

ANEMIE EMOLITICHE DA ANOMALIE EREDITARIE DELL'Hb.

del

Dott. Ignazio Gatto, *aiuto e libero docente*

L'esistenza di molte caratteristiche comuni nella sferocitosi, ellittocitosi, drepanocitosi e thalassemia indusse Gänsslen a riunire in unico gruppo (anemie emolitiche costituzionali) queste malattie, estendendo il suo concetto di costituzione emolitica, dapprima ristretto alla sferocitosi.

I dati, che permettevano l'avvicinamento di queste malattie erano costituiti: dal fondamento genotipico, che si manifesta sostanzialmente con alterazione della forma e della vitalità del globulo rosso, dalla diversa gravità della manifestazione morbosa nei singoli individui — da lievi alterazioni ematologiche, che si riscontrano in soggetti sani, fino a forme gravi di malattia emolitica splenomegalica (forme latenti, compensate e conclamate di Gänsslen) —, dal manifestarsi negli stati di malattia di alterazioni scheletriche e spesso cardiovascolari, di ipoevolutismo e di ulcus cruris, dalla maggior frequenza di ognuna di queste anomalie ereditarie in determinate razze od in individui abitanti in particolari regioni.

Heilmeyer richiamò l'attenzione sulle alterazioni dell'aspetto dei globuli rossi caratteristiche di ognuna di queste anomalie (anemie emolitiche rigenerative con particolare forma degli eritrociti — alterazioni ereditarie della forma degli eritrociti). Lo stesso A. (1942) osservava che poteva parer chiaro di vedere nell'alterato aspetto del globulo rosso l'espressione o la causa della sua minore vitalità e della conseguente iperemolisi, ma che questa conclusione non era permessa nè da una profonda conoscenza dei quadri clinici, nè da quella dei meccanismi patogenetici.

La più intima conoscenza della patogenesi di una delle anomalie ematologiche, che si manifesta con alterazioni del globulo rosso, ci è stata fornita nel 1949 da Pauling, Itano, Singer e Wells, i quali dimostrarono che l'Hb della drepanocitosi elettroforeticamente si comporta in modo differente da quella dell'Hb di adulto normale.

Questa scoperta portò a ritenere la drepanocitosi come una malattia molecolare dell'Hb ed aprì la via alla dimostrazione dell'esistenza di altre anomalie emoglobiniche ereditarie, che determinano alterazioni costituzionali del globulo rosso e di conseguenza malattie emolitiche.

Prima di intraprendere la trattazione delle Hb anomale e degli stati morbosi, che ne derivano, è necessario definire il comportamento di quella normale nei vari periodi della

vita e prendere conoscenza delle caratteristiche di essa, in particolare di quelle, che per essere più facilmente analizzabili possono essere utilizzate nella diagnostica corrente.

L'Hb fetale (*f*) differisce da quella di adulto normale (*a*) per il comportamento alla denaturazione alcalina, essendo la *f* più resistente (*ar*) della *a* (Wakulenko, 1910).

Ricerche ulteriori hanno provato che in entrambe queste Hb, con metodi perfezionati di denaturazione, possono mettersi in evidenza più di una frazione (Brinkmann, e coll., White e coll.). Tali inomogeneità, che permettono il riconoscimento di varie frazioni nello stesso tipo di Hb potrebbero essere solamente dovute all'età dell'Hb dei singoli globuli rossi e pertanto può ritenersi che normalmente esistano due soli tipi di Hb: la fetale e la adulta (Drescher e Künzer, Betke).

Nel corso del lavoro indicheremo con *f* i dati relativi all'Hb a tipo fetale ricavati dall'elettroforesi, con *ar* quelli ricavati con la denaturazione alcalina.

Alla nascita nel sangue del neonato si trova in media 70-80% di Hb *ar* (con oscillazioni massime fra 60 ed 85) e 30-20 di Hb *a*; la caduta dell'Hb *ar* avviene fra la terza e la quattordicesima settimana di vita (Betke, Gatto e La Grutta), raggiungendosi i valori dell'adulto fra il quinto ed il settimo mese (Brinkmann e Jonxis, Cutillo e Scieuzo, Gatto e La Grutta). Secondo Chernoff e Singer percentuali di Hb *ar* superiori a quelle dell'adulto (più elevate del 2%) possono riscontrarsi fino al terzo anno di vita.

Il prematuro ha alla nascita percentuali di Hb *ar* superiori a quelle del nato a termine e raggiunge in più lungo periodo di tempo i valori dell'adulto.

L'Hb *f* può essere distinta dalla *a* anche per il comportamento elettroforetico (Andersh e coll., Beaven e coll., Zinsser, Vecchio, Gatto e La Grutta). Il punto isoelettrico della COHb *f* è 6,97-7,03, quello della *a* 6,91-6,94 (Zinsser). A pH inferiore a 6,9 entrambe le Hb migrano come ioni positivi, la *f* più rapidamente della *a*, a pH superiore a 7,1 come ioni negativi, la *f* più lentamente della *a*.

Le ricerche elettroforetiche su carta di Gatto e La Grutta condotte a pH 9,2 in tampone di veronal sodico al 2,1‰ confermarono che in queste condizioni di esperimento la *f* migra come ione negativo con velocità minore della *a*. L'Hb del cordone ombelicale, con contenuto di *ar* fra 80 ed 88% migra con velocità 73 rispetto a quella di adulto normale definita come 100. Le Hb *a* ed *f* sono distinguibili elettroforeticamente, con formazione di due bande, solo per percentuali di *f* fra 40 e 80%, rilevandosi altrimenti il reperto di una sola banda a velocità tanto più rapida quanto maggiore è il contenuto di *a*. I reperti dalla nascita in poi, col diminuire di *ar*, tendono ad avvicinarsi a quelli dell'adulto, che raggiungono al quinto mese di vita.

Lo studio comparativo delle velocità elettroforetiche e del contenuto di *ar* dell'Hb di bambini dalla nascita all'ottavo mese di vita mise in evidenza che la diminuzione di *ar* e l'aumento della velocità elettroforetica vanno di pari passo.

Ricerche di frazionamento con salatura condotte da Roche e coll. hanno portato a distinguere nell'Hb fetale tre frazioni (f_1 , f_2 , f_3) e nell'Hb adulta pure tre frazioni (a^1 , a^2 , ed occasionalmente o). È risultato inoltre che la frazione a^2 è ancora scindibile in due sottofrazioni: a'_2 ed a''_2 . La frazione a^2 è presente anche nel sangue del neonato. Col crescere del lattante i reperti si avvicinano a quelli dell'adulto, raggiungendoli attorno al sesto mese.

Fra l'Hb adulta e quella fetale esistono anche differenze antigeniche (Darrow, Vecchio e Barbagallo, Goodman e Campbell), del comportamento cromatografico (Sansone e Cusmano, Penati e coll.), spettrofotometrico nell'ultravioletto (Jope, Penati e coll.), della struttura dei cristalli (Haurowitz), dell'affinità per l'ossigeno (Barcroft), della composizione di aminoacidi (Porter, Schenk), della velocità di formazione di film monomolecolari (Brinkmann), della solubilità nelle soluzioni saline (Karvonen, Derrien e coll.), dell'attività perossidasi (Betke), del comportamento alla denaturazione agli acidi (Putignano e Martino, Penati e coll.), all'urea ed al salicinato di sodio (Gardikas e coll.), della denaturazione ed ossidazione col clorato di potassio (Künzer e Saffer).

Le conoscenze sull'Hb fetale hanno notevole importanza per lo studio degli stati patologici di cui trattiamo, perchè in alcuni di essi si manifesta in concomitanza alle Hb anomale od associandosi all'Hb *a* un tipo di Hb *ar*, che possiede numerose caratteristiche dell'Hb fetale e che per tanto dalla maggior parte degli AA. è ritenuto ad essa identico.

Infatti nella *Thalassemia minor* e *major* è ben noto che si riscontrano quote anche preponderanti di Hb *ar* (Vecchio), che hanno lo stesso comportamento elettroforetico (Rich, Vecchio), identica solubilità, struttura di cristalli, spettro di assorbimento nell'ultravioletto, comportamento alla cromatografia su carta (Rich, Sansone, Penati, e coll.), contenuto di isoleucina (Cavallini e coll.) dell'Hb *f*.

Anche nell'anemia a cellule falciformi, nella emoglobinosi *c* omozigotica e negli stati morbosi determinati dalla interazione dei geni *s*, *c*, *d*, *e*, *Th*, possono riscontrarsi quote di *ar* che hanno lo stesso comportamento elettroforetico, spettrofotometrico ed immunologico dell'Hb *f*.

Le ricerche di Putignano e Martino, Perosa e Bini hanno messo in evidenza differenze di comportamento fra l'Hb fetale e quella del Cooley al riguardo della denaturazione da acidi e della elettroforesi su carta. Penati e coll. non sono riusciti però a mettere in evidenza differenze di comportamento alla denaturazione acida frazionata ed è anche da osservare che miscugli di Hb *f* ed *a* a differenti proporzioni delle due Hb possono nell'elettroforesi su carta migrare in banda unica a diversa velocità (Gatto e La Grutta).

Roche e coll. nella malattia di Rietti e Greppi ed in quelle di Cooley hanno trovato aumento delle frazioni *f* da salatura.

Derrien e Reynaud in ricerche elettroforetiche in tampone di cacodilato a bassissima forza ionica sarebbero riusciti a distinguere nella frazione alcaliresistente delle malattie *thalassemiche* sottofrazioni che corrisponderebbero all'Hb fetale e due altre anomale, proprie delle anemie mediterranee (riferito da Vecchio).

La questione della identità o meno delle Hb *ar*, che si osservano nel feto, nelle malattie di Rietti e Greppi, di Cooley e nelle emoglobinosi ereditarie è di notevole importanza per il significato da attribuire alle Hb *ar* riscontrate negli stati morbosi suddetti. Perchè, se esse sono identiche a quella fetale la loro esistenza potrà spiegarsi col prolungarsi od il restaurarsi del pigmento fetale in periodi di vita nei quali esso è presente normalmente, ma in percentuali inferiori al 2%, se non identiche, si dovranno considerare come pigmenti, che possiedono numerose caratteristiche dell'Hb fetale, ma da essa differenti e pertanto come Hb anomale.

Abbiamo già detto che la maggior parte degli AA. propende per l'identità.

Drepanocitosi - Hb S (Fig. 1)

Le prime ricerche di Pauling e coll. (1949) dimostrarono che nei portatori e negli ammalati di drepanocitosi si rinviene una Hb differenziabile elettroforeticamente dalla α , una Hb anomala, che viene ora da tutti denominata s (da sickel=falce). La COHb α , che ha punto isoelettrico 6,87, nell'apparecchio di Tiselius modificato da Swingle in tampone di fosfati a forza ionica 0,1, a pH 6,9 si muove come ione negativo mentre la COHb s con punto isoelettrico 7,09 si muove come ione positivo. Da questi risultati

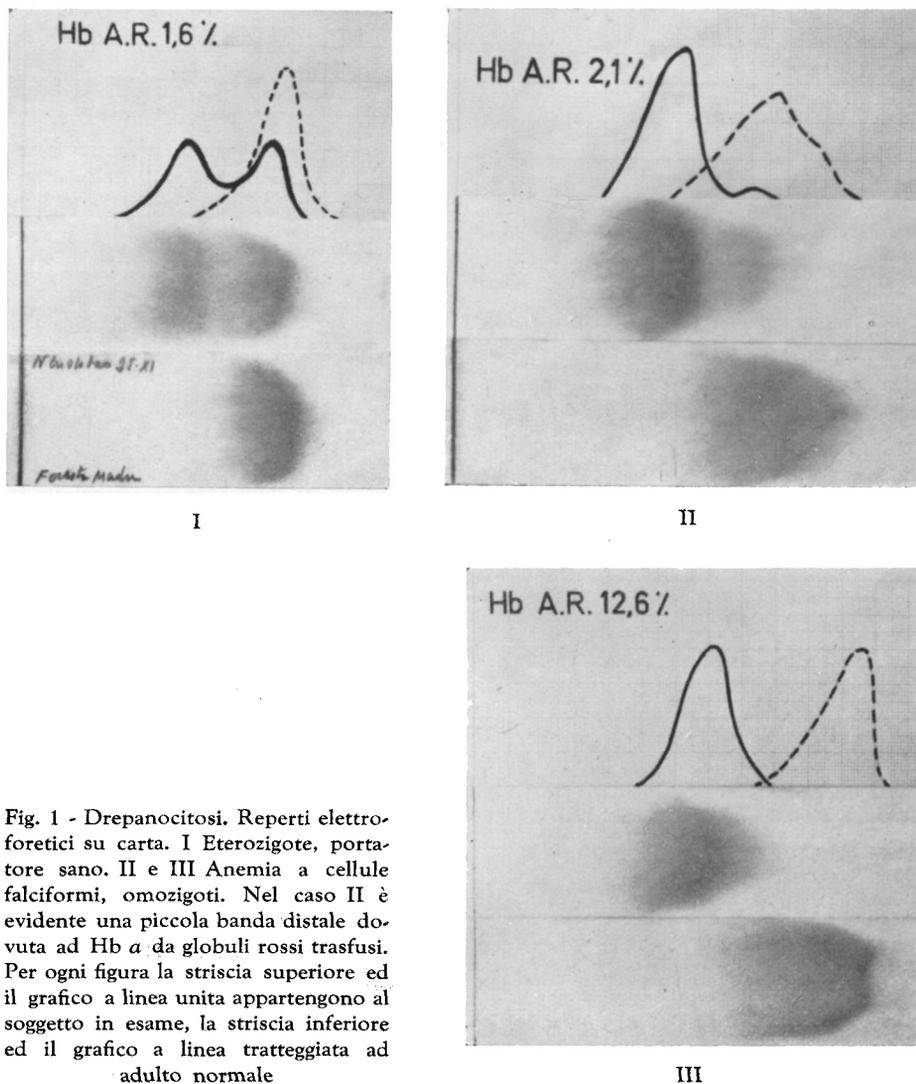


Fig. 1 - Drepanocitosi. Reperti elettroforetici su carta. I Eterozigote, portatore sano. II e III Anemia a cellule falciformi, omozigoti. Nel caso II è evidente una piccola banda distale dovuta ad Hb α da globuli rossi trasfusi. Per ogni figura la striscia superiore ed il grafico a linea unita appartengono al soggetto in esame, la striscia inferiore ed il grafico a linea tratteggiata ad adulto normale

Pauling e coll. dedussero che la molecola dell'Hb *s* deve possedere 2-4 cariche positive in più di quella di *a*, risiedendo nella globina la differenza di costituzione.

L'Hb *s* si eredita come carattere dominante. Negli eterozigoti esso è portato da individui sani, negli omozigoti determina malattia (anemia a cellule falciformi). In rari casi di eterozigoti può essere presente stato di malattia (Neel e coll., Gatto e Purrazzella, Lambotte - Le Grand, Vanderpitte e coll.).

La quantità di Hb *s* negli eterozigoti sani (HB S + A) oscilla fra 24 e 45% (Pauling e coll., Neel e coll.) con presenza di 0,5-1,7 di *ar*. Gli eterozigoti sani, hanno reperto ematologico normale, in alcuni casi si osserva aumento della resistenza globulare osmotica (Valentino). Nel mielogramma si osserva lieve iperplasia eritroblastica (Gatto), ma i globuli rossi trasfusi in individui normali hanno un periodo di sopravvivenza normale (Singer e coll., Callender e coll.).

Negli omozigoti (anemia a cellule falciformi, HB S; HB S + F) la quantità di Hb *s* oscilla fra 85 e 100%, nei casi con percentuali inferiori a 100% la rimanente Hb è di tipo *f* (Singer e Fisher). Nei due soggetti di anemia a cellule falciformi osservati nella Clinica Pediatrica di Palermo in uno è stata osservata circa il 100% di Hb *s* con 2,1 di *ar* e nell'altro Hb *s* 87,4% *ar* 12,6% (Gatto e La Grutta, Russo). Poichè la forma clinica osservata nel primo soggetto fu molto più grave, può dedursi che la malattia è tanto più grave quanto maggiore la percentuale di *s*. Itano, infatti, nelle varie forme di malattia a cellule falciformi ha osservato una significativa correlazione fra gravità dell'anemia e percentuale di Hb *s* presente.

