

La determinazione del tasso delle globuline totali del siero: confronto tra un metodo microelettroforetico ed un metodo chimico

F. PALATUCCI e L. PRENCIPE

Laboratorio di Biochimica, Ospedale Maggiore Ca' Granda di Milano

La determinazione dell'albumina e delle globuline totali del siero viene effettuata o con metodo elettroforetico o con metodo chimico. Poichè si è constatato che si hanno generalmente risultati scarsamente riproducibili e che i valori ottenuti nell'analisi di uno stesso siero, impiegando entrambi i metodi, sono spesso discordanti, si è ritenuto opportuno apportare ad essi alcune modifiche, in modo da ovviare a tali inconvenienti.

Nel metodo microelettroforetico da noi utilizzato la separazione viene effettuata su membrane di acetato di cellulosa « microzone » nelle condizioni indicate dalla Casa produttrice (Beckman); su ogni membrana vengono posti 6 campioni di sieri da analizzare e 2 sieri di riferimento. Dopo colorazione delle bande proteiche con Ponceau S si procede alla determinazione quantitativa delle varie frazioni con l'analizzatore ciclico Rotorscan (Automazione Industriale, Cesano Boscone, Milano) come precedentemente descritto ⁽¹⁾.

Come sieri di riferimento vengono utilizzati i sieri « Versatol » (Warner-Chilcott); per questi sieri la Casa produttrice effettua sia la determinazione della composizione globulinica mediante la tecnica elettroforetica di Tiselius, che dà risultati soddisfacenti per sieri a basso contenuto lipidico come quelli da noi impiegati, sia la determinazione del tasso albuminico con la tecnica elettroforetica « microzone », seguita da colorazione con Ponceau S e misura con l'Analytrol (Beckman). Per risalire al contenuto di globuline in questo caso è necessario moltiplicare il dato fornito dalla ditta per il fattore 0,97.

L'impiego sistematico di un siero di riferimento consente di eliminare la fonte di errore dovuta alle variazioni nell'assorbimento del colorante, che dipende da vari fattori ^(2,3) e di introdurre, mediante un sistema predisposto nell'analizzatore, il fattore di correzione per compensare l'eccesso di colorante fissato dall'albumina rispetto a quello fissato dalle globuline.

Per ottenere buoni risultati è inoltre necessario scartare tutti i tracciati elettroforetici che non siano tecnicamente perfetti.

I coefficienti di variazione ottenuti con il metodo microelettroforetico in analisi di routine effettuate nel corso di alcuni mesi con il metodo delle analisi ripetute in due giorni consecutivi, che consente di valutare la variabilità tra giorni (sistema dei « carry-over specimens ») mostrano che si è ottenuta una notevole riduzione della variabilità dei risultati (Tab. 1).

TABELLA 1

Coefficienti di variazione ottenuti con il metodo microelettroforetico nel corso di alcuni mesi. Le analisi sono state ripetute in due giorni consecutivi (sistema « carry-over specimens »)

	Dicembre 1969	Gennaio 1970	Febbraio 1970	Marzo 1970
Albumina	2,7	1,7	1,2	2,0
α_1 -globuline	9,8	6,3	6,0	7,4
α_2 -globuline	6,1	2,5	3,7	4,2
β -globuline	5,9	1,9	3,8	3,8
γ -globuline	3,3	2,4	1,9	2,3

Per la determinazione delle globuline con metodo chimico, non abbiamo ottenuto risultati molto soddisfacenti con i metodi basati sulla precipitazione delle globuline mediante solfato di sodio ⁽⁴⁾ o solfito di sodio ⁽⁵⁾ e soluzione etanolica di acido tricloroacetico ⁽⁶⁾ ed abbiamo preferito il procedimento di precipitazione proposto da Gandolfi e Fabrini ⁽⁷⁾.

