

Deficienza di Glucosio-6-Fosfato Deidrogenasi Eritrocitaria

*Studio della distribuzione nella provincia di Ferrara e dei rapporti
con malaria e talassemia*

E. Gandini, C. Menini, A. De Filippis, G. Dell'Acqua

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------|
| 1. Introduzione | 4.2. G6PD-D e talassemia |
| 2. Cenno Storico | 4.3. Talassemia e malaria |
| 2.1. Il popolamento del Ferrarese | 5. Discussione |
| 2.2. La malaria nel Ferrarese | 6. Conclusioni |
| 3. Materiale e Metodi | Riassunto |
| 4. Risultati | Bibliografia |
| 4.1. G6PD-D e malaria | |

1. Introduzione

La Glucosio-6-Fosfato Deidrogenasi (G6PD) è un enzima che catalizza il primo passo del ciclo ossidativo del glucosio (ciclo dell'esoso-monofosfato), deidrogenando il beta-D-glucopiranosio-6-fosfato con formazione di delta-gluconolattone-6-fosfato.

La struttura dell'enzima è codificata da un locus sul cromosoma X; si conoscono ormai una ventina di forme, tutte dovute ad alleli di questo locus (WHO, 1967).

In un caso è stato dimostrato che una di queste varianti è dovuta a sostituzione di un singolo aminoacido (Yoshida, 1967); negli altri casi le varianti si differenziano per caratteristiche fisico-chimiche quali Ph, Termostabilità, costante di Michaelis etc. Si ritiene, tuttavia, in analogia alle emoglobine, che tutte queste varianti possano essere ricondotte a singole sostituzioni aminoacidiche. Caratteristica comune a quasi tutte, è la diminuzione del tasso enzimatico totale.

Alcuni di questi mutanti hanno frequenze elevate, mentre altri sono molto rari. Il mutante più frequente, Gd^B, codifica la proteina normale; nei negri sono noti altri due alleli, Gd^{A+}, Gd^{A-}, con frequenza variante da 0.10 a 0.20, peraltro assenti in altri gruppi etnici. Gd^{A-} controlla la proteina presente nelle forme deficitarie negre, mentre Gd^{A+} è associato a limitatissima riduzione del tasso enzimatico.

In altre aree del globo raggiungono frequenze particolarmente elevate mutanti aventi caratteristiche diverse come Gd^{Athens} in Grecia, Gd^{Canton} nell'area del Sud-Est Asiatico, e Gd^{Mediterranean} che controlla la proteina presente nelle forme di deficienza di G6PD (G6PD-D) (Gd-) nel bacino del Mediterraneo, soprattutto nell'Europa meridionale.

I due mutanti Gd^{A-} e Gd^{Mediterranean} presentano una distribuzione caratteristica, risultando più frequenti in aree dove in passato la mortalità per malaria era molto elevata. La G6PD-D rappresenterebbe, con la talassemia e l'anemia a cellule falciformi, una condizione di dismetabolismo eritrocitario che avrebbe fornito un elevato vantaggio selettivo in quelle particolari condizioni ambientali.

Si rimanda alle esaurienti e numerose rassegne critico-sintetiche esistenti per le considerazioni sulla distribuzione dei tre caratteri nel mondo e sulla dinamica dei geni responsabili di queste condizioni nella popolazione, che hanno concorso alla formulazione della cosiddetta « *ipotesi della malaria* » (Rucknagel, 1961; Silvestroni, 1963; Allison, 1965; Motulsky, 1965; Siniscalco, 1966).

Vale tuttavia ricordare che, mentre per l'anemia a cellule falciformi sono state acquisite prove dirette che indicano una minore morbilità malarica dei soggetti portatori del carattere, i risultati sono equivoci per la talassemia e la G6PD-D. Il dato essenziale deriva dallo studio di popolazione che mostra una correlazione positiva fra frequenze geniche e morbilità per malaria nel passato.

Siniscalco (1966), nella presentazione della sua vasta ricerca sulla correlazione tra enzimopenia, talassemia e malaria in Sardegna, fa notare come tre requisiti siano indispensabili perché questo tipo di indagine abbia valore:

1. Un ragionevole grado di omogeneità etnica tra gli isolati genetici scelti per lo studio;
2. La disponibilità di dati storici accurati e di informazioni su morbilità della malaria, grado di consanguineità e tipo di matrimoni, al fine di stimare la relativa importanza della deriva genetica, della migrazione e della selezione naturale come cause potenziali della eterogeneità genetica in isolati confinanti.
3. La disponibilità di popolazioni di controllo entro le aree malariche, cioè di aree non malariche e abitate da popolazioni dello stesso gruppo etnico.

