

LINUS C. PAULING

CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY - PASADENA

3. - EMOGLOBINE ANORMALI IN RAPPORTO ALLE MALATTIE(*)

Professor MAROTTA, Signore e Signori:

Sono felice di esprimervi il mio piacere di essere di nuovo in Italia, e vi ringrazio per avermi invitato qui. Sono esattamente trent'anni da quando mia moglie ed io visitammo per la prima volta il vostro bel paese, ed io sono contento di vedere che esso è ancora più bello ed interessante di quanto noi lo ricordassimo.

Durante gli ultimi cinquant'anni le scienze della fisica e della chimica hanno attraversato un periodo di straordinario sviluppo. Gran parte del progresso nel campo della chimica è stato in relazione alla determinazione della struttura di molecole e cristalli, specialmente per mezzo di metodi di diffrazione di raggi X. Noi ora conosciamo le strutture, le posizioni dettagliate di tutti gli atomi delle molecole di centinaia di sostanze diverse, e un gran progresso è stato fatto nel porre in relazione le proprietà delle sostanze con la loro struttura molecolare.

Io penso che la biologia e la medicina stiano per entrare in un periodo di altrettanto rapido sviluppo; un periodo che si può chiamare il periodo della biologia molecolare e della medicina molecolare. L'argomento di cui tratterò ora può servire come illustrazione.

Cominciai ad interessarmi delle molecole anormali di emoglobina in relazione a stati patologici quasi per caso. Più di venti anni or sono, io presi interesse all'emoglobina, cercando di comprendere la sua curva di equilibrio con l'ossigeno, che è una curva sigmoide. Questo è naturalmente un problema di chimica fisica. Mentre io mi dedicavo a questi studi, appresi che la molecola dell'emoglobina contiene circa diecimila atomi, quattro dei quali sono atomi di ferro, e che essa ha varie interessanti proprietà: per esempio, ci sono otto gruppi acidi nella molecola,

(*) Conferenza tenuta nell'Aula Magna dell'Istituto Superiore di Sanità il 13 giugno 1956.

la cui acidità varia quando la molecola dell'emoglobina si combina con l'ossigeno. Il dottor CORYELL cominciò a lavorare con me su questo problema della struttura e delle proprietà della emoglobina. Scoprimmo che l'ossidazione comporta un gran cambiamento delle proprietà magnetiche: l'emoglobina presente nelle vene è attratta da un magnete, e l'emoglobina presente nelle arterie, dove si è combinata con molecole d'ossigeno, è respinta dal magnete. Il paramagnetismo della emoglobina e il diamagnetismo dell'ossiemoglobina sono in stretta relazione con la loro struttura molecolare intorno agli atomi di ferro, e questa scoperta del cambiamento di proprietà magnetiche ha condotto alla precisa conoscenza della natura dei legami degli atomi di ferro con gli atomi circostanti nella molecola.

Un giorno, circa dieci anni fa, io ero in New York e lavoravo in un Comitato per le ricerche mediche nominato dal Presidente Roosevelt. Io ero l'unico membro del comitato non proveniente da scuole mediche.

Quella sera, dopo cena, uno dei membri del Comitato, il dottor WILLIAM B. CASTLE, della scuola medica dell'Università di Harvard, cominciò a parlare della « sickle-cell anemia », cioè dell'anemia a cellule falciformi. Questa malattia è un'anemia emolitica scoperta dal dottor JOHN HERRICK nel 1911. Essa è caratterizzata da un cambiamento nella forma dei globuli rossi del sangue, che assumono la forma di lunghi fusi, o di falci; per questa ragione il dottor HERRICK dette alla malattia il nome di anemia a cellule falciformi. Io ascoltai con interesse ciò che il dottor Castle ebbe a dire circa la malattia, e poi con interesse ancor maggiore appresi che il cambiamento di forma dei globuli rossi avviene solo nelle vene: le cellule riacquistano la loro forma normale nelle arterie.

Il fatto che il cambiamento di forma dei globuli rossi avviene solo nelle vene mi fece pensare che la malattia potesse essere una malattia della molecola dell'emoglobina, piuttosto che dei globuli rossi. A quel tempo non era stata descritta alcuna malattia molecolare. La ragione che fece pensare di trovarsi di fronte ad una anormalità della molecola della emoglobina, è che le molecole dell'emoglobina nel sangue arterioso sono combinate con l'ossigeno, e quelle nel sangue venoso non sono combinate con l'ossigeno. Mi sembrò possibile che i malati di anemia a cellule falciformi fabbricassero un tipo anormale di emoglobina, tale che, quando essa è combinata con l'ossigeno, le sue proprietà sono simili a quelle dell'emoglobina normale, ma quando l'ossigeno è rimosso dalle molecole, esse hanno la proprietà di attaccarsi l'una all'altra per formare lunghi bastoncini. Questi si possono disporre l'uno a fianco dell'altro per formare una specie di cristallo, un cristallo acicolare, che, continuando a

crescere, può diventare alla fine più grande della cellula stessa, in modo da provocare un cambiamento di forma del globulo rosso.

Io accennai al dottor Castle e agli altri membri del Comitato che pensavo di esaminare l'emoglobina di questi pazienti, per vedere se essa era differente da quella di individui normali, o no. L'opportunità di iniziare questa ricerca sorse immediatamente, quando il dottor HARVEY A. ITANO, che s'era laureato in medicina alla scuola medica dell'Università di St. Louis, venne a Pasadena a lavorare con me per conseguire la laurea in chimica. Gli suggerii di lavorare in questo campo.

Egli trovò questo problema di difficile soluzione: tutte le prove che egli fece per due anni sull'emoglobina ottenuta dai globuli rossi di malati di anemia a cellule falciformi, dettero gli stessi risultati ottenuti con l'emoglobina normale. Poi nel 1949 il dottor Itano, con l'aiuto di due altri giovani ricercatori del nostro laboratorio, il dottor SINGER e il dottor WELLS, nel compiere un esperimento di elettroforesi con l'apparecchio di Tiselius, scoprì una differenza tra i due tipi di emoglobina e poté quindi dimostrare che l'emoglobina presente nei casi d'anemia a cellule falciformi è una emoglobina anormale.

Al pH di 6,90 le molecole di emoglobina normale hanno una carica elettrica negativa e migrano all'anodo, mentre quelle di emoglobina presenti nei casi di anemia a cellule falciformi hanno una carica elettrica positiva e migrano al catodo. Questo esperimento mostrò chiaramente che l'anemia a cellule falciformi è una malattia molecolare, dovuta ad una anormalità della molecola dell'emoglobina.

Il dottor Itano subito fece esperienze simili di elettroforesi sul sangue dei genitori dei pazienti.

Pochi anni prima, il dottor J. V. NEEL, della scuola medica dell'Università di Michigan, aveva suggerito che l'anemia a cellule falciformi fosse ereditata come un carattere recessivo. L'ereditarietà della malattia fu resa immediatamente evidente quando si ottennero i dati della elettroforesi condotta sull'emoglobina dei genitori.

Si trovò che i globuli rossi di ciascun genitore di un malato contengono una miscela composta di circa il cinquanta per cento di emoglobina normale e di circa il cinquanta per cento del tipo di emoglobina riscontrato nell'anemia a cellule falciformi. I globuli rossi di questi individui non divengono facilmente del tipo falciforme grazie all'effetto diluente della emoglobina normale, ma si può provocare la loro trasformazione rimuovendo tutto l'ossigeno dal sangue. I portatori della malattia non sono malati: essi non hanno il morbo, e sembrano essere in eccellente salute. Si può quindi dedurre che l'individuo normale ha due geni

normali; i portatori della malattia hanno un gene normale e un gene a cellule falciformi.

Quando due di questi eterozigoti si sposano, ci si può aspettare che un quarto dei loro figli sia normale, con due geni normali, una metà di essi sia costituito da portatori, con un gene normale ed uno anormale, ed un quarto sia rappresentato da malati di anemia a cellule falciformi, con due geni anormali, e con solo l'emoglobina tipica dell'anemia a cellule falciformi presente nei loro globuli rossi

ITANO e NEEL scoprirono poi un secondo tipo di emoglobina anormale. Il grado di anormalità di questa emoglobina, cui è stato dato il nome di emoglobina C, è circa doppio di quello dell'emoglobina a cellule falciformi. La carica elettrica delle sue molecole differisce da quella delle molecole di emoglobina normale per circa cinque elettroni, mentre quella delle molecole di emoglobina a cellule falciformi differisce dalla carica delle molecole di emoglobina normale per circa tre elettroni.

