

TALASEMIA INTERMEDIA

A PROPÓSITO DE UN CASO DE ALTA TALASEMIA TIPO ENFERMEDAD POR HEMOGLOBINA H

DR. GERMAN F. SAENZ*
 DR. MARIANO CASTILLO**
 DRA. LIDIETTE SALAZAR***
 DR. GERMAN SANCHEZ H.**

RESUMEN

Es un estudiante universitario panameño que radica en nuestro país, de 20 años, esplenectomizado de fenotipo oriental, con abuelo paterno de raza china y madre paterna caucasoide, de abuelo materno caucásico y abuela materna caucasoide, se logró demostrar la existencia de una Talasemia intermedia con dos posibles genotipos: uno por delección $-\alpha/---$ (tipo asiático), y otro por no delección derivado del haplotipo talasémico materno.

SUMMARY

We studied a 20 years old Panamenian student residing in Costa Rica, who has oriental phenotype, and whose grandparents where caucasian, with the exception of his father's father who was chinese, and found an intermedian thalassemia with two possible genotypes: deletion $-\alpha/---$ (Asian Type) or no deletion (derived from his maternal thalassemic haplotype).

INTRODUCCION

La enfermedad por hemoglobina H (Hb H) es una enfermedad α -talasémica (α -tal) asociada con la presencia de una Hb inestable con alta afinidad por el oxígeno, la cual tiene la estructura de un tetrámero de cuatro cadenas polipeptídicas beta de globina y grupos heme asociados. Es alta su frecuencia en el Sudeste de Asia, en el Medio Este, Grecia, Sardinia y Chipre (38); prácticamente inexistente en raza negra (12), encontrándose casos esporádicos en países con población inmigrante de regiones con gran incidencia del problema, tal y como ha sido el caso en Costa Rica (33, 34) y otros países de América.

Los loci de genes de globina en humanos se hallan duplicados, estando ambos estrechamente ligados en el cro-

mosoma 16. En una célula diploide, el genotipo normal para globina alfa se representa, por lo tanto, como $\alpha\alpha/\alpha\alpha$. Estudios recientes han demostrado que tanto en población asiática como negra la pérdida de genes es la causa común de α -tal (20, 28). En este sentido los estados clínicos de α -tal son en gran parte explicados en base a los dos genotipos observados: el gene α -tal 2, debido a la pérdida en el haplotipo de un solo locus ($-\alpha$); y el gene α -tal 1 con pérdida de los dos loci ($---$). En asiáticos ambos genotipos son comunes, y diferentes combinaciones producen los cuatro clásicos síndromes de α -tal: 1) el estado de portador silencioso o α -tal 2 ($-\alpha/\alpha\alpha$); b) el rasgo o tara de α -tal o α -tal 1 ($---/\alpha\alpha$) ó ($-\alpha/-\alpha$); c) enfermedad por Hb H ($---/-\alpha$); ch) α -tal 1 homocigota o hydrops fetalis ($---/---$). En raza negra predomina el genotipo α -tal 2 (35), siendo muy raro el α -tal 1. En este tipo de población el rasgo de α -tal (α -tal 1) se debe fundamentalmente a una homocigosidad para el gene α -tal 2 ($-\alpha/-\alpha$), por lo que la enfermedad por Hb H es muy rara y nunca se ha observado la forma letal de α -tal 1 homocigota (12,35).

Recientemente se ha definido un tipo diferente de lesión que causa α -tal y por ende enfermedad por Hb H en

* Centro de Investigación en Hemoglobinas Anormales y Trastornos Afines (CIHATA); Cátedra de Hematología, Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios.

** Servicio de Hematología, Hospital Dr. Calderón Guardia.

*** Laboratorio Clínico, Hospital Dr. Calderón Guardia

Saudfés (30), asiáticos (18) y en mediterráneos (19, 27, 31). En estas variedades moleculares los genes α disfuncionales ($\alpha\alpha^{\text{th}}$, $(\alpha\alpha)^{\text{th}}$, $\alpha\alpha^{\text{T}}$) se hallan presentes (es decir, no hay delección) y, fenotípicamente, recuerdan al rasgo de α -tal. En estas variedades la supresión de la síntesis de globina alfa es incompleta, por lo que cuando se hereda con el gene clásico de α -tal 1, este nuevo defecto (nondeletion) resulta en una enfermedad por Hb H más que por hydrops fetalis (19). En griegos (31), se ha descrito un nuevo defecto del tipo α -tal 1 debido a una delección parcial del complejo de genes de globina alfa ($\alpha\alpha^{\text{T}}$).

