	5,4	7	7	0
16	6,5	6,5	0	6,5	6	8,0
17	7	7	0	6	6	0
18	9	8,5	5,7	8,5	8,5	0
19	9	9	0	9	9	0
20	9	10	10,5	9,5	9	5,4

Tab. 7. Valori sperimentali e differenze intracoppia standardizzate del tempo r nelle coppie DZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a_i	b_i	x_i	a_i	b_i	x_i
1	8	7	13,3	8	7	13,3
2	8	8	0	7,5	7,5	0
3	9,5	9	5,4	7,5	7,5	0
4	6,5	6	8,0	5	5,5	9,5
5	7,5	7	6,9	6	6	0
6	7	7	0	7	7	0
7	6,5	7	7,4	9	8	11,8
8	8	8	0	6	6	0
9	8	8,5	6,0	8	8,5	6,1
10	8	7,5	6,4	9	9	0
11	9	9	0	8	8	0
12	5	6	18,2	6	6,5	8,0
13	6	6	0	7,5	7	6,9
14	6	6	0	6,5	6,5	0
15	5,5	5	9,5	9	8	11,8
16	8	8	0	8	8	0
17	8	8,5	6,1	6	5,5	8,7
18	8	8	0	8,5	8,5	0
19	7,5	6	22,2	8	8	0
20	8	7	13,3	7	8	13,3

Tab. 8. Valori sperimentali e differenze intracoppia standardizzate del tempo k nelle coppie MZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a_i	b_i	x_i	a_i	b_i	x_i
1	7	7	0	6	6	0
2	8	8	0	6	6,5	8,0
3	5	5	0	4	4	0
4	7	7	0	7	7	0
5	5	5,5	9,5	6	6	0
6	4	4	0	5,5	5,5	0
7	4	4	0	5	5	0
8	7	6	15,4	6	6,5	8,0
9	4	4	0	7	7	0
10	5,5	6	8,7	8	8	0
11	7	7	0	5	5	0
12	7	7	0	6	6	0
13	7	7	0	5	4	22,2
14	7	7	0	7	6,5	7,4
15	4	4,5	11,8	6	6	0
16	7	7	0	5	5	0
17	4	4	0	5	5	0
18	7,5	7	6,9	6	6	0
19	8	8	0	8,5	8	6,1
20	8,5	8	6,1	8	8	0

Tab. 9. Valori sperimentali e differenze intracoppia standardizzate del tempo k nelle coppie DZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a_i	b_i	x_i	a_i	b_i	x_i
1	7	7	0	7	8	13,3
2	6	6	0	5,5	6	8,7
3	8	7,5	6,4	5,5	5,5	0
4	5	4	22,2	5	6	18,2
5	6	6,5	8,0	6	6	0
6	6,5	6,5	0	7	6,5	7,4
7	7	7	0	5	5	0
8	6,5	6	8,0	6	5,5	8,7
9	5	6,5	26,1	5	5,5	9,5
10	6	6	0	6,5	6,5	0
11	6,5	6	8,0	4,5	4	11,8
12	5	5	0	8	8	0
13	4,5	4,5	0	5	5,5	9,5
14	4	5	22,2	5	5	0
15	5,5	5,5	0	5,5	6	8,7
16	6	6	0	6	6	0
17	7	7	0	5,5	5	9,5
18	6,5	6,5	0	6,5	8	20,7
19	7,5	7,5	0	8	8	0
20	7,5	8	6,4	8	8	0

Tab. 10. Valori sperimentali e differenze intracoppia standardizzate del valore *ma* nelle coppie MZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a_1	b_1	x_1	a_1	b_1	x_1
1	41	40	2,5	42	43	2,3
2	46	46	0	43	43,5	1,1
3	43	43	0	62	62	0
4	48	48	0	53	53	0
5	54	54	0	51	49	4,0
6	52,5	50,5	3,9	60	59	1,7
7	58	59	1,7	51	51,5	1,0
8	64	64	0	47	47	0
9	62,5	60,5	3,2	54	53	1,8
10	53	51,5	2,9	54	54	0
11	56,5	57,5	1,7	59	59	0
12	48	48,5	1,0	56	57,5	2,6
13	52	52	0	54	55,5	2,7
14	58	58	0	49,5	49,5	0
15	48,5	48,5	0	50	50	0
16	51	52	1,9	48	47	2,1
17	59	60	1,7	52,5	52,5	0
18	48	48,5	1,0	57	56	1,8
19	61,5	60	2,5	62	63,5	2,4
20	63	63,5	0,8	61,5	61	0,8