La provincia di Ferrara, che dall'unità d'Italia comprende solo una parte del vecchio dominio Estense e Pontificio, sembra, per lo meno in parte, soddisfare queste esigenze. In passato, la malaria vi ha avuto larga diffusione; anni fa è stata eseguita un'estesa ricerca sulla frequenza del mutante talassemico, che è molto elevata e presenta correlazione significativa con la passata morbilità per malaria. Tale associazione ha suggerito questo studio della distribuzione della G6PD-D nel Ferrarese, di cui si presentano in questa sede i primi risultati.

2. Cenno Storico

2.1. IL POPOLAMENTO DEL FERRARESE¹

La zona da noi considerata in questo studio comprende l'attuale provincia di Ferrara, che si estende su una superficie di 2632 km² con una popolazione di 427.000 abitanti.

¹ Per riferimenti bibliografici particolari cf Alfieri, 1950; Ortolani, 1950 e 1956; Silvestroni e Bianco, 1963.

Tentare di tracciare una storia del popolamento del Ferrarese è impresa ardua, sia per la complessità dei movimenti demografici e politici, sia per la relativa scarsità delle fonti. Esso deve essere inoltre considerato parte integrale delle profonde modificazioni geologiche che hanno interessato questa zona.

I dati storici più significativi sulle origini delle popolazioni che attualmente vivono nella provincia di Ferrara possono così riassumersi:

1. Da tempi preistorici, fino al v-iv sec. a.C., popolazioni umbre vennero in contatto, soprattutto nella zona litoranea, con insediamenti greci e successivamente etruschi.

2. Un primo movimento migratorio est-ovest, lungo i rami del Po, portò queste popolazioni profondamente all'interno della Pianura Padana fino a raggiungere il Mantovano, il Veronese e forse la Lombardia stessa.

3. Successivamente, soprattutto ad opera di tribù galliche, sono registrate infiltrazioni nella zona più occidentale dell'attuale provincia, che non hanno interessato, per la natura del terreno, le zone centro-orientali.

4. In epoca romana, insediamenti sono documentati nella zona litoranea e nella zona ad ovest delle grandi valli, in coincidenza con la attuale città di Ferrara (Voghzenza). È ignota la provenienza etnica di questi insediamenti, sebbene essi fossero limitati, e probabilmente rappresentassero più insediamenti politico-militari che etnici.

5. Alla caduta dell'impero romano, le grandi invasioni barbariche interessarono in maniera significativa *esclusivamente* la zona ad occidente dell'attuale città di Ferrara, trascurando i centri orientali protetti dalle valli.

6. Verso il VII-VIII sec. d.C., inizia una lenta migrazione ovest-est lungo i rami del Po. In questo periodo il territorio ferrarese fa parte prima del regno di Teodorico e poi dell'Esarcato di Ravenna.

7. Dal XIII sec. all'unità d'Italia, tutta la zona sarà riunita in una sostanziale unità politico-amministrativa, che comprende l'attuale basso Polesine, tutta l'attuale provincia di Ferrara e parte della Romagna. Durante questi cinque secoli di dominio Estense e Pontificio, è opinione degli storici che non si siano verificati spostamenti significativi delle popolazioni insediate.

8. Dall'unità d'Italia ad oggi, inizia la storia più recente di questi insediamenti, caratterizzata, da un punto di vista geologico, dalle grandi bonifiche e, da un punto di vista demografico, da un rimescolamento dei vari insediamenti per la tendenza ad allontanarsi dalle vecchie « isole » e raggiungere le più fertili aree prosciugate.

9. È solo dopo l'ultimo conflitto, che riprende un vasto movimento migratorio est-ovest, con abbandono delle vecchie aree di insediamento e raggiungimento delle zone industriali del nord, mentre localmente, il « rimescolamento » continua con una prevalenza di immigrazione dalle limitrofe zone del basso Polesine.

Da quanto si è detto appare come le grandi correnti di insediamento siano state due: una, costituita da insediamenti umbro-greco-etruschi, che ha risalito verso ovest

i rami del delta del Po; l'altra, barbarica, che dal VII-VIII sec., sino alla dominazione Estense-Pontificia, discese in direzione ovest-est i rami del delta del Po.

È opportuno ricordare come, dall'epoca degli insediamenti fino ad un recente passato, i villaggi che sorsero fossero essenzialmente costituiti da un numero molto piccolo di persone e principalmente situati su isole, circondate da valli prima e paludi poi, che rendevano molto scarsi i contatti con i centri vicini.

2.2. LA MALARIA NEL FERRARESE

Mancano notizie precise sull'epoca di comparsa della malaria in questa zona; i dati sono di natura indiretta e si ottengono da due criteri di valutazione:

1. Mancanza di riferimenti precisi delle opere dei numerosi autori classici (Vitruvio, Strabone, Biondo, etc.) che hanno parlato di quest'area; questo silenzio suggerisce che la malaria, anche se presente, non rappresentasse un fatto socialmente importante, e rende perciò estremamente improbabile la sua presenza.