Il reattivo precipitante da noi impiegato era così costituito: 1 ml di acido perclorico al 70 % (v/v), 5,5 ml di acqua deionizzata e 93,5 ml di etanolo anidro. È da sottolineare che la percentuale di acqua presente nella miscela è un elemento della massima importanza in quanto una sua variazione, anche modesta, porta a notevoli deviazioni nel rapporto albumina/globulina. Dopo la precipitazione, le globuline venivano separate per centrifugazione (20 min a 3.000 g.p.m.), ridisciolte con 4 ml del reattivo al biuretto e determinate quantitativamente mediante lettura dell'estinzione a 545 nm. Come sieri di riferimento, non essendo possibile ricorrere ai sieri liofilizzati del commercio, soprattutto perchè forniscono risultati variabili in funzione del tempo trascorso dalla loro ricostituzione, e per i quali inoltre il valore

del rapporto A/G determinato dalla Casa produttrice mediante il metodo elettroforetico non corrisponde a quello determinato con il metodo microelettroforetico da noi messo a punto, abbiamo impiegato dei sieri da noi stessi preparati. Per ogni serie analitica abbiamo utilizzato come riferimento tre diverse miscele di sieri ottenute mescolando sieri già analizzati mediante elettroforesi e caratterizzate da tassi globulinici corrispondenti rispettivamente a: 2,50, 3,20 e 4,00 g/100 ml, determinati con grande precisione mediante analisi microelettroforetica. Queste miscele di sieri, distribuite in più provette e conservate in frigorifero, sono stabili per almeno 20 giorni. Si misurano anzitutto i valori di estinzione delle tre miscele e utilizzando come riferimento l'estinzione della miscela di contenuto globulinico intermedio, si controlla se le altre due miscele danno per le globuline valori corrispondenti a quelli attesi. Si misura quindi l'estinzione dei campioni in esame e si calcola la loro concentrazione facendo riferimento all'estinzione della miscela con tasso globulinico intermedio.

Dopo l'adozione del metodo chimico nella determinazione delle globuline abbiamo ottenuto coefficienti di variazione più bassi di quelli ottenuti in precedenza con il metodo al solfito di sodio; il coefficiente di variazione, determinato mensilmente, che, con il metodo al solfito, oscillava fra 3,7 e 6,1, è sceso infatti a valori compresi fra 1,9 e 3,6.

34 campioni di siero ottenuti da pazienti con affezioni varie venivano analizzati in parallelo con i due metodi sopra descritti; i valori ottenuti erano in ottimo accordo. Nelle analisi effettuate su alcuni sieri di pazienti che presentavano paraproteinemia (4 casi) il metodo chimico ha invece fornito dei risultati leggermente più bassi di quelli ottenuti con il metodo microelettroforetico. Le differenze riscontrate potrebbero essere attribuite ad una minore capacità delle paraproteine a legarsi con il colorante oppure ad una loro precipitazione incompleta.

In conclusione si può affermare che, fatta eccezione per i casi di paraproteinemia, utilizzando i controlli ed i procedimenti indicati ed operando con sufficiente accuratezza, è possibile ottenere un buon accordo fra i risultati delle analisi eseguite con metodo microelettroforetico e quelli ottenuti con metodo chimico.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) VANZETTI, G., F. PALATUCCI & G. COSCI. *Clin. Chim. Acta*, **20**, 215 (1968).
- (²) SCHULTZ, D. M. & M. A. HOLDCRAFT. *Am. J. Clin. Pathol.*, **26**, 215 (1956).
- (³) FLYNN, F. V. & P. DE MAYO. *Lancet*, **i**, 235 (1951).
- (⁴) HOWE, P. E. *J. Biol. Chem.*, **49**, 93 (1921).
- (⁵) WOLFSON, W. Q., C. COHN, E. CALVARY & F. ICHIBA. *Am. J. Clin. Pathol.*, **18**, 723 (1948).
- (⁶) DEBRO, J. R., H. TARVER & A. KORNER. *J. Lab. Clin. Med.*, **50**, 728 (1957).
- (⁷) GANDOLFI, E. & G. FABRINI. *Giorn. Biochim.*, **15**, 243 (1966).

L'elettroforesi analitica e preparativa su gel di poliacrilammide nello studio delle paraproteinemie

A. ALBERTINI e E. BOZZETTI

Istituto di Biologia e Biochimica, Spedali Civili di Brescia

Le ricerche di cui riferiamo riguardano lo studio dei tracciati sierici e urinari ottenibili mediante separazione elettroferetica delle proteine su gel di poliacrilammide (^{1,2}), nei diversi tipi di paraproteinemia (³⁻⁵), e l'isolamento mediante elettroforesi preparativa, delle frazioni paraproteinemiche.