Tab. 11. Valori sperimentali e differenze intracoppia standardizzate del valore *ma* nelle coppie DZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a_1	b_1	x_1	a_1	b_1	x_1
1	45	43	4,5	53	55	3,7
2	45	45	0	42	46,5	10,2
3	41	40	2,5	52	51	1,9
4	55	55	0	47	50	6,2
5	53	49	7,8	54,5	53	2,8
6	49	50,5	3,0	51	51	0
7	52	52	0	50	50,5	1,0
8	55	57,5	4,4	55	54	1,8
9	58	58	0	60	60	0
10	47	47,5	1,0	55,5	55	0,9
11	51	51,5	1,0	58	58	0
12	49	49	0	52	51	1,9
13	52	53	1,9	51,5	50	2,9
14	59,5	58,5	1,7	57	54,5	4,5
15	54	54	0	58,5	58	0,8
16	56	57	1,8	53	53	0
17	65	62	4,7	59	59	0
18	61	62,5	2,4	53	55	3,7
19	58,5	60	2,5	51,5	50	2,9
20	62,5	62	0,8	54	54	0

Tab. 12. Valori individuali e differenze intracoppia standardizzate del modulo di elasticità (ϵ) nelle coppie MZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a_i	b_i	x_i	a_i	b_i	x_i
1	69,49	66,66	4,1	72,41	75,43	5,1
2	85,18	85,18	0	75,43	76,99	2,0
3	75,43	75,43	0	163,15	163,15	0
4	92,30	92,30	0	112,76	112,76	0
5	117,39	117,39	0	104,08	96,07	8,0
6	110,52	102,02	8,0	150,00	143,90	4,1
7	138,09	143,90	4,1	104,08	106,18	2,0
8	177,77	177,77	0	88,67	88,67	0
9	166,66	153,16	8,3	117,39	112,76	3,9
10	112,76	106,18	6,0	117,39	117,39	0
11	129,88	135,29	4,1	143,90	143,90	0
12	92,30	94,17	2,0	127,27	135,29	6,1
13	108,33	108,33	0	117,39	124,71	6,0
14	138,09	138,09	0	98,01	98,01	0
15	94,17	94,17	0	100,00	100,00	0
16	104,08	108,33	4,0	92,30	88,67	4,0
17	143,90	150,00	4,1	110,52	110,52	0
18	92,30	94,17	2,0	132,55	127,27	4,1
19	159,74	150,00	6,3	163,15	173,97	6,4
20	170,27	173,97	2,1	169,74	156,41	2,1

Tab. 13. Valori individuali e differenze intracoppia standardizzate del modulo di elasticità (ϵ) nelle coppie DZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a_i	b_i	x_i	a_i	b_i	x_i
1	81,81	75,43	8,1	112,76	122,22	8,0
2	81,81	81,81	0	72,41	86,91	18,2
3	69,49	66,66	4,1	108,33	104,08	4,0
4	122,22	122,22	0	88,67	100,00	12,0
5	112,76	96,07	16,0	119,78	112,76	6,0
6	96,07	102,02	6,0	104,08	104,08	0
7	108,33	108,33	0	100,00	102,02	2,0
8	122,22	135,29	10,1	122,22	117,39	4,0
9	138,09	138,09	0	150,00	150,00	0
10	88,67	90,47	2,0	124,71	122,22	2,0
11	104,08	106,18	2,0	138,09	138,09	0
12	96,07	96,07	0	108,33	104,08	4,0
13	108,33	112,76	4,0	106,18	100,00	6,0
14	146,91	140,96	4,1	132,55	119,78	10,1
15	117,39	117,39	0	140,96	138,09	2,0
16	127,27	132,55	4,1	112,76	112,76	0
17	185,71	163,15	12,9	143,90	143,90	0
18	156,41	166,66	6,3	112,76	122,22	8,0
19	140,96	150,00	6,2	106,18	100,00	6,0
20	166,66	163,15	2,1	117,39	117,39	0