Nell'anemia a cellule falciformi i globuli rossi oscillano nella maggior parte dei casi fra 2-3.000.000, l'anemia usualmente normocitica e normocromica, nei periodi di maggior depauperazione globulare può essere macrocitica (Gatto). Si possono osservare casi con volume globulare basso (75-65 μ^3 Wintrobe, Gatto) e con ipocromia (Gatto).

Si riscontrano ellittociti, cellule a bersaglio, policromatofilia, aumento della resistenza globulare, eritroblasti in circolo. Il numero delle cellule a falce è vario ed in rapporto con i periodi di crisi emolitiche. Si ha un aumento dei reticolociti del ricambio Hbnico, iperplasia eritroblastica midollare con macroblastosi delle fasi basofile e policromatofile e normablastosi della fase ortocromatica (Gatto).

I globuli rossi trasfusi in individui normali mostrano un periodo di sopravvivenza molto ridotto, circa un quarto del normale (Singer e coll., Callender e coll.).

L'Hb *s* oltre che per il comportamento elettroforetico differisce dalla *a* per altre caratteristiche. Itano dimostrò che in soluzione di fosfati 2,24 M l'Hb *s* è meno solubile di quella *a* e pertanto campioni di Hb che contenevano *s* ed *a* mostravano tanto minore solubilità quanto maggiore era la quantità di *s*. Infatti la solubilità di campioni di diverse Hb con presenza di *s* mostravano minore solubilità nell'ordine: portatore di falcemia, C-Drepanocitosi, Thalassodrepanocitosi, anemia a cellule falciformi (omozigote *s* s).

Inoltre la solubilità dell'Hb *s* si abbassa notevolmente allo stato ridotto: mentre la solubilità della Hb *a* ridotta è di circa metà della ossiHb *a*, la solubilità dell'Hb *s* ridotta è di un centesimo della ossiHb *s* (Perutz e Mitchson).

Ulteriori ricerche di Perutz e coll. dimostrarono che la solubilità di Hb *s* ridotta è di circa 1/10 di quello dell'Hb *a* ridotta, e che la solubilità di Hb *s* ridotta è di circa 1/7 di quella necessaria per tenere l'Hb in soluzione nella cellula.

Roche e coll. dimostrarono che nell'Hb dei portatori di drepanocitosi alla salatura si rilevano due frazioni X ed Y, che non sono presenti nell'Hb *a*. L'Hb *s* possiede specificità antigena differente da quella normale. La sua minore solubilità allo stato ridotto sarebbe responsabile del fenomeno della falcizzazione.

Harris dimostrò che gli emolizzati concentrati, privi di stroma, preparati con globuli rossi di individui falcemici sono molto viscosi quando l'Hb si trova allo stato ridotto. In queste soluzioni si formano dei tattoidi (particelle lunghe sottili fusiformi visibili al microscopio a contrasto di fase), che hanno una notevole somiglianza con gli eritrociti falcizzati. Se soluzioni sufficientemente concentrate di Hb *s* sono esposte ad una corrente continua di CO² gelificano (Singer e Singer).

I suddetti risultati provano che il fenomeno della falcizzazione risiede in una anomalia della molecola dell'Hb, che va incontro a particolari modificazioni della sua solubilità in ambiente povero di O².

Poichè il fenomeno della falcizzazione è legato alla presenza di Hb *s*, esso non è rilevabile nel neonato, nel quale la maggior parte dell'Hb è di tipo *f*, ma si mette in evidenza poi nel lattante quando la quantità di Hb *f* diminuisce ed aumenta quella *s*, fino a raggiungere percentuali tali da poter determinare il fenomeno della falcizzazione.

La drepanocitosi omozigotica è una malattia emolitica splenomegalica con crisi di deglobulizzazione, che si accompagnano a dolori osteo-articolari ed addominali, che possono anche simulare l'addome acuto. In essa sono presenti alterazioni scheletriche, cardiovascolari ed ipoevolutismo. Il tumore di milza col progredire della malattia tende a ridursi.

La drepanocitosi è una anomalia dell'Hb propria delle razze negre e si riscontra pertanto anche fra le popolazioni, che con queste razze hanno avuto contatto di sangue. È stata anche rinvenuta fra le popolazioni veddoidi dell'India (Lehmann).

La frequenza dei portatori di questa anomalia fra i negri d'America oscilla attorno all'8%, fra i negri d'Africa, a secondo delle varie regioni, dal 0,9 al 25%. In Sicilia è stata calcolata una frequenza del 1,6‰ (Valentino, Lo Iacono e Luna), in Algeria del 6,9‰ (Cabannes e coll.).

Emoglobinosi C. Hb C (Fig. 2)

Lo studio dei familiari di due ammalati, che presentavano un quadro ematologico riportabile a quello dell'anemia a cellule falciformi, con un solo genitore positivo per i tests della falcizzazione, mise in evidenza nel genitore, che non falcizzava e nel fratello di un ammalato l'esistenza di una nuova Hb anomala, che coesisteva con la *s* negli ammalati (Itano e Neel, 1950). Questa nuova Hb, prima denominata III e poi *c* (Itano, 1951) che migra come ione più positivo di *s* e di *a* a pH 6,5, si trasmette come carattere monomero dominante (Itano e Neel). Le ricerche suddette e le successive hanno mostrato l'esistenza di questo carattere allo stato etero ed omozigotico ed in combinazione con quello della Hb *s* e della *Thalassemia*.

Allo stato eterozigotico (Hb *c* trait, emoglobinosi *c* portatore, HB C + A) si manifesta in individui sani nei quali la *c* rappresenta dal 28 al 44% di tutta l'Hb, con valori di *ar* uguali a quelli dell'adulto normale. In essi si rileva crasi ematica normale, ad eccezione della presenza di un numero quasi sempre elevato di cellule a bersaglio (3-33%).

In alcuni casi è stato riscontrato aumento della resistenza globulare osmotica ed in qualcuno aumento della bilirubinemia indiretta (Kaplan e coll.) o lieve ipocromia (Ranney e coll.). In alcuni soggetti però non si mette in evidenza neanche l'aumento delle cellule a bersaglio e pertanto essi sono distinguibili dai normali esclusivamente per il comportamento elettroforetico dell'Hb (Smith e Conley).

Non pare che nei portatori di Hb c esista iperemolisi (i reticolociti del sangue periferico ed il mielogramma sono normali) ed infatti mentre in prime ricerche di Kaplan e coll. il tempo di sopravvivenza dei globuli rossi trasfusi in individui normali era risultato ridotto in successive ricerche risultò normale.

L'Hb c è presente quasi esclusivamente nei negri con una frequenza del 2-3% (Schneider Smith e Conley). In Algeria è stata osservata una frequenza di 1,04% (Cabannes e coll.).

Successive ricerche hanno dimostrato l'esistenza di individui omozigoti per il carattere Hb c (HB C; HB C + F). Di emoglobinosi c omozigote sono noti i casi pubblicati da Ranney e coll., Watson, Levin e coll., Spaet e coll., Morgan e coll., Diggs e coll., Hartz e Schwartz, Portier e coll., Edington e Lehmann, Ranney. In questi soggetti tutta l'Hb è costituita da c, con quantità di ar uguali a quelli dell'adulto normale, ad eccezione dei tre casi di Ranney, Edington e Lehmann, Portier e coll. nei quali fu riscontrato rispettivamente 6, 14 e 28% di ar.

Gli ammalati non accusano quasi mai sintomatologia subiettiva, solo alcuni hanno facile stanchezza ed artralgie. L'esame clinico mette in evidenza tumore di milza di varia entità: da appena apprezzabile (milza palpabile sotto l'arco costale) fino a splenomegalie, che debordano 10 centimetri sotto l'arco.

L'anemia è spesso presente (il valore minimo di globuli rossi osservato è stato di 3.000.000), in alcuni soggetti il numero dei globuli rossi è stato normale. L'anemia normocromica normocitica (Spaet) può in alcuni casi essere microcitica (Hartz e Shwartz, Portier e coll.).

Il numero delle cellule a bersaglio è molto considerevole (fino al 100%) si ha aumento della resistenza globulare osmotica ed in alcuni casi eritroblasti in circolo. I globuli rossi trasfusi in individui normali mostrano un periodo di sopravvivenza molto ridotto, circa la metà del normale (Spaet, Schneider). Si documenta l'esistenza di un processo iperemolitico (aumento del numero dei reticolociti del sangue circolante, della bilirubinemia, dell'eliminazione del bilinogeno, iperplasia eritroblastica midollare). Il processo di iperemolisi può essere ben compensato tanto da aversi una crasi ematica normale e scarsa

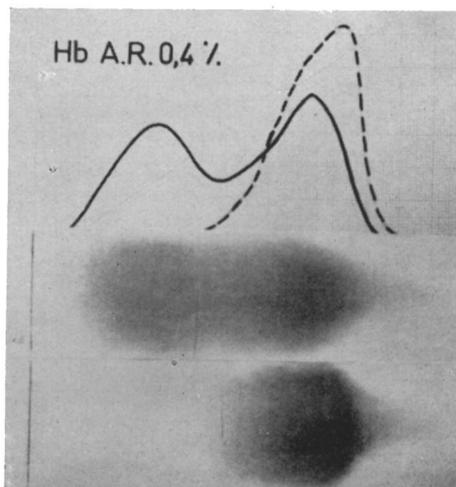


Fig. 2 - Hb c. Reperto elettroforetico su carta. Eterozigote, portatore sano (Hb gentilmente fornita dal Dott. Cabannes di Algeri)

od assenza di sintomi clinici. Non vi è interessamento dell'apparato cardiovascolare, del sistema scheletrico e dello sviluppo corporeo (Hartz e Schwartz).

L'emoglobinosi *c* è stata osservata nei negri ad eccezione della famiglia osservata da Diggs e coll., che era di origine italiana.

L'emoglobinosi *c* omozigotica è stata riscontrata in 1/6000 negri d'America (Terry e coll.).

Emoglobinosi D. Hb D

La scoperta di questa Hb si deve pure ad Itano (1951). Questo A. fra i familiari di due ammalati, che erano stati diagnosticati come anemia a cellule falciformi e con un solo genitore con test di falcizzazione positivo, riscontrò nel genitore, che non falcizzava, ed in due germani il nuovo tipo di Hb, che denominò *d*.

Questa Hb non è capace di determinare il fenomeno della falcizzazione nei globuli rossi, che la posseggono, ma ha lo stesso punto isoelettrico e la stessa velocità di migrazione elettroforetica di *s*, si distingue ancora da *s* per la minore solubilità.

Gli eterozigoti portatori sani (HB D + A) posseggono dal 35 al 49% di Hb *d* ed il rimanente di *a*, sono assolutamente sani e non presentano alcuna alterazione ematologica. L'Hb *d* si trasmette come carattere monomero dominante, è stata riscontrata in individui di razza bianca, con ascendenza inglese, irlandese ed indiana (Itano), in una famiglia inglese, che aveva avuto rapporti di sangue con austriaci e spagnoli (White e Beaver), in un indiano (Bird e coll.), ed in due famiglie algerine (Cabannes e coll.).

La frequenza di questa Hb nell'Algeria è stata calcolata ad 1,7‰. Ancora non sono stati trovati individui omozigoti.

Hemoglobinosi E. Hb E

Le prime osservazioni di questo tipo di Hb si debbono ad Itano e coll. (1954), che la osservarono in un individuo con ascendenza guatemalese, spagnola ed indù ed a Chernoff e coll. (1954), che la osservarono in Thailandia. Ulteriori osservazioni sono state fatte da Graff e coll. nei Vedda e da Chernoff e coll., che fecero delle ricerche più estese fra la popolazione della Thailandia.

L'Hb *e* ha velocità elettroforetica fra quelle di *c* e di *s*, a pH alcalino molto vicina a quella di *c*.

Nei portatori sani (Hb E + A) non si rileva alcun segno clinico, nè alcuna anomalia ematologica ad eccezione della presenza dell'Hb anomala, per la quale si ottiene un reperto elettroforetico con due componenti (Hb *a* ed *e*). La quantità di Hb *e* presente nei portatori oscilla attorno al 28%, con percentuali di *ar* contenute entro i valori dell'adulto normale. I portatori di Hb *e* costituiscono il 12,5% della popolazione Thai (Chernoff e coll.).

L'Hb *e* è stata osservata anche allo stato omozigotico, gli individui affetti presentano facile stanchezza, artralgia, alle volte ittero, si può riscontrare splenomegalia ed epato-megalìa. Il numero dei globuli rossi è normale ed anche quello dei reticolociti; si rinviene

microcitosi normocromica e cellule a bersaglio dal 25 al 60%, la resistenza globulare è aumentata. Nel midollo osseo si osserva lieve iperplasia eritroblastica. Negli omozigoti l'Hb *e* rappresenta il 94-98% e si rinviene dal 2 al 6% di *f*.

L'Hb *e* è anch'essa un carattere ereditario (Chernoff e coll.).

Emoglobinosi G. HB G

Edington e Lehmann (1954) osservarono nell'Africa occidentale un individuo eterozigote per una nuova Hb, che denominarono *g*, che ha velocità elettroforetica fra *a* ed *s*, più vicina ad *s*, con solubilità più elevata di *s* e più bassa di *a*. Nel portatore (HB G + A) l'Hb anomala era circa un terzo di tutta l'Hb, *ar* era presente nella percentuale di 1,5%.

L'Hb *g* si eredita come carattere ereditario monomero dominante.

Di Hb *g* è stato successivamente descritto un individuo omozigote, che non presentava nè anemia nè alcuna anomalia ematologica (Edington e coll.).

Schwartz e Spaet hanno descritto una anemia emolitica ereditaria in una famiglia italiana, un membro della quale presentava allo stato omozigotico una Hb con le proprietà di quella descritta da Edington e Lehmann. Il caso descritto da Schwartz e Spaet presentava però un quadro ematologico simile a quello della Th. minor.

Emoglobinosi H. Hb H

Ancora una nuova Hb è stata messa in evidenza in due fratelli cinesi, che soffrivano di anemia microcitica splenomegalica non distinguibile dalla leptocitosi ereditaria (Thalassaemia) (Rigas e coll. 1955) e denominata *h*. Questa Hb a pH 8,6 forza ionica 0,1 si muove con velocità maggiore dell'Hb *a* e nei due soggetti esaminati (Hb H + A) costituiva il 35% di tutta l'Hb. Nei genitori non si rilevava alcun dato patologico ed anche il reperto elettroforetico dell'Hb era normale (Hb *a*). Poichè questa Hb pare sia anche essa un carattere ereditario (comparsa familiare) potrebbe ritenersi controllata da un carattere recessivo.

Bergren ha osservato una Hb anomala (*x*), la quale non pare possa essere distinta dall'Hb *h* perchè presenta la stessa velocità di migrazione sia a pH 6,5 che a pH 8,6.

Emoglobinosi I. Hb I

Rucknagel e coll. hanno osservato in 6 su 7 membri di una famiglia negra la presenza di una Hb che denominarono *i*. Tutti gli individui osservati erano portatori di questa Hb, eterozigoti, possedevano il 20% di Hb *i*, e l'80% di Hb *a* e quantità di Hb *ar* oscillanti dal 0,5 al 0,7%; presentavano reperti ematologici per il resto del tutto normali.

Questa Hb a pH 6,5 nell'apparecchio di Tiselius ha velocità $1,7 \times 10^{-5}$ cm² / volt / sec., e migra come l'Hb *a* verso il catodo, mentre le Hb *h* ed *x* migrano verso l'anodo. Al sudetto pH pertanto l'Hb *i* è distinguibile dalle Hb *h* ed *x*, ma a pH 8,6 tutte e tre queste Hb hanno identica velocità e non sono distinguibili.

