

## Emoglobine fetali abnormi nella popolazione italiana<sup>1</sup>

Silvestroni E. e Bianco I.

Sono state individuate da alcuni anni nel sangue di cordone ombelicale di neonati umani a termine alcune varietà di emoglobina caratterizzate da mobilità elettroforetica diversa da quella dell'Hb F e dell'Hb A<sub>1</sub>. La prima individuata è l'Hb di Fessas e Papaspyrou (1) osservata dagli AA. in un neonato greco figlio di genitori entrambi microcitemici, e caratterizzata da mobilità a pH alcalino maggiore di quella dell'Hb F e dell'Hb A<sub>1</sub>; la seconda in ordine cronologico è l'Hb di Bart's, descritta da Ager e Lehmann (2) in un bambino, anch'esso figlio di genitori microcitemici e così denominata dal nome dell'Ospedale S. Bartolomeo dove è stata osservata: è anch'essa una varietà caratterizzata da mobilità a pH alcalino maggiore di quella dell'Hb F e dell'Hb A<sub>1</sub>; la terza, descritta contemporaneamente da Fessas e Coll. (3) in un neonato greco venuto alla luce nell'Ospedale Alexandra (e perciò denominata Hb « Alexandra ») e da Vella e coll. (4) in un neonato cinese, ha mobilità elettroforetica a pH alcalino minore di quella dell'Hb A<sub>1</sub> e dell'Hb F.

La letteratura successiva ha già raccolto numerose conferme e precisato i caratteri di queste varietà emoglobiniche. Un interesse particolare hanno assunto le due emoglobine rapide, data la loro frequenza certamente maggiore di quella dell'Hb Alexandra e dati i legami, fin dall'inizio manifestati, con le sindromi microcitemiche.

Era sembrato inizialmente (2-5) che l'Hb di Fessas e Papaspyrou e quella di Bart's avessero mobilità elettroforetica diversa fra loro e in base a questo carattere era stata affermata la loro individualità. Osservazioni successive (6), però, hanno dimostrato che la mobilità delle due emoglobine è uguale, e cioè compresa fra quella dell'Hb J e quella dell'Hb H, ed hanno messo in evidenza un'eguaglianza anche di tutti gli altri loro caratteri: ambedue infatti hanno mobilità anodica a pH acido lievemente inferiore a quella dell'Hb H, sono più resistenti dell'Hb A alla denaturazione alcalina, hanno spettro di assorbimento nell'U.V. di tipo fetale, e in cromatografia hanno mobilità maggiore di quella dell'Hb H. A ciò si deve aggiungere che

<sup>1</sup> Le presenti ricerche sono state eseguite con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

ambidue presentano gli stessi legami con le sindromi microcitemiche. È logico quindi concludere che si tratta di un'unica Hb, e non di due tipi diversi di Hb abnorme.

Questa Hb fetale rapida è stata osservata con una certa frequenza in vari popoli asiatici (7-8-9) ed africani (10). Nelle popolazioni della Nigeria (10), per esempio, che sono poi le sole popolazioni africane finora studiate statisticamente, essa è stata trovata addirittura nella percentuale del 10%.

Molto meno diffusa sembra, allo stato attuale delle conoscenze, l'Hb Alexandra: anch'essa è stata segnalata soprattutto in popoli asiatici e specialmente nei cinesi, ma con una frequenza massima dello 0,5%. Quest'Hb è caratterizzata da mobilità elettroforetica a pH alcalino compresa fra quella dell'Hb D e quella dell'Hb E o dell'Hb A<sub>2</sub>; da mobilità all'elettroforesi su gel d'agar a pH acido e in cromatografia su amberlite a pH acido uguale a quella dell'Hb F; da resistenza alla denaturazione alcalina e spettro nell'U.V. simili a quelli dell'Hb F.

L'Hb di Fessas e Papaspyrou (o Hb di Bart's) e l'Hb Alexandra sono risultate presenti anche nella popolazione italiana; in una precedente nota (11) è già stato da noi comunicato il reperto di due casi di Hb di Fessas e Papaspyrou e di 1 caso di Hb Alexandra individuati su 1.200 campioni di sangue di cordone ombelicale esaminati nel nostro laboratorio. In seguito l'indagine è stata estesa fino a 3.556 campioni di sangue di cordone ombelicale<sup>2</sup>, e in totale sono stati trovati 9 casi di Hb di Fessas e Papaspyrou, mentre l'osservazione di Hb Alexandra è rimasta isolata.

### Metodi

Per l'identificazione delle emoglobine fetali abnormi è stata impiegata l'elettroforesi su carta dell'Hb di cordone ombelicale a pH alcalino (tampone di glicina a forza ionica 0,04 e pH 8,8) e a pH acido (tampone di fosfato e forza ionica 0,04 e pH 6,5): l'uso contemporaneo delle due elettroforesi è stato suggerito dalla constatazione che a pH acido sono bene evidenziabili le frazioni emoglobiniche rapide, dotate di mobilità anodica (12), mentre a pH alcalino si differenziano bene le frazioni emoglobiniche più lente dell'Hb A<sub>1</sub>.

I campioni di Hb in cui è stata trovata presente una frazione abnorme, sono stati poi sottoposti ai seguenti altri esami: elettroforesi su piastra d'amido a pH alcalino (tampone di glicina a forza ionica 0,12); eluizione dalla piastra d'amido delle diverse frazioni emoglobiniche separate e dosaggio allo spettrofotometro Beckmann DU a 540 m $\mu$ ; determinazione allo stesso spettrofotometro delle curve di assorbimento delle varie frazioni fra 2.800 Å e 3.000 Å e determinazione per ciascuna frazione del rapporto fra le densità ottiche a 2.800 Å e 4.150 Å; studio del comporta-

---

<sup>2</sup> È stato possibile raccogliere un così abbondante materiale, grazie alla cortese ed attiva collaborazione dei colleghi: prof. A. Borsò, Primario del Reparto di Ostetricia e Ginecologia dell'Ospedale S. Giacomo di Roma; prof. A. Gusso, Primario del Reparto di Ostetricia e Ginecologia dell'Ospedale S. Camillo; prof. G. Quattrocchi, Primario del Reparto di Ostetricia e Ginecologia dell'Ospedale S. Giovanni. Ai detti colleghi desideriamo esprimere il nostro più vivo, riconoscente ringraziamento.

mento di fronte agli alcali delle frazioni isolate (13) e determinazione del rapporto  $\frac{E_d}{E_{0/2}}$  dove  $E_d = E_{5,800} \text{ \AA}$  della soluzione al termine della denaturazione e  $E_0 = E_{5,800} \text{ \AA}$  della soluzione prima della denaturazione; elettroforesi su gel d'amido (14) a pH acido (tampone di fosfato a forza ionica 0,05 e pH 6,0); elettroforesi su gel d'agar (15) a pH acido (tampone di citrato a forza ionica 0,05 e pH 6,4); cromatografia su colonna di Amberlite IRC-50 (16) a pH acido (tampone di citrato a forza ionica 0,05 e pH 6); dosaggio sull'Hb *in toto* della quota di Hb alcali-resistente (17).