Tab. 14. Valori individuali e differenze intracoppia standardizzate dell'indice tromboelastografico nelle coppie MZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a _i	b _i	x _i	a _i	b _i	x _i
1	2,56	2,50	2,4	3,00	3,07	2,3
2	3,83	3,83	0	3,58	3,48	2,8
3	3,90	3,90	0	6,88	6,88	0
4	3,69	3,69	4,1	3,65	3,78	3,5
5	4,69	4,50	9,3	3,92	3,76	4,2
6	5,83	5,31	1,7	5,21	5,13	1,5
7	5,27	5,36	7,4	4,63	4,47	3,5
8	4,57	4,92	4,6	3,13	3,13	0
9	4,62	4,84	2,7	3,17	3,21	1,2
10	4,81	4,68	1,6	3,85	3,85	0
11	3,64	3,70	1,1	4,91	4,91	0
12	3,55	3,59	1,2	4,48	4,25	5,3
13	4,72	4,72	0	4,15	4,44	6,7
14	4,00	4,00	0	3,30	3,41	3,3
15	3,73	3,73	0	3,84	3,84	0
16	3,77	3,85	2,1	4,17	4,27	2,4
17	5,36	5,45	1,7	4,77	4,77	0
18	2,90	3,12	7,3	3,93	3,86	1,8
19	3,61	3,52	2,5	3,54	3,73	5,2
20	3,60	3,52	2,2	3,51	3,58	2,0

Tab. 15. Valori individuali e differenze intracoppia standardizzate dell'indice tromboelastografico nelle coppie DZ

Numero progr.	♂			♀		
	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.	Gemello A	Gemello B	Differenza standard.
	a _i	b _i	x _i	a _i	b _i	x _i
1	3,00	3,07	2,3	3,53	3,66	3,6
2	3,21	3,21	0	3,23	3,44	6,3
3	2,34	2,42	3,4	4,00	3,92	2,0
4	4,78	5,50	14,0	4,70	4,34	8,0
5	3,92	3,62	7,9	4,54	4,41	2,9
6	3,62	3,74	3,3	3,64	3,77	3,5
7	3,85	3,71	3,7	3,57	3,88	8,3
8	3,79	4,10	7,8	4,58	4,69	2,4
9	4,46	3,86	14,4	4,61	4,28	7,4
10	3,35	3,51	4,7	3,58	3,54	1,1
11	3,29	3,43	4,2	4,64	4,83	4,0
12	4,90	4,45	9,6	3,71	3,51	5,5
13	4,95	5,04	1,8	4,12	4,00	2,9
14	5,95	5,31	11,4	4,95	4,75	4,1
15	4,90	5,14	4,8	4,03	4,14	2,7
16	4,00	4,07	1,7	3,78	3,78	0
17	4,33	4,00	7,9	5,13	5,61	8,9
18	4,20	4,31	2,6	3,53	3,79	7,1
19	3,90	4,44	12,9	3,21	3,12	2,8
20	4,31	3,85	11,3	3,60	3,37	6,6

il calcolo della *t* di Student che risulta esposta come valore sperimentale, come valore teorico e come probabilità (*P*) che il riscontro sperimentale avvenga casualmente. Pertanto dalla Tabella 16 può dedursi la significatività del confronto reso possibile dal metodo gemellare:

per il *tempo r*, per il *tempo k*, per il *valore ma* e per il *modulo di elasticità* (ϵ) la probabilità casuale è inferiore al 5% ($P < 0,05$); per l'*indice tromboelastografico* la probabilità casuale è inferiore all'1‰ ($P < 0,001$).

In altri termini, i risultati dell'indagine gemellare sono attendibili per ogni voce di ricerca e l'attendibilità è massima per i valori dell'indice tromboelastografico (i.t.).

Ancora, dai risultati dell'indagine sulle coppie dei due zigotismi emerge che le differenze intracoppia dei valori tromboelastografici sono sensibilmente inferiori

Tab. 16. Confronto delle medie delle differenze intracoppia

		N.	x	D	t nel campione	t tabulato per 80 G.L.
Tempo r	MZ	40	2,78	671,44	2,47 ⁺	T = 1,99 per P = 0,05
	DZ	40	5,30	1.400,17		
Tempo k	MZ	40	2,75	1.036,92	1,97 ⁺	T = 1,99 per P = 0,05
	DZ	60	5,63	2.300,18		
ma	MZ	40	1,23	58,74	2,19 ⁺	T = 1,99 per P = 0,05
	DZ	40	2,13	108,38		
Modulo di elasticità (ϵ)	MZ	40	2,72	289,17	2,10 ⁺	T = 1,99 per P = 0,05
	DZ	40	4,51	843,55		
Indice tromboelastografico (i.t.)	MZ	40	2,41	221,16	4,40 ⁺⁺⁺	T = 3,415 per P = 0,001
	DZ	40	5,49	546,24		

nelle coppie MZ rispetto a quelle DZ. Secondo i canoni del metodo gemellare, questo significa che i fenomeni considerati subiscono il controllo genotipico e cioè il determinismo ereditario.