L'Hb *i* è trasmessa come carattere dominante monomero ed è allelo del gene dell'Hb *a*. Non sono stati ancora trovati stati omozigotici dell'Hb *i*.

Anche il comportamento ereditario parla contro l'identità dell'Hb *i* ed *h*, infatti la prima è stata riscontrata in percentuale del 20% allo stato eterozigotico in individui sani, la seconda in percentuali attorno al 30% in individui ammalati senza che si riscontrasse nei loro genitori sani e pertanto dovrebbe ammettersi lo stato omozigotico di un carattere recessivo.

Thalassemia. Hb di tipo F (Fig. 3)

Sebbene la Thalassemia (Th) non possa considerarsi una malattia con Hb anomala in senso stretto, riteniamo debba essere trattata in questo gruppo perchè la natura ed il significato dell'Hb *f*, che si riscontra nelle malattie thalassemiche non sono ancora definitivamente accertati e perchè le interazioni fra il gene della Th. e quelli della Hb anomala in senso stretto sono ben note e discretamente frequenti.

L'alterazione genetica del globulo rosso nella Th., interessa, come vedremo le sue capacità di sintesi Hbica, ma anche, ed in modo cospicuo la sua struttura, per cui il gene che controlla questa anomalia esplica i suoi effetti dannosi con doppio meccanismo. L'azione del gene è evidente non solo nel globulo rosso (alterazioni di volume e di forma, ma anche nella struttura di tutto l'eritrone, per cui la morfologia del midollo osseo nella malattia di Cooley, pur avendo in comune con quella delle altre anemie emolitiche ereditarie la iperaplasia eritroblastica, se ne differenzia per i particolari aspetti sia degli elementi eritroblastici, che di quelli reticolari (Fieschi, Gatto).

Allo stato eterozigotico la Th. si manifesta in individui sani, che quasi costantemente presentano alterazioni fisionomiche caratterizzate da sporgenza e larghezza delle regioni zigomatiche (Gatto) e che presentano costantemente alterazioni ematologiche soprattutto a carico dei globuli rossi, caratterizzate sostanzialmente da aumento della resistenza globulare osmotica, microcitosi ed ipocromia, modificazioni morfologiche e tintoriali, più caratteristiche la schistocitosi e la presenza di cellule a bastoncello.

Le singole alterazioni possono variare di intensità nei vari individui, ma costantemente si rilevano aumento della resistenza globulare, riduzione del contenuto medio di Hb per globulo rosso, presenza di quota di microciti veri e di ellittociti (Gatto e Valentino).

I reticolociti sono in numero normale (Astaldi e coll.) si rinviene iperplasia eritroblastica midollare (Burgio) con microcitosi rilevabile dal diametro citoplasmatico ed un certo aumento del ricambio Hbnico (Astaldi e coll.).

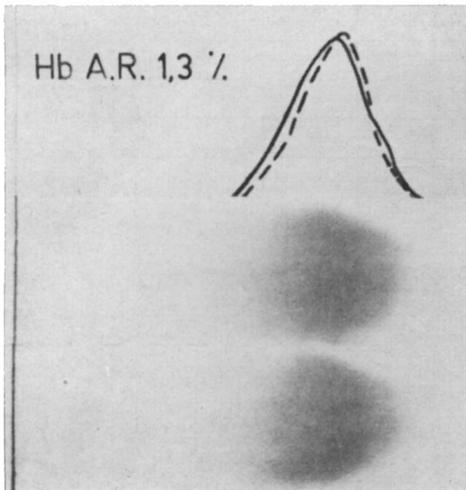
La Th. è un carattere ereditario, che allo stato eterozigotico si presenta nei portatori sani e per maggiore espressività del gene nella malattia di Rietti e Greppi, allo stato omozigotico nella malattia di Cooley (carattere dominante con effetto letale omozigotico, Gatto, 1941-42). Le tre condizioni si possono rispettivamente definire come Th. minima, minor e maior (Gatto, 1947).

Lo stato di malattia si manifesta con anemia emolitica, splenomegalica, con alterazioni più gravi della forma, volume, contenuto di Hb del globulo rosso, della resistenza globulare, del mielogramma (iperplasia eritroblastica) di quelle che si rinvencono nei portatori sani ed inoltre con eritroblastosi periferica ed aumento del ricambio emoglo-

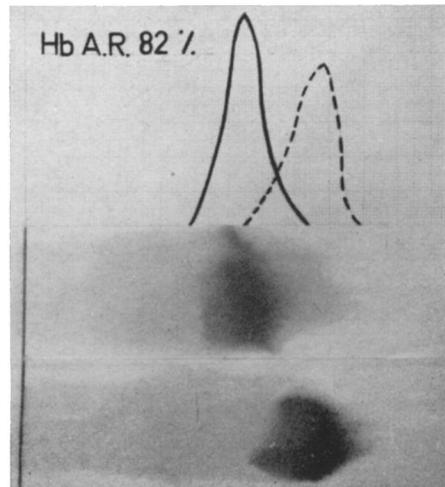
binico. I reticolociti sono usualmente aumentati, ma alle volte modicamente. Gli eritroblasti midollari presentano alterazioni della forma e riduzione del diametro citoplasmatico (Astaldi).

Nell'eterozigote (HB A) il disturbo dell'emoglobinopoesi è limitato alla scarsa capacità di sintesi (Rich) e formazione, solo in alcuni casi, di Hb *ar* in quantità leggermente superiore a quella dell'adulto normale (Cutillo e Romagnoli). Nella Th. minor e maior (HB F + A) accanto al disturbo quantitativo interviene anche quello qualitativo dell'emoglobinopoesi con formazione di percentuali minori nella Th. minor, dal 15 al 40, e maggiori nella Th. maior, dal 60 al 70, secondo Roche e coll. Percentuali di 10-20 nella Th. minor e 65-92 nella Th. maior hanno trovato Cutillo e Romagnoli. È certo che nelle forme più gravi di Th. maior nel bambino piccolo possono riscontrarsi anche percentuali del 90-92% (Puleio). È noto infatti che nella Th. maior possono distinguersi una forma grave del bambino più piccolo ed una meno grave del bambino più grandicello (Gerbasi).

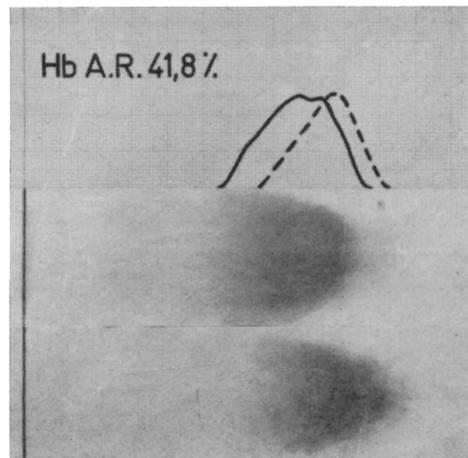
Fig. 3 - Talassemia. Reperti elettroforetici su carta. I Th. minima, eterozigote, portatore sano. II Th. maior, omozigote, forma grave del lattante. III Th. maior, omozigote, forma subcronica del bambino più grandicello



I



II



III

Secondo Sturgeon e coll. non vi è rapporto fra gravità della Th. maior e percentuale di Hb *f* esistente nel singolo caso; d'altra parte è noto che la Th. minor può presentarsi in forme prevalentemente anemiche e prevalentemente emolitiche (Chini). Questi dati di fatto portano a supporre che i singoli geni della Th. possano manifestare sia allo stato omozigotico che in quello eterozigotico maggiormente espresso diversa intensità di espressione delle anomalie da essi controllate: alterazioni di struttura e forma del globulo rosso, scarsa capacità di sintesi dell'Hb e conseguente formazione di Hb *f*. Nel determinare la gravità della malattia nel singolo caso può anche sommarsi la varia entità del fattore nocivo estraglobulare (splenico) che come vedremo, ora appare sufficientemente dimostrato.

Anche nelle ricerche da salatura è risultato che l'Hb dei portatori di Th. minima mostra comportamento uguale a quello dei normali, al contrario nella Th. minor e maior si rinvenivano quote elevate di f_1 , f_2 , f_3 (Roche e coll.).

Abbiamo già detto che l'Hb *ar* della Th. presenta numerose caratteristiche identiche a quelle della fetale e che dalla maggior parte degli AA. è ritenuta identica ad essa.

Alla diversa composizione dell'Hb nella Th. minima da una parte e nelle Th. minor e maior dall'altra corrispondono differenti reperti elettroforetici. Essi nella Th. minima non differiscono da quelli dell'adulto normale (Rich, Gatto e La Grutta) mentre nella Th. minor e maior si riscontrano in vena liquida due onde, corrispondenti alle Hb *a* ed *f* (Rich, Vecchio). In elettroforesi su carta nella Th. maior, a seconda della percentuale di Hb *f*, si riesce a separare le due Hb, ma nei casi con elevata componente di *f* si ottiene una banda unica a velocità tanto più vicina a quella di *f* quanto maggiore è la percentuale di questa Hb (Gatto e La Grutta).

La sopravvivenza dei globuli rossi di portatori di Th. minima iniettati in individui normali è normale, quella di globuli rossi di ammalati di Th. maior è notevolmente ridotta (Kaplan e Zuelzer, Frontali e Stegagno).

Nella Th. maior però accanto al difetto endoglobulare, che determina la minore vitalità del globulo rosso, coesiste un fattore estraglobulare di emolisi (splenico), che concorre a ridurre ulteriormente la vitalità del globulo rosso. Infatti Lichtmann e coll. e Smith e coll. hanno osservato che i globuli rossi di soggetti affetti da malattia di Cooley splenectomizzati, trasfusi nei soggetti normali possono mostrare un periodo di sopravvivenza normale. Il fattore nocivo splenico si determinerebbe col progredire della malattia e sarebbe pertanto più marcato nei soggetti più avanti in età. Bisogna però riconoscere che il difetto endoglobulare deve costituire la causa principale della minor vitalità del globulo rosso perchè la malattia di Cooley è tanto più grave quanto più rapido è il decorso e quindi quanto minore è la possibilità che il fattore splenico si costituisca.

Ulteriori ricerche di Mc Elfresh e coll. hanno dimostrato che il fattore nocivo splenico può essere presente anche in bambini piccoli, infatti i globuli rossi di individuo sano trasfusi in un bambino di sette mesi affetto da malattia di Cooley prima della splenectomia, mostrarono una sopravvivenza di 18-20 giorni, mentre dopo l'intervento la sopravvivenza diventò normale (110 giorni).

Queste ricerche evidenziano l'importanza del fattore emolitico splenico, che sem-

brava negato dalle precedenti di Zuelzer e coll., che avevano mostrato la normale sopravvivenza di globuli rossi di individui normali trasfusi in quelli con malattia di Cooley.

La coesistenza di azioni dannose esplicate dalla milza sul globulo rosso della malattia di Cooley, in particolare nei soggetti più grandicelli era già stata dimostrata dagli effetti benefici della splenectomia nel decorso del male.

In seguito a splenectomia infatti si ottiene riduzione dei processi di emolisi, aumento del numero dei globuli rossi, riduzione della iperaplasia eritroblastica midollare, riduzione del ricambio Hbnico (Gatto).

La Th. è propria delle popolazioni mediterranee e dei loro discendenti emigrati nell'America del Nord e pertanto, data la presenza nei portatori di Th. minima di caratteri fisionomici propri delle razze paleolitiche superiori, si può pensare che la mutazione sia insorta in una razza paleomediterranea, razza di S. Teodoro (Gatto). Sono stati osservati però casi di Th. in popolazioni extramediterranee e pertanto Orsini e Badetti, in base alla distribuzione geografica dei casi finora noti, hanno avanzato l'ipotesi che la mutazione interessi un gruppo di razze dolicocefalo bruno (mediterranea, indoafgana e sud-orientale). A nostro parere, data la notevole diffusione della Th. e la presenza nei portatori delle stigmati fisionomiche suddette, è più logico pensare che la mutazione sia propria di razze più antiche (paleolitiche). A favore di questa ipotesi si sono espressi anche Muratore e Pontecorvo, invocando come causa di mutazione l'urto Rh.

Ancora a favore dell'opinione che le mutazioni (per lo meno alcune) responsabili delle anomalie ematologiche, che sono a base delle anemie emolitiche ereditarie, siano insorte in razze molto antiche, sta anche la constatazione della presenza della Hb s ed e fra le popolazioni Veddoidi dell'India, che come è noto costituiscono la sopravvivenza di razze arcaiche.

Interazioni del gene dell'Hb S con quelli di C, D, G, Th

Da quanto abbiamo esposto risulta che la scoperta di alcune nuove Hb anomale è proceduta dall'osservazione di individui, che presentavano quadri morbosi simili a quelli dell'anemia a cellule falciformi, ma con sintomi clinici ed ematologici più lievi. Questi quadri morbosi risultarono determinati dall'interazione del gene dell'Hb s con quelli delle nuove Hb fino allora non conosciute. Sono note malattie determinate dall'interazione di s con le nuove Hb c e d ed anche con il gene della Th. (Th.).

Neel e coll. hanno proposto di denominare col termine *Sickle cell disease* — malattia a cellule falciformi — tutti i quadri morbosi nei quali la drepanocitosi interviene come causa di malattia specificando le singole condizioni genetiche e di costituzione emoglobinica con i termini di *Sickle cell anemia* (anemia a cellule falciformi) per la forma omozigotica di s, *Sickle cell - Hemoglobin c disease* (C-Drepanocitosi), *Sickle Cell-Hemoglobin d disease* (D-Drepanocitosi), *Sickle cell-Thalassemia disease* (Thalassodrepanocitosi) rispettivamente per la interazione del gene s con quelli di c, di d e di Th.

C-Drepanocitosi (*Sickle Cell-Hemoglobin C Disease*) Hb S + C; Hb S + C + F

È stata osservata esclusivamente nei negri. Le percentuali di Hb s e c oscillano attorno a 50 : 39-50% di s e 48-50% di c secondo Itano e Neel, 46-62% di s e 37-54% di c se-

condo Schneider, 48% di *s* e 52% di *c* secondo Larson e Ranney e coll. I valori di Hb *ar* sono normali.

La contemporanea esistenza di Hb *a* appare controversa. In una osservazione di Itano e Neel in un soggetto fu riscontrato il 13% di una Hb che fu interpretata come *a*; Ranney ha però affermato che in 14 individui con C-Drepanocitosi da lei esaminati, non ha potuto riscontrare Hb che potesse essere identificata con la Hb *a*. Appare molto verosimile che l'opinione di Ranney sia esatta poichè l'osservazione di Itano e Neel fu fatta in tampone di cacodilato a pH 6,5 ed è noto che in questo tampone le Hb *a* ed *f* non sono differenziabili ma lo sono solamente in tampone 0,01 M di Na₂ HPO₄. L'onda *non-s* e *non-c* del caso di Itano e Neel poteva pertanto essere interpretata come *a* o come *f*, perchè in quel caso non fu eseguito il dosaggio dell'Hb *ar*.

La malattia ha un decorso più lieve di quello dell'anemia a cellule falciformi. Nei primi periodi di malattia la milza non appare ingrandita, ma aumenta gradualmente di volume col progredire del male. Le crisi dolorose sono rare e si determinano più facilmente durante la gravidanza, si può avere ematuria (Smith e Conley).

Non si rilevano sintomi cardiovascolari, nè deficienza dell'accrescimento, raramente sono rilevabili alterazioni scheletriche (Ranney e coll.).