2. La prima precisa menzione all'importanza socio-economica della malaria, si ritrova nella storia dell'abbazia di Pomposa. Fondata nel IX sec. in un'isola fra due rami del Po, è stata un grande centro culturale ed amministrativo. Nel 1300 si ha notizia precisa che *solo allora* i monaci avessero dovuto limitare la loro attività a causa della malaria e, nel 1467, essi dovettero abbandonare l'abbazia, per le condizioni di vita rese insopportabili dallo sviluppo enorme dell'infezione.

Riferimenti storici concordano nella datazione dell'inizio di un effetto sociale a lungo raggio della malaria nel XIV secolo.

È opinione di autori della storia del Ferrarese che la rotta del Po a Ficarolo, nel 1150, rappresenti l'evento decisivo dell'evoluzione geo-economico-sanitaria del Ferrarese.

Com'è noto, la rotta del Po ha cambiato il corso del ramo principale del fiume che, da una posizione in cui lambiva a sud la città, si è spostato nell'attuale sede di Pontelagoscuro, 6 km a nord della città.

Gli effetti a valle furono gradualmente per l'interramento del vecchio delta con formazione di vaste aree paludose, che avrebbero rappresentato la vera occasione ambientale dell'esplosione della malaria.

Il censimento del 1870, prezioso per informazioni di carattere socio-economico, tace sulla frequenza e distribuzione della malaria. Il primo documento in nostro possesso è del 1917 (Orta, 1917); si riferisce alla morbilità per malaria nelle varie zone del circondario, ed alla sua evoluzione tra gli anni 1900-1917 (Fig. 1).

L'evoluzione della malaria nella provincia varia da zona a zona. La zona occidentale è stata per prima affrancata dalla malaria, che peraltro non ha mai interessato porzioni importanti della superficie totale.

Ad ovest, nel 1900 la malaria era presente, seppure con una morbilità molto ridotta, nel solo circondario di Bondeno (10%) e totalmente assente nel rimanente circondario di P. Renatico, S. Agostino, Vigarano, Cento e Ferrara stessa.

Nel 1940 sono ancora malarici i soli circondari di Mesola, Codigoro, Lagosanto,



Fig. 1.

Comacchio, Migliarino e Ostellato, dove nel 1900 si osservavano i tassi più elevati di morbilità, mentre tutta la restante parte è da considerarsi salubre.

Durante l'ultimo conflitto e subito dopo, si osserva una ripresa della malaria, che verrà definitivamente eliminata con la profilassi chimica (DDT) anti-anofele nel 1946.

3. Materiale e Metodi

In questo studio sono stati esaminati 2437 individui di sesso maschile. La popolazione studiata è costituita da alunni delle scuole elementari, da donatori di sangue registrati e occasionali, e da un gruppo di ricoverati in reparti chirurgici ospedalieri, classificati secondo la zona della provincia di origine della madre.

Il confronto fra la frequenza del gene della G6PD-D riscontrata nei vari gruppi, è non-significativo, indicando che i vari gruppi studiati sono omogenei dal punto di vista della frequenza della G6PD-D. Il metodo di identificazione dei soggetti enzimopenici è stato il *Brilliant Cresyl Blue discoloration test* di Motulsky (BCBSigma), eseguito secondo le indicazioni dell'*OMS* (WHO, 1967).

4. Risultati

4.1. G6PD-D E MALARIA

Nella Tab. I sono presentati i dati relativi alla frequenza del gene per la G6PD-D in 11 località della provincia di Ferrara, compreso il capoluogo.

Nell'ultima colonna sono riportati i dati dell'incidenza della malaria nella popolazione, riferiti al 1900.

Nella Fig. 2 il rapporto fra G6PD-D e malaria nel passato appare ancor più evi-

Tab. I. Frequenza del gene della G6PD-D e incidenza della malattia

Località	Casi esaminati N.	G6PD-D %	Malaria* %
1. Ferrara	657	0.76	0
2. Argenta	64	1.56	45
3. Berra	161	3.10	25
4. Bondeno	371	0.80	10
5. Codigoro	123	2.43	40
6. Comacchio	137	2.18	50
7. Copparo	165	4.84	25
8. Formignana	52	1.92	25
9. Mesola	431	1.16	60
10. Vigarano	152	1.31	0
11. Porto Maggiore	124	2.41	20

* Riferite alla popolazione colpita nel 1900 (Orta, 1917).