Onde pesare il *quantum* del condizionamento ereditario (*H*) nei confronti di ogni voce tromboelastografica di rilievo diretto o derivato, abbiamo utilizzato la formula di v. Verschuer:

$$H = \frac{\text{Var. DZ} - \text{Var. MZ}}{\text{Var. DZ}}$$

L'impostazione e il risultato di questo calcolo per ogni voce tromboelastografica vengono esposti nella Tabella 17 da cui risulta:

1. Il *tempo r* presenta un condizionamento ereditario per circa la metà del suo valore ($H = 53,03\%$) e quindi un significato genetistico;

2. Il *tempo k* non ha significato attendibile dal punto di vista ereditario in quanto l'incidenza del condizionamento ereditario equivale a circa un quinto ($H = 18,62\%$).

La stessa metodologia denuncia questo fatto perchè la distanza convenzionale di circa 20 mm. fra le linee divaricate necessaria per determinare il tempo k essendo convenzionale, non è idonea a rispecchiare un fenomeno naturale come quello del condizionamento genotipico;

3. Il *valore ma* riveste la più alta significatività ereditaria essendo pari a circa i tre quarti del suo valore ($H = 71,72\%$);

4. Il *modulo di elasticità* (ϵ) ha pure una cospicua significatività ereditaria pari a

Tab. 17. Stime di H
($H = \text{Quantum}$ ereditario del fenomeno in esame)

Tempo R	$\frac{35,90 - 17,22}{35,90}$	52,03%
Tempo K	$\frac{32,54 - 26,58}{32,54}$	18,62%
ma	$\frac{5,34 - 1,51}{5,34}$	71,72%
Modulo di elasticità (ϵ)	$\frac{22,63 - 7,41}{21,63}$	65,74%
Indice tromboelastografico	$\frac{14,01 - 5,67}{14,01}$	59,52%

due terzi del suo valore ($H = 65,74\%$); logicamente il valore di ϵ elaborato sul valore di *ma* riflette l'alta stima genetica di questo valore;

5. L'*indice tromboelastografico* (i.t.) presenta una stima ereditaria quasi del 60% ($H = 59,52\%$); infatti essendo derivato da tre eloquenti parametri tromboelastografici ne riflette il significato genetico.

Discussione e conclusioni

I metodi per lo studio della coagulazione del sangue si possono distinguere in parziali e globali, intendendo come parziali quelli rivolti a valutare un singolo aspetto della coagulazione e globali quelli che si prefiggono di valutare il fenomeno nel suo effetto complessivo. Appartiene, per esempio, ai metodi parziali lo studio della piastrinemia con il metodo di Lampert che Gedda, Intronà e Celli hanno adoperato per studiare il comportamento della piastrinemia nelle varie età dell'accrescimento. Appartiene ai metodi che abbiamo chiamato globali quello proposto da Gedda e Zappia per determinare la coagulazione del sangue ricorrendo alla stabilizzazione del plasma con soluzioni clorurosodiche concentrate secondo Gessard.

Lo studio della coagulazione con il tromboelastografo appartiene evidentemente ai metodi globali, ma ha sugli altri il grande vantaggio di permettere la registrazione

mediante un tracciato che segue nel tempo il fenomeno considerato, cioè con un'evienza rappresentativa e documentaria che altre determinazioni non posseggono.

Una condizione per la buona lettura del tracciato è il suo riferimento alle causalità che lo determinano e perciò la stima dell'influenza che l'eredità esercita sulle sue caratteristiche ci sembra interessante sia dal punto di vista dottrinale che applicativo.

Il test gemellare si presta, come s'è visto, a pesare il valore ereditario del tracciato tromboelastografico precisando le prospettive metodologiche di tale stima. In base al metodo gemellare si può affermare che il determinismo genotipico della coagulazione risulta soprattutto dal valore dell'*ampiezza massima* del tracciato tromboelastografico che per $3/4$ è imputabile a un determinismo genotipico e, in grado alquanto inferiore, dal valore del *tempo r* che per $1/2$ è imputabile a un determinismo genetico.