Il dottor Itano e il dottor Neel trovarono nel sangue di un paziente con leggera anemia una miscela di emoglobina tipica dell'anemia a cellule falciformi e del secondo tipo anormale di emoglobina, l'emoglobina C. Uno dei genitori di questo paziente aveva emoglobina normale ed emoglobina a cellule falciformi nei suoi globuli rossi; mentre l'altro genitore era una persona di tipo ancora diverso, con emoglobina normale ed emoglobina C nei suoi corpuscoli. Pertanto uno dei genitori ha un gene di emoglobina normale e un gene di emoglobina tipica dell'anemia a cellule falciformi, e l'altro ha un gene di emoglobina normale ed uno di emoglobina C; ci si poteva aspettare che un quarto dei loro figli ereditasse sia il gene tipico della emoglobina a cellule falciformi, sia quello dell'emoglobina C. Si vide che questa persona aveva un tipo nuovo di malattia, cioè una malattia dovuta alla presenza di emoglobina a cellule falciformi e di emoglobina C.

Questa malattia è il risultato dell'eredità di due anormalità; una, l'emoglobina a cellule falciformi, da un genitore, e la seconda, l'emoglobina C, dall'altro genitore.

Presto si scoprirono altri tipi di emoglobina anormale. L'emoglobina D fu trovata in membri di due famiglie di origine inglese. L'emoglobina E fu trovata dapprima nei globuli rossi di una bambina a Los Angeles. Suo padre, che era un portatore di emoglobina E, era venuto dall'India. SINGER e collaboratori trovarono più tardi che molte persone in Tailandia sono portatori di emoglobina E, e che questa emoglobina anormale è prevalente anche in Indocina e nell'India Orientale. L'emoglobina G fu scoperta in Africa dal dottor HERMAN LEHMANN, e l'emoglobina H

dal dottor Osgood in Oregon, in due bambini di una famiglia di origine cinese. Sono state trovate anche emoglobine X, I e J.

Si è anche scoperta un'interessante interazione delle emoglobine anormali con la talassemia. Questa è un'anemia ereditaria che risulta da un'interferenza, controllata da geni, nel processo di sintesi di emoglobina normale di adulti. La malattia è limitata a persone provenienti dalle coste settentrionali del Mediterraneo, e la si trova in parecchie parti dell'Italia, per esempio intorno a Ferrara. Nella forma omozigota, il gene causa un'anemia molto grave, chiamata « *thalassemia major* », e nella forma eterozigota una forma lieve di anemia, chiamata « *thalassemia minor* ». L'eterozigocità nella cellula falciforme, combinata con la *thalassemia minor*, causa una grave malattia, riconosciuta per la prima volta da SILVESTRONI e BIANCHI in Roma. E' chiamata « *thalassemia-sickle cell disease* ». Altre nuove malattie sono causate da *thalassemia minor* in combinazione con eterozigocità in emoglobina C, emoglobina E, emoglobina X o emoglobina H.

Un'interessante complicazione fu scoperta da ITANO e NEEL, e chiarita dal dottor F. LIQUORI, di Roma. Il diagramma elettroforetico dell'emoglobina di un paziente con « *sickle-cell emoglobin C disease* » mostra un massimo, corrispondente a circa il dieci per cento, di un terzo tipo di emoglobina, identificato tentativamente come emoglobina umana normale di adulti. Fu poi scoperto da LIQUORI, ed anche da SINGER, che questo terzo tipo di emoglobina, trovato spesso nel sangue di anemici, è emoglobina fetale. Di solito la sintesi dell'emoglobina fetale cessa al tempo della nascita dell'individuo. Apparentemente in risposta alla continuata anemia, la sintesi dell'emoglobina fetale continua in alcuni pazienti, e pertanto il grado di anemia viene un po' diminuito. Il dottor ALEX RICH, nel nostro laboratorio, ebbe due pazienti con *thalassemia major* che avevano nei loro globuli rossi solo emoglobina fetale, benchè avessero passato da parecchi anni lo stadio fetale di sviluppo; questi pazienti si mantenevano in uno stato discretamente buono di salute, perchè fabbricavano emoglobina fetale.

Riferiamoci ora alle figure.

La fig. 1 mostra un paziente con anemia a cellule falciformi. Ci sono circa cinquantamila pazienti negli Stati Uniti con questa malattia, e probabilmente molti altri in altri paesi, specialmente in Africa. Il paziente mostra le caratteristiche dita, braccia e gambe lunghe e sottili, e le ulcere sulle caviglie; presenta inoltre ingrossamento della milza. La malattia è seria; i pazienti normalmente muoiono giovani. Il meccanismo della malattia è stato compreso a fondo. Le molecole di emoglobina anormale nei globuli rossi del sangue venoso si uniscono l'una all'altra, formando

pseudo-cristalli, che crescendo sempre più provocano la deformazione dei globuli rossi. I globuli rossi deformati sono attaccaticci, e, aggrovigliandosi l'uno all'altro, disturbano il flusso del sangue nei capillari. Questo provoca stasi del sangue ed anossia, con conseguente danneggiamento degli organi. Inoltre, i globuli rossi deformati sono rapidamente elimi-

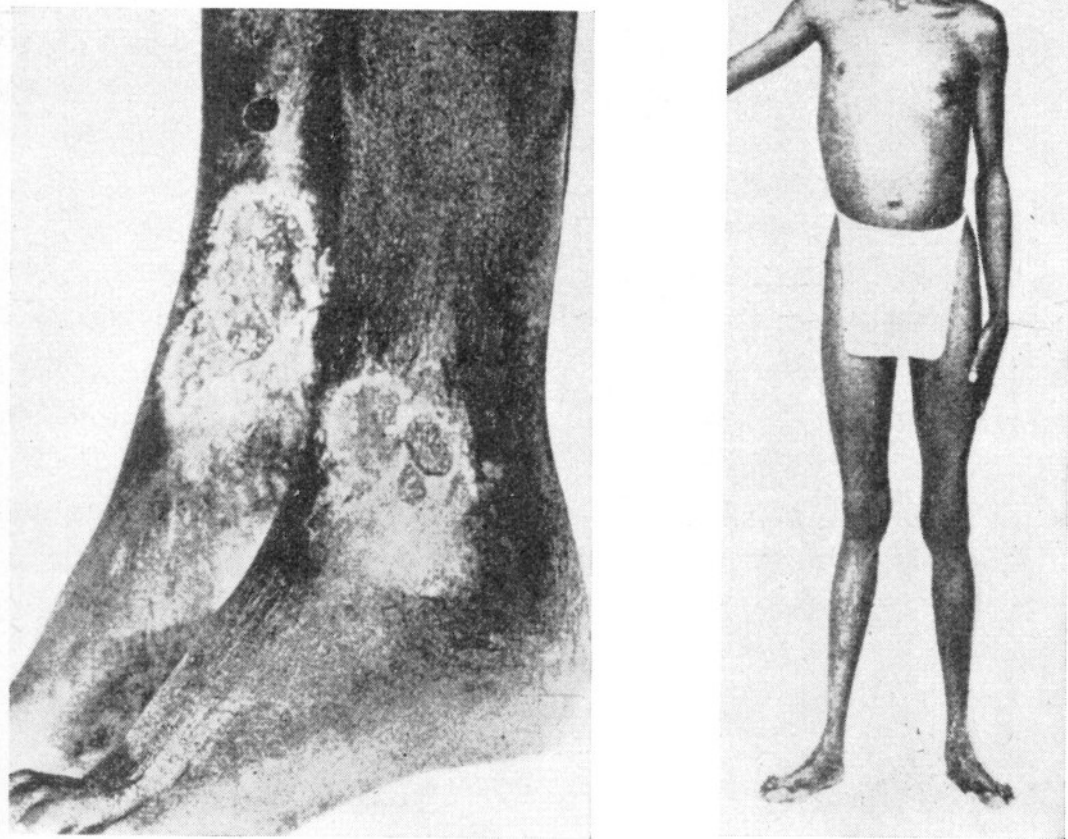


Fig. 1.

nati dalla circolazione ad opera della milza e di altri organi, causando una grave anemia.

La fig. 2 mostra i globuli rossi del paziente. Sulla sinistra sono i globuli rossi normali, o cellule falciformi nel sangue arterioso, e sulla destra cellule falciformi nel sangue venoso.