### Risultati

#### 1) HB DI FESSAS E PAPASPYROU O HB DI BART'S

In tutti i 9 casi identificati questa Hb anormale (che per brevità chiameremo d'ora in avanti Hb di Bart's) ha presentato i seguenti caratteri:

- mobilità elettroforetica a pH alcalino maggiore di quella della Hb A<sub>1</sub> e anche di quella piccola frazione rapida che abitualmente precede l'Hb A<sub>1</sub> (fig. 1); uguale a quella dell'Hb N e minore di quella dell'Hb H<sub>2</sub> (fig. 2);
- assoluta uguaglianza di mobilità elettroforetica in tutti i casi osservati (fig. 3);
- mobilità anodica anche all'elettroforesi a pH acido (fig. 4);
- non separabilità dall'Hb F all'elettroforesi su gel d'agar a pH acido;
- mobilità maggiore di quella dell'Hb F in cromatografia su Amberlite (fig. 5);
- spettro di assorbimento nell'U.V. identico a quello dell'Hb F (fig. 6);
- resistenza agli alcali lievemente maggiore di quella dell'Hb A e minore di quella dell'Hb F.

Anche la quota di Hb anormale è risultata in tutti i casi uniforme (tabella I) e, come si vede, assai bassa.

Lo studio degli indici spettrofotometrici ha messo in evidenza che soprattutto il quoziente  $\frac{E_{2,800} \text{ \AA}}{E_{4,150} \text{ \AA}}$  è costantemente più alto per la frazione di Bart's che per l'Hb F; e anche il quoziente  $\frac{E_d}{E_{0/2}}$  è quasi sempre più alto per la stessa frazione che per l'Hb F.

È evidente che i caratteri elettroforetici e biochimici suddetti corrispondono totalmente a quelli descritti per l'Hb di Bart's. La presente casistica ha consentito inoltre un'estesa ed esauriente conferma di un altro dato da noi già precedentemente rilevato (12): e cioè la completa eguaglianza di caratteri fra Hb di Bart's e Hb H<sub>2</sub> (la più lenta delle due frazioni emoglobiniche presenti nei portatori di Hb H). Noi abbiamo dimostrato infatti, in un precedente studio (12) condotto su 5 casi di Hb H-microcitemia, che l'Hb H si compone di due diverse frazioni, una più rapida, la Hb H<sub>1</sub>, e una intermedia fra questa e l'Hb A<sub>1</sub>, l'Hb H<sub>2</sub>; e che mentre l'Hb H<sub>1</sub> ha uno spettro di assorbimento nell'U.V. normale, l'Hb H<sub>2</sub> ha uno spettro di tipo fetale. Questo reperto, osservato contemporaneamente anche da Fessas (18) e poi

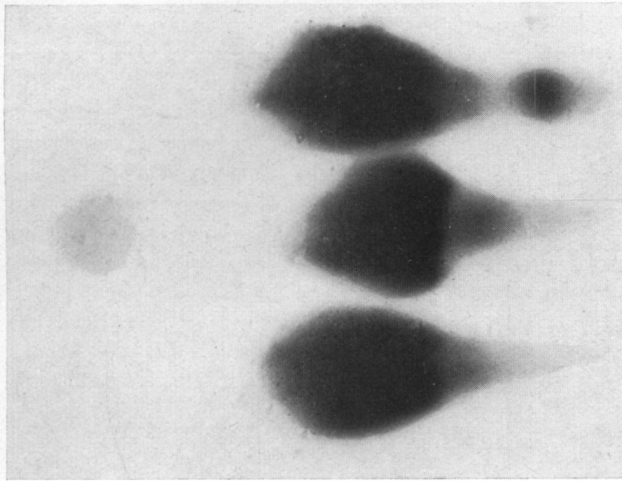


Fig. 1. Elettroforesi a pH alcalino su blocco d'amido di Hb di Bart's (in alto), Hb adulta normale (al centro), Hb di cordone ombelicale normale (in basso). Mobilità anodica della frazione di Bart's maggiore di quella dell'Hb A.

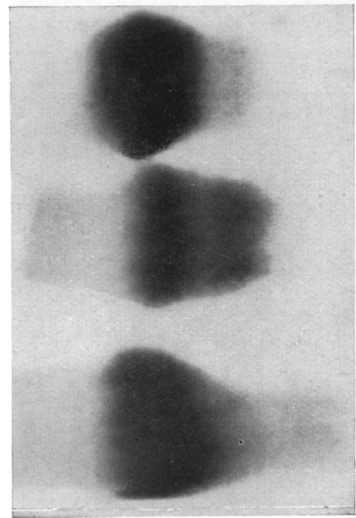


Fig. 2. Elettroforesi su carta a pH alcalino di Hb di Bart's (in alto), Hb A-N (al centro), Hb A-H (in basso). Mobilità anodica della frazione di Bart's identica a quella della frazione N e minore di quella della frazione H (in quest'ultimo caso non è visibile a pH alcalino la separazione fra Hb H<sub>2</sub> ed Hb H<sub>1</sub>).

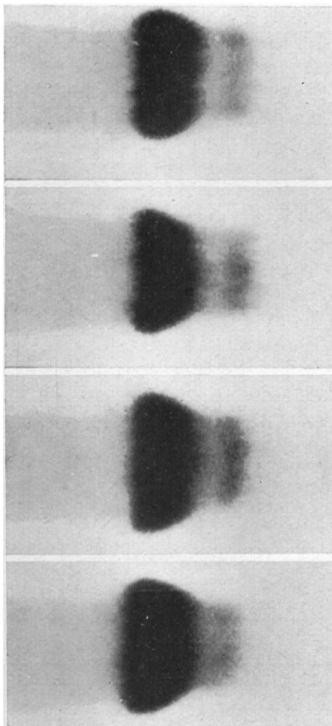


Fig. 3. Elettroforesi su carta a pH alcalino di 4 emoglobine di cordone ombelicale contenenti Hb di Bart's. Evidente mobilità anodica della frazione di Bart's, identica in tutti i casi.