Inoltre il metodo gemellare ha sottolineato il significato genetistico degli indici elaborati sui dati sperimentali mettendo in evidenza il significato ereditario del *modulo di elasticità* (ϵ) in ragione dei $2/3$; e quello dell'*indice tromboelastografico* (i.t.) in ragione di più di $1/2$ del rispettivo valore.

Essendo numerose le applicazioni cliniche dello studio tromboelastografico sarà ora opportuno confrontare il risultato dell'analisi genetistica con il risultato dell'esperienza clinica.

L'*ampiezza massima* che rappresenta il valore del tromboelastogramma più carico di significato genetistico trova in clinica la sua maggiore applicazione nelle sindromi piastrinopeniche e trombopatiche nelle quali è fortemente diminuito, mentre tende a normalizzarsi in seguito a trattamento con trasfusioni di sangue, splenectomia, ecc. All'opposto nelle sindromi trombofiliche e talora anche nelle sindromi emofiliche si nota un aumento dell'*ampiezza massima*.

I dati clinici positivi concordano con quelli dell'analisi genetistica in quanto è ben noto come le sindromi piastrinopeniche, trombopatiche, trombofiliche ed emofiliche siano spesso chiaramente ereditarie.

Per quanto riguarda il *tempo r* esso è caratterizzato da un forte allungamento nelle sindromi emofiliche e da un accorciamento nelle sindromi trombofiliche. Vale dunque anche per il *tempo r* la comprova clinica della sua significatività in malattie tipicamente ereditarie.

Che poi la ricerca genetistica abbia trovato privo di attendibilità ereditaria il *tempo k*, che appare allungato nelle sindromi emofiliche e piastrinopeniche e accorciato nelle sindromi trombofiliche, dimostra trattarsi di un fenomeno a prevalente determinazione organismica e comprova l'utilità di una ricerca discriminatrice sui caratteri normali della coagulazione. Nel senso di fenomeni organismici funzionano anche le modificazioni del tromboelastogramma successive e trattamento con anticoagulanti (eparina, eparinoidi e dicumarinici) con sostanze ad azione antimetabolica e antimetabolica. Ciò non toglie che i meccanismi dell'organismo su cui queste sostanze agiscono siano, più o meno, come la valutazione nel soggetto normale ha dimostrato, controllate dal genotipo.

Riassunto

Sopra una ricerca basata sullo studio del tromboelastogramma di 20 coppie MZ maschili, 20 coppie MZ femminili, 20 coppie DZ maschili e 20 coppie DZ femminili gli AA. hanno stimato il significato ereditario dei caratteri tromboelastografici. L'analisi dei dati sperimentali ha dimostrato che obbediscono ad una determinazione genotipica soprattutto i seguenti dati:

- 1) l'*ampiezza massima* (*am*) in ragione dei $3/4$;
- 2) il *modulo di elasticità* (ϵ) in ragione dei $2/3$;
- 3) il *tempo r* in ragione di $1/2$;
- 4) l'*indice tromboelastografico* (*i.t.*) in ragione di $1/2$.