Nel nostro laboratorio, durante gli anni 1967-1969, su 17.980 sieri e urine esaminati mediante elettroforesi, sono stati identificati 102 casi di paraproteinemia, con una frequenza dello 0,5 % (Tab. 1); soltanto in rari casi la paraproteina era presente nelle urine e non nel siero. I casi presi in esame sono stati da noi classificati anche sulla scorta dei reperti dell'agar-immunoelettroforesi, della agar-immunodiffusione radiale e dell'ultracentrifugazione analitica.

I sieri paraproteinemicici appartenevano, in grande prevalenza, alla classe immunologica IgG; meno elevata è risultata la frequenza della classe IgA e della classe IgM. In questa casistica, oltre ai mielomi e alle macroglobulinemie di Waldenström, sono state comprese anche le cosiddette « paraproteinemie idiopatiche » e le « paraproteinemie di accompagnamento » che sono state riscontrate in pazienti affetti da malattie di diversa natura (epatopatie, bronchiti croniche, tromboflebiti, tumori del tratto digerente e della vescica). In questi casi si ha, con una certa frequenza, il quadro paraproteinamico di tipo « phi », caratterizzato dalla presenza di una banda monoclonale, omogenea e nettamente delimitata, con posizione intermedia tra le β e le γ globuline.

L'elettroforesi analitica in gel di poliacrilammide è stata eseguita con apparecchio Canalco, secondo la tecnica da noi recentemente descritta (^{6,7}), che comporta la preparazione di tre distinti strati sovrapposti di gel, a diversa porosità (gel del campione, gel di distanziamento, gel di separazione).

TABELLA I

**Dati statistici relativi ai casi di paraproteinemia identificati e studiati
nel nostro laboratorio**

T I P O		NUMERO DEI CASI	%
1) PAZIENTI PARAPROTEINEMICI BLASTOMATOSI		78	100
Malattia	mielomi	61	78
	macroglobulinemie di Waldenström	10	13
	reticulosarcomi	3	4
	cancri	4	5
Classe della paraproteina	IgA	17	22
	IgG	46	59
	IgM	11	14
	Bence-Jones	4	5
2) PAZIENTI PARAPROTEINEMICI NON BLASTOMATOSI		24	100
Classe della paraproteina	IgA	7	30
	IgG	13	54
	IgM	4	16
	Bence-Jones	—	—

I tracciati dei sieri di pazienti affetti da mieloma della classe IgG (Fig. 1 *b, c*) presentano una banda omogenea e ben delimitata nel tratto catodico post-transferrinico, di ampiezza e intensità abnormemente elevate, dovuta al particolare tipo di proteine presenti; anche nell'elettroforesi su carta i mielomi IgG hanno sempre presentato una mobilità inferiore a quella delle frazioni β .

I tracciati dei sieri di pazienti affetti da mieloma della classe IgA (Fig. 1 *d, e*) presentano un quadro caratteristico perchè le immunoglobuline IgA vengono frazionate in numerose bande che si distribuiscono in tutta la zona post-transferrinica; un comportamento delle IgA analogo si osserva alla ultracentrifugazione analitica in cui si osserva la separazione di diversi picchi caratterizzati da coefficienti di sedimentazione che vanno da 6,5 S a 13 S. Nella elettroforesi su carta l'omogeneità delle bande IgA è sempre molto buona e la loro mobilità varia tra quella delle α_2 -globuline e quella delle γ , essendo, nella maggior parte dei casi, più veloce di quella delle β .

I tracciati di sieri di pazienti affetti da malattia di Waldenström (Fig. 1 *f, g*) e da paraproteinemia di tipo IgM presentano una grossa banda situata entro il gel del campione, caratteristica per questa sua posizione. Le proteine della classe IgM, infatti, per la loro grandezza molecolare, restano

ferme nella resina che viene polimerizzata dopo l'aggiunta del siero (gel del campione). Nei tracciati di questi sieri talvolta si osserva anche un'altra banda sottile al limite di contatto tra il gel di distanziamento e il gel di separazione; quest'ultimo inoltre presenta sempre una significativa riduzione delle frazioni presenti nella zona post-transferrinica. Nell'elettroforesi su carta le paraproteine IgM presentano mobilità variabile di tipo γ .