La fig. 3 mostra il diagramma elettroforetico ottenuto durante le prime ricerche. Si vede che l'emoglobina normale migra dalla sua posizione originale, rappresentata dalla freccia, verso la sinistra, cioè verso

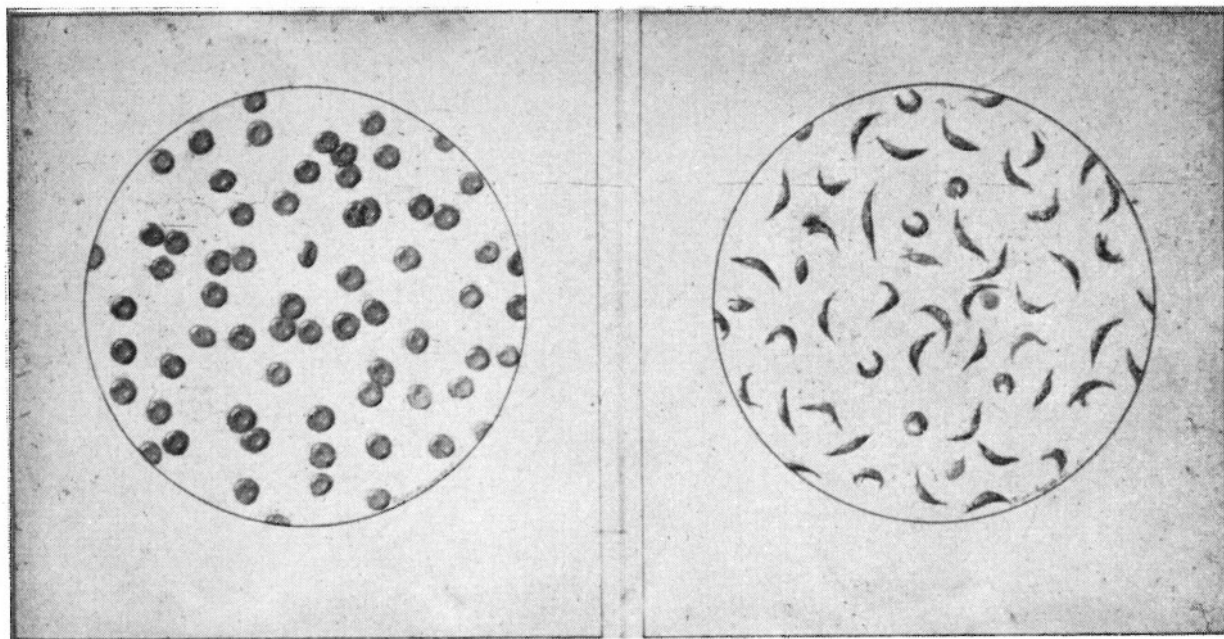


Fig. 2.

l'anodo. L'emoglobina tipica dell'anemia a cellule falciformi migra al catodo. Una mescolanza di questi due tipi di emoglobina viene, come si vede, separata nel campo elettrico. L'emoglobina di ognuno dei genitori del paziente, rappresentata sopra, è una mescolanza dei due tipi.

La domanda che ci si può fare è se l'anormalità dell'emoglobina a cellule falciformi sia un'anormalità dell'eme e un'anormalità della glo-

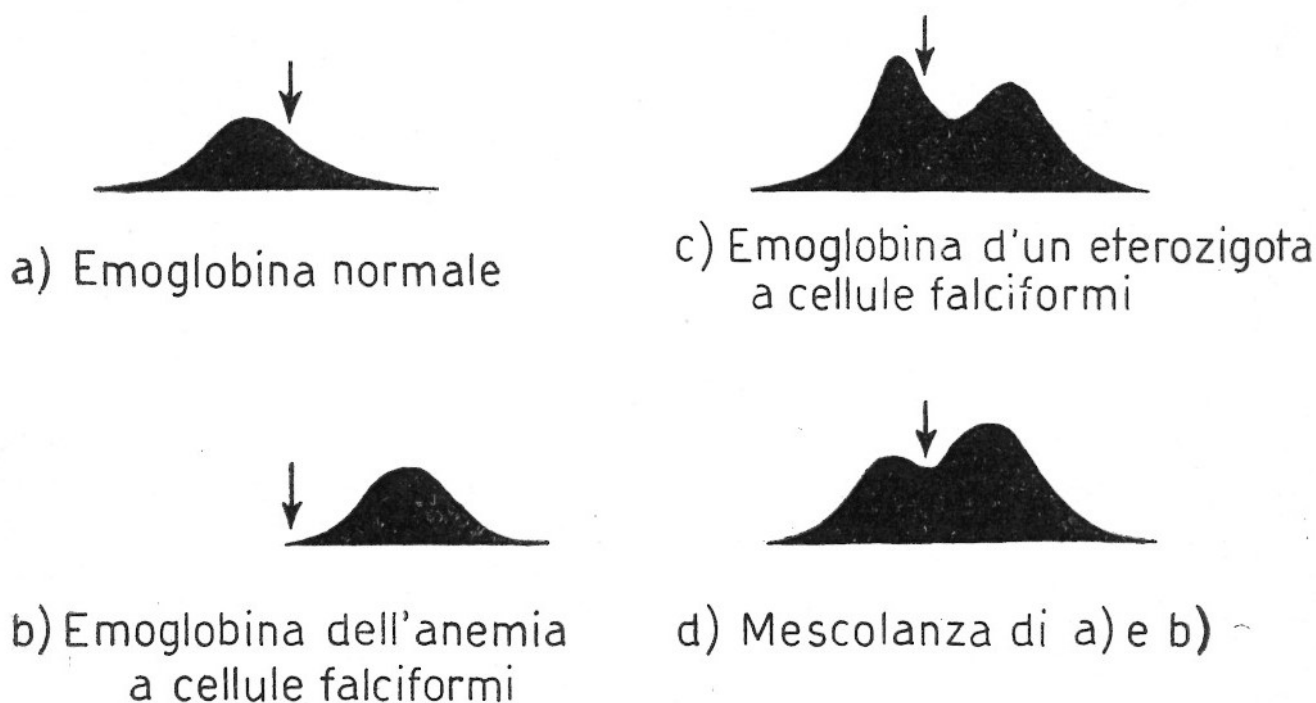


Fig. 3. - Carbossiemoglobine in soluzione tampone a base di fosfato pH 6,90.

bina. La fig. 4 mostra la struttura dell'eme presente nell'emoglobina normale. Questo è il composto ferroso della protoporfirina, una porfirina con quattro gruppi metilici, due gruppi vinilici e due gruppi dell'acido propionico. Gli emi si poterono separare dalla globina di un campione

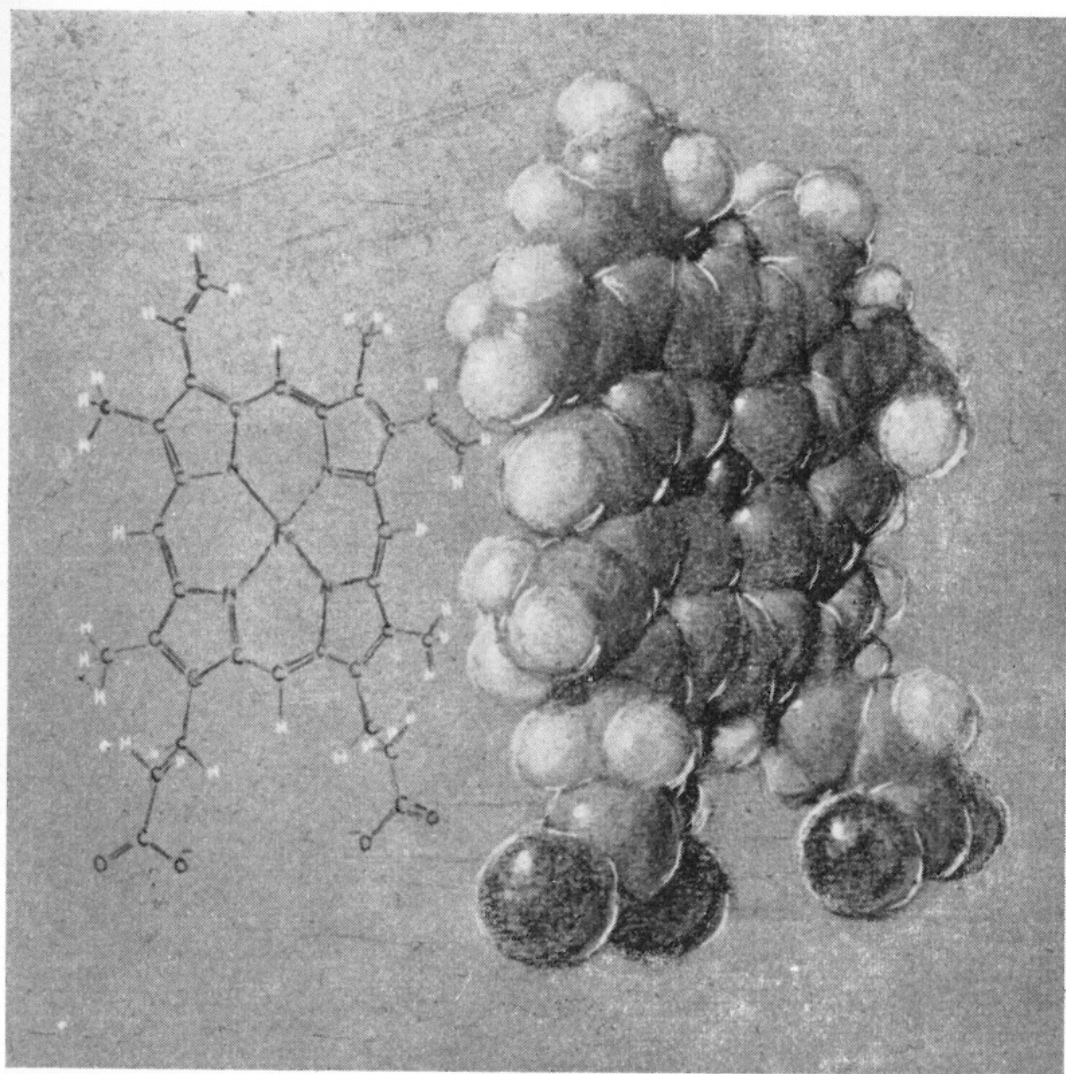


Fig. 4.

di emoglobina a cellule falciformi, e si trovarono identici agli emi dell'emoglobina normale; pertanto la anormalità non è un'anormalità degli emi.