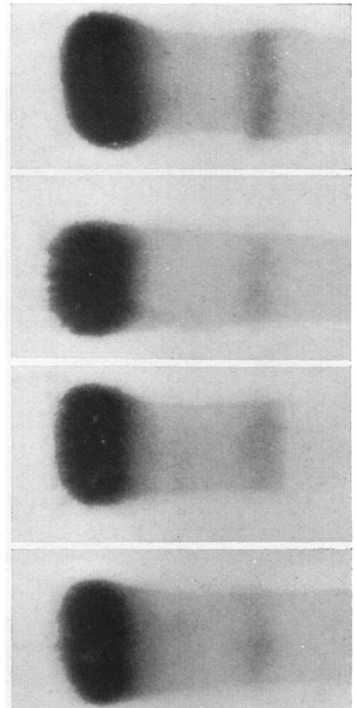


Fig. 4. Elettroforesi su carta a pH acido di 4 emoglobine di cordone ombelicale contenenti Hb di Bart's. Mobilità anodica, identica in tutti i casi, della frazione di Bart's.



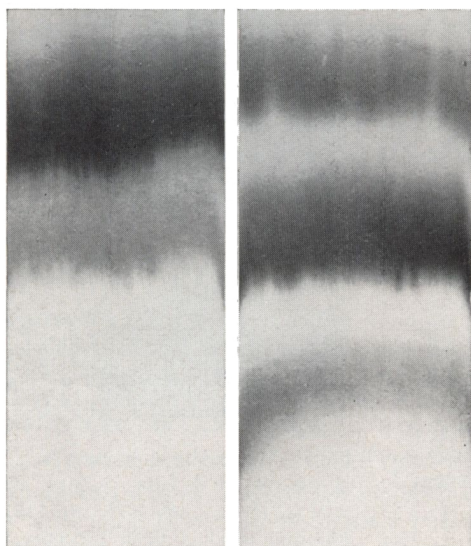


Fig. 5. Cromatografia su Amberlite IRC-50 a pH acido di Hb di anemia microcitica costituzionale contenente il 20% di Hb F (a sinistra) e di Hb di cordone ombelicale contenente la frazione di Bart's (a destra). Mobilità dell'Hb di Bart's notevolmente maggiore di quella dell'Hb F.

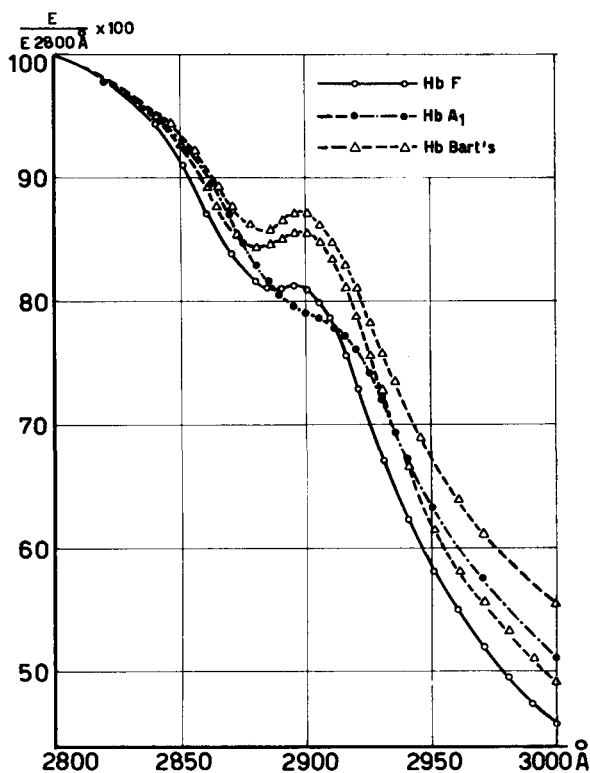


Fig. 6. Curve spettrofotometriche di assorbimento fra 2.800 Å e 3.000 Å dell'Hb F, dell'Hb A<sub>1</sub> e dell'Hb di Bart's. Aspetto analogo delle curve dell'Hb F e dell'Hb di Bart's.

confermato da altri (19), era stato sporadicamente già segnalato nella letteratura e addirittura definito, con suggestiva interpretazione, come presenza di Hb di Bart's in portatore di Hb H. L'attuale casistica ha confermato in ogni caso l'assoluta uguaglianza di mobilità dell'Hb di Bart's con l'Hb H<sub>2</sub> (fig. 7) e l'identico aspetto delle loro curve di assorbimento nell'U.V. (fig. 8).

Questa uguaglianza fra Hb di Bart's ed Hb H<sub>2</sub> e la constatazione che anche l'Hb di Bart's ha diretti legami con le sindromi microcitemiche (1-2-5-9-20) hanno posto il problema dei rapporti fra Hb di Bart's, Hb H e microcitemia.

Per lo studio di questo problema, 7 dei 9 nostri casi di Hb di Bart's sono stati riesaminati, come si è detto, qualche tempo dopo la nascita, insieme con i loro genitori.

In tutti questi 7 casi si è vista la scomparsa (talora dopo un mese soltanto) della frazione rapida: e ciò concorda con le osservazioni di altri Autori (9-10). L'esame ematologico (Tabella II) ha mostrato: in 4 bambini un po' più grandini (Bi. Gabriele, Gl. Fabio, Li. Alberto, De M. Rita) un evidente quadro microcitemico; in

Tab. I. Dosaggi e quozienti spettrofotometrici delle varie frazioni emoglobiniche nei portatori di Hb di Bart's e di Hb Alexandra