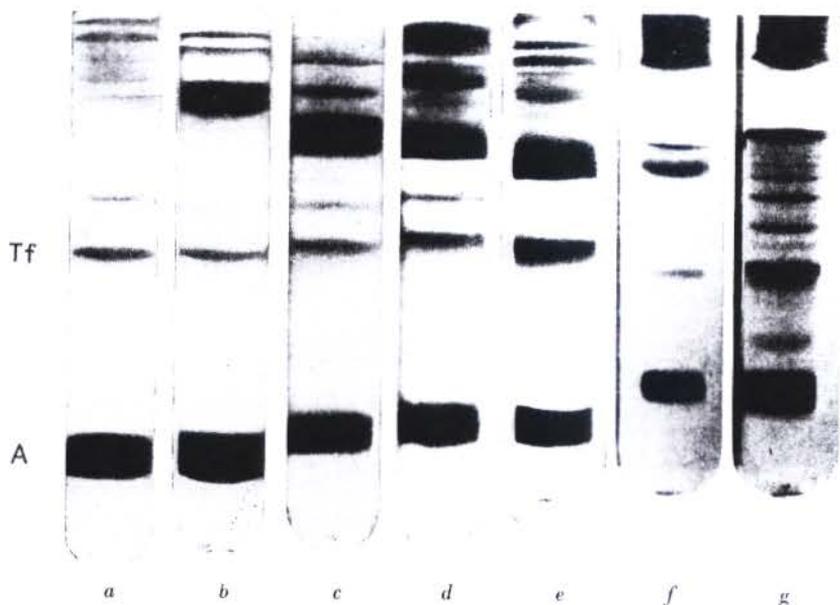


Fig. 1. — Elettroforesi in gel di poliacrilammide di sieri paraproteinemici confrontati con un siero normale; *a*: siero normale; *b* e *c*: sieri di pazienti affetti da plasmacitoma IgG; si osserva una grossa banda abnorme nel tratto catodico post-transferrinico; *d* e *e*: sieri di pazienti affetti da plasmacitoma di tipo IgA; si osservano numerose bande abnormi nel tratto post-transferrinico; *f* e *g*: sieri di pazienti affetti da macroglobulinemia di Waldenström; una grossa banda proteica è trattenuta nel gel del campione.

In conclusione si può dire che l'elettroforesi analitica in gel di poliacrilammide, permette di ottenere tracciati caratteristici per le diverse classi di paraproteine costituite da bande omogenee, uniche nel caso delle IgG e IgM, e molteplici nel caso delle IgA.

L'elettroforesi preparativa è stata eseguita con apparecchio Prep-disc Canasco collegato a un collettore di frazioni LKB munito di registratore Uvicord II.

Il metodo preparativo usato si avvantaggia dell'effetto di concentrazione dovuto alla discontinuità di gradiente (fenomeno di Kohlrausch), che permette di ottenere le varie frazioni in forma di bande molto strette⁽⁸⁾.

Per la separazione di paraproteine presenti nel siero di pazienti affetti da mieloma multiplo, abbiamo usato colonne del diametro di 2,2 cm in cui venivano polimerizzati successivamente il gel del campione, contenente 3-5 ml di siero, il gel di distanziamento, ed infine il gel di separazione preparati con acrilammide al 10 %. L'uso del gel del campione e del gel di distanziamento semplifica notevolmente il problema dell'eluizione di frazioni proteiche pure.

La durata dell'elettroforesi, con la completa eluizione delle proteine sieriche, nelle nostre condizioni (voltaggio 140 volt, 5 mA) era di circa 6 ore; l'identificazione dei picchi proteici avveniva mediante scansione dello eluato a 280 nm. Le frazioni raccolte erano successivamente concentrate mediante dialisi contro polivinil-pirrolidone al 20 % a 4°C ed utilizzate per le successive indagini immunologiche.

Il sistema, dotato di un elevato potere di risoluzione, si è rivelato particolarmente utile nella separazione di una « paraproteina » di tipo IgA, dotata di mobilità uguale alla α_1 nei sistemi elettroforetici su carta e su acetato di cellulosa, e di mobilità post-transferrinica in gel di poliacrilammide (Fig. 2).



Fig. 2. — Analisi mediante elettroforesi della paraproteina di un siero di paziente affetto da mieloma IgA. Il siero in esame (tubo *a*) è stato sottoposto ad elettroforesi preparativa in gel di poliacrilammide e le frazioni dell'eluato, contenenti la paraproteina IgA, raccolte e concentrate, sono state successivamente esaminate per la purezza mediante il sistema analitico: tubo *b*, frazioni 36-39; tubo *c*, frazioni 40-43.