El término talasemia intermedia se usa clínicamente para cubrir un grupo de síndromes de severidad intermedia entre la condición usualmente asintomática del heterocigoto o poseedor del rasgo, y la condición severa u homocigótica (26). La tal-intermedia corresponde, genéticamente, a una variedad de desórdenes en la síntesis de globina y surge en la mayoría de los casos de la combinación de diferentes genes de talasemia (1, 7, 29) sean α , β o de ambos (2, 25, 36). En la presente información damos cuenta de un cuadro de tal-intermedia en un varón orientaloide de 20 años de edad, dada por una variedad de enfermedad por Hb H con un espectro genotípico posiblemente de tipo asiático ($-\alpha/---$).

MATERIAL Y METODOS

METODOLOGIA: Los estudios hematológicos de rutina se efectuaron con los métodos convencionales (8). La electroforesis de Hb se llevó a cabo en acetato de celulosa (Titán III, Helena; Super-sepraphore, Gelman), con tampón de Tris-EDTA-borato a pH 8.6, y a pH 7.0 en tampón de fosfatos (21). La cuantificación de la Hb A₂ se realizó tanto por electroforesis-elución (22) como por microcromatografía en columnas con tampón Tris-HCl, pH 8.30 (10). La Hb S se cuantificó por el método de Singer y cols. (37), la termoestabilidad de acuerdo al método de Carrel y Kay (6), la solubilidad de la oxi-Hb según Golberg (11), y los cuerpos de inclusión de Hb H se investigaron con azul cresil brillante luego de dos horas de incubación a 37°C (8), observándose un mínimo de 1.000 campos microscópicos con objetivo de inmersión en tres diferentes preparaciones de acuerdo a lo señalado (8). La cuantificación de Hb H se hizo en acetato de celulosa (Super-sepraphore) por elución de la fracción luego de una corrida electroforética a 400 voltios y por 20 minutos, en tampón de Tris-EDTA-borato, pH 8.6.

ESTUDIO FAMILIAR: Propositus: V.Ch.Z., masculino, 20 años, soltero, natural de Panamá, estudiante de Medicina en Costa Rica. La madre de 40 años es hija de padre alemán y madre peruana. El padre de 53 años es hijo de padre chino y madre panameña. Entrevistando a la madre nos refirió la siguiente historia obstétrica: primer embarazo con parto prematuro a los 7 meses. Segundo embarazo nació el paciente motivo de la comunicación. Tercer embarazo con parto prematuro a los 7 meses de una niña a la que

no le permitieron ver, sin que sepa el motivo. Cuarto embarazo nació un niño varón por cesárea a los 7 meses de gestación por incompatibilidad Rh. A.H.F.: Ambos padres viven sanos, un hermano sano. Desconoce antecedentes hematológicos en su familia, excepto la exanguíneo-transfusión a que fue sometido el hermano menor cuando nació. A.P.N.P.: Tabaquismo y alcoholismo negativos. Alimentación adecuada en cantidad y calidad. A.P.P.: Refiere que desde los 3 años se conoce portador de una anemia hemolítica hereditaria por lo que frecuentemente tuvo que ser hospitalizado para transfusiones. Estas transfusiones aparentemente fueron muy frecuentes hasta los 2 años. Refiere que en ocasiones recibía esteroides. A los 16 años la esplenomegalia que tenía desde el nacimiento aumentó considerablemente de tamaño por lo que se le esplenectomizó. A los 2 meses se le encontró un soplo sistólico en mesocardio, por el que se le dijo que tenía una valvulopatía congénita. P. actual: se ingresa de emergencia en el Hospital Dr. Calderón Guardia por un cuadro clínico de 36 horas de evolución caracterizado por dolor cólico a nivel de hipocondrio y flanco izquierdo que progresivamente venía en aumento. Además fiebre no cuantificada, taquipnea, taquicardia y cianosis distal.