Casistica	Hb <i>a-r</i> sull'Hb in toto %	Hb di Bart's (dosaggi a pH alcalino) %	$\frac{E_{3.000} \text{ \AA}}{E_{2.800} \text{ \AA}}$		$\frac{E_{2.800} \text{ \AA}}{E_{4.150} \text{ \AA}}$		$\frac{E_d}{E_{0/2}}$	
			Hb F	Hb di Bart's	Hb F	Hb di Bart's	Hb F	Hb di Bart's
			<i>Hb di Bart's</i>					
n. 399 F (Bi. Gabriele)	65,8	4,01	0,48	0,46	0,25	0,40	0,77	0,82
n. 033 F (Re. Daniela)	66,3	3,95	0,50	0,48	0,33	0,54	0,57	0,82
n. 0691 F (De M. Rita)	59,4	5,09	0,45	0,43	0,25	0,36	0,56	0,56
n. 0827 F (Li. Alberto)	59,1	3,90	0,46	0,47	0,25	0,42		
n. 01266 F (Gl. Fabio)	71,6	3,80	0,46	0,48	0,27	0,41	0,50	0,55
n. 02116 F (Co. Paolo)	58,3	4,80	0,46	0,49	0,27	0,51	0,65	0,84
n. 02225 F (Ca. Carlo)	65,0	5,01	0,45	0,51	0,26	0,62	0,70	0,87
n. 02402 F (Fe. Fabio)	60,4	5,37	0,49	0,57	0,35	0,53	0,68	0,75
n. 02457 F (Ma. Marinella)	58,4	7,66	0,45	0,55	0,26	0,52	0,67	0,65
<i>Hb Alexandra</i>								
n. 0153 F (Gi. Giuseppina)	60,9	Hb Alexandra %	0,45	0,45	0,25	0,31	0,56	0,74

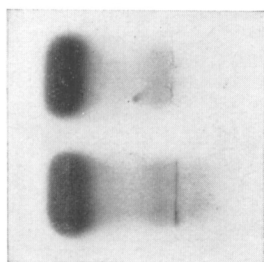


Fig. 7. Elettroforesi su gel d'amido a pH acido di Hb di Bart's (in alto), e di Hb H (in basso). Mobilità anodica, assolutamente identica, della frazione di Bart's e della frazione H<sub>2</sub>.

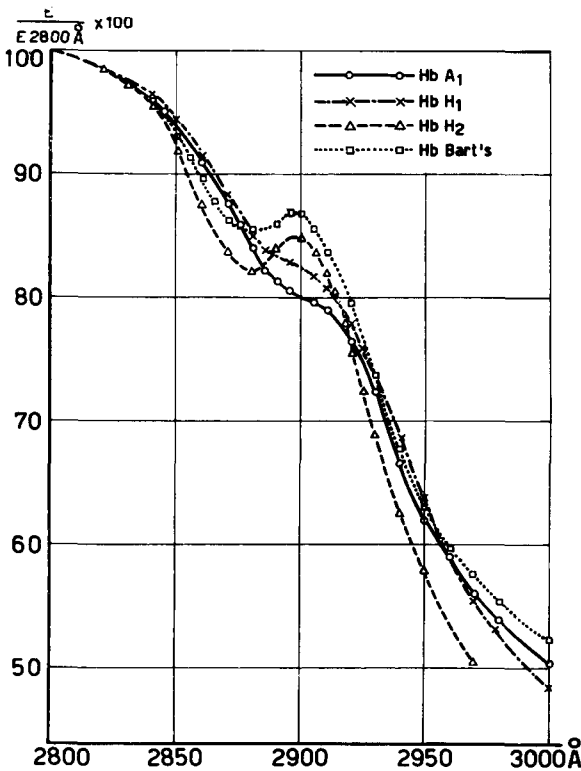


Fig. 8. Curve spettrofotometriche di assorbimento fra 2.800 Å e 3.000 Å dell'Hb A<sub>1</sub>, dell'Hb H<sub>1</sub>, dell'Hb H<sub>2</sub> e dell'Hb di Bart's. Aspetto identico, di tipo fetale, delle curve di assorbimento dell'Hb H<sub>2</sub> e dell'Hb di Bart's.

altri 2 (Ca. Carlo e Fe. Fabio), ancora molto piccoli, dei reperti non ben classificabili, sebbene comprendenti un aumento della resistenza osmotica e alterazioni morfologiche eritrocitarie di tipo microcitemico; in un altro (Re. Daniela) un quadro normale, ad eccezione di evidenti alterazioni della morfologia eritrocitaria. In tutti i casi l'Hb A<sub>2</sub> non è risultata aumentata, nè al dosaggio su piastra d'amido (Tabella II) nè all'esame ispettivo su carta.

Dal lato familiare lo studio di 17 dei 18 genitori (Tabella II) ha mostrato: assenza in tutti di emoglobine rapide di qualsiasi genere, e presenza di una quota di Hb A<sub>2</sub> normale, ad eccezione di un caso che ha presentato un valore aumentato a tipo francamente microcitemico. Dal lato ematologico in tutte e 8 le famiglie in cui sono stati esaminati entrambi i genitori, almeno uno dei due ha presentato qualche carattere anormale: precisamente, in tre genitori (Gl. madre, Ca. padre, Ma. padre) il quadro ematologico è risultato quello della microcitemia in forma conclamata e completa, in altri 5 (Bi. madre, Li. padre, Gl. padre, Co. madre, Fe. padre) è apparso classificabile come una forma attenuata di microcitemia, in una sola famiglia non sono state osservate alterazioni ematologiche di alcun genere, ad eccezione di lievissime anomalie morfologiche eritrocitarie nella madre (Re. madre).

Tab. II. Dati ematologici ed emoglobinici nelle famiglie di portatori di Hb di Bart's