Il dottor SCHROEDER ed i suoi collaboratori condussero poi una completa analisi degli aminoacidi dell'emoglobina normale e dell'emoglobina a cellule falciformi; i risultati sono mostrati nella fig. 5. Essi non trovarono alcuna differenza, nei limiti degli errori sperimentali, fra i due tipi di emoglobina. Le differenze trovate per l'acido aspartico e per l'acido glutammico sono nel senso sbagliato per spiegare la differenza in carica elettrica delle molecole. Questo risultato è stato verificato anche

da JONXIS e collaboratori, in Olanda. Essi hanno trovato che esiste una chiara differenza in composizione (che riguarda forse cinque dei seicento residui di aminoacidi nella molecola dell'emoglobina) fra emoglobina C ed emoglobina normale di adulti. Essi hanno anche trovato che l'emoglobina E è, come l'emoglobina a cellule falciformi, identica — entro i li-

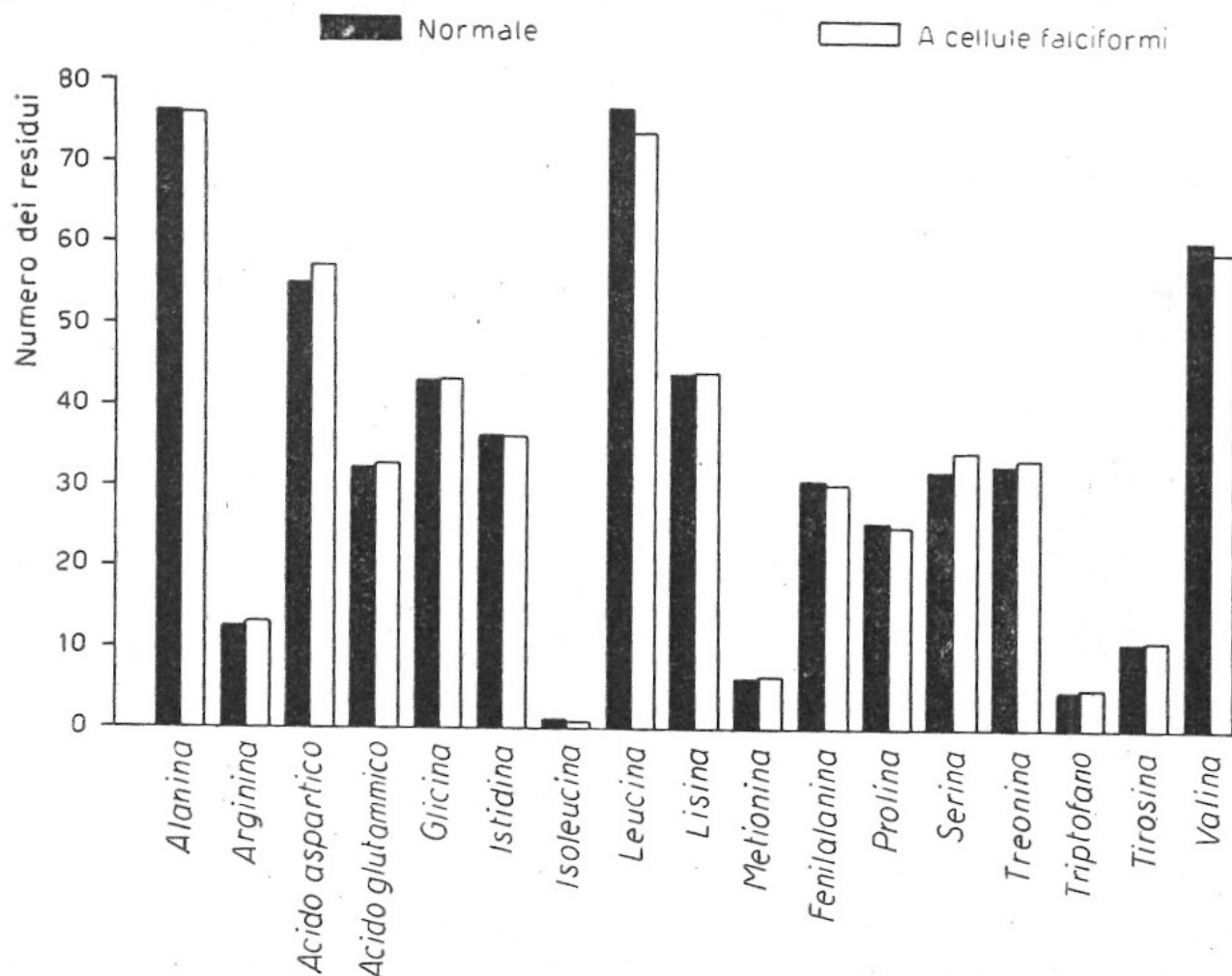


Fig. 5. - Numero dei residui di aminoacidi per molecola di emoglobina.

miti sperimentali — all'emoglobina normale di adulti, per quel che riguarda la composizione degli aminoacidi.

La fig. 6 mostra i diagrammi elettroforetici ottenuti con la globina dell'emoglobina normale e con quella dell'emoglobina a cellule falciformi. Un recente studio del professore olandese HAVINGA, condotto nei nostri laboratori, ha mostrato che, se gli emi sono accuratamente rimossi dalla globina, le globine risultanti mostrano la stessa differenza in mobilità elettroforetica mostrata dalle due emoglobine, ma che anche solo un po' di denaturazione provoca la separazione di ognuno dei due tipi di globina, che danno allora due massimi nel diagramma elettroforetico.

C'è pertanto la possibilità che la differenza tra le due emoglobine sia semplicemente una differenza nel modo in cui le catene polipeptidiche sono avvolte.

La fig. 7 illustra l'ipotesi originariamente fatta circa il meccanismo della malattia: essa mostra disegni della molecola della emoglobina, rap-