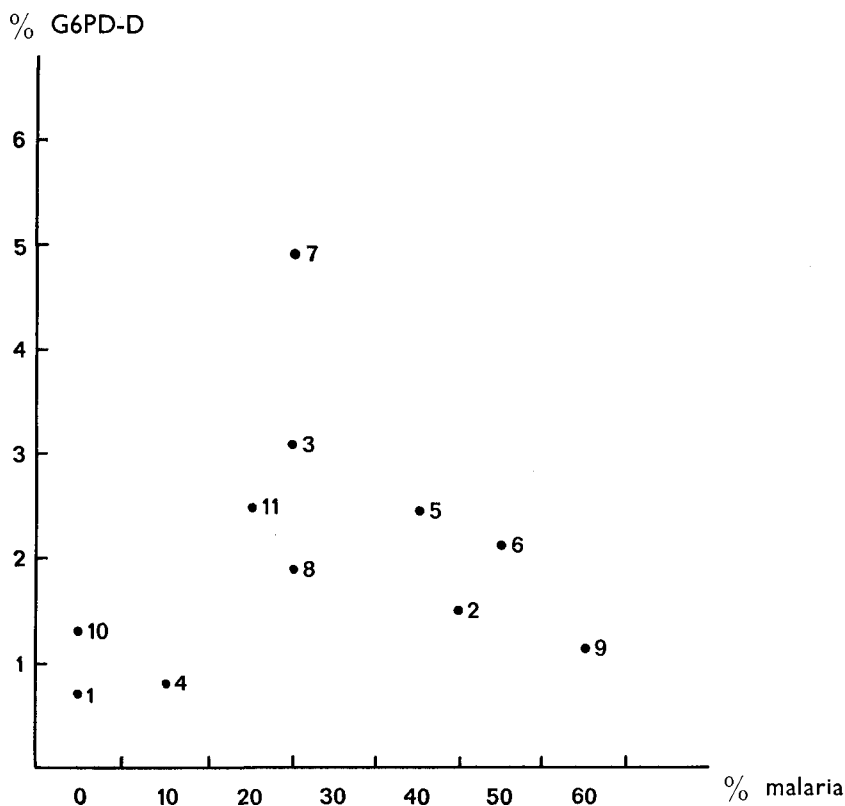


Fig. 2.

dente: non vi è correlazione significativa fra incidenza della malaria e frequenza di G6PD-D. Tuttavia, dall'ispezione del grafico, appare chiaramente come i risultati più aberranti nei confronti della correlazione siano dovuti a quattro località della zona, dove la malaria colpiva più del 35% della popolazione.

Escludendo queste quattro località, l'indice di correlazione si eleva a 0.7494 con $n = 7$, pari ad una P compresa fra 0.05 e 0.06.

4.2. G6PD-D E TALASSEMIA

Nella Fig. 3 le frequenze di G6PD-D sono confrontate con le frequenze del *trait* talassemico compiute da Silvestroni-Bianco (1961) nelle stesse popolazioni da noi considerate.

La correlazione tra le frequenze della talassemia e di G6PD-D determinata attualmente è altamente significativa ($r = 0.7494$; $n = 11$; $0.001 > P > 0.01$).

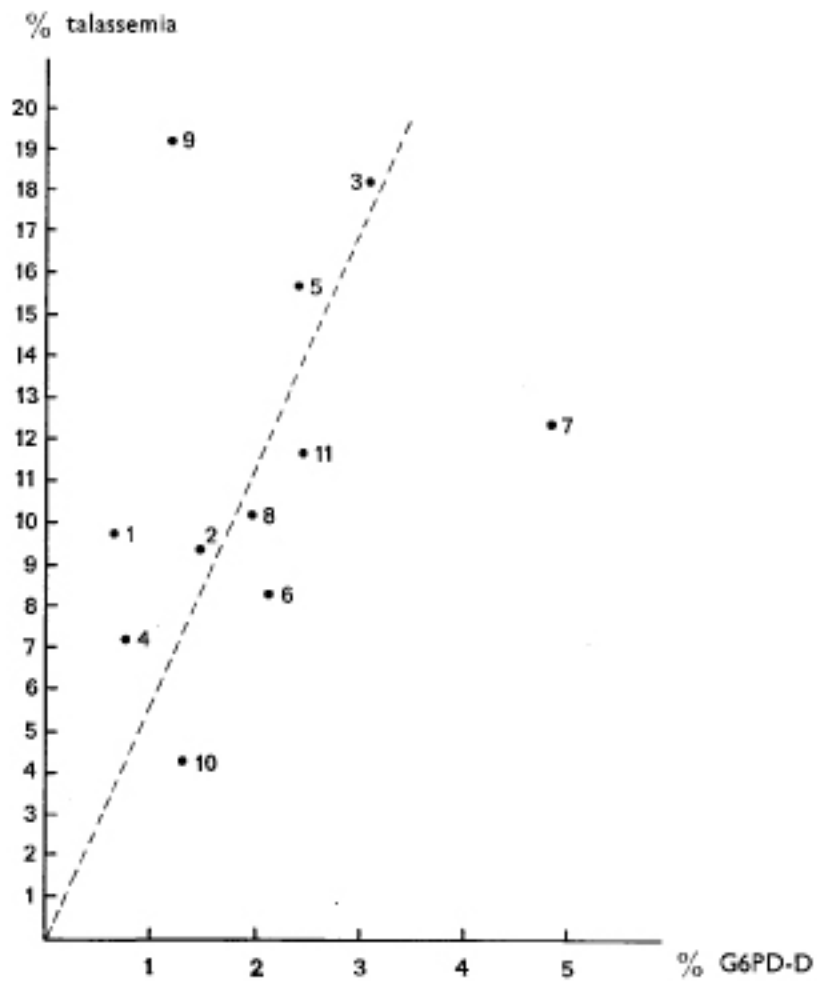


Fig. 3.