Casistica	Hb		G. R. mil. per mm <sup>3</sup>	Val. glob. gob.	Vol. glob. μ <sup>3</sup>	Emolisi met. Viola	Alter. morf. eritroc.	Hb A <sub>2</sub> %	Hb a-r %
	gr. %	% Sahli							
Bi. Gabriele									
mesi 10	10,5	65	4,3	0,75		0,26-0,44	++	1,84	
Padre	15,0	92	4,6	1,00	96	0,34-0,48	—		1,54
Madre	11,5	72	4,3	0,83	81	0,28-0,46	+	1,93	1,05
Re. Daniela									
mesi 2 ½	11,5	72	3,5	1,02		0,34-0,48	+	1,48	18,09
Padre	13,0	82	4,3	0,95		0,36-0,48	—	2,62	1,76
Madre	12,8	80	3,9	1,02		0,35-0,46	±	2,74	1,61
De M. Rita									
mesi 8	11,2	70	4,6	0,75		0,24-0,44	++	2,13	2,12
Madre	12,5	78	4,8	0,81	91	0,36-0,48	—	2,35	1,10
Li. Alberto									
mesi 5	11,0	68	4,6	0,73		0,26-0,42	++		
Padre	12,5	78	4,5	0,86	93	0,30-0,44	+	2,17	1,50
Madre	12,2	76	3,8	1,00	109	0,34-0,48	±	2,20	1,83
Gl. Fabio									
mesi 6	10,5	66	4,6	0,71		0,20-0,42	+++	1,17	
Padre	13,5	84	4,9	0,85		0,30-0,46	+±	1,61	1,57
Madre	11,0	68	5,0	0,68	79	0,26-0,44	++	4,76	4,14
Co. Paolo (non riesam.)									
Padre	14,5	90	4,6	0,97	105	0,36-0,48	—	1,82	0,62
Madre	14,0	88	4,8	0,91	92	0,30-0,46	++	1,93	1,76
Ca. Carlo									
mesi 1 ½	10,5	66	3,7	0,89		0,24-0,44	++		
Padre	12,8	80	5,2	0,76	76	0,24-0,38	++	1,39	1,01
Madre	12,8	80	3,8	1,05	103	0,36-0,46	—	1,77	1,95
Fe. Fabio									
mesi 1	12,8	80	3,2	0,95		0,26-0,44	+++		
Padre	14,0	88	5,3	0,83	89	0,30-0,44	+	2,06	0,95
Madre	11,2	70	3,8	0,92	86	0,28-0,44	±	1,06	0,77
Ma. Marinella (non riesam.)									
Padre	14,0	88	5,3	0,83	81	0,22-0,40	++	2,19	0,87
Madre	13,5	84	4,2	1,00	92	0,36-0,46	+	1,27	1,50



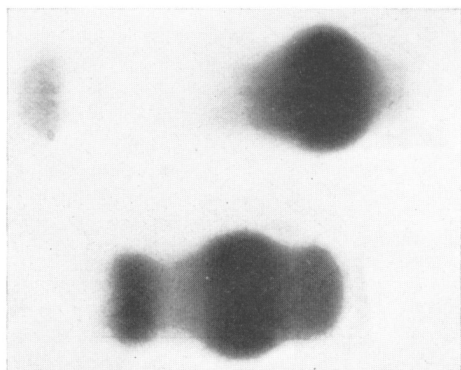


Fig. 9. Elettroforesi su gel d'amido a pH alcalino di Hb adulta normale (in alto) e di Hb Alexandra (in basso). Mobilità della frazione Alexandra maggiore di quella dell'Hb A<sub>2</sub>.

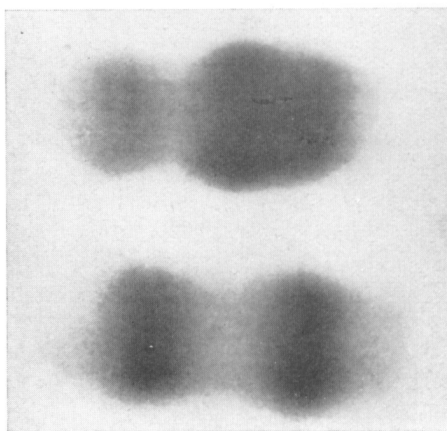


Fig. 10. Elettroforesi su gel d'amido a pH alcalino di Hb Alexandra (in alto) e di Hb A-S (in basso). Mobilità della frazione Alexandra minore di quella della frazione S.

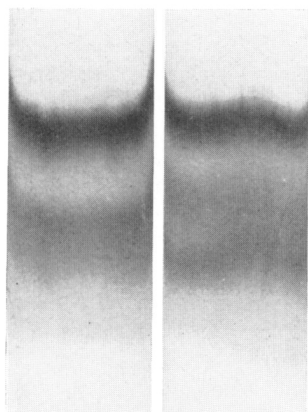


Fig. 11. Cromatografia su Amberlite IRC-50 a pH acido di Hb Alexandra (a sinistra) e di Hb di cordone ombelicale normale (a destra). Presenza nella cromatografia dell'Hb Alexandra di una banda intermedia fra quella dell'Hb F e quella dell'Hb A.

Avendo trovato fra i primi due casi, da noi osservati, proprio quest'ultima famiglia e un'altra (Bi.) in cui la madre è portatrice solo di modeste alterazioni ematologiche, siamo stati indotti nella prima nota (11) ad escludere l'esistenza di rapporti con la microcitemia. Le osservazioni successive hanno dato invece, come si è visto, risultati diversi che oggi riaprono la questione e impongono di discutere (v. oltre) l'esistenza e la natura di questi rapporti.

## 2) Hb ALEXANDRA

Questa varietà lenta di Hb fetale ha presentato, come già descritto negli altri casi della letteratura, mobilità elettroforetica a pH alcalino maggiore di quella dell'Hb A<sub>2</sub> (fig. 9) e minore di quella dell'Hb S (fig. 10); a pH acido non è risultata separabile dall'Hb F nè su carta nè su gel d'amido nè su gel d'agar. In cromatografia su colonna di Amberlite IRC-50 noi abbiamo ottenuto, protraendo la prova per 36 ore e più, la separazione di una banda intermedia fra quella dell'Hb F e quella dell'Hb A (fig. 11): poichè questa banda non si osserva, in eguali condizioni di esperimento, nelle altre emoglobine di cordone ombelicale, si deve ritenere che essa rappresenti l'Hb Alexandra. Questo dato differisce da altri segnalati nella letteratura, che definiscono l'Hb Alexandra non separabile in cromatografia dall'Hb F (4), e richiede pertanto ulteriori conferme.

Anche questa variante di Hb fetale risulta presente in una quota modesta (Tabella I), ma tuttavia più elevata della quota media dell'Hb di Bart's e del tutto analoga a quella già osservata in altri casi (3-4). Lo spettro nell'U.V. della frazione lenta isolata è di tipo fetale, la sua resistenza agli alcali è maggiore di quella dell'Hb A e solo lievemente minore di quella dell'Hb F.

### Discussione

È evidente che fra i due tipi di Hb fetale abnorme vi è una grande diversità di frequenza nella popolazione italiana: mentre infatti la varietà Alexandra è stata osservata solo una volta, la varietà Bart's è stata trovata 9 volte su 3.556 campioni di sangue fetale. La prima rientra dunque fra le rarità, anche se non priva di interesse e ancora meritevole di ulteriori studi, specialmente dal lato ematologico e familiare (che non sono stati possibili nel presente caso); la seconda ha una frequenza statisticamente rilevabile e certamente superiore a quella di ogni altra Hb abnorme (a parte la microcitemia) segnalata nella popolazione italiana.