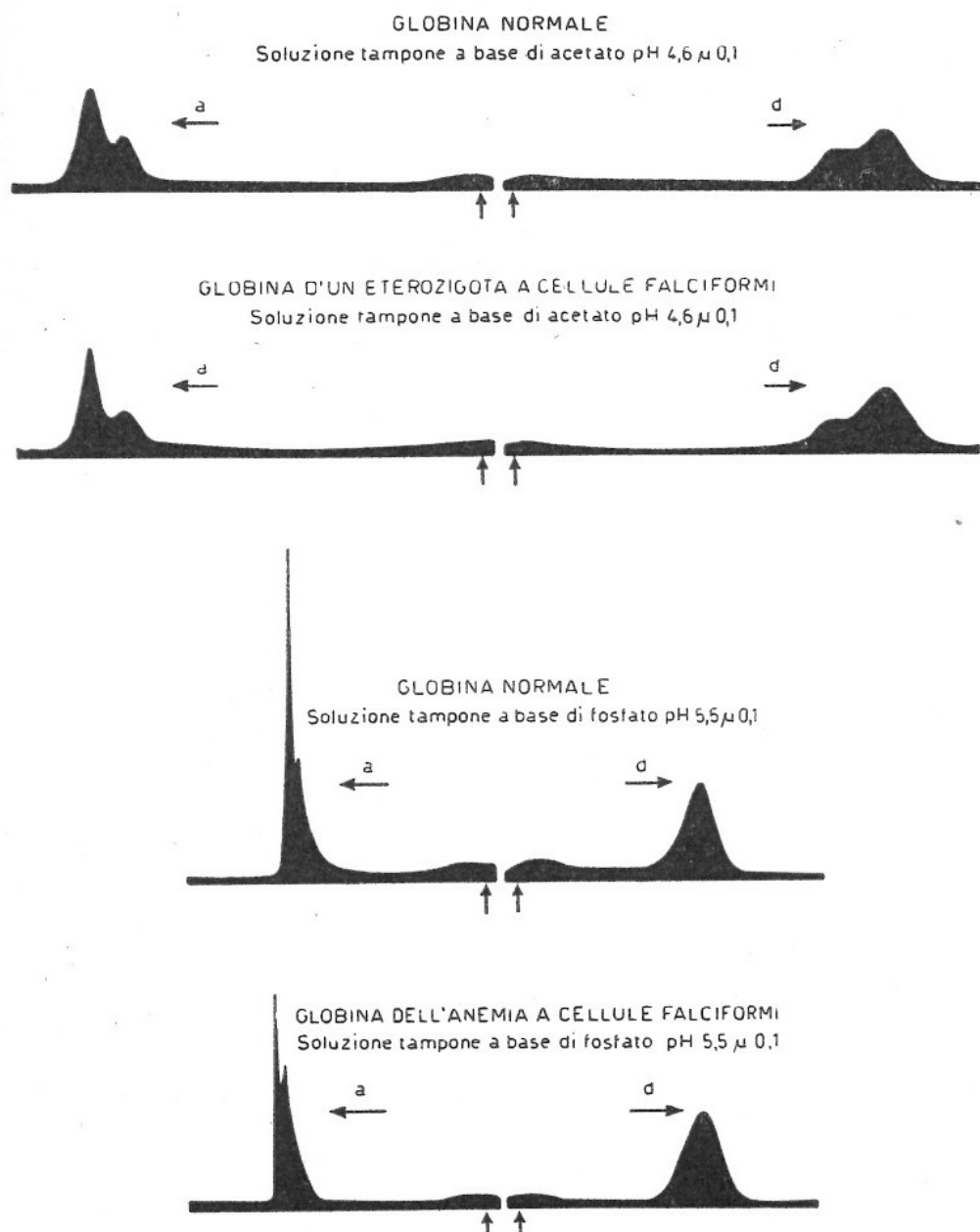


Fig. 6.

presentata da parallelepipedi. Sulla sinistra noi abbiamo molecole normali di emoglobina, o molecole di emoglobina a cellule falciformi nel sangue arterioso; e sulla destra, molecole a cellule falciformi nel sangue venoso, che si sono unite l'una all'altra a formare lunghi bastoncini. Questi si possono disporre l'uno a fianco dell'altro, formando cristalli che

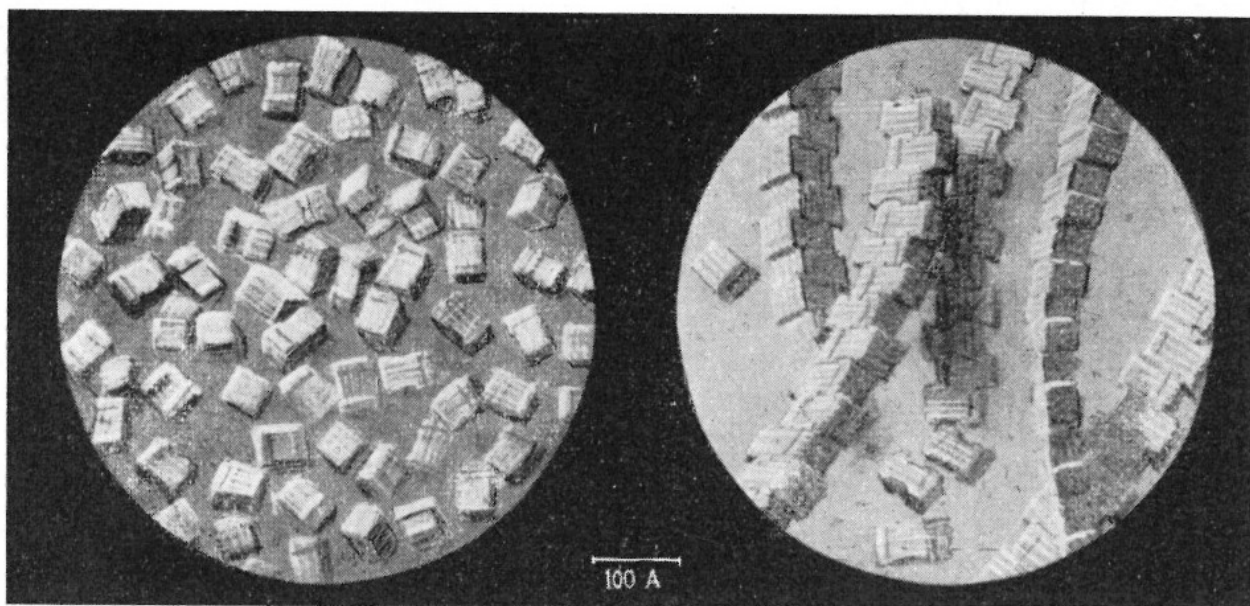


Fig. 7.

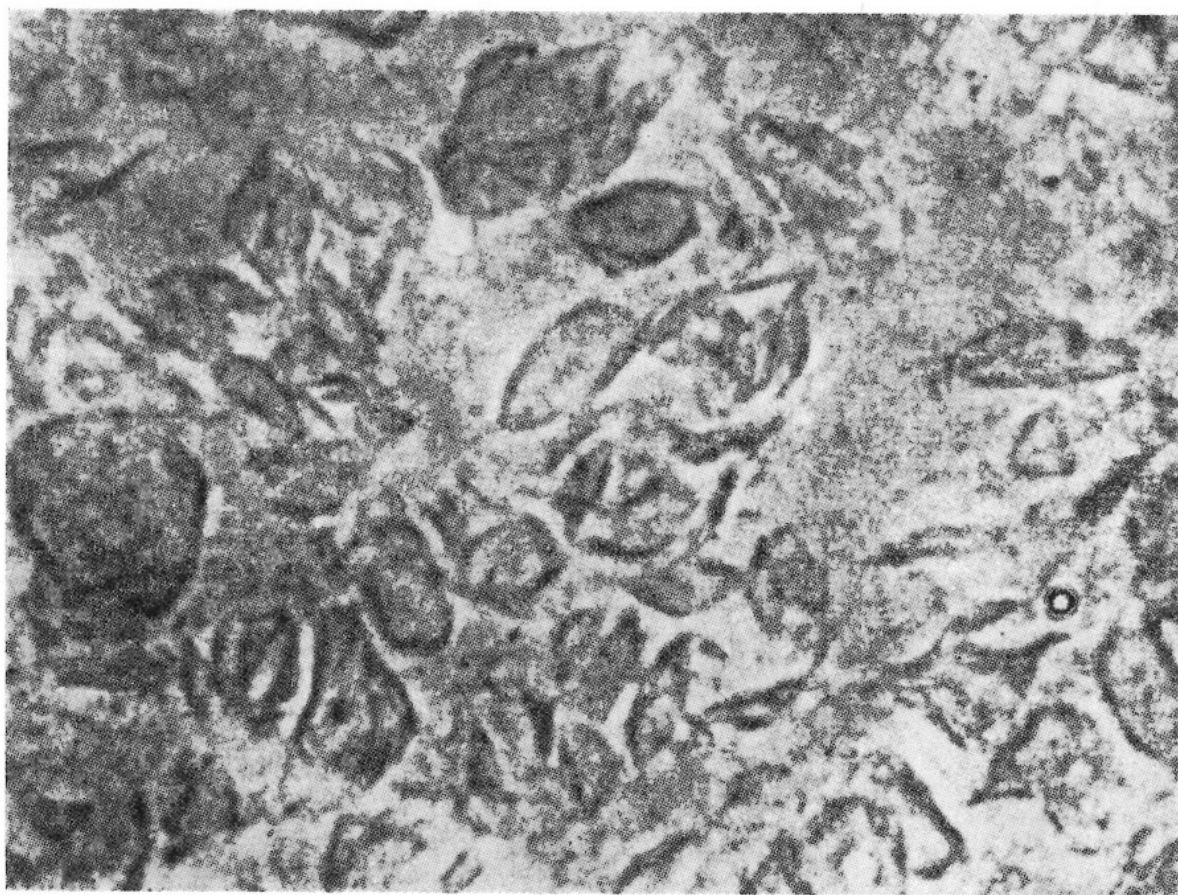


Fig. 8. - Tattoidi di emoglobina formati in soluzioni defibrinate di emoglobina deossigenata dell'anemia a cellule falciformi ($\times 375$).

crescono fino a divenire più lunghi del globulo rosso, causandone la deformazione.

Questa ipotesi è stata verificata in modo assai interessante dal dottor JOHN B. HARRIS di Boston. Il dottor Harris preparò una soluzione al dieci per cento di emoglobina a cellule falciformi. Egli trovò che quando l'ossigeno è allontanato dalla emoglobina, essa forma cristalli liquidi del



Fig. 9. - Eritrociti falciformi in sangue in toto insaturo di ossigeno di un paziente con anemia a cellule falciformi. Essi dimostrano la somiglianza tra la loro forma e quella dei tattoidi formati in soluzioni defibrinate della loro emoglobina deossigenata ($\times 375$).

tipo nematico, come è mostrato nella fig. 8. L'emoglobina si separa come una fase mesomorfica. Questi tattoidi sono pleocroici e birifrangenti, e la loro struttura è quella prevista per aggregati di molecole di emoglobina, come lunghi bastoncini allineati l'uno a fianco dell'altro.