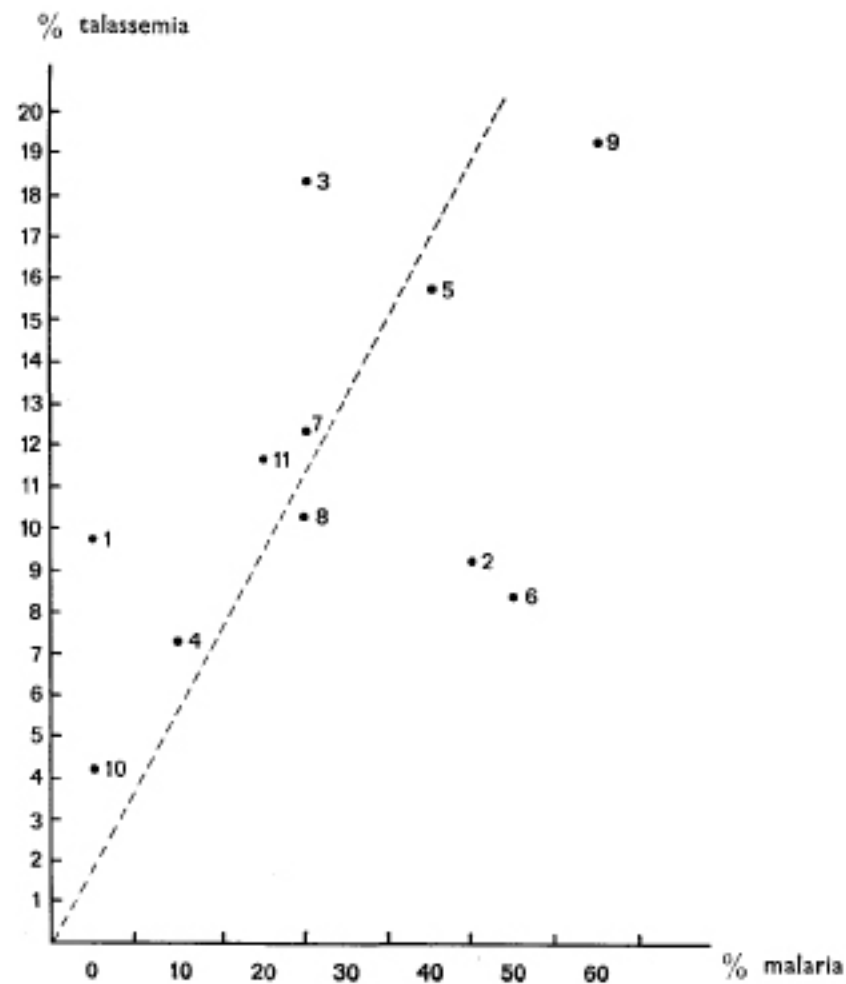


Fig. 4.

4.3. TALASSEMIA E MALARIA

Nella Fig. 4 l'incidenza media della malaria nel 1900 nella popolazione è confrontata con i dati relativi alla frequenza del *trait* talassemico (Silvestroni-Bianco, 1961). Si osserva un indice di correlazione di 0.5633 ($0.10 > P > 0.05$).

5. Discussione

Questa indagine fu suggerita dalla dimostrazione che nella provincia di Ferrara il mutante della talassemia era presente con frequenza elevata e che era correlato con l'indice di incidenza della malaria in passato. Anche la frequenza della G6PD-D è elevata. La correlazione altamente significativa tra frequenza di talassemici e di enzimopenici, soddisfa una delle aspettative più importanti derivate dall'ipotesi della malaria, particolarmente significative in un'area come quella considerata, in cui zone di « controllo » a bassa incidenza malarica, sono contenute in un'estensione relativamente piccola.

La frequenza massima di G6PD-D da noi trovata è di 0.0484, mentre quella riferita per il *trait* talassemico è di 0.20. Queste frequenze sono tali da non potersi spiegare al di fuori di un vantaggio selettivo dell'eterozigote (Livingstone, 1964).

Accettando l'ipotesi che anche in questa zona la malaria sia stata il fattore ecologico selettivo importante, dati storici indicano che bisognerebbe datare l'inizio dell'azione selettiva in epoca abbastanza recente: 1200-1300 d.C.

Si deve perciò dedurre che l'azione selettiva della malaria non si è esercitata per un periodo superiore alle 25-30 generazioni.

Le frequenze di G6PD-D da noi osservate sono compatibili con quelle ottenute con simulazione di processi evolutivi al calcolatore per un carattere legato al sesso in 20-30 generazioni di selezione, in modelli che prevedevano una diminuzione della *fitness* dell'emizigote e dell'omozigote affetto ad un aumento della *fitness* dell'eterozigote (Livingstone, 1964).