L'uso di una colonna preparativa, come sopra descritto, ha permesso di isolare da circa 3 ml di siero, in un solo passaggio, una quantità di proteina pura largamente sufficiente per gli studi immunologici, immunoelettroforetici e di ultracentrifugazione; tentativi condotti sullo stesso siero con i sistemi tradizionali di cromatografia su colonna di DEAE-sephadex e

di DEAE-cellulosa non avevano avuto successo, soprattutto per la costante e notevole contaminazione della paraproteina da parte dell'albumina.

Mediante il metodo descritto è stato possibile ottenere, in pazienti affetti da mieloma, la separazione della paraproteina non solo dal siero, ma anche dalle urine, dopo opportuna concentrazione.

In conclusione, l'elettroforesi preparativa in gel di poliacrilammide consente, con una procedura relativamente semplice e pratica, la separazione delle diverse paraproteine necessaria per il successivo studio delle loro caratteristiche immunologiche e strutturali, ed anche il confronto delle componenti proteiche del siero con quelle di altri liquidi biologici, quali le urine ed il liquido cerebrospinale.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) ORNSTEIN, L. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 321 (1964).
- (²) DAVIS, B. J. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 404 (1964).
- (³) ZINGALE, S. B., C. A. MATTIOLI, H. D. BOHNER & M. P. BUENO. *Blood*, **22**, 152 (1963).
- (⁴) KOCHWA, S., E. SMITH, B. J. DAVIS & L. R. WASSERMAN. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 445 (1964).
- (⁵) TERRY, W. D. & R. A. REISPELD. *Federation. Proc. Abstr.*, 1041 (1966).
- (⁶) BOZZETTI, E. & A. ALBERTINI. *Boll. Soc. Med. Chir. Brescia*, **21**, 209 (1967).
- (⁷) BOZZETTI, E. A. ALBERTINI & E. BONERA. *Atti II Giorn. Ematol.* Napoli, 1968, p. 467.
- (⁸) MAIZEL, J. V. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **121**, 382 (1964).

La bisalbuminemia: contributo casistico

L. PRENCIPE e E. DENEGRÌ

Laboratorio di Biochimica, Ospedale Maggiore Ca' Granda di Milano

RIASSUNTO

Le bisalbuminemie descritte a tutt'oggi corrispondono a dieci varianti elettroforetiche dell'albumina umana, di cui cinque più veloci e cinque più lente.

I casi trovati in popolazioni d'Europa o di origine europea, nelle quali la percentuale di bisalbuminemia appare molto bassa, corrispondono generalmente a varianti di tipo lento; finora, infatti, sono stati descritti solo due casi che presentano varianti di tipo veloce (R. J. Wieme, *Clin. Chim. Acta*, 5, 443, 1960; A. L. Tarnoky & A. N. Lestas, *Clin. Chim. Acta*, 9, 551, 1964).

Nel nostro Laboratorio non avevamo osservato alcun caso di bisalbuminemia finchè l'analisi delle frazioni proteiche veniva eseguita mediante elettroforesi su carta. Successivamente, dal luglio 1969, su circa diecimila determinazioni elettroforetiche con acetato di cellulosa (sistema «microzona» Beckman collegato ad analizzatore automatico ciclico Rotorscan), abbiamo rilevato 5 casi di bisalbuminemia.

In tutti questi 5 casi la frazione anomala era di tipo veloce, e dal confronto con i risultati di Melartin (*Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl.* 191, 1967) aveva la stessa mobilità dell'albumina Gent descritta da Wieme.

Su 3 dei 5 casi è stato possibile eseguire, con risultato positivo, un'indagine sul carattere ereditario della bisalbuminemia.

Ricerche chimico-cliniche su un caso di bisalbuminemia

G. CAPRIO, G. PARMIGIANI e D. MIGLIORINI

Ospedale Fatebenefratelli-Fatebenesorelle, Cicero - Agnesi, Milano

RIASSUNTO

Nel corso di un'analisi di routine è stato riscontrato casualmente, attraverso il comportamento elettroforetico caratteristico, un caso di bisalbuminemia congenita con alloalbumina di tipo veloce in una bambina di 7 anni ricoverata in reparto pediatrico per febbri reumatiche; è stato rilevato che, fra i familiari, anche il padre presenta la stessa anomalia.

Gli AA. hanno eseguito su entrambi i soggetti una serie di ricerche per meglio caratterizzarne l'alloalbumina. Le indagini, che sono state condotte con elettroforesi ed immunoelettroforesi a diversi pH, caratterizzazione immunologica con antisieri specifici diversi e colorazione specifica per le glicoproteine, non hanno consentito di differenziare ulteriormente l'alloalbumina dall'albumina normale.