Questo dato assume particolare importanza, sia per i rapporti già ricordati fra questa Hb fetale rapida e la microcitemia, sia per la grande e ben nota frequenza che ha appunto la microcitemia in Italia.

Il legame familiare che la presente casistica ha messo in luce fra Hb di Bart's e microcitemia pone un primo elementare quesito: potrebbe l'Hb di Bart's essere una manifestazione della microcitemia alla nascita, e cioè una manifestazione fugace, destinata a scomparire col manifestarsi poi del quadro ematologico dell'anomalia?

Questa ipotesi, trova subito un aperto contrasto nel dato che la frequenza della microcitemia nella popolazione italiana di provenienza centro-meridionale e insulare, quale è quella della presente casistica, è del 2% circa (21), mentre per l'Hb di Bart's la frequenza è risultata soltanto del 2,5‰. Analoga discordanza è stata osservata anche in Grecia da Fessas (18), il quale ha, per di più, constatato in 9 neonati di famiglie con morbo di Cooley o con anemia microcitica costituzionale, assenza di frazione emoglobinica rapida.

Questi dati non escludono che i neonati con Hb di Bart's siano egualmente dei microcitemici, e che cioè essi rappresentino una parte della futura popolazione microcitemica adulta. Ciò sembra anzi, in base alle presenti osservazioni, fondatamente ammissibile, anche se non ancora definitivamente stabilito: si è visto infatti nei neonati con Hb di Bart's che sono stati seguiti più a lungo dopo la nascita, comparire un quadro ematologico microcitemico, mentre scompariva la frazione di Bart's; e si è vista in 7 delle 8 famiglie in cui entrambi i genitori sono stati esaminati, la presenza, almeno in uno di questi, di caratteri ematologici microcitemici, ora più ora meno accentuati, e solo in una famiglia reperti praticamente negativi nei riguardi della microcitemia.

In tutti questi genitori, però, la quota di Hb A<sub>2</sub> è sempre risultata normale: solo in un caso (Gl. madre) era aumentata, ma in questa famiglia il padre presentava a sua volta caratteri ematologici microcitemici senza aumento dell'Hb A<sub>2</sub>. Lo stesso reperto di Hb A<sub>2</sub> non aumentata si è avuto in tutti i 7 neonati con Hb di Bart's riesaminati alcuni mesi dopo la nascita. Anche se in questi ultimi il dato ha ancora scarso valore, potendo per la tenera età dei soggetti essere soltanto un dato transitorio, nei genitori esso dimostra di rispondere, per la sua costanza ed uniformità, ad una regola ben precisa.

Questo quadro di microcitemia con Hb A<sub>2</sub> normale, di cui la letteratura offre già altre isolate notizie in genitori di neonati con Hb di Bart's (9-18), richiama alla mente il quadro delle sindromi da Hb H: e fa pensare che possano essere gli stessi ceppi familiari, portatori di una particolare microcitemia con Hb A<sub>2</sub> normale, quelli in cui compare l'Hb di Bart's alla nascita, e l'Hb H nelle età successive.

Questa ipotesi trova valida conferma nel fatto, sempre più ampiamente accertato (9-18-19), che nei portatori di Hb H è costantemente presente anche un'altra frazione meno rapida, del tutto identica all'Hb di Bart's; e trova anche conferma in una recente osservazione di Fessas (18) il quale, esaminando tre neonati di genitori con Hb H ha trovato in tutti e tre la Hb di Bart's, mentre in 9 neonati di famiglie con morbo di Cooley o con anemia microcitica costituzionale, come si è già detto, non ha osservato in nessun caso Hb di Bart's.

Tutti questi dati portano dunque a ritenere che i legami fra Hb di Bart's, Hb H e microcitemia consistano nella comune origine delle due emoglobine abnormi da famiglie nelle quali è presente un particolare tipo di microcitemia caratterizzato da una bassa quota di Hb A<sub>2</sub>.

Questo tipo di microcitemia corrisponde, secondo le più moderne vedute (22), a favore delle quali in verità molti dati si sono in breve accumulati, alla microcitemia della catena polipeptidica  $\alpha$ , e cioè ad un tipo di microcitemia nel quale è alterata o più probabilmente depressa, per influenza genica, la formazione delle catene  $\alpha$ . Dalla scarsezza di queste catene dipende appunto la ridotta formazione di Hb A<sub>2</sub>, la quale si compone di catene  $\alpha$  normali e di catene  $\delta$  specifiche. Ora è stato dimostrato che l'Hb H e l'Hb di Bart's non solo si accompagnano costantemente ad un tipo di microcitemia con Hb A<sub>2</sub> scarsa, ma sono anche composte rispettivamente la prima di sole catene  $\beta$  (23) e la seconda di sole catene  $\gamma$  (24), il che si accorda

pienamente con l'interpretazione che nei casi con più marcata depressione nella formazione di catene  $\alpha$ , le catene  $\beta$  e le catene  $\gamma$  in eccesso vengono a polimerizzarsi rispettivamente fra loro.

Gli elementi raccolti permettono dunque di prospettare l'ipotesi (sia pure come semplice ipotesi di lavoro) che l'Hb di Bart's e l'Hb H con le sue due frazioni  $H_1$  e  $H_2$  compaiono esclusivamente nelle famiglie e nei soggetti in cui è presente la microcitemia della catena  $\alpha$ .

Una riserva va ancora posta per il fatto che non in tutti i casi della presente casistica, come vi è visto, la microcitemia è chiaramente riconoscibile nei genitori e nel figlio portatore di Hb di Bart's. Ed è ancora da dimostrare, anche, che il rapporto di frequenza fra Hb di Bart's e microcitemia corrisponda esattamente al rapporto di frequenza fra microcitemia senza aumento dell'Hb  $A_2$  e microcitemia con aumento dell'Hb  $A_2$ . In una casistica di microcitemici ferraresi (25) noi abbiamo trovato solo il 2% di microcitemici senza aumento di Hb  $A_2$ ; in un piccolo nucleo di microcitemici pugliesi (45 soggetti), invece (ricerche ancora inedite), i soggetti con Hb  $A_2$  normale sono risultati circa il 10% dei microcitemici esaminati, e cioè la stessa percentuale dei portatori di Hb di Bart's rispetto ai microcitemici.