La fig. 9 mostra cellule rosse falciformi, allo stesso ingrandimento. Noi possiamo facilmente immaginare che ci sia un tattoide di emoglobina a cellule falciformi dentro ognuno di questi globuli rossi. Il pleocroismo e la birifrangenza di questi globuli rossi corrispondono da vicino a quelli dei tattoidi dell'emoglobina.

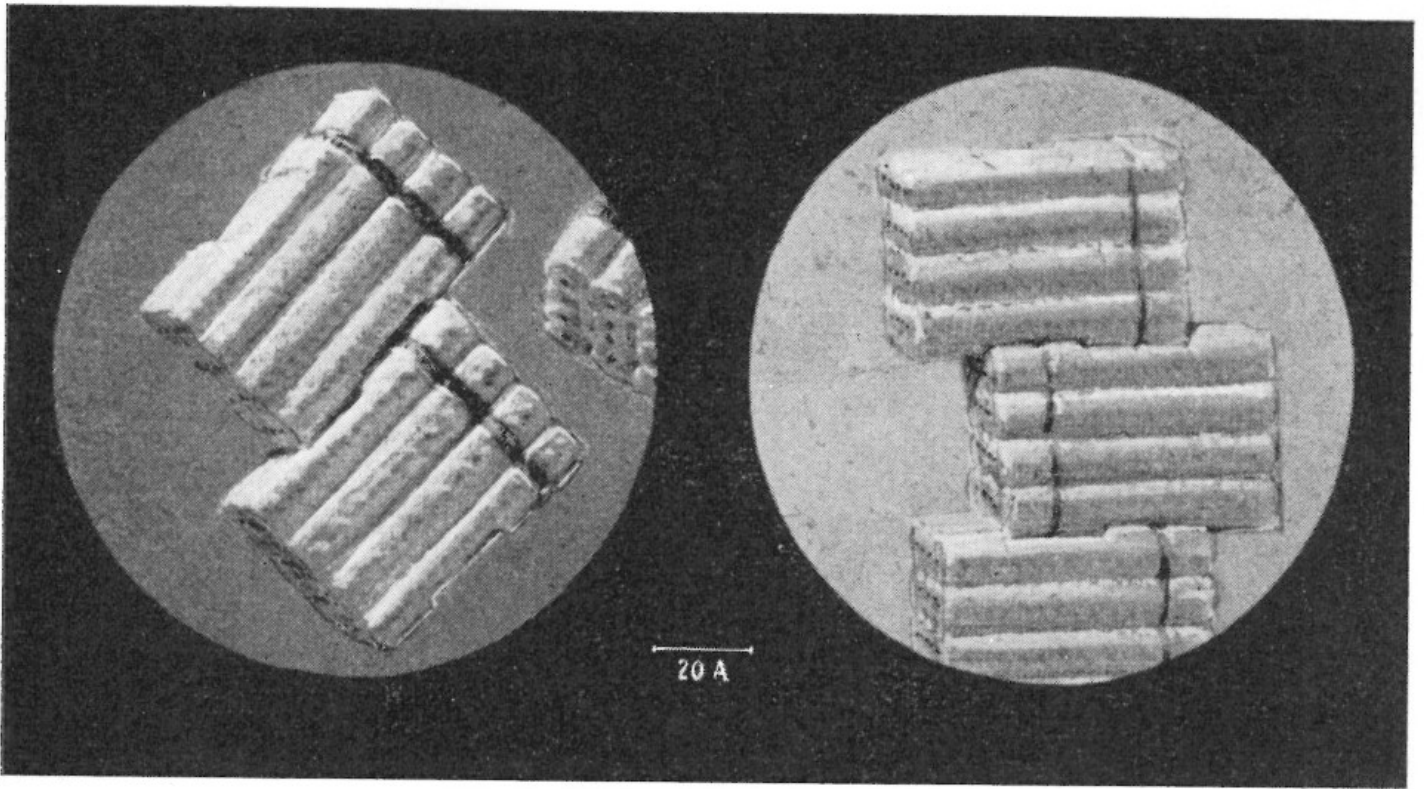


Fig. 10.

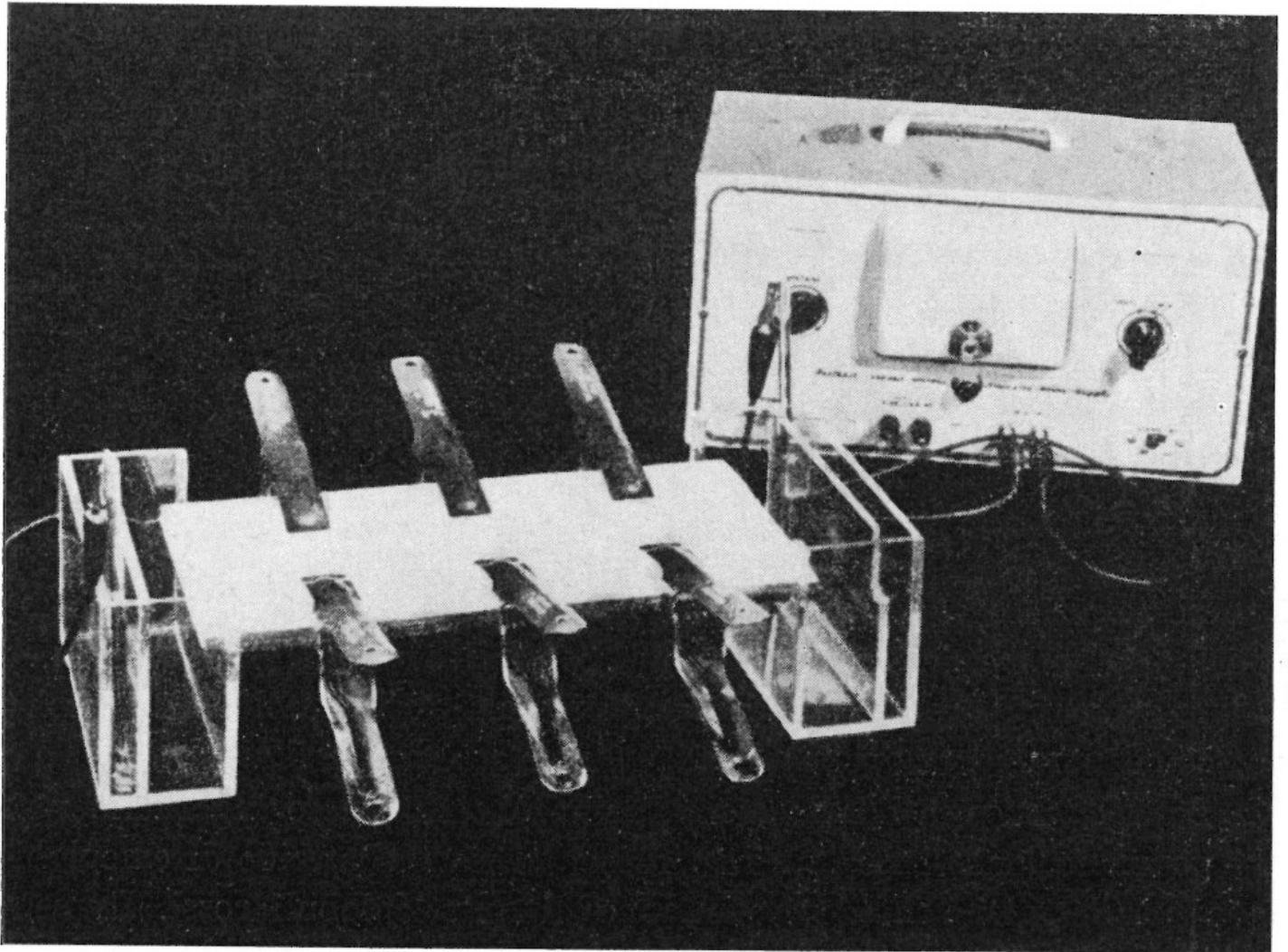


Fig. 11.

La fig. 10 rappresenta un'ipotesi circa la natura della struttura dell'emoglobina a cellule falciformi. Questi sono disegni immaginari di molecole di emoglobina. Si sa dal lavoro dell'inglese PERUTZ che ci sono bastoncini, del diametro di circa dieci e mezzo Å, approssimativamente paralleli all'asse lungo della molecola dell'emoglobina, come è mostrato qui.