Siniscalco et al. (1966) ritengono tuttavia che modelli che considerino diminuita in zona fortemente malarica la *fitness* dell'emizigote e dell'omozigote deficitari, non siano reali (Siniscalco et al, 1966).

Questi autori suggeriscono che, mentre in una collettività la malaria uccideva quasi il 50% dei bambini, la scarsa crescita del parassita nella cellula enzimopenica, offriva un vantaggio molto maggiore degli effetti deleteri dell'enzimopenia stessa.

Essi quindi propongono un modello in cui la *fitness* dell'emizigote e dell'omozigote deficitari sia aumentata.

La più importante conseguenza è che in un numero sufficiente (e molto elevato) di generazioni si può giungere alla completa sostituzione del mutante normale Gd⁺.

Anche in queste condizioni, tuttavia, il numero ridotto di generazioni esposte a selezione, prese da noi in considerazione, porterebbe ad una frequenza della deficienza dello stesso ordine di grandezza da noi trovato (Lisker e Motulsky, 1967; Siniscalco, 1966).

Per quanto riguarda la talassemia, è suggestiva la dimostrazione che il mutante talassemico più frequente (circa 90%) nel Ferrarese, si differenzia al livello molecolare da quello osservato prevalentemente in Grecia ed in altre parti del mondo, per la mancanza di sintesi di catene beta (Pontremoli et al, 1969), suggerendone un'origine autotona.

Anche per la G6PD-D, osservazioni recenti indicano la presenza nella zona di varianti enzimopeniche deficitarie che si differenziano dalla forma mediterranea classica.

Per quanto riguarda la significativa diminuzione della frequenza di G6PD-D nella zona maggiormente malarica (e talassemica), alla luce di quanto detto sopra, a proposito della recente insorgenza della malaria (30 generazioni), possono prospettarsi le seguenti ipotesi.

A) L'insediamento avvenne per la grande maggioranza della popolazione di questa zona in piccole comunità che rappresentavano veri isolati, per la segregazione geografica e per le difficoltà di scambi con le aree limitrofe. È quindi possibile che fenomeni casuali (*random drift*), unitamente ad un'elevato grado di endogamia, abbiano potuto significativamente contribuire alla differenziazione genetica di questi gruppi.

B) La presenza nella zona considerata di fattori ecologici bilanciati negativi, altamente più efficaci, che abbiano ridotto la *fitness* dell'emizigote e dell'omozigote deficitari.

Il problema dell'importanza dei fattori bilanciati negativi è oggetto di controverse interpretazioni, cui abbiamo già accennato; ad esso si ricollega il problema della valutazione teorica della *fitness* dei genotipi deficitari in ambiente malarico.

Numerose condizioni patologiche, anche letali, possono essere patogenicamente ricondotte all'enzimopenia: favismo, anemie emolitiche costituzionali non sferocitiche, ittero grave dei neonati ed anemie da farmaci ed alimenti. Nel Ferrarese la coltivazione delle fave non ha mai rappresentato una coltura agricola molto estesa, tuttavia sono noti enzimopenici a Ferrara affetti dalle varie forme di anemia emolitica acuta e cronica legata a questa condizione. Vale inoltre ricordare le precarie condizioni igieniche generali in cui hanno vissuto per molte generazioni queste popolazioni, particolarmente esposte anche a malattie infettive.

La G6PD-D mediterranea è caratterizzata inoltre dalla sensibilità a crisi emolitiche dopo ingestione di chinino.

Dal 1900 al 1920 in questa zona è stata applicata molto rigidamente la campagna antimalarica a mezzo di terapia con chinino. I dati forniti da Orta indicano con molta chiarezza l'efficacia temporanea di questo metodo di lotta antimalarica accompagnata da una progressiva bonifica delle zone paludose.

Se la percentuale di *caduta* dell'incidenza malarica nel primo triennio di terapia è correlata con le frequenze geniche attuali, si mette in evidenza una correlazione negativa molto significativa ($0.001 < P < 0.01$).

Più rapida è stata la caduta dell'incidenza di malaria, minore è l'attuale frequenza genica. Il rapporto tra i due fenomeni: caduta dell'incidenza della malaria e minore

frequenza della G6PD-D, potrebbe indicare che il chinino abbia agito come agente selettivo contrario molto efficace sugli enzimopenici del Ferrarese. Di questo fenomeno non vi è traccia nella letteratura medica dell'epoca.

C) L'esistenza nel Ferrarese di una variante deficitaria che si differenzia dalla Gd ^{Mediterranean}, è indicata da esperienze molto recenti.