L'anemia è quasi sempre molto lieve, il valore più basso riscontrato di globuli rossi è stato di 3.500.000. Si rileva quasi costantemente microcitosi lievemente ipocromica, gli eritrociti hanno forma e contorno normale, si rinvengono però numerose cellule a bersaglio (fino all'85%) e solo scarse cellule a falce. Il fenomeno della falcizzazione è molto evidente ed interessa quasi il 100% degli eritrociti. La resistenza globulare osmotica è aumentata, quella meccanica normale, sia in ambiente di O₂ che di CO₂. Vi è aumento dei reticolociti del sangue periferico, della bilirubinemia indiretta, dell'eliminazione del bilinogeno ed iperplasia eritroblastica midollare (Kaplan e coll.). La durata di vita dei globuli rossi trasfusi in individui sani è ridotta (vita media attorno a 10 giorni). L'ipermolisi pertanto riconosce come causa un difetto endoglobulare.

D-Drepanocitosi (Sickle Cell-Hemoglobin D Disease) Hb S + D; S + D + F

È stata osservata per prima da Itano. La percentuale delle due Hb presenti non è nota perchè esse non sono elettroforeticamente distinguibili, l'Hb *ar* è presente in quantità del 6-12%. La malattia è stata riscontrata anche nel piccolo lattante. Il volume della milza può essere normale o considerevolmente aumentato. Si avverano crisi di dolori osteoarticolari ed addominali. L'anemia è marcata (globuli rossi attorno a 2.500.000), macrocitaria, lievemente ipocromica. Si rinvengono numerose cellule a falce, il fenomeno della falcizzazione non è però così massivo come nell'anemia a cellule falciformi. Si rinvengono cellule a bersaglio, la resistenza globulare osmotica è normale, vi è aumento dei reticolociti e della bilirubinemia indiretta.

G-Drepanocitosi (Sickle Cell-Hemoglobin G Disease) Hb S + G

Ne è stato descritto un solo caso da Schwartz e Spaelt. Questo soggetto presentava un quadro clinico ed ematologico molto simile a quello della Thalassodrepanocitosi.

Thalassodrepanocitosi (Sickle Cell-Thalassemia Disease) Hb S + F + A (Fig. 4)

Fra le malattie emolitiche costituzionali determinate dalla interazione di geni diversi, che singolarmente possono determinare malattia allo stato omozigotico, la Thalassodrepanocitosi (Thdr) è certamente la meglio conosciuta. Una serie di osservazioni italiane (Silvestroni e Bianco, Gatto e Purrazzella, Gatto e Russo, Romeo) ed americane (Powell e coll., Neel e coll., Singer e coll., Humble e coll., Reich e coll.), hanno contribuito a chiarire il quadro clinico ed ematologico.

Le osservazioni riguardano individui di razze bianche e negre. Mentre negli eterozigoti sani per l'Hb s si rinvencono percentuali fra 24 e 45 di questa Hb, nella Thdr la quantità può oscillare fra 61 e 84%, superando anche le percentuali osservate in alcuni casi di drepanocitosi omozigotica (anemia a cellule falciformi) che oscillano fra 80 e 100. Nella Thdr la rimanente Hb è costituita da *a* e da *f*. Le percentuali di queste due Hb possono essere varie: *a* da 1 a 33%, *f* da 1 a 19%. Nella maggior parte dei casi prevale però *f* (nei cinque casi descritti da Gatto e Russo oscillava fra 10 e 18%), ma sono stati descritti casi con percentuali basse (1, - 1,5%, Motulsky, Singer e coll.).

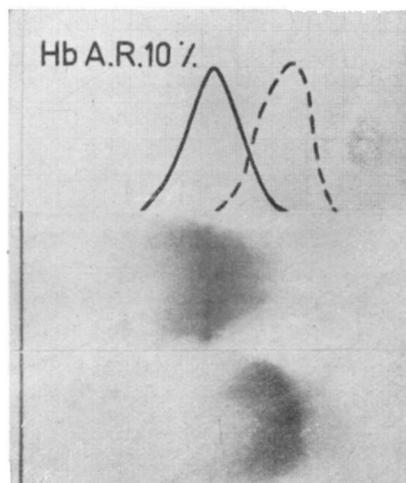
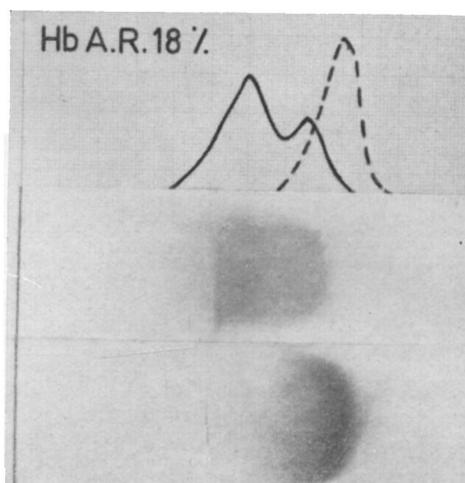
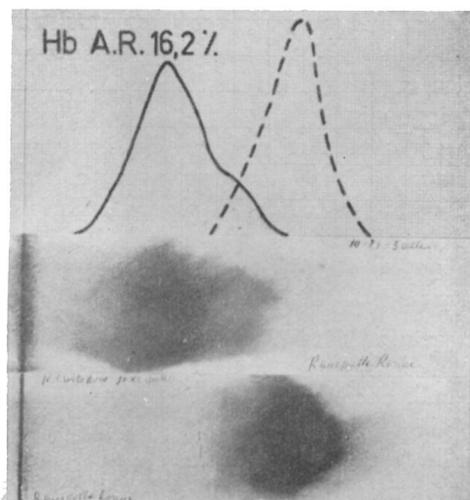


Fig. 4 - Thalassodrepanocitosi. Reperti elettroforetici su carta



Il quadro clinico della malattia è caratterizzato da anemia epatosplenomegalica, cardiomegalia, alterazioni scheletriche a tipo osteoporotico con ispessimento della teca cranica, lieve ipoevolusismo, non costanti alterazioni della faccia, avvicinabili a quelle proprie della malattia di Cooley, ma di minore entità. Come nella anemia a cellule falciformi possono determinarsi crisi addominali, di tale entità da simulare l'addome acuto (Russo).

L'anemia può essere normo e microvolumnica e quasi sempre marcatamente ipocromica. Accanto a globuli rossi di forma e tingibilità normale se ne rinvencono costantemente con tutti i caratteri della Th. (ipocromia, anisocitosi, poichilocitosi, cellule a bastoncello, microciti, schistociti ed un elevato numero di cellule a bersaglio). Non costantemente si rinvencono cellule a falce ed eritroblasti in circolo. Si ha marcato aumento della resistenza globulare osmotica, dei reticolociti, della bilirubinemia, dell'eliminazione del bilinogeno.

L'iperplasia eritroblastica midollare è caratterizzata da eritropoiesi macroblastica nelle fasi basofile, che dalla fase policromatofila in poi tende alla microblastica, soprattutto per riduzione del citoplasma (Gatto e Russo).

Si documenta un processo imperemolitico scompensato, spesso grave. Secondo Singer e coll. vi possono essere però dei casi lievissimi, asintomatici, diagnosticabili solo per una lieve riduzione del contenuto medio di Hb del singolo globulo rosso.

Interazioni dei Geni delle Hb C ed E con quello della Talassemia C-Talassemia (Hemoglobin C - Talassemia Disease) Hb C + A

Le nostre conoscenze provengono dalle osservazioni di Singer e coll. e di Zuelzer e coll., riguardanti individui negri.

Nelle osservazioni dei primi AA. la percentuale di Hb c oscillava da 74,1 e 77,4, il rimanente era costituito da a, i valori di ar erano normali o lievemente superiori alla norma (2,7%). Lo stato morboso era asintomatico, il fegato e la milza erano nei limiti normali, non si rilevava ingrandimento dell'aria cardiaca. Esisteva poliglobulia, microcitosi marcata normocromica, vi era presenza di numerose cellule a bersaglio (43%) di eritroblasti in circolo, aumento della resistenza osmotica, aumento dei reticolociti e della bilirubinemia indiretta (un processo iperemolitico ipercompensato).

Nella osservazione di Zuelzer e coll. non vi era epatosplenomegalia ma esisteva uno stato anemico con microcitosi marcatamente ipocromica, con numerose cellule a bersaglio (60%), aumento della resistenza globulare osmotica, aumento dei reticolociti, della bilirubinemia indiretta, dell'eliminazione del bilinogeno, iperplasia eritroblastica midollare (un processo emolitico scompensato).

E-Talassemia (Hemoglobin E - Talassemia Disease) Hb E + F

Le osservazioni di Itano e coll. e di Chernoff e coll. documentano l'esistenza di Hb e (68-80%) e di f per il rimanente, non documentabile è l'esistenza di a. In un soggetto vi era sangue indù, l'altro era della Thailandia. Si rilevavano tumore di milza e di fegato, alterazioni cardiovascolari e scheletriche. L'anemia era marcata (2.500.000 globuli rossi)

microcitica ed ipocromica, con presenza di eritroblasti in circolo (fino a 40 su 100 leucociti). Erano presenti anisocitosi, policromatofilia, numerose cellule a bersaglio, aumento dei reticolociti, delle bilirubinemia, e dell'eliminazione del bilinogeno (un processo iperemolitico scompensato).

La E-Thalassemia si presenta con un quadro clinico ed ematologico molto simile a quello della malattia di Cooley, ma in generale più attenuato, pertanto gli ammalati in generale raggiungono l'età adulta.

Oltre che per interazioni di due geni responsabili della comparsa di Hb anomale, malattie emolitiche costituzionali possono risultare dalla interazione di un gene di Hb anomala con un gene, che si rileva solo per alterazioni della forma e del volume del globulo rosso. Sono infatti noti casi di ellittotalassemia (Silvestroni e Bianco e di ellittodrepanocitosi (Venderpitte e Louis) e non può escludersi che possano avverarsi anche interazioni col gene della sferocitosi.

Bisogna però ricordare che allo stato delle nostre conoscenze oltre alla ellittocitosi ed alla sferocitosi, alla Thalassemia ed alle emoglobinosi in senso stretto esiste un altro gruppo di caratteri ereditari responsabili dell'insorgenza di malattie emolitiche, che dagli AA. di lingua inglese vengono per lo più denominate *non sferocytic hemolytic anemia* (Crosby, Kaplan e Zueker, Haden, Feidenber e Watson, Lipton e coll., Motulsky e coll.).

Questo termine non dà una definizione completa di queste malattie perchè dovrebbe dirsi anemie emolitiche senza alterazioni della forma del globulo rosso e senza Hb anomale. Tale denominazione sarebbe molto lunga e pertanto, fin quando non possederemo cognizioni più esatte sarà forse preferibile denominarle con Dacie e coll. e Nelson anemie emolitiche congenite atipiche.

Si ritiene che queste malattie siano ereditarie con carattere dominante (Crosby). La ricerca del carattere morboso nei genitori è molto difficile e spesso non si mette in evidenza, per cui si ritiene o che un carattere semirecessivo ereditato da entrambi i genitori determini la malattia nei figli e che il carattere dominante possa avere in molti soggetti scarsa espressività e penetranza. Poichè il gruppo delle anemie emolitiche pare sia costituito da più di una malattia potrebbero esistere più di un tipo di ereditarietà (Motulsky e coll.).

Negli ammalati l'anemia è usualmente normocromica e normocitica, ma può essere macrocitica, vi è chiaro aumento dei reticolociti, aumento del ricambio emoglobinico, vi può essere notevole aumento degli eritrociti con punteggiatura basofila, iperplasia eritroblastica midollare. La sopravvivenza dei globuli rossi trasfusi in individui normali è molto ridotta (vita media fra 12 e 16 giorni), la malattia è pertanto dovuta ad un difetto intrinseco del globulo rosso. La fragilità globulare osmotica e meccanica è normale.

È parere degli AA., che si sono occupati dello studio di queste malattie che non si abbia da fare con una unica condizione morbosa. Infatti Dacie distingue in esse un tipo I ed un tipo II.

Incubando i globuli rossi a 37° per 24 ore nel tipo II si ha aumento della fragilità osmotica e marcata emolisi mentre nel tipo I si ha comportamento uguale a quello dei globuli rossi normali. L'aggiunta di glucosio al mezzo di incubazione riduce l'emolisi nel normale e nel tipo I (l'effetto è però minore nel tipo I) mentre non ha effetto nel

tipo II. Nei globuli rossi del II tipo manca la capacità di regolare l'equilibrio ionico fra globulo rosso e mezzo, che ricava l'energia necessaria dai processi di glicolisi.

Riassumendo le conoscenze attuali, risulta evidente che nell'uomo esistono diversi tipi di Hb, sia normali che abnormi. I mezzi di indagine fisico-chimica ci permettono di differenziarle e riconoscerle, di seguire le modificazioni quantitative delle normali nelle varie età della vita, di individuare la presenza delle abnormi nelle varie condizioni patologiche, che esse determinano (vedi Tab. I).

I mezzi più pratici di indagine applicabili alla clinica sono il riconoscimento delle quote alcaliresistenti e la determinazione della velocità elettroforetica.

Abbiamo già detto che le Hb *a* ed *f* hanno punti isoelettrici molto vicini e pertanto è difficile differenziarle nell'apparecchio di Tiselius nei tamponi di cacodilato mentre riesce in quelli 0,01 M di Na_2HPO_4 (Itano).

Nell'elettroforesi su carta la differenziazione riesce solo per determinate proporzioni delle due Hb, tanto più evidente quanto le proporzioni delle due Hb si avvicinano al 50%. Se una delle due Hb prevale notevolmente, la differenziazione non è più possibile e le due Hb migrano in unica banda con velocità tanto minore quanto maggiore è la percentuale di *f* (Gatto e La Grutta). Questo comportamento deve essere considerato con molta attenzione perchè comparando due campioni, che contengono entrambe le Hb *a* ed *f*, ma a differenti percentuali, come ad esempio avviene in campioni di sangue di bambini di diversa età entro i primi cinque mesi di vita od in ammalati di Th. con diversa percentuale di *f* si potranno ottenere due bande uniche a differenti velocità di migrazione (quella con maggiore percentuale di *f* a velocità minore). Si potrà pertanto essere tratti in errore giudicando i due campioni ognuno costituito da una differente Hb e non da differenti percentuali di due tipi di Hb come nella realtà è.

Le COHB *s* e *d* hanno punto isoelettrico di 7,09 e pertanto a pH superiori a 7,01 si muovono ancora più lentamente di *a* e di *f*. L'Hb *c*, che ha punto isoelettrico più alto si muove più lentamente di *s*.

Le velocità delle differenti COHb in $\text{cm}^2, \text{sec}/, \text{volt}/$ in tampone di cacodilato a forza ionica 0,1, pH 6,5 sono calcolate per *i* $1,7 \times 10^{-5}$ per *a* $2,4 \times 10^{-5}$, per *s* e *d* $2,9 \times 10^{-5}$, per *c* $3,2 \times 10^{-5}$. La mobilità relativa in tampone 0,1 M di Na_2HPO_4 di *a*, *f*, *s* e *d*, *c* approssimativamente sta nel rapporto 1, 2, 3, 4 (Itano). In elettroforesi su carta in tam-

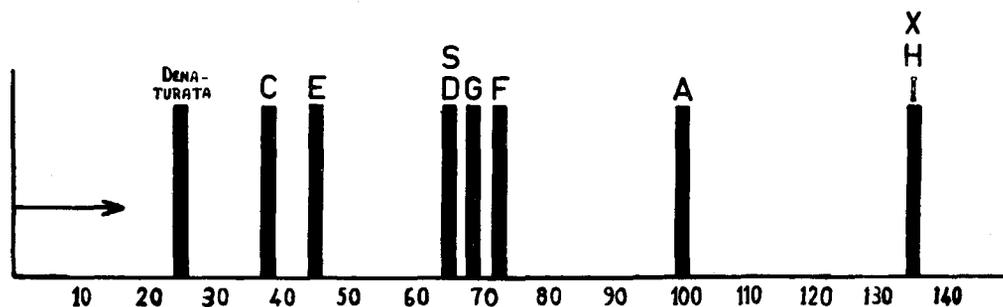


Fig. 5 - Velocità in elettroforesi su carta a pH 9, 2 delle varie Hb. Velocità dell'Hb *a* data come 100 (schematica)

I. Gatto: Anemie emolitiche da anomalie ereditarie dell'Hb.

Tab. I

	Situazione genica	Hb							
		A %	S %	C %	D %	E %	G %	I %	F %
Adulto normale	A A	98,4-100							< 2
Neonato normale	A F	15-40							60-85
Drepanocitosi portatore	A S	55-76	24-45						< 2
Drepanocitosi omozigote	S S		85-100						1-15
Emoglobinosi C portatore	A C	66-72		28-44					< 2
Emoglobinosi C omozigote	C C			86-100					1-14
Emoglobinosi D portatore	A D	51-65			35-49				1-7
Emoglobinosi E portatore	A E	72				28			
Emoglobinosi E omozigote	E E					94-98			2-6
Emoglobinosi G portatore	A G	66					33		1,5
Emoglobinosi G omozigote	G G						100		0
Emoglobinosi I portatore	A I	80						20	0,5-0,7
Thalassemia minima portatore	A Th	95-98							2-5
Th minor	A Th	60-85							15-40
Th maior	Th Th	8-40							60-92
C-Drepanocitosi	C S		39-62	26-53					0-13
D-Drepanocitosi	D S		+		+				6-12
Thalassodrepanocitosi	Th S	1-33	67-84						1-19
C-Thalassemia	C-Th	22-23		74-77					0-2,7
E-Thalassemia	E-Th					68-80			20-32

pone di veronal sodico al 2,1‰ a pH 9,2 le velocità delle varie Hb rispetto a quella di *a* considerata come 100 si seguono nell'ordine: *f* (con 20% di *a*) = 73, *s* = 65, *c* = 38 (Gatto e La Grutta). Delle nuove Hb la *e* ha velocità intermedia fra *s* e *c*, la *g* fra *f* ed *s*, la *h* velocità maggiore di *a*.