E. FISICO: P.A.: 130/60 P: 120 x' R:30. Paciente conciente, orientado, taquipneico, con cianosis distal y que tolera el decúbito supino. Aspecto de agudamente enfermo. Cabeza y cuello normal. Ojos con ictericia conjuntival. Campos pulmonares bien ventilados sin presentar ruidos agregados. Corazón taquicárdico 120 x' con soplo sistólico eyectivo en mesocardio, más intenso en foco pulmonar. Abdomen con cicatriz quirúrgica pararectal de esplenectomía antigua. Es blando, depresible, muy doloroso en flanco izquierdo. No signos peritoneales. Peristaltismo normal. Resto exploración normal.

EVOLUCION: Unas 6 horas después del ingreso al cuadro abdominal empeora por lo que se decide una laparotomía de emergencia, encontrándose una necrosis amplia de epiplón y un hematoma del que se extrajeron 500 ml de sangre. En su post-operatorio inmediato su condición cardio-vascular empeora por lo que se le lleva a la U.C.I. donde se le encuentra una insuficiencia cardíaca con III ruido, frotis pericárdico y pequeño derrame pleural derecho.

LABORATORIO: Hb 10.1 g/dl; Hto 40 ml/dl; CHCM 25.3 %; Retis 7.5 % (corregidos: 6.6 %; índice reticulocitario: 3.3); Leucocitos 17.550/ul; Bandas 2 %/o, Segmentados 82 %/o, Linfocitos 8 %/o, Monocitos 8 %/o. Eritroblastos 4 por cada 100. La morfología de la serie roja mostró: Anisocitosis (+++), Poiquilocitosis (+++), Hipocromía (+++), Cuerpos de Howell-Jolly (+) y Basofilia difusa (++) . Llamó la atención la presencia en muchos eritrocitos de condensaciones hemoglobínicas hacia un lado de la célula, con hipocromía en el resto de las mismas. El he-

Cuadro I

HEMOGLOBINOGRAMA DE LA FAMILIA ESTUDIADA (A)

Pedigree	Hto/Hb °/o/g/dl)	Eritrocit. (mill. x 10 ⁶ /ul)	VCM (fl)	HCM (pg)	CHCM (°/o)	Reticul. (°/o)	F.O. (0.36 °/o)	C. de Inclusión
I-1	47.5/13.0	6.4	74.2	20.3	27.4	2.2	↓↓ (31 °/o)	Posit. (1:5000)
I-2	40/11.8	4.8	83.3	24.6	29.5	1.2	↓ (63 °/o)	Posit. (1:50.000)
II-1	40/10.1	6.1	65.5	16.6	25.3	7.5	↓ (51 °/o)	Posit. (80 °/o eritrocit.)*
II-2	48.5/12.7	6.5	74.6	19.5	26.2	1.8	↓↓↓↓ (9.3 °/o)	Posit. (1:10.000)

*Incluye un 30 °/o de eritrocitos con un único y gran cuerpo de inclusión.

Cuadro II

HEMOGLOBINOGRAMA DE LA FAMILIA ESTUDIADA (B)

Pedigree	Edad/sexo	Patrón Electrof.	Hb A ₂ (°/o)	Hb F (°/o)	Hb H (°/o)	Hb Bart (°/o)	Prueba de Estabilidad Hb	FeS mcg/dl	CTFFeS mcg/dl	IS
I-1	53/M	AA	2.4	0.4	Trazas	-	±	154	350	44
I-2	40/F	AA	2.0	0.5	-	-	-	47	334	14
II-1	20/M	AH	1.1	1.4	27	1-2 °/o	++++	69	256	27
II-2	18/M	AA	2.3	0.6	Trazas	-	±	62	166	37

moglobinograma completo de la familia se indica en los Cuadros I y II.