All'Istituto di Genetica Medica dell'Università di Ferrara sono stati identificati due casi, rispettivamente con 1% e 10% dell'attività enzimatica eritrocitaria normale, che avevano una costante di Michaelis, sia per G6P che per NADP, assolutamente più elevata di quelle riscontrabili nell'enzima della deficienza di tipo mediterraneo. Infatti i valori di Km riscontrati erano simili o superiori a quelli dell'enzima normale.

L'ulteriore caratterizzazione di queste varianti e lo studio della loro diffusione sono in corso.

Va inoltre ricordato che l'apparente diminuzione della frequenza della G6PD-D nella zona maggiormente malarica e talassemica potrebbe essere dovuta alla concentrazione in questa zona di un tipo di G6PD-D del tipo della variante « Barbieri » descritta appunto in una famiglia ferrarese, nella quale il deficit enzimatico totale era ridotto al 60% del normale. In queste condizioni il test BCB è poco significativo, e altri metodi di indagine si rendono necessari per l'identificazione.

6. Conclusioni

La distribuzione della G6PD-D nel Ferrarese è in sostanziale accordo con le attese derivanti dall'*ipotesi della malaria*. In un'area geograficamente limitata è possibile dimostrare una significativa correlazione della frequenza di affetti da G6PD-D con la frequenza di portatori di talassemia, e una correlazione significativa tra frequenza di talassemia e incidenza di malaria all'inizio del secolo (prima della grande campagna antimalarica con chinino).

La percentuale di affetti da G6PD-D aumenta con l'aumentare dell'incidenza della malaria, fino ad un'incidenza massima di quest'ultima del 40% della popolazione colpita. Nelle zone maggiormente malariche (45-50-60% della popolazione colpita) la frequenza di G6PD-D diminuisce. Varie ipotesi possono formularsi, tuttavia l'interpretazione del fenomeno è largamente impedita dalla mancanza di dati sulla struttura genetica (tipi di matrimonio, consanguineità, migrazione, etc) che permettano di stimare l'importanza relativa della deriva genetica e della selezione naturale come cause dell'eterogeneità di queste popolazioni. La raccolta di questi dati, così come lo studio delle varianti enzimopeniche presenti nella zona, costituiranno il proseguimento di questa ricerca.

Riassunto

La presente ricerca sulla distribuzione della G6PD-D nel Ferrarese è stata suggerita dalla passata endemicità della malaria in questa zona e dalla documentazione dell'elevata frequenza del gene per la talassemia.

La frequenza genica della G6PD-D è elevata, compatibile con le frequenze attese in 25-30 generazioni di selezione, ottenute in popolazioni simulate al calcolatore, con modelli che prevedano un aumento della *fitness* dell'eterozigote.

La frequenza di G6PD-D è correlata con la frequenza dei portatori del *trait* talassemico, e quest'ultima con l'incidenza di malaria in passato.

Lo studio della correlazione della frequenza di G6PD-D con l'incidenza della malaria nel passato dimostra un particolare comportamento: la correlazione è significativa fino a valori intermedi d'incidenza malarica (40%). Nelle aree in cui in passato l'incidenza della malaria aveva valori più elevati (45-60%) la frequenza di G6PD-D scende a valori significativamente più bassi.

Vari possibili meccanismi responsabili di questo comportamento sono discussi.

Bibliografia

- ALFIERI N., ORTOLANI M. (1950). Contributo alle ricerche sull'antico delta padano. Atti XV Congr. Geografico Italiano, Torino.
- ALLISON A. C. (1965). Population genetics of abnormal haemoglobins and glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency. In JONKIS J. H. P.: Abnormal Haemoglobins in Africa. Blackwell, Oxford.
- LISKER R., MOTULSKY A. G. (1967). Computer simulation of evolutionary trends in an X-linked trait. Application to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in man. Acta Genet. (Basel), 17: 465-474.
- LIVINGSTONE F. B. (1964). Aspects of the population dynamics of the abnormal hemoglobin and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency genes. Amer. J. Hum. Genet., 16: 435-450.
- MOTULSKY A. G. (1965). Theoretical and clinical problems of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: its occurrence in Africans and its combination with haemoglobinopathy. In JONKIS J. H. P.: Abnormal Haemoglobins in Africa. Blackwell, Oxford.
- ORTA F. (1917). Lo stato attuale della malaria in provincia di Ferrara. La Rivista, 8 Aprile 1917.
- ORTOLANI M. (1956). La Pianura Ferrarese. Memorie di Geografia Economica. Vol. XV.
- (1950). Ricerche sul Popolamento della Pianura Ferrarese. Bollettino Società Geografica Italiana. Serie VIII, Vol. III.
- PONTREMOLI S., BARGELLESÌ A., CONCONI F. (1969). Globin synthesis in the Ferrara thalassemia population. Ann. N.Y. Acad. Sci. (In press).
- RUCKNAGEL D. L., NEEL J. V. (1961). The hemoglobinopathies. In Steinberg A. G.: Progress in Medical Genetics. Grune & Stratton, New York.
- SILVESTRONI E., BIANCO I., ALFIERI N. (1952). Sulle origini della microcitemia in Italia e nelle altre regioni della terra. Medicina, 2: 187-216.
- (1961). Diffusione e frequenza della microcitemia e delle anemie microcitemiche nell'Italia continentale ed in Sicilia. J. J. M. S.: Atti delle Giornate di Studio sul Problema Sociale della Microcitemia e del Morbo di Cooley, 51-64.
- (1963). Le Emoglobine Umane. In Gedda L.: De Genetica Medica. Vol. IV. Ed. Istituto Mendel, Roma.
- SINISCALCO M., BERNINI L., FILIPPI G., LATTE B., MEERAKHAN P., PIOMELLI S., RATTAZZI M. (1966). Population genetics of haemoglobin variants, thalassemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, with particular reference to the malaria hypothesis. Bull. W.H.O., 34: 378-393.
- YOSHIDA A. (1967). A single amino-acid substitution (asparagine-2 aspartic acid) between normal (B⁺) and the common Negro variant (A⁺) of human glucose-6-phosphate dehydrogenase. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 57: 835.