In base a questi dati le velocità delle varie Hb note a pH superiori a 7,1 si seguono nell'ordine *h* ed *i* < *a* < *f* < *g* < *s* e *d* < *e* < *c* e schematicamente possono essere rappresentate come nella fig. V.

Secondo Ruchnagel e coll. in elettroforesi su carta a pH 8,6 le varie Hb avrebbero le seguenti velocità relative: *i* = 1, *a* = 2, *f* = 3, *g* = 4, *s* e *d* = 5, *e* = 6, *c* = 7.

Le ricerche elettroforetiche sull'Hb hanno permesso di delimitare fra le anemie emolitiche ereditarie un gruppo ben caratterizzato da modificazioni della costituzione Hbinica. In questo gruppo bisogna distinguere le forme patologiche caratterizzate da una Hb anomala specifica: Hb *s*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, e dall'altra la Th., nella quale solo negli stati di malattia si ha comparsa di Hb alcaliresistente a tipo *f*.

A parte bisogna considerare l'emoglobinosi H, nella quale la Hb anomala compare solo negli stati di malattia verosimilmente omozigotici.

È dimostrato che l'alterazione della molecola Hbinica risiede nella globina e non nel gruppo prostetico, ipotesi che già Perosa aveva avanzato nel 1948 a proposito del disturbo della sintesi dell'Hb nella Talassemia.

L'Hb *f* però può anche essere presente negli stati morbosi determinati dallo stato omozigotico delle singole Hb anomale, dalla coesistenza di due di esse o di una di esse con la Th.

È caratteristico per tutti gli stati morbosi di cui trattiamo che lo stato eterozigotico è portato da individui del tutto sani, nei quali solo l'indagine ematologica mette in evidenza il carattere morboso. Nei portatori del gene *h* anche l'indagine ematologica è normale.

Nei portatori di Hb *s*, *c*, *d*, *e*, *g*, il carattere distintivo è costituito dalla costante presenza dell'Hb anomala e solo in alcuni di essi da alterazioni della forma dei globuli rossi e della resistenza globulare osmotica, potendo molti casi (alcuni portatori di *c* ed i portatori *d*, *e*, *g*, *i*) essere, ad eccezione della presenza dell'anomalia Hbinica, per il resto assolutamente non distinguibili dagli individui normali.

Nei portatori di Th. al contrario l'alterazione distintiva risiede nel volume e nella forma e nei caratteri biofisici dei globuli rossi (microcitosi iperresistente, che interessa per lo meno una quota della popolazione globulare) e solo in una ridotta capacità di sintesi dell'Hb normale adulta con quantità di Hb a tipo *f* entro i limiti dei valori normali o leggermente più elevati.

Le varie situazioni geniche omozigotiche, quelle determinate dalla coesistenza di due caratteri eterozigoti differenti e quelle ancora che, allo stato attuale delle conoscenze dobbiamo limitarci a definire come eterozigoti maggiormente espressi, determinano processi emolitici più o meno gravi: da lievissime forme compensate alle volte con poliglobulia come in alcuni casi di omozigosi *c*, C-Drepanocitosi e C-Thalassemia fino a forme gravissime che possono portare a morte l'individuo anche entro il primo anno di vita (malattia di Cooley, anemia a cellule falciformi).

Mentre i globuli rossi dei portatori eterozigoti, trasfusi nel ricevente sano mostrano tempo di sopravvivenza normale, quelli di individui con malattia lo mostrano notevolmente ridotto, il che rivela l'esistenza di un difetto endogeno della vitalità del globulo rosso (questo comportamento è stato chiaramente dimostrato per l'anemia a cellule falciformi, per l'emoglobinosi c omozigotica, per la C-Drepanocitosi, per la thalassodrepanocitosi e per la Th. maior).

Gli omozigotici finora noti (*ss*, *cc*) di geni che determinano comparsa di Hb anomala sono caratterizzati dal raddoppiarsi, grosso modo, della quantità di Hb anomala, che si riscontra nell'eterozigote. Negli omozigoti, in alcuni casi, queste Hb costituiscono il 100% del patrimonio di pigmento ematico, in altri casi circa l'80% ed il rimanente è costituito da Hb *f*, rimanendo assente l'Hb *a*.

Nei casi determinati dalla interazione di un gene *s* con uno *d* si ha coesistenza delle due Hb anomale e presenza di *f* fino al 12%, (Sturgeon e coll.).

La stessa situazione pare debba avverarsi nella interazione fra un gene *s* ed uno *c* (Ranney).

Negli omozigoti Th si ha l'aggravamento dei caratteri patologici (alterazioni del volume e della forma del globulo rosso, ridotta capacità di sintesi di Hb) presenti negli eterozigoti e comparsa di notevoli quantità di Hb a tipo *f* (fino al 90%).

Nei doppi eterozigoti del gene Th con uno di *c*, *s*, e si è osservata (ad eccezione del caso di C-Thalassemia descritto da Zuelzer e coll.) una maggiore espressività del gene dell'Hb anomala, raggiungendosi quantità di queste Hb circa doppie di quelle che si riscontrano negli eterozigoti, si ha inoltre comparsa di Hb *f* (ad eccezione dei casi di C-Th.) e coesistenza di Hb *a* (ad eccezione di E-Th.).

I *fondamenti genetici* delle anomalie dell'Hb e delle alterazioni del globulo rosso, su cui le malattie emolitiche costituzionali di cui trattiamo si sviluppano, son ben accertati. Trattandone singolarmente abbiamo visto che questi caratteri patologici sono monomeri e dominanti. Essi però presentano una dominanza con maggiore evidenza del carattere allo stato omozigotico. Per questo tipo si preferisce il termine di dominanza incompleta.

Il determinarsi della malattia negli stati omozigotici ed in quelli causati dalla interazione di due eterozigoti appare assolutamente chiaro; rimane da interpretare la causa che determina in alcuni soggetti la maggiore espressività del gene e di conseguenza la malattia in alcuni eterozigoti.

Le conoscenze attuali ci impongono però, prima di potere affermare l'esistenza di malattia in un eterozigote puro, di dovere assolutamente escludere con un completo esame ematologico dell'ammalato e dei suoi genitori l'esistenza di un altro carattere ematologico anomalo trasmesso dal genitore, che non presenta il carattere morboso maggiormente espresso nel figlio.

Con l'esclusione di questa evenienza, di quella della estraconiugalità e di quella ancora più rara della sostituzione del figlio, il problema rimane ancora aperto per la spiegazione di alcuni casi sicuramente accertati di anemia a cellule falciformi eterozigoti puri (con madri negative per i test di falcizzazione e per la ricerca delle altre Hb anomale e di altri caratteri ematologici ereditari) e per la malattia di Rietti e Greppi (eterozigoti Th. ammalati, Th. minor).

Osservazioni di soggetti con anemia a cellule falciformi eterozigoti sono state riportate da Gatto e Purrazzella, Neel e coll., Lambotte-Legrand, Vanderpitte e coll. Questi ultimi AA. calcolano che la frequenza di bambini africani con anemia a cellule falciformi eterozigoti ammonti al 2% degli individui affetti da questa malattia.

Rimanendo sul piano genetico l'evenienza può spiegarsi con l'esistenza di geni modificatori, che ereditati indipendentemente dal gene *s*, possono determinare o scarsa o esagerata espressione di *s*. Nel primo caso il genitore che non falcizza possiede oltre ad *s* un gene modificatore di *s* che ne inibisce l'espressione e pertanto non è riconoscibile ma può trasmettere ai figli il gene *s* senza quello modificatore, che si eredita indipendentemente da *s*. Con questo meccanismo può spiegarsi l'osservazione di Singer e Fisher di una famiglia con individui con anemia a cellule falciformi, la cui madre non presentava il fenomeno della falcizzazione. In questa donna però all'indagine elettroforetica eseguita in vena liquida si poteva rilevare una percentuale di Hb *s* pari al 5%, ma il fenomeno della falcizzazione mancava perchè è noto che affinché esso si determini è necessario che il globulo rosso possieda di *s* per lo meno 1/5 della sua Hb. Non si può escludere che un gene modificatore ad azione più intensa possa portare la completa soppressione della produzione di Hb *s* pur in presenza del gene *s*.

L'evenienza opposta può essere determinata dall'esistenza nella madre, che non possiede il gene *s* di un gene modificatore ad azione espressivante sul gene *s* o inibitore dell'allele normale *a*. Questo gene modificatore trasmesso al figlio, che riceve dal padre il gene *s*, determina in esso la formazione di quantità di Hb *s* superiore a quella che normalmente si rinviene nell'eterozigote, e quindi l'anemia a cellule falciformi.

Altra spiegazione suggerita da Vanderpitte e coll. sarebbe l'insorgenza di nuove mutazioni verso il gene *s* in qualche stadio della ovogenesi o spermatogenesi dei genitori.

Le spiegazioni addotte per l'insorgenza di anemia a cellule falciformi negli eterozigoti *s* possono essere trasportate per quella dalla Th. Minor (ittero di Rietti e Greppi). Sulla frequenza di questa malattia in rapporto a quella della Th. minima non esistono dati ed è mia impressione che anche dal punto di vista clinico ed ematologico non sia ancora ben definito il confine fra ittero di Rietti e Greppi grave e malattia di Cooley lieve.

È ben chiaro che in una popolazione potrà definirsi un rapporto statistico fra eterozigoti ed omozigoti (portatori di Th. minima e casi di malattia di Cooley), ma che tale rapporto non potrà essere stabilito fra eterozigoti sani ed eterozigoti maggiormente espressi (Th. minima e casi di malattia di Rietti e Greppi) perchè non ci è nota la causa (e quindi la sua frequenza), che determina la maggiore espressività.

Chini ha realisticamente prospettato le difficoltà di sistemazione di alcuni casi, soprattutto di Cooley lieve, fra la malattia di Cooley e le altre forme di emopatie mediterranee, significando che neanche l'attenta indagine ematologica e genetica della famiglia riesce qualche volta a trarci dall'imbarazzo. Egli ritiene di notevole importanza per la diagnosi sia dei portatori sani di stigmata che degli stati di malattia il comportamento dell'Hb *ar*.

Si va facendo strada il concetto che molti casi lievi, che raggiungono l'età adulta, siano malattia di Cooley (omozigoti) e non malattia di Rietti e Greppi (eterozigoti), March e coll. Le varie Hb mostrano evidenti distribuzioni geografiche da cui si fa strada il concetto di anomalie razziali.

L'Hb *s* è stata in particolare rinvenuta nei negri e fra popolazioni nelle quali vi è stata commistione con sangue negro. Si riscontra pertanto in notevole percentuale fra alcune popolazioni negre dell'Africa (fino al 25%) e nei negri d'America (7%). La più bassa frequenza in Algeria (6,9%) e quella ancora minore in Sicilia (1,6%) fanno logicamente pensare ad una diluizione di sangue negro. L'Hb *s* si riscontra però anche nei Veddoidi dell'India che sono sicuramente una razza pura.

Le alte percentuali di portatori di Hb *s* riscontrate in Grecia potrebbero fare sospettare una insorgenza primitiva fra qualche nucleo razziale della popolazione greca.

L'Hb *c* si riscontra quasi esclusivamente nei negri, un solo caso è stato descritto in un individuo di discendenza italiana.

L'Hb *d* è stata finora riscontrata solo in individui appartenenti a razze europidi.

L'Hb *e* è stata rinvenuta in individui dell'Asia meridionale (India, Ceilon, Siam, Indonesia) o nei loro discendenti.

L'Hb *g* ed *i* sono state riscontrate solamente in negri e l'Hb *h* solo in due cinesi.

La *Thalassemia*, come abbiamo detto, ha la maggiore diffusione fra le popolazioni rivierasche del bacino del mediterraneo centro-orientale e la ipotesi più convincente rimane ancora quella di una mutazione insorta in razze paleolitiche.

Le nuove conoscenze sulle Hb umane hanno permesso ad Itano di inquadrare i fatti noti e dare una interpretazione genetica di essi. Questo A. considerando che nelle situazioni *ss*, *cc*, *sc*, non si riscontra Hb *a* ritiene che *a*, *s*, e *c* siano alleli (allelomorfismo multiplo).

Ranney, studiando i figli nati da matrimoni fra individui con C-Drepanocitosi ed individui normali e quelli nati da matrimoni fra individui con C-Drepanocitosi e portatori eterozigoti di una delle due Hb anomale, ha portato ulteriori prove per ammettere che i geni che controllano le Hb *c* ed *s* siano alleli.

Inoltre poichè le percentuali di Hb *s* e di Hb *c* nei rispettivi eterozigoti presentano nei singoli casi diversa quantità di Hb anomala, mentre negli stati *sc* le due Hb si riscontrano in percentuali pressocchè uguali, Itano ritiene che il gene *a* non sia unico ma sia costituito da una serie di isoalleli a_1, a_2, a_3 con diversa capacità di sintesi Hbnica e con valori rispettivamente di 1,4-1,9-3 rispetto a quello di *s* dato con 1. La serie allelomorfa sarebbe allora costituita da a_1, a_2, a_3, s, c . Le variazioni della quantità di Hb *s* presente negli eterozigoti non sarebbe in funzione della diversa capacità di sintesi del gene *s* ma di quella dei diversi isoalleli *a*, che il gene *s* troverebbe come alleli nel singolo soggetto.

La differenza di gravità riscontrata nei vari casi di malattie thalassemiche potrebbe ugualmente essere spiegata col tipo di allele *a* presente nel singolo caso, in associazione con l'azione di ridurre la sintesi dell'Hb *a*, propria del gene Th. Il controllo genetico della formazione di Hb *f* sarebbe distinto da quello dell'Hb adulta. La presenza di Hb *f* nel bambino al di là del 5° mese di vita potrebbe essere considerata come la continuazione o riattivazione di un processo embrionale per un meccanismo di compensazione di una anemia che risulti da un blocco dell'Hb *a* (Rich) o da un processo emolitico cronico (Itano).

Singer e coll. ritengono che l'Hb *f* sia sotto controllo genetico, che il gene *f* non sia allele di *a* ma venga da esso fisiologicamente completamente soppresso. Tale soppres-

sione sarebbe completa anche negli stati eterozigotici di *s*, *c*, *d* ed incompleta nelle altre situazioni geniche di questi caratteri e verrebbe anche influenzata dai geni che determinano alterazioni della struttura del globulo rosso (Thalassemia, sferocitosi, etc.).