Il professor COREY ed io abbiamo identificato questi bastoncini come alfa eliche. Si assume che le molecole dell'emoglobina a cellule falciformi

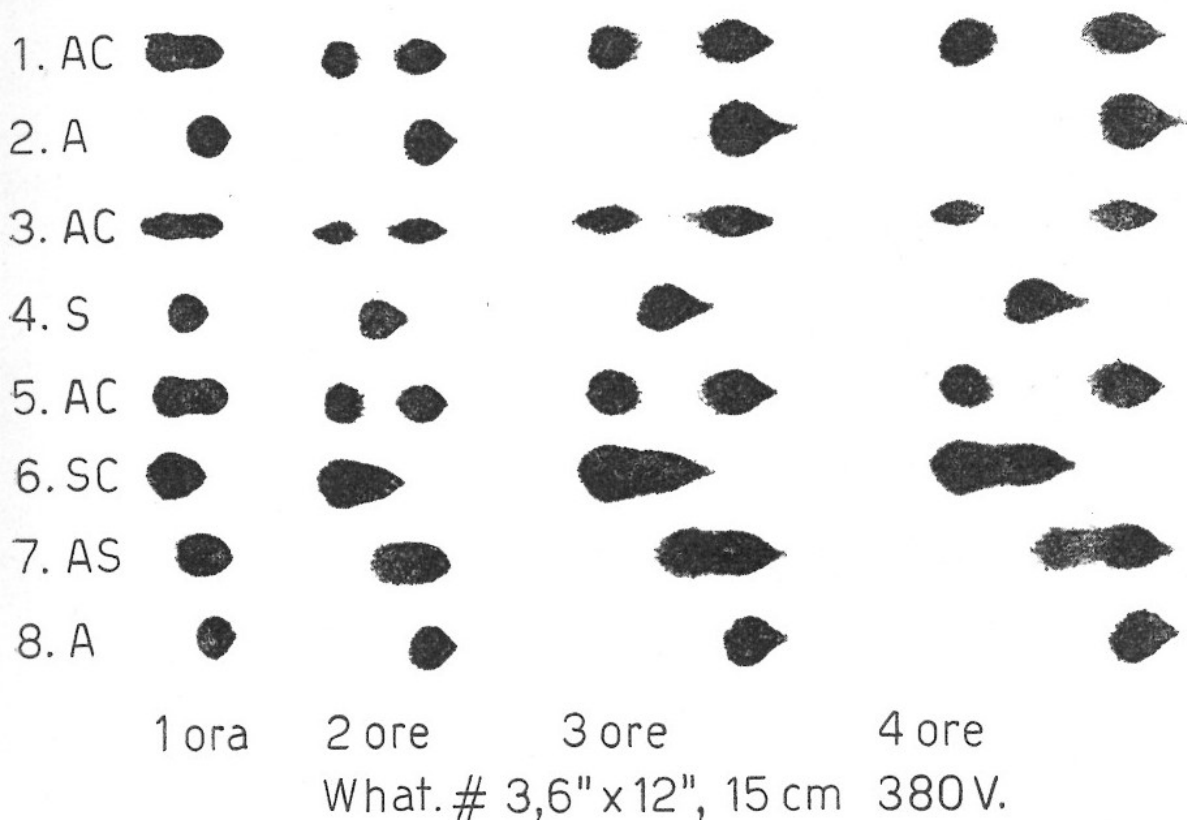


Fig. 12.

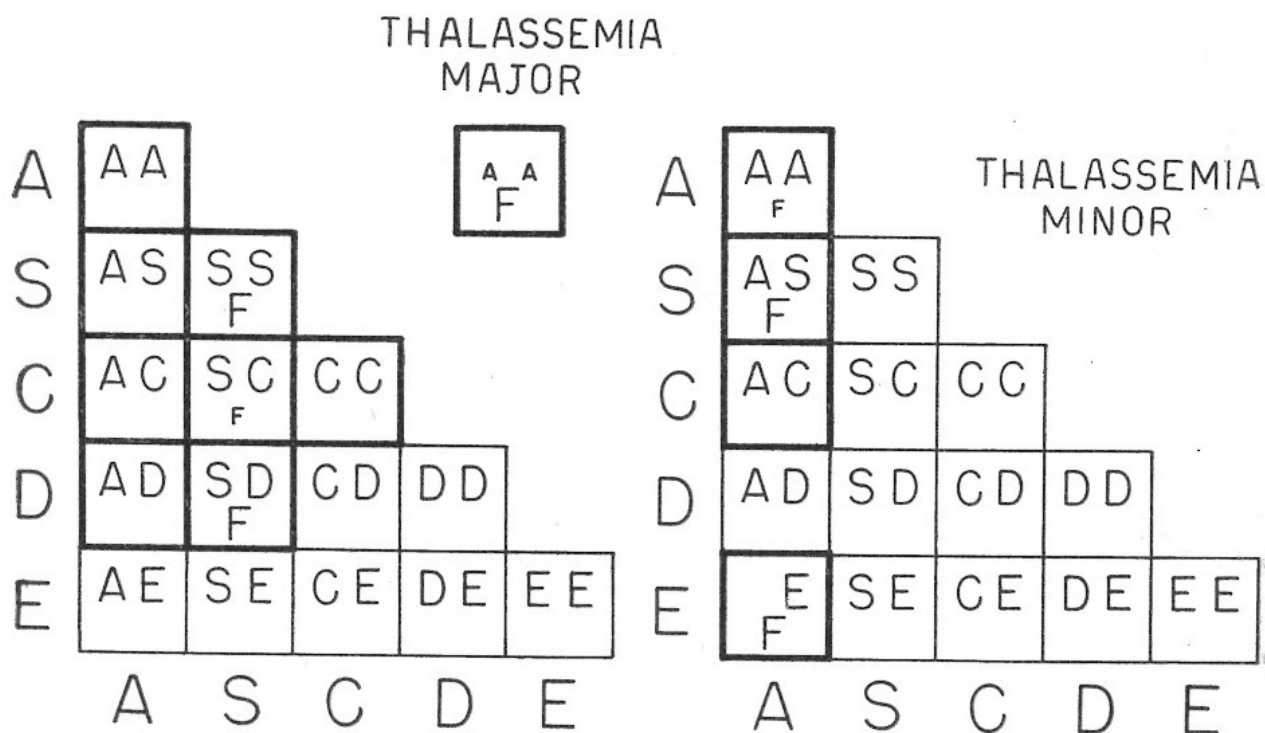
mi abbiano una configurazione superficiale su un lato, che è complementare alla configurazione superficiale sull'altro lato, cosicché le molecole si adattano bene l'una all'altra a formare lunghi bastoncini. Quando la molecola è ossigenata, la configurazione superficiale viene a mutare, cosicché la complementarità viene ad essere distrutta, come è mostrato sulla parte sinistra della proiezione, e le varie molecole non possono più aderire l'una all'altra. Questo spiega perché i globuli rossi non possono divenire falciformi nel sangue arterioso.

In anni recenti si è fatto un grande uso di elettroforesi su carta per la determinazione ed identificazione di molecole di emoglobina anormale. L'apparecchiatura è quella mostrata nella fig. 11. C'è una soluzione tampone in ognuno dei due recipienti terminali, che contengono gli elettrodi,

ed un foglio di carta da filtro fra due piastre di lucite. Una goccia di sangue è messa su questo punto della carta, e migra nel campo elettrostatico.

La figura 12 mostra una cromatografia su carta di varie emoglobine. In 1, 3, 5 è rappresentata l'emoglobina di un portatore di emoglobina C, e in 2 e 8 l'emoglobina normale. In 4 è mostrata l'emoglobina a cellule falciformi, in 6 l'emoglobina a cellule falciformi unita ad emoglobina C e in 7 l'emoglobina di un eterozigote a cellule falciformi.

La fig. 13 mostra alcune delle combinazioni di tipi di emoglobina



$$Th^2 > SS > SD > AS + Th > SC > CC$$

Fig. 13.

che sono stati osservati in vari esseri umani. E' rappresentata solo metà circa dei tipi noti di emoglobina.

Delle quindici possibili combinazioni di emoglobina A, S, C, D, E, dieci sono state osservate. Inoltre, sono state osservate quattro delle cinque combinazioni con thalassemia minor.

Molte domande possono sorgere dopo ciò che si è appreso negli anni recenti circa le emoglobine anormali. Una di queste si riferisce alla genesi di queste anomalie. E' naturalmente probabile che il gene che produce l'emoglobina a cellule falciformi si sia prodotto in un qualche uomo attraverso una mutazione. Il dottor HERMAN LEHMANN, che ha fatto uno studio sull'anemia a cellule falciformi su gente di tutto il mondo,

giunse alla conclusione che probabilmente la mutazione avvenne in un Veddoide nell'Arabia centrale, forse diecimila anni fa, e si propagò poi dall'Arabia all'Africa all'India (dove si trova nei Veddoidi sulle colline dell'India Meridionale) e alla Grecia, dove la si trova in alta concentrazione in parecchi villaggi.