RESULTADOS

En los cuadros I y II se señalan los hallazgos de laboratorio de la familia estudiada. Puede observarse en los mismos que el espectro hematológico corresponde a una tal-intermedia en un propóitus esplenectomizado que observó por complicación un cuadro clínico abdominal agudo que motivó su ingreso hospitalario con necesidad de laparotomía que demostró necrosis amplia de epiplón y un gran hematoma. Se destaca también en los cuadros la existencia en el padre y su hermano la presencia del rasgo de α -tal, con una biometría de pseudopolicitemia microcítica hipocrómica y presencia de cuerpos de inclusión de Hb H, como hallazgos destacables. Los resultados de la madre pueden ser compatibles con dos posibles genotipos de α tal: $-\alpha/\alpha$ y el $-\alpha/-\alpha$, siendo más factible este último por su ligero cuadro microcítico hipocrómico y los ocasionales cuerpos de inclusión. En todos los miembros del pedegree fue normal la investigación de la G6PD eritrocítica, al igual que la electroforesis de proteínas, salvo en el propositus en que se observó disminución moderada de la alfa 2 globulina y ligera de la beta 1 globulina. Asimismo, en el propositus se detectó por electroforesis disminución franca de las haptoglobinas con presencia de banda de metahemalbúmina.

DISCUSION

La enfermedad por Hb H es clínicamente la forma más importante de α -tal (30), siendo el primer síndrome de α -tal descrito en 1955 (13) en sujetos griegos. En el área hispanoamericana los reportes son escasos, habiéndose descrito casos aislados en Jamaica (39), Curazao, Venezuela (4), Argentina (16), Colombia (9), Perú (17), Brasil (24), Cuba (15) y España (32). En la mayoría de estos reportes se han puesto de manifiesto antecedentes raciales orientales o mediterráneos, incluyendo el presente reporte. Es interesante señalar que en los casos reportados en Colombia (9) y en México (3) con toda probabilidad se trata de sujetos mestizos, es decir, sin antecedentes raciales de inmigración diferente a la de la colonización. En Costa Rica hemos publicado la presencia de enfermedad por Hemoglobina H. En un primer reporte (33) hicimos mención del caso de un niño de 7 años, de padre caucásico y madre de raza china, en donde se observó una ligera anemia hipocrómica con un 5 % de Hb H en su hemolizado. El segundo caso (34) correspondió a una niña de 3 años con anemia hipocrómica refractaria al tratamiento con hierro, de padre y madre con ascendencia asiática. El síndrome se caracteriza por una anemia hemolítica crónica de expresividad clínica variable aunque generalmente es de talasemia intermedia, con niveles de Hb entre 7 y 10 g/dl, con moderada reticulocitosis (5-10 %), morfológicamente es de estirpe microcítico hipocrómico, con poiquilocitosis y codocitosis e inclusiones intraeritrocíticas peculiares que se ponen en evidencia con

substancias oxidantes débiles —como el azul de cresilo—, niveles bajos de Hb A₂ y presencia de una hemoglobina anormal (Hb H) de gran movilidad electroforética, en una proporción que oscila entre el 5 y el 30 % del total, y que en muchos casos va acompañada de cantidades pequeñas de Hb Bart (5,38). Generalmente se acompaña de esplenomegalia evidente, no siendo infrecuente la hepatomegalia (38). La anemia suele hacerse más severa durante el embarazo, las infecciones y luego de la oxidación y precipitación de la Hb H (5,38). Al contrario de lo que sucede con los síndromes importantes de β -tal los enfermos con Hb H no presentan el cuadro clínico de una hemocromatosis secundaria, pudiéndose observar incluso un déficit parcial compatible con la reducción de los depósitos férricos. Se ha sugerido (38) que al no conjugarse la Hb H con las haptoglobinas, la pérdida de hierro por la orina podría explicar esa situación. Por otro lado se ha visto que cuando existe un déficit de hierro la Hb H decrece, incluso llegando a no detectarse (38), restableciéndose los valores iniciales luego de la terapia ferruginosa (5).