Le due ipotesi portano sicuramente un notevole contributo alla soluzione del complesso problema genetico delle malattie emolitiche di cui trattiamo ma non offrono una spiegazione definitiva dei fatti.

Si ritiene che i geni *a*, *s* e *c* costituiscano una serie allelica differente da *Th*.

Tale opinione viene avvalorata dal fatto che negli stati omozigotici *ss* e *cc* non vi è presenza di Hb *a* mentre negli stati *Th Th* l'Hb *a* è presente.

Secondo Lehmann la serie allelomorfica *a*, *s*, *c*, può essere estesa a *d*, *e*, *g*, e secondo Rucknagel e coll. anche ad *i*.

Vi sono però dei dati che depongono contro l'opinione che nelle situazioni eterozigotiche *as*, *ac* l'allele *a* capacità di sintesi varia sia *a* potendo essere rappresentata dagli isoalleli *a*₁, *a*₂, *a*₃. Se così fosse negli stati omozigotici *ss* e *cc* le quantità di Hb *s* e *c* dovrebbero essere costanti, al contrario esse sono variabili e nei casi nei quali non raggiungono il 100%, la rimanente Hb è *f*. Questo comportamento potrà dipendere da una differente capacità di sintesi dei diversi geni *s* e *c* e non del gene *a*, il quale è assente.

Non può ammettersi che *f* rappresenti una differente espressione fenotipica del gene *a* (uno stesso gene con diversa espressione fenotipica nello stato embrionale e post-embriionale) perchè in tal caso *f* non potrebbe essere presente negli stati *ss* e *cc* nei quali il gene *a* manca.

Non si hanno dati sicuri per ammettere che l'Hb *f* sia sottoposta a controllo genico, parrebbe più verosimile che intervenga un fenomeno di compensazione fisiopatologica, ammettendo che ogni qual volta la formazione di Hb *a* sia per diverse cause ostacolata (particolari condizioni fisiologiche della vita intrauterina, assenza o blocco del gene *a* da parte di altri geni, ostacolo alla formazione di *a* per malattie del sistema eritropoietico non geniche) l'organismo compensi con formazione di *f*.

Il gene *Th* che allo stato eterozigotico determina solo una lieve riduzione della capacità di sintesi dell'Hb (è più ridotta la quantità di Hb per unità di massa globulare), allo stato omozigotico determina un più grave ostacolo alla sintesi dell'Hb.

L'azione di blocco che lo stato omozigotico *Th Th* determina sul gene *a* che in queste condizioni è rappresentato da entrambi gli alleli *aa*, non essendo *Th* allele di *a*, viene anche esplicito dallo stato eterozigotico del gene *Th*, quando anche *a* è allo stato eterozigotico per presenza di una Hb anomala come negli stati *sa*, *ca*, *ea*. In queste condizioni infatti si ha una maggiore formazione di Hb *s*, *c*, *e*, e contemporanea formazione di *f* (ad eccezione di qualche caso *C Th*). Poichè il gene *Th*, anche allo stato eterozigotico, possiede una certa capacità di ridurre la formazione di *a* e poichè nei doppi eterozigoti *STh*, *ETh* si determina formazione di *f*, è più logico ammettere che nelle condizioni di doppio eterozigote suddette il gene *Th* abbia azione di bloccare *a* e non di favorire primitivamente la formazione di *s*, *c*, ed *e*.

Dall'esame delle situazioni geniche suddette appare che la formazione di *f* sarebbe vicaria di *a*, ogni volta che la sintesi di *a* è deficiente: o per mancanza del gene *a* negli stati omozigotici *ss*, *cc* mantenuti da geni a scarsa capacità di formare Hb anomala, o

per azione bloccante sui geni *aa* esplicata dal gene *Th* allo stato omozigotico *Th Th*, o su un unico gene *a* (*a s*, *a e*) dallo stato eterozigotico *Th*, come avviene nella *Thalassodrepanocitosi* e nella *E-Thalassemia*.

Le nuove conoscenze sulle Hb anomale oltre che importanza dottrinarie ne hanno anche una eminentemente pratica. Esse ci permettono il riconoscimento degli etero ed omozigoti e degli stati morbosi mantenuti dalla coesistenza di due geni diversi.

Orientamenti per la *diagnosi differenziale* delle anemie emolitiche ereditarie possono certamente ricavarsi anche dall'esame clinico e dal decorso della malattia. La *Th minor* e *maior* si accompagna ad alterazioni scheletriche e fisionomiche più evidenti. Le malattie a cellule falciformi *sensu lato* si accompagnano a crisi emolitiche molto gravi, spesso con sintomatologia di dolori osteoarticolari ed addominali, che possono simulare l'addome acuto. Nella *thalassodrepanocitosi* i segni fisionomici sono meno evidenti che nella *Th. maior*. Nelle malattie *thalassemiche* il tumore di milza ha tendenza ad aumentare di volume col progredire del male. Nell'anemia a cellule falciformi al contrario ha tendenza a diminuire. Gli stati omozigotici *cc* e le interazioni di *c* con *s* e *Th* possono presentare sintomatologia molto lieve.

L'esame emocitometrico e morfologico del sangue ci dà possibilità di diagnosticare le malattie *thalassemiche*, associato alla ricerca dei tests di falcizzazione ci permette di riconoscere la *Thdr*.

Le malattie *thalassemiche* mostrano notevoli alterazioni di forma del globulo rosso e decorrono con anemia microcitica ipocromica, l'anemia a cellule falciformi oltre a presentare le cellule a falce (alle volte molto scarse nello striscio nativo) presenta tests di falcizzazioni molto intensi ed in generale è normocitica normocromica; la *thalassodrepanocitosi* presenta la positività dei test di falcizzazione ma è ipocromica ed in essa possono sempre mettersi in evidenza per lo meno una quota di globuli rossi che presentano tutti i caratteri della *thalassemia*: ipocromia, anisocitosi, poichilocitosi, cellule a bastoncello, microcitosi, schistocitosi (Gatto e Russo).

La sola ricerca elettroforetica però ci permette di riconoscere la esistenza di quadri morbosi dovuti alla maggior parte delle Hb anomale. La diagnosi esatta delle malattie di cui trattiamo abbisogna pertanto dell'indagine elettroforetica dell'Hb, meglio se associata alla contemporanea determinazione dell'Hb *ar*.

La determinazione di *ar* è necessaria perchè sia in vena liquida che su carta, a secondo della percentuale delle due Hb, riesce spesso difficile separare e quindi riconoscere e dosare separatamente le Hb *a* ed *f* coesistenti (Neel e coll. Motulsky, Gatto e La Grutta). Il dosaggio di *ar* ci dà la percentuale di *f*, dalla quale si può risalire a quella di *a* quando le due Hb migrano in unica onda o banda *a + f*, sottraendo la percentuale di *ar* da quella di *a + f* ottenuta elettroforeticamente.

Il test di falcizzazione riesce solo ad informarci che nel soggetto in esame vi è Hb *s* ma non a discriminare uno stato di malattia dovuto al solo gene della falcemia (omozigote, anemia a cellule falciformi *sensu strictiori*) da quelli dovuti ad interazione del gene *s* con quelli di *c*, *d*, *Th* (malattie a cellule falciformi *sensu lato*), né riesce a distinguere gli stati morbosi suddetti da un portatore eterozigote dal gene *s*, nel quale l'anemia sia determinata da altre cause.

Il reperto elettroforetico riesce a discriminare i vari stati. Nell'eterozigote anemico per altre cause si troverà una percentuale di Hb *s* non superiore al 45%, quale è quella, che si riscontra nell'eterozigote sano (fig. 1). Nelle malattie a cellule falciformi, *sensu lato*, la quantità di Hb *s* sarà superiore al 70%. L'anemia a cellule falciformi può manifestarsi col 100% di Hb *s* ma anche con quote di *f* fino al 25%. Nei reperti da elettroforesi su carta le quote *f* non si lasciano distinguere da *s* essendo da essa attratte. In questi casi il dosaggio dell'Hb *ar* ci informerà che la banda unica non è costituita solamente da *s* ma da $s + f$ (fig. 1). La stessa considerazione vale per la maggior parte dei casi di thalassodrepanocitosi, nella quale il reperto elettroforetico e le percentuali possono essere identiche a quelli dell'anemia a cellule falciformi (Gatto e La Grutta). Il reperto elettroforetico su carta della thalassodrepanocitosi può essere però distinto da quello dell'anemia a cellule falciformi nei casi in cui coesiste una discreta percentuale di Hb *a*.

In questi casi si ottiene una banda più o meno distinta da quella di *s*, a secondo della maggiore o minore percentuale di *a*. In questa onda *a* si potrà inoltre col dosaggio di *ar* discriminare la quota di vera *a* e quella di *f*, che con essa migra (Gatto) (fig. 4).

Anche nelle determinazioni in vena liquida sarà necessaria la contemporanea ricerca di *ar* per distinguere nell'onda che migra come *non s* le percentuali di *a* e di *f*.

La diagnosi degli stati, che si accompagnano alle Hb *c*, *d*, *e*, *g*, *h*, *i* può solo porsi con la dimostrazione elettroforetica di queste Hb, sia per gli stati eterozigotici che per gli omozigotici e per quelli di interazione con *s* e *Th*.

La diagnosi di Hb *d* abbisogna della contemporanea ricerca elettroforetica e della falcizzazione, possedendo *d* la stessa velocità elettroforetica di *s*, ma non provocando la falcizzazione.

La differenziazione delle malattie talassemiche da quelle da interazione di *Th* con *c* e con *e*, da alcuni casi omozigoti *cc* e dalla emoglobinosi *h* che decorrono con anemia ipocromica microcitica può solamente farsi a mezzo dell'elettroforesi, che permette di dimostrare la presenza di Hb *c* ed *e*. Queste considerazioni ci impongono di considerare con molte riserve i casi di talassemia descritti nei negri nei quali non è stata eseguita la ricerca elettroforetica, dato che il gene *c* si riscontra fra i negri con la frequenza di 2-3%, quelli descritti in Asia, dove è presente l'Hb *e* ed anche quelli descritti in cinesi, perchè l'aspetto clinico ed ematologico della emoglobinosi *h*, e quello della E-Thalassemia, non è distinguibile da quello della talassemia.

Una riprova di questa asserzione ci viene infatti fornita da Schwart ed Hartz i quali riesaminando con indagine elettroforetica dell'Hb quattro ammalati negri precedentemente descritti come affetti da anemia mediterranea, solo per due poterono confermare la diagnosi mentre gli altri due risultarono affetti da emoglobinosi *c* omozigotica ed inoltre ritrovarono un portatore di Hb *c* fra i famigliari di uno dei casi affetti da anemia mediterranea.

La diagnosi dei portatori sani di *Th* (*Th* minima) rimane legata alla dimostrazione della alterazione di volume e forma del globulo rosso perchè in questi soggetti il reperto elettroforetico è normale, ma nella *Th* minor e maior la ricerca elettroforetica ed il dosaggio di *ar* ci forniscono dati addirittura caratteristici, perchè non esiste alcun' altra

anemia emolitica ereditaria nella quale l'Hb sia costituita da *a* e da quote tanto elevate di *f*, che in alcuni casi possono raggiungere anche percentuali di 90. La differenziazione di *f* da *a* nelle malattie thalassemiche riesce bene in vena liquida (Rich, Vecchio) ed appare chiaramente evidente anche nell'elettroforesi su carta quando le percentuali delle due Hb si avvicinano a 50. Ma anche nei casi nei quali in elettroforesi su carta le Hb *a* ed *f* migrano in unica banda il reperto permette sempre la diagnosi di malattia thalassemica perchè si otterrà una banda a velocità inferiore di *a* e tanto più vicina a quella di *f*, quanto maggiore sarà la percentuale di quest'ultima Hb (Gatto e La Grutta) (fig. 3).

Un sussidio diagnostico molto pratico è costituito dal dosaggio di *ar*, che per altra via ci informa delle percentuali di *f* esistenti.

La diagnosi di emoglobinosi *g*, è esclusivamente elettroforetica, perchè sia gli etero che gli omozigoti non presentano alcun segno clinico, e per tutti gli altri caratteri ematologici sono normali.

Anche per le Hb *h* ed *i* la diagnosi è elettroforetica.

Poichè i caratteri ematologici, che sono responsabili dell'insorgenza delle anemie emolitiche ereditarie si trasmettono come caratteri dominanti incompleti, di notevole sussidio sarà per la diagnosi la ricerca delle rispettive anomalie ematologiche nei familiari.

Soprattutto le ricerche condotte nei genitori ci permettono di convalidare lo stato eterozigotico nei portatori sani, di discriminare negli ammalati lo stato omozigotico da quello eterozigotico maggiormente espresso, di individuare i casi determinati dalla interazione di due geni patologici differenti.

Bisogna ricordare una eventualità ancora non venuta all'osservazione dei ricercatori, cioè di malattie emolitiche ereditarie dovute alla interazione di un gene delle Hb anomale con quello delle cosiddette anemie emolitiche non sferocitiche o anemie emolitiche atipiche. Data la difficoltà del riconoscimento dei portatori di questi ultimi caratteri la loro interazione sarebbe difficilmente diagnosticabile e gli ammalati potrebbero essere considerati come eterozigoti maggiormente espressi delle Hb anomale.

Riassunto

Dell'Hb normale possono riconoscersi due tipi: *a* dell'adulto normale, *f* del feto. L'Hb *f* diminuisce gradualmente nei primi mesi di vita, per raggiungere al quinto mese i valori dell'adulto (inferiori al 2%).

I due tipi di Hb sono distinguibili per diverse caratteristiche, sostanzialmente per la resistenza alla denaturazione alcalina (*f* più resistente di *a*) e per il comportamento elettroforetico (*f* ha punto isoelettrico superiore a quello di *a*).

Pauling, Itano, Singer e Wells (1949) dimostrarono che la causa della anomalia ematologica drepanocitosi risiede in una alterazione molecolare dell'Hb. Successive ricerche hanno messo in evidenza che oltre alla Hb anomala della drepanocitosi (Hb *s*) ne esistono delle altre: *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, *h*, *i*. Queste Hb anomale sono sostanzialmente riconoscibili per il loro comportamento elettroforetico.

Le Hb finora note in tampone al veronal sodico al 2,1‰ a pH 9,2 migrano con velocità crescente nell'ordine: *c*, *e*, *s* e *d*, *g*, *f*, *a*, *h* ed *i*.

Tutte le Hb anomale, ad eccezione di *h* sono presenti allo stato eterozigotico in individui sani; allo stato omozigotico ad eccezione di *g*, determinano anemia emolitica cronica. Delle Hb *d*, ed *i* però non sono ancora noti gli stati omozigotici.

Le percentuali di Hb anomala negli stati omozigotici *ss*, *cc* sono molto più considerevoli, grosso modo il doppio, di quelle osservate negli eterozigotici. In alcuni omozigoti quasi tutta la Hb è costituita da quella anomala, in altri coesistono quote considerevoli di *f*.

La Talassemia nei portatori sani determina solo lieve riduzione della capacità di sintesi dell'Hb *a*, negli eterozigoti maggiormente espressi e negli omozigoti comparsa di Hb *f* in quantità che possono raggiungere negli omozigoti anche il 90%.

Oltre agli stati omozigotici dei singoli geni, malattia emolitica cronica può essere provocata dalla coesistenza di geni diversi; sono noti infatti stati morbosi determinati da interazione *s c* (C-Drepanocitosi), *s d* (D-Drepanocitosi), *s Th* (Thalassodrepanocitosi), *c Th* (C-Talassemia), e *Th* (E-Talassemia).

In questi stati l'Hb è costituita dalle due Hb anomale, con comparsa di *f* anche quando il gene *Th* non è in giuoco.