Indagine elettroforetica sul siero di pazienti con epatite acuta infettiva e positività per l'antigene Australia

D. DIVERSI, G. DE SIMONE e M. COSTA

I Clinica delle Malattie Infettive dell'Università di Roma

RIASSUNTO

Blumberg nel 1970 riscontrò mediante immunofluorescenza la presenza dell'antigene Australia nel nucleo degli epatociti di pazienti affetti da epatite virale. Questo rilievo e il riscontro al microscopio elettronico di particelle della grandezza di 20 nm, agglutinabili mediante l'antisiero specifico, hanno fatto avanzare l'ipotesi che le particelle predette costituiscano l'agente etologico della virus-epatite.

Allo scopo di accertare l'eventuale differenza di comportamento del quadro sieroproteico fra pazienti affetti da epatite acuta infettiva con positività per l'antigene Australia ed altri negativi per lo stesso antigene, abbiamo preso in esame 90 soggetti ricoverati presso la nostra Clinica per virus-epatite, dei quali 45 erano positivi e 45 negativi per l'antigene Australia. I prelievi necessari per l'esecuzione della nostra indagine sono stati effettuati nella fase acuta della malattia. Per la ricerca dell'antigene Australia abbiamo usato siero di soggetti politrasfusi fornitoci gentilmente dal Centro A.V.I.S. di Roma, adoperando la metodica di Ouchterlony modificata da Blumberg, consistente in una reazione di immunoprecipitazione su piastra di agarosio all'1% in tampone veronal sodico 0,01 M, a pH 8,4.

Dall'insieme delle ricerche eseguite risulta che, in entrambi i gruppi di pazienti esaminati, la proteinemia totale, le frazioni α_1 , α_2 e β -globuliniche erano comprese entro i limiti fisiologici; le alterazioni del quadro proteico, invece, erano rappresentate da una diminuzione dei valori medi, percentuali ed assoluti, dell'albumina e da un aumento delle quantità medie relative e ponderali delle γ -globuline. Il rapporto albumina/globuline era invertito.

Si può concludere quindi che fra i due gruppi di pazienti da noi presi in esame, l'uno con positività per l'antigene Australia, l'altro con negatività, non esistono variazioni significative.

Modificazione di alcune proteine sieriche nell'infarto miocardico

G. C. TASSI, G. P. GUERRA, A. P. MISTRETTA e A. DE BARBIERI

Laboratorio di Biochimica, Istituto Sieroterapico Milanese

Nelle ricerche che qui riferiamo, aventi sinora un carattere preliminare, abbiamo seguito l'andamento di alcune proteine sieriche (α_1 -glicoproteina acida, aptoglobina, ceruloplasmina e transferrina) in soggetti infartuati per accertare un'eventuale variazione di queste in rapporto all'episodio infartuale.

È stato esaminato il siero di 121 soggetti di età variabile tra i 35 ed i 72 anni, nei quali era stato accertato un infarto miocardico di recente instaurazione. La diagnosi clinica era stata confermata da ripetuti controlli elettrocardiografici e dallo studio dell'andamento degli enzimi sierici. A questi pazienti veniva effettuato un prelievo entro le 24 ore e quindi al 1° - 2° - 3° - 5° - 10° - 15° - 20° - 25° - 30° - 35° giorno dall'episodio infartuale. Sul siero veniva eseguito il dosaggio della α_1 -glicoproteina acida, delle aptoglobine, della ceruloplasmina e della transferrina, mediante la metodica descritta da Mancini, Carbonara e Heremans (¹), impiegando antisieri specificatamente purificati e sieri standard a contenuto proteico noto, che servivano a calcolare le rette di regressione per le varie proteine. Oltre alla immunodiffusione, veniva effettuata la immunoelettroforesi su agar all'1% con il metodo di Scheidegger (²) saggiando i sieri dei soggetti infartuati sia verso antisieri totali che verso antisieri specifici delle proteine sopra citate.

L' α_1 -glicoproteina acida (P.M. 44.100) è una proteina a migrazione elettroforetica nella zona delle albumine che, come le altre tre frazioni proteiche da noi studiate, mostra delle variazioni molecolari su base genetica (³).