Molti dati, dunque, sembrano in complesso concordare con l'ipotesi dell'esistenza di due diverse microcitemie: una determinata da una abnorme o depressa formazione di catene  $\alpha$  e caratterizzata da una scarsa quota di Hb  $A_2$ , da presenza di Hb di Bart's alla nascita ed eventuale comparsa di Hb H con le sue due frazioni nell'età adulta; l'altra determinata da abnorme o depressa formazione di catene  $\beta$  e contrassegnata dall'aumento dell'Hb  $A_2$ .

A questa ipotesi manca ancora la definitiva conferma sperimentale: è però giusto chiedersi fin d'ora se, nel caso che future indagini identifichino nelle sindromi microcitemiche una qualsiasi deviazione dalla norma ora della catena  $\alpha$  ora della catena  $\beta$ , sia giustificato parlare di due microcitemie come varianti di una stessa entità, o se non sia più esatto considerare queste come due entità distinte, contrassegnate rispettivamente da una specifica alterazione emoglobinica, anche se in conseguenza di questa insorge poi un'identico quadro ematologico.

### Riassunto

Gli Autori illustrano 9 casi di Hb di Bart's e 1 caso di Hb Alexandra, identificati su 3.556 campioni di sangue di cordone ombelicale di neonati umani a termine. Dagli esami elettroforetici e spettrofotometrici risulta confermato che l'Hb di Bart's è identica all'Hb  $H_2$  (la meno rapida delle due frazioni emoglobiniche presenti nei portatori di Hb H).

In 7 neonati con Hb di Bart's, che è stato possibile riesaminare dopo alcuni mesi dalla nascita, è stata osservata la scomparsa di detta emoglobina; in 4 di questi soggetti si è notata, nello stesso tempo, la comparsa di un evidente quadro ematologico microcitemico, mentre in altri 3, ancora molto piccoli, il quadro ematologico microcitemico è risultato ancora un po' incerto. In 8 famiglie di neonati con Hb di

Bart's sono stati esaminati anche i due genitori: in 7 di queste famiglie uno dei due genitori presentava un quadro ematologico microcitemico, in una i caratteri ematologici erano normali in ambedue i genitori, salvo lievissime alterazioni della morfologia eritrocitaria nella madre.

Dal lato emoglobinico in nessuno dei genitori esaminati sono state riscontrate emoglobine abnormi; inoltre, tutti i genitori microcitemici (tranne uno) e tutti i figli con Hb di Bart's hanno presentato una quota normale di Hb A<sub>2</sub>. Questo dato, del tutto analogo a quello osservato nei portatori di Hb H e nei loro familiari microcitemici, permette di avanzare l'ipotesi che l'Hb di Bart's e l'Hb H compaiano nelle stesse famiglie in cui è presente quel particolare tipo di microcitemia senza aumento dell'Hb A<sub>2</sub>, che corrisponderebbe alla microcitemia della catena  $\alpha$ .

### Bibliografia

1. FESSAS PH. e PAPANASTASIOU A.: New « Fast » Hemoglobin Associated with Thalassemia. *Science*, 126; 1119, 1957.
2. AGER J. A. M. e LEHMANN H.: Observations on some « Fast » Haemoglobins: K, J, N, and « Bart's ». *Brit. Med. Journ.*, 1: 929, 1958.
3. FESSAS PH., MASTROKALOS N. e FOSTIROPOULOS G.: New variant of Human Foetal Haemoglobin. *Nature*, 183: 30, 1959.
4. VELLA F., AGER J. A. M. e LEHMANN H.: New variant of Human Foetal Haemoglobin. *Nature*, 183: 30, 1959.
5. CHOREMIS C., ZANNOS-MARIOLEA L., AGER J. A. M. e LEHMANN H.: Persistence of Haemoglobin « Bart's » beyond Infancy in a Child with Thalassaemia. *Brit. Med. Journ.*, 2: 348, 1959.
6. FESSAS PH.: Haemoglobin « Bart's ». *Brit. Med. Journ.*, 2: 886, 1959.
7. ENG L. I. L.: Haemoglobin of New-born Infants in Indonesia. *Nature*, 183: 1125, 1959.
8. VELLA F.: Heterogeneity of Human Foetal Haemoglobin: Incidence of Foetal Variants in Singapore. *Nature*, 184: 272, 1959.
9. TUCHINDA S., VAREENIL C., BHANCHIT P. e MINNICH V.: « Fast » hemoglobin component found in umbilical-cord blood of Thai babies. *Pediatrics*, 24: 43, 1959.
10. BOYO A. E. e HENDRICKSE R. G.: New Fast Abnormal Haemoglobin in Newborn Nigerians. *Nature*, 184: 997, 1959.
11. SILVESTRONI E. e BIANCO I.: Abnormal Foetal Haemoglobins. *Nature*, 191: 397, 1961.
12. — — MUZZOLINI M.: Presenza di una seconda frazione emoglobinica rapida nei portatori di Hb H. *Policlinico, Sez. Prat.*, 67: 41, 1960.
13. — — — MODIANO G. e VALLISNERI E.: Studio biochimico, elettroforetico e spettrofotometrico dell'emoglobina di malati di anemia microcítica costituzionale e di morbo di Cooley. *Progr. Med.*, 13: 705, 1957.
14. FESSAS PH. e MASTROKALOS N.: Demonstration of small Components in red cell haemolysates by starch-gel electrophoresis. *Nature*, 183: 1261, 1959.
15. ROBINSON A. R., ROBSON M., HARRISON A. P. e ZUELZER W. W.: A new technique for differentiation of hemoglobin. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 50: 745, 1957.
16. HUISMAN T. H. J. e PRINS H. K.: Chromatographic estimation of four different human hemoglobins. *Journ. Lab. Clin. Med.*, 46: 255, 1955.
17. SINGER G., CHERNOFF A. J. e SINGER L.: Studies of abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in Sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali denaturation. *Blood*, 6: 413, 1951.
18. FESSAS PH.: Observations on a Second Haemoglobin Abnormality in Haemoglobin-H Disease. *Proc. 7th Congr. Europ. Soc. Haemat., London, 1959; part II, 1043, 1960.*