In tutti gli stati la malattia emolitica è determinata da una minore vitalità del globulo rosso, come appare dimostrato dalla riduzione del tempo di sopravvivenza degli eritrociti degli ammalati di anemia a cellule falciformi, di emoglobinosi *c* omozigotica, di C-Drepanocitosi, di Thalassodrepanocitosi e di malattia di Cooley trasfusi negli individui sani.

I vari stati morbosi possono decorrere con diversa gravità: da forme lievissime, come in alcuni casi di omozigosi *c*, di C-Drepanocitosi e di C-Talassemia a forme gravissime, che possono portare a morte entro il primo anno di vita, come in alcuni casi di omozigosi del gene *s* e di quello *Th*. L'omozigosi *g* non determina malattia.

Si ritiene che i geni *a*, *c*, *s* costituiscono una serie allelomorfa, che da Lehman vorrebbe essere estesa anche a *d*, *f*, *g* e da Rucknagel e coll. ad *i*. Il gene *Th* non apparterebbe a questa serie.

Poichè negli omozigoti *ss* e *cc* (in assenza del gene *a*) la quantità di Hb anomale non raggiunge sempre la stessa percentuale, pare più logico ritenere che la diversa quantità di Hb anomala posseduta dagli eterozigoti dipenda da diversa capacità di sintesi dei geni delle Hb anomale anzichè da quello di *a*, che vorrebbe da Itano essere rappresentato da una serie di isoalleli a_1 , a_2 , a_3 .

La comparsa di Hb *f* potrebbe essere espressione di un fenomeno di compensazione fisiopatologica che interviene ogni volta che per cause geniche e non geniche viene ostacolata la formazione di Hb *a*.

La ricerca elettroforetica, meglio se associata a quella dell'Hb alcaliresistente, che per altra via ci fa conoscere le percentuali dell'Hb *f*, ci permette il riconoscimento dei portatori e degli ammalati e la esatta diagnosi delle varie condizioni morbose, che risultano dalle combinazioni omozigotiche dei singoli geni e dalle loro interazioni.

Le nuove conoscenze sulle Hb anomale svelabili solo a mezzo dell'indagine elettroforetica impongono una revisione critica dei casi di anemie emolitiche costituzionali diagnosticate in passato come malattia di Cooley in individui non appartenenti a popolazioni mediterranee e nei quali la ricerca elettroforetica dell'Hb non è stata condotta.

Bibliografia

- ASTALDI G., TOLENTINO P., SACCHETTI C.: « La Talassemia ». La Tipografia del libro. Pavia, 1951.
- BANKS L. O., SCOTT R. B., SIMMONS J.: Studies in sickle cell anemia. Inheritance including effect of interaction of genes for sickle cell anemia and thalassemia. *Am. Jour. Dis. Chil.*, 84, 601, 1952.
- BEAVEN G. H., HOCH H., HOLIDAY E. R.: The haemoglobins of the human fetus and infant. Electrophoretic and spectroscopic differentiation of adult and fetal types. *Bioch. Journ.*, 49, 374, 1951.
- BERGREN W. R., STURGEON P., ITANO H. A.: Zone electrophoresis of abnormal hemoglobins. Separation on paper of hemoglobins associated with sickle cell disease, *Acta Haem.*, 12, 160, 1954.
- BETKE K.: « Der menschliche rote Blutfarbstoff bei Fetus und reifem Organismus ». Springer. Berlin, 1954.
- BIRD G. W. G., LEHMANN H., MOURANT A. E.: A third example of haemoglobin D. *R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 49, 399, 1955.
- BRAIN P., LEHMANN H.: Incidence of haemoglobin C in the coloured population of Cape Town. *Nature*, 175, 262, 1955.
- BRINKMAN R., JONXIS J. H. P.: The occurrence of several kinds of haemoglobin in human blood. *Journ. Phys.*, 85, 117, 1935.
- — Alkaline resistance and spreading velocity of fetal and adult types of mammalian haemoglobin. *Journ. Phys.*, 88, 162, 1936.
- BURGIO G. R.: Il mielogramma nei genitori di bambini ammalati di morbo di Cooley. *Arch. Ital. Ped.*, 13, 320.
- CABANNES R., SENDRA L., DALAUT: Hémoglobinose D. Anomalie hémoglobinique héréditaire retrouvée chez l'algérien musulman. Observations de deux familles. *Algérie Médicale*, 59, 387, 1955.
- PORTIER A.: Application de l'électrophorèse sur papier à l'étude des hémoglobines humaines. *Algérie Médicale*, 58, 549, 1954.
- CALENDER S. T. E., NICKEL J. F., MOORE C. V., POWELL E. O.: Sickle cell disease: studies by measuring the survival of transfused red blood cells. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 34, 90, 1949.
- CAVALLINI D., DE MARCO C., ROSSI FANELLI A., SILVESTRONI E.: L'emoglobina fetale nelle talassemie. *Giorn. Bioch.*, 3, 307, 1954.
- CHERNOFF A. I., SINGER K.: Studies on abnormal hemoglobins IV. Persistence of fetal hemoglobin in the erythrocytes of normal children.
- MINNICH V., CHONGCHAREONSUK S.: Hemoglobin E, a hereditary abnormality of human hemoglobin. *Science*, 120, 605, 1954.
- — — NA NAKON S., CHERNOFF R.: Clinical, hematological and genetic studies of hemoglobin E. *Journ. Lab. a. Clin. Med.*, 44, 780, 1954.
- CHINI V.: Emopatie mediterranee. *Recenti progressi in Medicina*, 16, 289, 1954.
- MALAGUZZI VALERI C.: Mediterranean hemopathic syndromes. *Blood*, 4, 989, 1949.
- CROSBY W. H.: Hereditary nonspherocytic anemia. *Blood*, 5, 177, 1939.
- CUTILLO S., ROMAGNOLI A.: Sull'entità dell'emoglobinogenesi di tipo fetale nelle forme talassemiche. Osservazioni su 18 casi di morbo di Cooley. *La Pediatria*, 61, 539, 1953.
- SCIEUZO L.: L'emoglobina fetale nel primo anno di vita. *La Pediatria*, 59, 812, 1951.
- DACIE J. V., MOLLISON P. L., RICHARDSON N., SEWYN J. G., SHAPIRO L.: Atypical congenital hemolytic anemia. *Quart. Med. New. Series*, 22, 79, 1953.
- DACIE J. V.: The haemolytic anaemias. Congenital and acquired. Churchill, London, 1954.
- DIGGS L. W., KRAUS A. P., MORRISON D. M., RUDNICKI R. P. T.: Intraerythrocytic crystal in a white patient with hemoglobin C in the absence of other types of hemoglobin. *Blood*, 97, 1172, 1954.
- EDINGTON G. M., LEHMANN H.: Haemoglobin G. A new haemoglobin found in a west african. *Lancet*, July 24, 1954.
- — A case of sickle cell-Haemoglobin C disease and a survey of haemoglobin C incidence in West Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 48, 332, 1954.
- — Expression of the sickle gene in Africa. *Brit. Med. Journ.*, 1, 1308, 1955.
- — SCHNEIDER R. G.: Characterization and genetics of haemoglobin G. *Nature*, 175, 850, 1955.
-

- FEINBERG A. W., WATSON J.: Non spherocytic chronic hemolytic anemia with basophilic stippling. Report of a case in a negro. *Blood*, 6, 357, 1951.
- FRONTALI G., STEGAGNO G. A.: Durée de la vie de globule rouge dans l'anémie méditerranéenne. *Helv. Paed. Acta*, 6, 271, 1951.
- GAENSSELEN M.: Konstitutionelle hamolitische Anämien. *Verh. Deut. Gesell. inn. Med.*, 1940.
- GATTO I.: Osservazioni su ventiquattro casi di anemia eritroblastica di Cooley. *Atti del XVII Congresso Italiano di Pediatria*, 1940.
- Studio dell'emolitoipoesi in ventiquattro casi di anemia eritroblastica di Cooley. *Atti del XVII Congresso Italiano di Pediatria*, 1940.
- Ricerche sul mielogramma nella malattia di Cooley. *La Settimana Medica*, 28,854 1940.
- Ricerche sui familiari di bambini affetti da malattia di Cooley (Contributo alla questione dell'ereditarietà del male). *Sez. Sic. della Soc. Ital. di Pediatria*, Palermo 14-XII-1941, *Archivio Italiano di Pediatria e Puericoltura*, 9, 128, 1942.
- L'ipoevolutismo nella malattia di Cooley. *Giornale di Medicina*, 1946, n. 11-12.
- L'ulcus cruris nella malattia di Cooley. *Rivista Pediatrica Siciliana*, 1947, n. 1.
- Sulla ereditarietà della malattia di Cooley. *Minerva Medica*, 39,1, 1948.
- *Thalassemia (Microcarterocytosis)*. *Giornale di Medicina*, 1947, n. 11-12.
- *Forme ed ereditarietà della Thalassemia (Microcarterocytosis)*. *Il Policlinico infantile*, 16,236 1948.
- *Effetti della splenectomia sulla malattia di Cooley*. *Haematologica*, 1948, n.
- *Genetica della Thalassemia e della Drepanocytosis*. *Atti del III Congresso di Igiene e Medicina Mediterranea*, 1951.
- *Thalassemia (Microcarterocytosis) and Drepanocytosis. Their forms and Genetics*. *Acta Geneticae Medicae et Gemellologiae*, 2,19, 1953.
- *Ricerche ematologiche sulla drepanocytosis*. *La Pediatria*, 61,489, 1953.
- *Diffusione della drepanocytosis in Italia*. *Genetica Medica*, Istituto Mendel Editore Roma, 1954.
- PURRAZZELLA G.: *Ricerche di genetica su alcuni casi di drepanocytosis osservati in Sicilia*. *La Pediatria*, 57,441, 1949.
- PURRAZZELLA G.: *Ulteriori ricerche di genetica sulla drepanocytosis*. *La Pediatria*, 59,789, 1951.
- LO IACONO F.: *Ulteriori ricerche sugli effetti a distanza della splenectomia nella malattia di Cooley*. *La Pediatria* 61,27, 1953.
- VALENTINO L.: *Thalassemia (microcarterocytosis) minima*. *La Pediatria*, 61,313, 1953.
- TERRANA, BIONDI: *Compressione sul midollo spinale da proliferazione di midollo osseo nello spazio epidurale in soggetto affetto da malattia di Cooley splenectomizzato*. *Haematologica*, 38,61, 1954.
- LA GRUTTA A.: *Elettroforesi su carta dell'Hb nella Thalassemia, Drepanocytosis e Thalassodrepanocytosis*. *Minerva Pediatrica*, 7,618, 1955.
- *Elettroforesi su carta dell'Hb del funicolo ombelicale del neonato e del lattante*. *La Pediatria*, 63, 592, 1955.
- RUSSO G.: *Ricerche ematologiche nella Thalassodrepanocytosis*. *La Pediatria*, 63, 560, 1955.
- HADEN R. L.: *A new type of hereditary, hemolytic jaundice without spherocytosis*. *Amer. Journ. Med. Sc.*, 214, 255, 1947.
- HARTZ W. A., SCHWARTZ S. O.: *Hemoglobin C disease. Report of four case*. *Blood*, 10, 235, 1955.
- HEILMEYER L. BEGMAN H.: *Blut und Blutkrankheiten*, Springer, Berlin, 1951.
- HUMBLE J. G., ANDERSON I., WHITE J. C., FREMAN T.: *A family illustrating the double inheritance of the sickle cell trait and of mediterranean anaemia*. *Journ. Clin. Pat.*, 7, 201, 1954.
- KAPLAN E., ZUELZER W. W.: *Familial non spherocytic hemolytic anemia*. *Blood*, 5, 811, 1950.
- *Erythrocyte survival studies in childhood III. Unusual familial hemolytic anemias associated with intrinsic erythrocyte abnormality*. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 36, 524, 1950.
- NEEL J. V.: *A new inherited abnormality of hemoglobin and its interaction with sickle cell hemoglobin*. *Blood*, 6, 1240, 1951.
- *Erythrocyte survival studies in Childhood I. Methods and general observations. II. Studies in mediterranean anemia*, 36, 511, 1950.
- NEEL J. V.: *Further studies on Hämoglobin. C. II. The hematologic effects of hemoglobin C alone and in combination with sickle cell hemoglobin*. *Blood*, 8, 735, 1953.
-

- KUENZER W.: Erythropoese. *Mon. Kindh.*, 102, 89, 1953.
— Zur identifizierung des fetalen Hämoglobin Zeit. *Kindh.*, 73, 265, 1953.
- ITANO H. A.: Solubilities of naturally occurring mixture of human hemoglobin. *Arch. Bioch. Bioph.*, 47, 148, 1953.
— Human hemoglobin. *Science*, 117, 89, 1953.
— A third abnormal hemoglobin associated with hereditary hemolytic anemia. *Proc. Nat. Acad. Science*, 37, 775, 1951.
— Qualitative and quantitative control of adult hemoglobin synthesis. A multiple allele hypothesis. *Am. Journ. Human Genetics*, 5, 34, 1953.
- BERGREN W. R., STURGEON P.: Identification of fourth abnormal human hemoglobin. *Journ. Am. Chem. Soc.*, 76, 2278, 1954.
- NEEL J. V.: A new inherited abnormality of human hemoglobin. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 36, 613 1950.
- LAMBOTTE-LEGRAND J. e C.: L'anémie a hematies falciformes chez l'enfant indigene du Bas-Congo. *Institut Royal Colonial Belge*, 1951.
- LARSON D. L., RANNEY H. M.: Filter paper electrophoresis of human hemoglobin. *Journ. Clin. Inv.*, 32, 1070, 1953.
- LEHMANN H.: Sick cell anaemia. *Brit. Med. Journ.*, 11, 1217, 1953.
— SMITH E. B.: Separation of different haemoglobin by paper electrophoresis *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 48, 12, 1954.
— The sickle cell trait and sickle cell anaemia. *Brit. Med. Journ.*, i, 988, 1954.
— Distribution of sickle cell gene. *Eugen. Rew.*, 46, n. 2, 1954.
— Origin of the sickle cell. *South. Afric. Journ. Sc.*, p. 140, 1954.
- KAY H. L.: A possible source of error in the estimation of heemoglobin by photoelectric methods. *Bioch. Soc.*, 59, 4, 1954.
— Human haemoglobin variants. *Journ. Clin. Path.*, 8, 178, 1955.
- LEVIN W. C., SCHNEIDER R. G., CUDD J. A., JOHNSON J. E.: A family with homozygous hemoglobin C and sickle cell trait union: A clinical, hematological and electrophoretic study. *Proc. Cent. Soc. Clin. Res. Journ. Lab. Clin. Med.*, 42, 918, 1953.
- LIPTON E. L., GROSSMAN H. J., RICHMOND J. B.: Chronic familial nonspherocytic hemolytic anemia. *Pediatrics*, 12, 384, 1953.
- LICHTMAN H. C., WATSON R. J., FELDMAN F., GINSBERG V., ROBISON J.: Studies on Thalassemia. Part I. An extracorporeal defect in Thalassemia major. Part. II The effect of splenectomy in Thalassemia major with an associated acquired hemolytic anemia. *Journ. Clin. Inv.*, 32, 1229, 1953.
- McELFRESH A. E., SCHARPSTEEN J. R., AKABONE T.: Secondary hypersplenism occurring in a seven months old infant-with Thalassemia major. *Journ. Pediatrics*, 47, 347, 1955.
- MARCH H. V., SCHLYEN S. M., SCHWARTZ S. E.: Mediterranean hemopathic syndromes (Cooley's anemia) in adults. *Amer. Journ. Med.*, 13, 46, 1952.
- MORGAN J. L., BOWLES R. M., HARRIS J. S.: Hemoglobin C. Report of the homozygous condition and of combinations with normal and sickle cell hemoglobin. *Pediatrics*, 15, 185, 1935.
- MOTULSKY A. G., PAUL M. H., DURRUM E. L.: Paper electrophoresis of abnormal hemoglobins and its clinical applications. A simple semiquantitative method for the study of the hereditary hemoglobinopathias. *Blood*, 9, 897, 1954.
— CROSBY W. H., RAPPAPORT H.: Hereditary nonspherocytic hemolytic disease. A study of a singular familial hemolytic syndrome. *Blood*, 9, 749, 1954.
- MURATORE F., PONTECORVO M.: Considerazioni sui rapporti fra sindromi emopatiche mediterranee e fattore Rh. *Progr. Med.*, 9, 201, 1953.
- NA NAKORN S., MINNICK V., CHERNOFF A. I.: Occurrence of abnormal hemoglobin E in Thailand. *Journ. Lab. a. Clin. Med.*, 44, 903, 1954.
- NEEL J. V.: The inheritance of the sickling phenomenon, with particular reference to sickle cell disease. *Blood*, 6, 389, 1951.
— The population genetics of two inherited blood dyscrasias in man. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 15, 141, 1951.
-