Bibliografia

- BASERGA A.: Recenti contributi italiani sull'emofilia. *Progresso medico* 9: 110, 1953.
- DE NICOLA P.: Le malattie emorragiche. Soc. Ed. Libreria, Milano, 1950.
- CAPPELLETI G. A.: Proposta di un indice tromboelastografico nella diagnostica clinica. *Haematologica*, 43, 185, 1958.
- DE NICOLA P.: La diagnosi dei difetti di coagulazione. *Biblioteca Haematologica*, Pavia, 1954.
- *Thrombelastography*. Thomas, Springfield 1957.
- MAZZETTI G. M.: Valore clinico della tromboelastografia. *Haematologica*, 28, 1531, 1954.
- — Evaluation of thrombelastography. *Am. J. Clin. Pathol.*, 25, 447, 1955.
- — Thrombelastographic observations on the characteristics of hemophilic, thrombocytopenic and heparinized blood. *Blood*, 11, 71, 1956.
- — Come si interpreta un tromboelastogramma. *Minerva Medica*, 47, I, 2043, 1956.
- — Rilievi tromboelastografici sulla terapia trasfusionale in sindromi emofiliche da deficit di AHG, PTC e PTA. *Haematologica*, 39, 361, 1955.
- DIOMEDE-FRESA V., FUMAROLA D.: *La tromboelastografia*. Edizioni del Premio Ganassini, Milano, 1956.
- GEDDA L., INTRONA F., CELLI A.: La piastrinemia secondo il Metodo di Lampert. Il comportamento della piastrinemia a seconda dell'età. *Il Policlinico*, XLVI, 5, 1939.
- GEDDA L., POGGI D.: Controllo dei fattori ereditari che condizionano la coagulazione del sangue con il test gemellare relativo al confronto interzigotico. *Proceedings of the Second International Congress of Human Genetics*. Ed. Istituto "G. Mendel", Roma, 1961.
- ZAPPALÀ L.: Proposta di un nuovo metodo per determinare il tempo di coagulazione del sangue e studio dell'iperinosi pneumonica. *Lo Sperimentale*, VC, X, 1941.
- HARTERT H.: Klinische Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie. *Plasmatische Gerinnungsdefekte*. *Dtsch. Arch. Klin. Med.*, 199, 402, 1952.
- Die Thrombelastographie. Eine Methode zur physikalischen Analyse des Blutgerinnungsvorganges. *Zeitschrift f. d. gesamte exp. Med.*, 117, 189, 1951.
- Klinische Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie. *Physiologische und methodische Grundlagen der Thrombelastographie*. "Dtsch. Arch. Klin. Med." 199, 284, 1952.
- INTROZZI P.: L'ereditarietà nelle emopatie. *Relazione congresso della salute*, Ferrara, 1959.
- MARCACCI M.: Patogenesi delle sindromi emofiliche: diagnosi rapida. *Progresso medico*, 19, 527, 1954.
- LALLI G., POGGI D.: *Influenza della decompressione esplosiva sulla coagulazione del sangue nel coniglio*. *Riv. di Med. aeronautica e spaziale*, XXV, 500, 1962.
- MAZZETTI G. M.: Sulla tecnica delle determinazioni tromboelastografiche. *Studi di tromboelastografia*. *Biblioteca Haematologica*, Pavia, 1955.
-

- PONTONI L.: Le emopatie ereditarie. 50° Congresso Soc. It. Medicina interna, Roma, 1949.
TROPANO L.: L'emofilia sporadica. Istituto di medicina sociale, Roma, 1953.
VECCHIETTI G.: La tromboelastografia e le sue possibili applicazioni nella clinica ostetrico-ginecologica. "Minerva Gin.", 4, 1953.
— La tromboelastografia. Possibilità di applicazioni cliniche e sperimentali. Problemi attinenti alla coagulazione del sangue. Atti del Primo Simposio, Genova, 1953.

RÉSUMÉ

Dans une recherche basée sur l'étude du thromboélastogramme de 20 couples MZ ♂♂, 20 couples MZ ♀♀, 20 couples DZ ♂♂ et 20 couples DZ ♀♀, les Auteurs ont évalué l'importance héréditaire des caractères thromboélastographiques. L'analyse des données expérimentales a démontré que le génotype conditionne surtout les caractères suivants:

- 1) l'ampleur maximum ($3/4$)
- 2) le module d'élasticité ($2/3$)
- 3) le temps r ($1/2$)
- 4) l'index thromboélastographique ($1/2$)

SUMMARY

In the course of a research work based on the study of the thrombelastogram in 20 male and 20 female MZ pairs, and in 20 male and 20 female DZ pairs, the Authors have evaluated the genetic impact on the thrombelastographic traits. The analysis of the experimental data shows that the following data are especially genetically influenced:

- 1) the maximum width ($3/4$)
- 2) the elasticity modulus ($2/3$)
- 3) the time r ($1/2$)
- 4) the thrombelastographic index ($1/2$)

ZUSAMMENFASSUNG

Verf. studierten das Thromboelastogramm von 20 männlichen und 20 weiblichen EZ— und gleich vielen männlichen und weiblichen ZZ—Paaren. Daraus schätzten sie die Bedeutung der thromboelastographischen Merkmale. Die Analyse der Versuchsphasen hat bewiesen, dass hauptsächlich folgende Erhebungen einer genotypischen Bestimmung folgen:

1. die grösste Breite zu $3/4$;
2. der Elastizitätsmodul zu $2/3$;
3. die Zeit r zu $1/2$;
4. der thromboelastographische Index zu $1/2$.