19. HUEHNS E. R., FLYNN F. V., BUTLER E. e SHOOTER E. M.: The Occurrence of Haemoglobin « Bart's » in Conjunction with Haemoglobin H. *Brit. J. Haemat.*, 6: 388, 1960.
20. RAMOT B., SHEBA CH., FISHER S., AGER J. A. M. e LEHMANN H.: Haemoglobin H Disease with Persistent Haemoglobin « Bart's » in an Oriental Jewess and Her Daughter. *Brit. Med. Journ.* II, 1228, 1959.
21. SILVESTRONI E. e BIANCO I.: Dimostrazione nell'uomo di una particolare anomalia ematologica costituzionale e rapporti fra questa anomalia e l'anemia microcitica costituzionale. *Policlinico, Sez. Med.*; 52: 105 e 137, 1945.
22. INGRAM V. M. e STRETTON A. O. W.: Genetic Basis of the Thalassemia Diseases. *Nature*, 184: 1904, 1959.
23. JONES R. T., SCHROEDER W. A., BALOG J. E. e VINOGRAD J. R.: Gross Structure of hemoglobin H. *J. Amer. Chem. Soc.*, 81: 3161, 1959.
24. HUNT J. A. e LEHMANN H.: Abnormal Human Haemoglobins. Haemoglobin « Bart's »: a Foetal Haemoglobin without  $\alpha$  Chains. *Nature*, 184: 872, 1959.
25. SILVESTRONI E., BIANCO I. e MODIANO G.: Sul valore discriminante dell'Hb A<sub>2</sub> tra soggetti normali e microcitemici. *Progr. Med.*, 13: 772, 1957.

## RÉSUMÉ

Les auteurs illustrent 9 cas de Hb de Bart et 1 cas de Hb Alexandra, identifiés sur 3556 échantillons de sang de cordon ombilical de nouveaux-nés humains à terme. Les examens électrophorétiques et spectrophotométriques confirment que l'Hb de Bart est identique à l'Hb H<sub>2</sub> (la moins rapide des deux fractions hémoglobinique présente chez les conducteurs de Hb H).

Chez 7 nouveaux-nés avec Hb de Bart, que l'on a pu réexaminer quelques mois après leur naissance, on a observé la disparition de l'hémoglobine en question; chez 4 de ces sujets on a remarqué, en même temps, l'apparition d'un tableau hématologique clairement microcytémique, tandis que dans 3 autres sujets, encore très petits, le tableau microcytémique résulta encore un peu incertain. Chez 8 familles de nouveau-nés avec Hb de Bart les deux pa-

rents ont également été examinés: dans 7 de ces familles l'un des parents présentait un tableau microcytémique, dans une, les caractères hématologiques étaient normaux chez les deux parents, à part de très légères altérations de la morphologie érythrocytaire chez la mère.

Du côté hémoglobinique, aucun des parents examinés ne présentait d'hémoglobine anormale; en outre, tous les parents microcytémiques (sauf un) et tous les enfants avec Hb de Bart, ont présentés un taux normal de Hb A<sub>2</sub>. Cette donnée, analogue en tous points, à celle observée chez les conducteurs de Hb H et leurs parents microcytémiques, permet d'avancer l'hypothèse que l'Hb de Bart et l'Hb H apparaissent dans ces mêmes familles où ce type particulier de microcytémie est présent sans augmentation de l'Hb A<sub>2</sub> qui correspondrait à la microcytémie de la chaîne  $\alpha$ .

### SUMMARY

The authors explain 9 cases of Bart's Hb. and one case of Hb. Alexandra, identified on 3.556 blood samples from the umbilical-cord in human newborn in time. Electrophoretical and spectrophotometrical examinations showed that Bart's Hb. is identical to Hb. H<sub>2</sub> (the least fast of the two Hb. fractions present into the bearers of Hb. H).

In 7 newborn infants, it has been possible with Bart's Hb. to reexamine them, some months after they were born; it was observed that the said haemoglobins had disappeared; at the same time, in 4 of those subjects, a clear microcytemic picture was noted while in 3 others, still very small, the microcytemic picture appeared still uncertain. In 8 families with newborn babies with Bart's Hb., the two parents were also examined, and in 7 of these

families one of the two parents presented a microcytemic picture; in one of them the hematologic traits were normal in both parents, except a very high alteration of the erythrocyte morphology in the mother.

None of the examined parents presented any abnormal haemoglobin; furthermore, all microcytemic parents (except one) and all children with Bart's Hb. presented a normal rate of Hb. A<sub>2</sub>. This fact, absolutely similar to that observed in the bearers of Hb. H and in their microcytemic relatives, allow to put forward the hypothesis that Bart's Hb. and Hb. H appear in the same families in which we find that special type of microcytemia without any increase of Hb. A<sub>2</sub>, which would correspond to the microcytemia of the  $\alpha$  chain.

### ZUSAMMENFASSUNG

Verf. beschreiben 9 Fälle von Hb nach Bart und einen Fall von Hb Alexandra, die sie unter 3.556 Blutproben aus der Nabelschnur von normal ausgetragenen Neugeborenen bestimmt hatten. Elektrophorese und Spektrophotometrie bestätigten, dass das Hb nach Bart mit dem Hb H<sub>2</sub> (dem weniger raschen der beiden in den Hb H-Trägern vorhandenen Hämoglobinfraktionen) identisch ist.

Bei 7 Neugeborenen mit Hb nach Bart, die einige Monate nach ihrer Geburt nachuntersucht wurden, war dieses Hb verschwunden; bei 4 davon zeigte sich gleichzeitig ein deutlich mikrozytämisches Blutbild, während bei den anderen 3, die noch sehr klein waren, das mikrozytämische Blutbild noch ein wenig unsicher erschien. Von 8 Neugeborenen mit Hb nach Bart wurden auch die Eltern untersucht:

in 7 Fällen ergab sich bei einem Elternteil ein mikrozytämisches Bluthld, in einem Fall war es bei beiden Eltern normal, abgesehen von ganz leichten morphologischen Veränderungen der Erythrozyten bei der Mutter.

Keine der untersuchten Eltern hatten abnorme Hämoglobine; bei allen mikrozytämischen Eltern (mit Ausnahme von einem) und bei allen Kindern mit Hb nach Bart war die Hb A<sub>2</sub>-Quote normal. Dieser Befund, der völlig mit den Beobachtungen bei Hb H-Trägern und deren Angehörigen übereinstimmt, lässt die Vermutung zu, dass das Hb nach Bart und das Hb H bei den selben Familien auftreten, bei denen jener besondere Typ von Mikrozytämie ohne Erhöhung von Hb A<sub>2</sub> beobachtet wurde, der der Mikrozytämie der  $\alpha$ -Kette entspricht.