- NEEL J. V.: Perspectives in the genetics of sickle cell Disease. *Blood*, 7, 467, 1952.
- ITANO H. A., LAWRENCE J. S.: Two case of sickle cell disease presumably due to the combination of the genes for Thalassemia and sickle cell hemoglobin. *Blood*, 8, 434, 1953.
- KAPLAN E., ZUELZER W. W.: Further studies of three additional families segregating for hemoglobin C and sickle cell hemoglobin. *Blood*, 8, 724, 1953.
- WELLS I. C., ITANO H. A.: Familial differences in the proportion of abnormal hemoglobin present in the sickle cell trait. *Journ. Clin. Inves.*, 30, 1120, 1951.
- NELSON M. G.: Atypical congenital haemolytic anaemia. *Arch. Disc. Childh.*, 29, 457, 1954.
- PAULING, ITANO H. A., SINGER S. J., WELLS I. C.: Sickle cell anemia a molecular disease. *Science*, 110, 543, 1949.
- PENATI e Collaboratori: Studi sulla emoglobina in condizioni normali e patologiche (talassemia). *Haematologica*, voll. 38-39, 1954-55.
- PEROSA L.: Contributo allo studio della costituzione chimica della globina dei normali e di portatori di sindromi emopatiche mediterranee. *Boll. S. I. B. S.*, 7, 1203, 1950.
- BINI L.: Alkali-resistant Cooley's anemia hemoglobin is different from alkali-resistant fetal hemoglobin. *Experientia*, 10, 469, 1954.
- PORTIER A., CABANNES R., MASSONAT J., DUVAL J.: L'hémoglobinosse C. 1° Pleurésie séro-fibrineuse, anémie érythroblastique aigue et hémoglobinosse C. *Algerie Medicale*, 58, 557, 1954.
- CABANNES R., MASSONAT J., DUVAL J.: L'hémoglobinosse C. 2° A propos d'un cas d'homozygotisme. *Algerie Medicale*, 58, 563, 1954.
- POWELL W., N. RODATE J. G., NEEL J. V.: The occurrence in a family of sicilian ancestry of the traits for both sickling and thalassemia. *Blood*, 5, 887, 1950.
- PUTIGNANO T., MARTINO R.: Sulla resistenza dell'emoglobina agli alcali ed agli acidi negli individui sani nei neonati nel morbo di Cooley e sindromi affini (s. e. m.) ed in svariate condizioni morbose. *Progr. Med.*, 7, 429, 1951.
- RANNEY H. M.: Observations on the inheritance of sickle cell hemoglobin and hemoglobin C. *Journ. Clin. Inv.*, 33, 1634, 1954.
- LARSON D. L., LC CORMACK G. H.: Some clinical biochemical and genetic observations on hemoglobin C. *Journ. Clin. Inv.*, 32, 1277, 1953.
- REICH R. S., ROSENBERG N. J.: Aseptic necrosis of bone in caucasian with chronic hemolitic anaemia due to combined sickling and Thalassemia traits. *Journ. of bone and Joint surg.*, 35, 894, 1953.
- RICH A.: Studies of Cooley's anemia and Cooley's trait. *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 38, 187, 1952.
- RIGAS D. A., KOLER R., OSGOOD E.: New hemoglobin possessing a higher electrophoretic mobility than normal adult hemoglobin. *Science*, 121, 372, 1955.
- ROBERTS D. F., LEHMANN H.: A resach for abnormal haemoglobins in some southern sudanese peoples. *Brit. Med. Journ.*, 1, 519, 1955.
- ROCHE J., DERRIEN Y., GALLAIS P., ROQUES M.: Sur les hémoglobines des sangs à drépanocytes (hématies en faucille ou falciformes). *Compt. Ren. Coc. Biol.*, 146, 889, 1952.
- ROCHE J., DERRIEN Y., ROQUES M.: Sur le remplacement des hémoglobines de type adulte par celle de type fœtal au cours du developpement et après la naissance chez l'homme et le bœuf. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 35, 933, 1953.
- — DIACONO G., ROQUES M.: Sur les hémoglobines des thalassémique. *Revue d'Ematologique*, 8, 282, 1953.
- ROMEO F.: Anemia microdrepanocítica. *Haematologica*, 39, 1955.
- RUCKNAGEL D. L., PAGE E. B., IANSEN W. N.: Hemoglobin I. An hinherited hemoglobin anomaly. *Blood*, 10, 999, 1955.
- SCHNEIDER R. G.: Incidence of hemoglobin C trait in 505 negroes: A family with homoizogous hemoglobin C and sickle cell trait union. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 44, 133, 1954.
-

- SCHNEIDER R. G.: Paper electrophoresis of hemoglobin as a practical method of differentating various types of sickle cell disease and of hemoglobin C trait. *Texas Rep. Biol. Med.*, II, 352, 1953.
- SCHROEDER W. A., LOIS M. K., WELLS I. C.: Amino acid composition of hemoglobins of normal negroes and sickle cell anemics. *Journ. Biol. Chem.* 187, 221, 1950.
- SCHWARTZ S. O.: Human hemoglobin types and thier clinical significance. *Acta Haem.*, 13, 91, 1955.
- SPAET T. H.: Hemoglobin G: A fifth abnormal hemoglobin. *Clin. Res. Proc.*, 3, 51, 1955.
- — Mediterranean anemia in the negro. A re-evaluation of four patients and their families. *Blood*, 10, 1256, 1955.
- SILVESTRONI E.: 50° congresso Soc. Ital. Med. Int. Roma, 1949.
- SINGER K., FISHER B.: Studies on abnormal hemoglobins. VII The composition of the non-S hemoglobin fraction in sickle-cell anemia bloods. A comparative quantitative study by the methods of electrophoresis and alkali denaturation. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 42, 193, 1953.
- ROBIN S., KING J. C.: The life span of the sickle cell and the pathogenesis of sickle cell anemia. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 33, 975, 1948.
- Problems of erythrocyte disintegration with particular reference to the life span of the red cell. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 30, 785, 1945.
- SINGER L., GOLDBERG S.: Studies on abnormal hemoglobins. IX. Sickle cell-Thalassemia disease in the negro. The significance of the S + A + F and S + A pattern obtained by hemoglobin analysis. *Blood*, 10, 405, 1955.
- KRAUS A. P., SINGER L., RUBINSTEIN H. M., GOLDBERG S. R.: Studies on abnormal hemoglobin. X. A new syndrome. Hemoglobin C-Thalassemia disease. *Blood*, 1032, 1954.
- SINGER L.: Studies on abnormal hemoglobin VIII. The gelling phenomenon of sickle cell hemoglobin: Its biologic and diagnostic significance. *Blood*, VIII, 1008, 1953.
- FISHER B.: Studies on abnormal Hemoglobins. V. The distribution of type S (sickle cell) hemoglobin and type F (Alkali resistant) hemoglobin within the red cell population in sickle cell anemia. *Blood*, VII, 1216, 1952.
- SMITH E., CONLEY C. L.: Filter paper electrophoresis of human hemoglobins with special reference to the incidence and clinical significance of hemoglobin C. *Bull. John. Hopkins Hosp.*, 93, 94, 1953.
- SMITH C. H., SCHULMAN I., ANDO R. E., STERN G.: Studies in mediterranean (Cooley's anemia). I. Clinical and hematological aspects of splenectomy with special reference to fetal hemoglobin. *Blood*, 10, 582, 1955. II. The suppression of hematopoiesis by transfusion. *Blood*, 10, 707, 1955.
- SPAET T. H.: Identification of abnormal hemoglobin by means of paper electrophoresis. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 41, 161, 1953.
- ALVAY R. H., WARD G.: Homozygous type C hemoglobin. *Pediatrics*, 12, 483, 1953.
- STURGEON P., ITANO H., VALENTINE N.: Chronic hemolytic anemia associated with thalassemia and sickling traits. *Blood*, 7, 350, 1952.
- ITANO H. A., BERGREN W. R.: Clinical manifestation of inherited abnormal hemoglobins. I. The interaction of hemoglobin-S with hemoglobin-D; II. Interaction of hemoglobin E and Thalassemia trait. *Blood*, 10, 389, 1955.
- ITANO H., A., BERGREN W. R.: Genetic and biochemical studies of intermediate types of Cooley's anaemia. *Brit. Jour. Haemat.*, 1, 264, 1955.
- TERRY D. W., MOTULSKY H. G., RATH C. E.: Homozigous hemoglobin C New Eng. *Jour. Med.*, 251, 365, 1954.
- THOMPSON W. P.: Hemolytic Jaundice. *Bull. New York Acad. Med.*, 15, 177, 1939.
- VALENTINO L.: La drepanocitosi. Con particolare riguardo alle osservazioni italiane. *La Pediatria*, 62, 257, 1954.
- LUNA V.: Frequenza della stigmata falcemia fra la popolazione infantile sana della Sicilia. *La Pediatria*, 62, 547, 1954.
- VENDERPITTE J. M., ZUELZER W. W., NEEL J. V., CALAERT J.: Evidence concerning the inadequacy of mutation as a explanation of frequency of the sickle cell gene in the Belgian Congo. *Blood*, 10, 341, 1955.
-

- VENDERPITTE J. M., LOUIS L.: L'association elliptocytose drépanocytose. Etude de deux familles. *Rev. Hémat.*, 10, 19, 1955.
- VECCHIO F.: Sulla resistenza dell'emoglobina alla denaturazione alcalina in alcune sindromi emopatiche. *La Pediatria*, 54, 545, 1946.
- Sul comportamento elettroforetico dell'emoglobina nell'anemia di Cooley. *La Pediatria*, 60, 413, 1952.
- Sul comportamento elettroforetico dell'emoglobina nella anemia mediterranea. Nota II *Thalassemia minor*. *La Pediatria*, 61, 863, 1953.
- Emoglobina alcali-resistente delle anemie mediterranee emoglobina fetale ed emoglobina normale. Studio comparativo elettroforetico. XXIII Congr. Soc. Ital. *Pediatria*, Bologna. Settembre 1954.
- L'anomalia emoglobinica delle anemie mediterranee. Caratteristiche chimiche, biologiche ed elettroforetiche. *Giornate Biochimiche italo-franco-elvetiche*, Napoli, 1954.
- DI FRANCESCO L.: Sul comportamento elettroforetico della emoglobina nelle anemie mediterranee. Nota III. I rapporti di mobilità elettroforetica fra l'emoglobina adulta e l'emoglobina di tipo fetale nell'anemia di Cooley. *La Pediatria*, 63, 587, 1955.
- Attualità in tema di identificazione e di genetica delle emoglobinopatie costituzionali. *La Pediatria*, 63, 603, 1955.
- BARBAGALLO E.: Ricerche sierologiche sul potere antigene di taluni tipi di emoglobina umana normali e patologici. *La Pediatria*, 58, 481, 1950.
- WASSERMANN C. F., PHELPS V. R., HERTZOG A. J.: Chronic hemolytic anemia in a white child due to thalassemia and sicklelema. *Pediatrics*, 9, 286, 1952.
- ZANNOS L.: Studies on the resistance of haemoglobin to alkali. *Acta Paed.*, 42, 305, 1953.
- ZUELZER W. W., KAPLAN E.: A new syndrome presumably due to the combination of the genes for Thalassemia and the emoglobin C. *Blood*, 9, 1047, 1954.

RÉSUMÉ

Les récents recherches ont mis en évidence que, outre les deux hemoglobines normales adulte (*a*) et foetale (*f*), d'autres formes pathologiques en existent; *c, e, s, d, g, h, i*.

Ces Hb, à l'exception de la *h*, sont présentes à l'état hétérozygotique dans le sujets sains et à l'état homozygotique, à l'exception de la *g*, causent anémie hémolytique chronique.

SUMMARY

New researches have made it evident that besides the two normal Hb, the adult one (*a*) and the foetal (*f*), there are other pathologic Hb: *c, e, s, d, g, h, i*.

These Hb, excepting the *h*, are present in the heterozygote on every healthy person and in the homozygote, excepting the *g* Hb, determine chronic hemolytic anemia.

ZUSAMMENFASSUNG

Die neuesten Versuche haben ergeben, dass ausser den zwei normalen Typen (*a* bei normalen Erwachsenen und *f* beim Foetus) auch pathologische Hb existieren und zwar: *c, e, s, d, g, h, i*.

Mit Ausnahme des Types *h* finden sich diese Hb im heterozygotischen Zustand bei gesunden Individuen, während sie im homozygotischen Zustand, mit Ausnahme von *g*, die chronische

La Hb *f*, ou une Hb presque identique à elle, se trouve dans la thalassemia minor et maior; dans quelques cas homozygotiques d'Hb anormale, dans l'interaction les gènes de ces Hb, ou entre un de leur gènes avec celui de la thalassemia.

On croit que les gènes *a, c, s, d, e, g, i*, constituent une série. Le gène *th* n'appartient pas à cette série.

Puisque dans les homozygotiques *ss, cc* (en absence du gène

The *f* Hb, or a very similar Hb, is present in the Thalassemia minor and major, in some homozygote cases of abnormal Hb, in the interreaction between two different genes of these Hb, or between one of these genes with the one of Thalassemia.

We may retain that the genes *a, c, s, d, e, g, i*, form an allelomorph series. The gene *Th* is not a part of this series.

Since in the homozygotes *ss,*

hämolytische Anämie hervor-rufen.

Hb *f* oder eine ganz ähnliche Form zeigt sich in der Thalassaemia minor und major, in verschiedenen Fällen anormaler Hb und auch in der Interreaktion zwischen zwei verschiedenen Hb, oder zwischen einer dieser Gene mit dem Gen der Thalassaemia.

Man glaubt, dass die Gene *a, c, s, d, f, g, i* eine allelomorphe Serie bilden, zu der das Gen *Th* nicht gehört.

Da in den Homozygoten *ss,*

a) la quantité d'Hb anormale atteint des pourcentages qui ne sont pas toujours les mêmes, il est logique de penser que la diverse quantité d'Hb anormale possédée par les éterozigotiques *s* et *c* depende de la diverse capacité de synthèse des gènes des deux Hb anormales.

La presence d'Hb *f* peut être l'expression d'un phénomène de compensation physiopathologique qui intervient lorsque la formation d'Hb *a* est empêchée.

cc (in absence of the gene *a*) the quantity of abnormal Hb does not always reach the same percentage, we may logically retain that the different quantity of abnormal Hb possessed by the *s* and *c* heterozygotes depends from the different synthetic capacity of the genes of the two abnormal Hb. The appearance of *f* Hb may be the expression of a phenomenon of physiopatological compensation, which occurs when Hb *a* formation is prevented.

cc (in Abwesenheit des Genes *a*) die Quantität der anormalen Hb nicht immer den gleichen Prozentsatz erreicht, ist es logisch anzunehmen, dass die Unterschiede in der Menge der in den Heterozygoten *s* und *c* enthaltenen anormalen Hb von der verschiedenen Synthetisierungsfähigkeit der Hb Gene abhängt.

Das Vorhandensein von Hb *f* kann der Ausdruck eines physiologischen Kompensationsphänomens sein, das sich immer zeigt, wenn die Bildung von Hb *a* behindert ist.