Le aptoglobine (P.M. 100.000) sono proteine a migrazione elettroforetica nella zona delle α_2 -globuline che hanno la funzione di legare l'emoglobina e rappresentano così un valido sistema di difesa atto a prevenire la perdita di ferro (⁴).

La ceruloplasmina (P.M. 160.000) è una proteina con migrazione elettroforetica nella zona delle α_2 -globuline che ha la funzione di glicoproteina vettrice del rame.

La transferrina (P.M. 90.000) è una proteina con migrazione elettroforetica tipo β_1 -globuline.

Nei soggetti esaminati l' α_1 -glicoproteina acida mostrava un aumento significativo dal 1° al 5° giorno dall'episodio infartuale; il valore massimo, pari a un incremento dell'85% circa del valore medio, si registrava al 4° giorno.

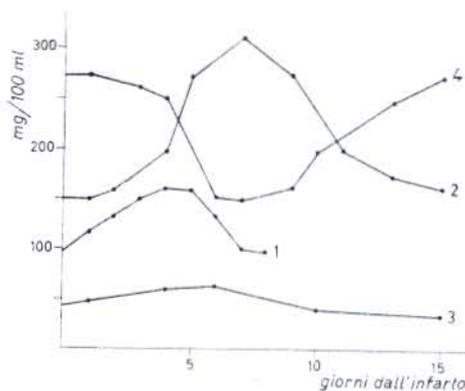
Le aptoglobine mostravano, come in altri processi morbosi (5), un netto aumento dal 5° al 10° giorno; il valore massimo si registrava generalmente al 7° giorno, con un incremento pari al 103% circa del valore medio.

La ceruloplasmina presentava un aumento dal 1° al 10° giorno; il valore massimo, pari a un incremento del 77% del valore medio, si registrava al 6° giorno. Questo dato è in disaccordo con quanto riferito da altri Autori (6) secondo i quali tale aumento non comparirebbe prima del 5° giorno dallo episodio infartuale; tale discrepanza potrebbe essere imputata all'uso di un metodo di determinazione diverso, dato che i precedenti ricercatori avevano determinato la ceruloplasmina in base alla sua attività ossidativa in presenza di parafenilendiammina (7) o al contenuto di rame totale nel siero (8).

La transferrina, infine, presentava una diminuzione significativa tra il 5° e il 10° giorno; il valore minimo, pari a un incremento del 46% del valore medio, si registrava al 6° giorno.

I risultati ottenuti sono illustrati nella Fig. 1.

Fig. 1. — Andamento di alcune proteine sieriche nell'infarto miocardico. 1) α_1 -glicoproteina acida (valori normali 55-110 mg/100 ml); 2) aptoglobina (valori normali 50-220 mg/100 ml); 3) ceruloplasmina (valori normali 20-35 mg/100 ml); 4) transferrina (valori normali 213-347 mg/100ml).



Si può ritenere pertanto che l'episodio infartuale, oltre a provocare le ben note molteplici variazioni enzimatiche nel siero, determini modificazioni significative anche nel contenuto proteico sierico, almeno nell'ambito delle proteine da noi studiate. La loro insorgenza, che è relativamente lenta, so-

prattutto se confrontata con la precocità delle modificazioni enzimatiche, non può acquistare valore nell'applicazione diagnostica ma pone il problema del loro significato patologico. L'approfondimento delle ricerche in tal senso potrebbe forse indicare l'utilità della loro rilevazione ai fini della valutazione clinica dello stato morboso e quindi della prognosi della malattia infartuale.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) MANCINI, G., A. O. CARBONARA & J. F. HEREMANS. *Immunochemistry*, **2**, 235 (1965).
- (²) SCHEIDEGGER, S. S. *Intern. Arch. Allergy*, **7**, 103 (1955).
- (³) IZZO, P. & P. PROCACCIO. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **45**, 4 (1969).
- (⁴) ALLISON, A. C. *Proc. Roy. Soc. Med.*, **51**, 64 (1958).
- (⁵) YAYLE, M. F. & J. MORETTI. *Progr. Hematol.*, **3**, 342 (1962).
- (⁶) COLTORTI, M. & G. GIUSTI. *Diagnostica Enzimatica*, Boehringer, Milano 1965.
- (⁷) SCHEINBERG, I. H. & A. G. MORELL. *J. Clin. Invest.*, **36**, 1193 (1957).
- (⁸) FELSENFELD, G. *Arch. Biochem. Biophys.*, **87**, 247 (1960).