SUMMARY

The distribution of G6PD-D in the Ferrara country has been studied by means of the Brilliant Cresyl Blue discoloration test: 2437 males have been tested in 11 localities.

The highest gene frequency of G6PD-D observed is consistent with the one expected after 25-30 generations of malaria selection, assuming an increased fitness of the heterozygotes, as it has been shown in computer simulated evolutionary trends for sex-linked genes. The thalassemia trait has also been shown to be very frequent in the same localities; its frequency is correlated with G6PD-D gene frequency and with the incidence of malaria in the past (1900).

G6PD-D frequency is not significantly correlated with malaria. Such a result is due to the significantly lower gene frequency of G6PD-D observed in the localities where the percentage of population affected by malaria was higher (40-60%). On the other hand, G6PD-D is frequently significantly correlated with malaria in the remaining localities where the incidence of the latter ranged from 0 to 35% of the affected population.

The mechanisms possibly involved in the determination of this distribution of G6PD-D are discussed.

RÉSUMÉ

La distribution de G6PD-D dans la province de Ferrara a été étudiée par le test de décoloration du bleu de crésyle brillant (BCB). On a testé 2437 mâles de 11 localités.

La fréquence élevée du gène déficitaire est compatible avec les fréquences attendues après 25-30 générations de sélection, comme révèle l'étude à l'ordinateur de populations simulées, où l'hétérozygote était avantage.

La fréquence de G6PD-D est corrélée avec la fréquence des conducteurs thalassémiques et la thalassémie avec l'incidence du paludisme dans le passé.

En ce qui concerne la corrélation entre fréquence de G6PD-D et de paludisme dans le passé, il faut remarquer que l'association est positive dans les régions à valeurs moyennes d'incidence du paludisme (40%); cependant la fréquence de G6PD-D tombe significativement dans les régions où l'incidence du paludisme dans le passé atteignait le 45-60% de la population.

Les possibles mécanismes qui sont à la base de ce fait sont discutés.

ZUSAMMENFASSUNG

Vorliegende Arbeit stützt sich auf eine Untersuchung über das Vorkommen von G6PD-D in der Gegenden von Ferrara. Man kam darauf, da dort früher bekanntlich die Malaria endemisch und das Thalassämie-Gen nachgewiesenerweise sehr häufig vorkamen.

Das Auftreten einer genbedingten G6PD-D ist hoch und entspricht den Frequenzen, die bei 25-30 Auslesegenerationen zu erwarten wären, welche mit Modellen, die einen Anstieg der *Fitness* des Heterozygoten vorsahen, mittels simulierter Bevölkerungen im Computer errechnet wurden.

Das Vorkommen von G6PD-D steht im Zusammenhang mit dem des Thalassämie-trait; dieses ist wiederum von der Häufigkeit der Malaria in vergangenen Zeiten abhängig.

Das Verhältnis zwischen Vorkommen von G6PD-D und dem der Malaria in der Vergan-

genheit ist eigenartig: bis zu mittleren Werten des Malaria-Vorkommens (40%) ist die Korrelation bedeutungsvoll. In den Gegenden jedoch, wo die Malaria früher eine höhere Frequenz aufwies (45-60%), da sinkt das Vorkommen von G6PD-D interessanterweise auf niedrigere Werte herab. Verf. erörtern die verschiedenen Mechanismen, die für ein solches Verhalten verantwortlich zu machen wären.

Prof. E. Gandini, Istituto di Genetica Medica dell'Università, Ferrara, Italia.

Dr. C. Menini, Arcispedale S. Anna, Centro Trasfusionale, Ferrara, Italia.

Dr. A. De Filippis, Arcispedale S. Anna, Divisione Pediatrica Ospedaliera e Centro Studi della Microcitemia, Ferrara, Italia.

Dr. G. Dell'Acqua, Istituto di Genetica Medica dell'Università, Ferrara, Italia.