Una notevole diffusione di emoglobina E in Indocina, Tailandia ed India Orientale spinge a pensare che la mutazione che produsse questo gene avvenne nel Sud-Est dell'Asia. La presenza di questo gene in questa regione è alto; fino al venti per cento delle persone sono portatrici del gene.

Le emoglobine C, I, J e G sono state trovate, come l'emoglobina S, quasi esclusivamente in negri, ed è probabile che queste emoglobine siano derivate da una mutazione in Africa. L'emoglobina D è stata trovata solo in due famiglie inglesi.

E' interessante domandarsi come il gene delle cellule falciformi abbia continuato ad esistere, nonostante i suoi caratteri sfavorevoli. Parecchi anni fa, studiosi di genetica, come J. B. S. HALDANE e SEWALL WRIGHT, si posero la domanda della frequenza relativa di due o più geni allelomorfi in una popolazione stabile. Essi trovarono, analizzando il problema, che due geni, come A ed S, potevano esser presenti in una popolazione stabile in un rapporto costante di generazione in generazione, e che questo rapporto poteva essere di uno a novantanove, dieci a novanta, cinquanta a cinquanta, novanta a dieci, o novantanove ad uno, purché nessuno dei due geni allelomorfi fosse in svantaggio rispetto all'altro, cioè finché gli individui che li portavano avessero lo stesso numero di discendenti.

Il gene delle cellule falciformi si riscontra in circa il dieci per cento delle popolazioni negre degli Stati Uniti, ed in una proporzione più alta in quelle di alcune parti dell'Africa. Tuttavia il gene delle cellule falciformi è in svantaggio, perché quando esso è presente in forma omozigotica dà origine alla grave anemia a cellule falciformi, che provoca la morte dei malati prima che essi possano avere prole. Pertanto, il gene della cellula falciforme dovrebbe rapidamente scomparire; sorge il problema di spiegare come esso continui ad esistere nella popolazione.

La spiegazione data da Haldane per il continuare dell'esistenza dell'emofilia nella popolazione è che essa viene continuamente prodotta da nuove mutazioni: la frequenza di mutazione necessaria è di circa uno a quarantamila. Tuttavia la frequenza di mutazione che sarebbe necessaria per spiegare la prevalenza del gene delle cellule falciformi è di uno a quattrocento, e questo valore è troppo alto per essere accettato.

Sembra che la risposta a questo problema sia stata trovata. Alcuni

anni fa fu suggerito dal dottor BRAIN in Inghilterra che esista una connessione tra anemia a cellule falciformi e malaria, e il dottor Lehmann suggerì poi che la presenza di un gene di cellule falciformi in portatori di anemia a cellule falciformi dia protezione contro la malaria. Un esperimento interessante fu fatto due anni fa dal dottor ANTHONY ALLISON, dell'Università di Oxford. Il dottor Allison è nato in Kenya, e può parlare lo swahili abbastanza bene da persuadere trenta adulti africani a lasciarsi inoculare la malaria. Tutti e trenta gli africani, che erano maschi adulti sani, non avevano ancora sviluppato alcuna significativa immunità per la malaria, come fu mostrato da saggi cutanei. Quindici di essi erano normali e quindici erano eterozigoti a cellule falciformi. Essi furono infettati con *plasmodium falciparum*, per mezzo di un'iniezione di sangue contenente un gran numero di trofozoiti, o lasciandosi mordere da zanzare anofele fortemente infette. Si trovò che quattordici dei quindici africani privi della caratteristica delle cellule falciformi contrassero la malaria, mentre solo due dei quindici aventi questa caratteristica si ammalarono. Si può pertanto concludere che individui con un gene della cellula falciforme hanno un vantaggio selettivo sopra individui normali, in regioni dove la malaria è iperendemica.

Non è naturalmente difficile capire perché l'emoglobina a cellule falciformi costituisca una protezione contro la malaria. Il parassita della malaria vive dentro i globuli rossi e mangia l'emoglobina. Apparentemente, al parassita non piace il sapore dell'emoglobina anormale, o forse non lo può digerire, e pertanto non può continuare a vivere. Un'altra possibilità, indicata dal dottor Allison, è la seguente: il globulo rosso che ospita il parassita consuma ossigeno con una rapidità cento volte maggiore del globulo rosso normale; pertanto il parassita, consumando l'ossigeno, causerebbe il falcettamento del globulo rosso, e il tattoide dell'emoglobina, crescendo dentro il globulo rosso e deformandolo, schiaccerebbe il parassita fino ad ucciderlo.

Avremmo così spiegato in maniera persuasiva il comportamento delle molecole di emoglobina normale, non solo per quanto riguarda l'anemia a cellule falciformi negli omozigoti, ma anche per quanto riguarda il potere protettivo che l'emoglobina normale conferisce agli eterozigoti.

Si può trarre una interessante conclusione circa il processo di evoluzione. Persone interessate alla genetica e all'evoluzione si sono domandate quanto rapidamente una specie mutante di essere umano possa sostituire la forma originale. Se uno delle molte migliaia di geni (forse centomila) in un essere umano è cambiato in seguito ad una mutazione, cosicché ha avuto origine un nuovo tipo di essere umano, quale vantaggio avrebbe questo nuovo tipo di essere umano? Persone che hanno

studiato questo fatto negli anni passati hanno suggerito che forse il vantaggio potrebbe essere grande fino all'uno per cento, cosicché, nel corso di decine di migliaia di anni, il tipo mutante di essere umano sostituirebbe il tipo originale. Tuttavia il dottor Allison ha mostrato che il processo di evoluzione può avvenire molto più rapidamente. Egli ha trovato che in alcuni villaggi affetti da malaria in Africa l'occorrere del falcettamento è alto, fino al cinquanta per cento. Sapendo che negli omozigoti il carattere letale è certo, è possibile calcolare da questo dato un valore del vantaggio che gli eterozigoti hanno sopra individui i cui globuli rossi contengono solo emoglobina normale. Questo vantaggio è del 30%: cioè un individuo con un gene di cellule falciformi ha, in media, una progenie del trenta per cento più numerosa che non un individuo privo del gene di cellule falciformi. Pertanto si comprende che il processo di evoluzione occorrerebbe molto rapidamente. Eterozigoti con un gene normale ed un gene di cellule falciformi, in una zona fortemente infestata, avrebbero un quarto dei loro figli normale: essi morirebbero di malaria. Un quarto dei loro figli soffrirebbe di anemia a cellule falciformi e ne morirebbe. Metà dei loro figli sarebbero eterozigoti, non avrebbero anemia a cellule falciformi, e sarebbero protetti contro la malaria. Questo darebbe una percentuale di figli superstiti del 50%, ma io credo che vi siano stati molti casi nella storia della razza umana in cui tale percentuale è stata sufficiente.

Il vantaggio del trenta per cento che un eterozigote a cellule falciformi ha su un individuo normale condurrebbe a un rapido rimpiazzamento degli individui normali ad opera di eterozigoti a cellule falciformi in una regione malarica. In quattro generazioni, cioè in cento anni, il gene a cellule falciformi avrebbe un vantaggio tre volte maggiore rispetto all'individuo normale, e in mille anni il tipo senza il gene a cellule falciformi sarebbe praticamente estinto. Pertanto si vede che il processo di evoluzione in alcuni casi è molto rapido.

L'anemia a cellule falciformi, ed altre simili, sono le sole malattie per cui sia stata dimostrata in maniera definitiva la natura di malattie molecolari: cioè le sole malattie di essere umani nelle quali siano state isolate e caratterizzate le molecole anormali. E' probabile però che molte altre malattie siano malattie molecolari. Per esempio la fenilchetonuria, che conduce alla deficienza mentale, è senza dubbio una malattia molecolare, una malattia di un enzima. In questa malattia, scoperta da FÖLLING venti anni fa l'individuo è incapace di sintetizzare un enzima che catalizzi l'ossidazione della fenilalanina a tirosina. Ci sono indicazioni che la malattia occorre, più o meno grave, in diversi pazienti, il che si potrebbe comprendere assumendo che ci siano parecchie varietà anor-

mali delle molecole dell'enzima, corrispondenti a differenti geni allelomorfi.

Trecentocinquant'anni fa Sir Thomas Browne disse: « La lunga abitudine a vivere ci fa desiderare di non morire ». Gli esseri umani continueranno sempre ad interessarsi della salute e delle malattie. Lo studio delle malattie molecolari è appena agli inizi, ma io credo che la chimica possa essere efficacemente applicata ai problemi medici e che ci si possa aspettare un rapido progresso in questo campo, se si continueranno a considerare i problemi medici dal punto di vista molecolare.