De los análisis practicados a la familia se pueden inferir algunos hechos importantes que pueden permitir la catalogación del genotipo α -tal del propositus. La condición étnica del padre sugiere con firmeza que su haplotipo sea el clásico de los orientales ($-\alpha/\alpha$), con el genotipo $-\alpha/\alpha$. Idéntica conclusión se puede obtener de su otro hijo, imperando en ambos una pseudopolicitemia microcítica hipocrómica, cuerpos de inclusión y trazas de Hb H por electroforesis y por la prueba de estabilidad. En cuanto a la herencia derivada de su madre, es también plausible que por su carácter étnico caucásico, el propositus haya heredado el haplotipo $-\alpha/(\alpha$ tal 2), de un posible genotipo materno $\alpha\alpha/-\alpha$, con lo cual su enfermedad por Hb H tendría una base molecular que deriva un genotipo $-\alpha/-\alpha$. No queremos dejar de señalar lo interesante del hemoglobinograma de la madre, al destacarse un carácter microcítico hipocrómico y ocasionales cuerpos de inclusión. El clásico fenotipo de $-\alpha$ tal 2 por lo general no da lugar a cambios hematológicos de biometría hemática (23,30), considerándosele silencioso, es decir, sin repercusiones hematológicas. Podría entonces especularse que la madre pudiera poseer el estado homocigoto para α tal 2 ($-\alpha/-\alpha$). También no puede descartarse que el fenotipo α tal 2 de la madre pudiese ser otro del tipo no deleción descritos en la literatura (19, 23, 30, 31), tales como aquellos derivados del haplotipo $\alpha\alpha^T, \alpha\alpha^{th}, (\alpha\alpha)^{Th}$, en donde los super índices "T" o th indican lesión α tal no por deleción y el $\alpha\alpha^{Th}$, deleción parcial. Así, en ciertas tribus de Arabia Saudita (30) es frecuente y severa la enfermedad por Hb H resultado del estado homocigoto para el determinante del gene α tal disfuncional $\alpha\alpha^T$, con el genotipo $\alpha\alpha^T/\alpha\alpha^T$. Sin embargo, solo estudios de biología molecular a través del uso de endonucleasas de restricción y del cociente derivado de los mARN α y β (14,30), podrían dilucidar la real y verdadera base genética de la enfermedad por Hb H aquí reportada.

BIBLIOGRAFIA

1. Aksoy, M., Dicol, G. and Erdem, S. Different types of beta-thalassemia intermedia. A genetic study in 20 patients. *Acta haemat.*, 1978, 59:178-189.
2. Altay, C., Say, B. and Yetgin, S. and Huisman, T.H.J. Thalassemia and α -thalassemia in a Turkish Family— *Am. J. Hemat.*, 1977, 2:1-15.
3. Angles, E.; Robles, Irene; Ferrer, V.; González, R., y Ortiz, J.F. Talasemia alfa (hemoglobinopatía H) en una familia mestiza mexicana. *Sangre*, 1977, 22:366-369.
4. Arends, T. Abnormal hemoglobins, G6PD deficiency and thalassemia in Latin America. *New Zealand J. Med. Supplement*, 1966, 65:412-432.
5. Bunn, H.F., Forget, B.G., & Ranney, H.M. Hemoglobinopathies. Vol XII in the series: Major problems in Internal Medicine. W.B. Saunders Co., 1977, 65-68 pp.
6. Carrell, R.W., Kay, R.A. Simple method for the detection on unstable haemoglobins. *Brit. J. Haemat.*, 1972, 23:615-617.
7. Cividalli, G., Kerem, H., Ezeckiel, E. and Rachmilewitz, E.A. B⁰-thalassemia intermedia. *Blood*, 1978, 52:345-349.
8. Dacie, J.V. & Lewis, S.M. Hematología práctica. 2a. Ed., VI. Ediciones Toray, S.A. Barcelona, 1970, 536 p.
9. Echavarría, A.; Molina, Cunsuelo; y Angel, Marina. Enfermedad por hemoglobina H. Tercera forma de alfa-talasemia encontrada en Colombia. *Sangre*, 1976; 21:43-45.
10. Enfremov, G.D., Hisman, T.H.J., Bowman, K., Wrightstone, R.N. Microchromatography of hemoglobins II. A rapid method for the determination of hemoglobin A₂. *J. Lab. Clin. Med.*, 1974, 83:657-661.
11. Golberg, C.A.J. The ferrohemoglobin solubility test. *Clin. Chem.*, 1958, 4: 416-419.
12. Goldstein, D.J., Harris, H. α -globin gene organisation in blacks precludes the severe form of α -thalassaemia. *Nature*, 1979, 280:605-607.
13. Gouttas, A.; Fessas, P.; Tservrenis, H., & Xefteri, E. Description d'une nouvelle variété d'anémie hémolytique congénitale; étude hématologique, électroforetique et génétique. *Sang.*, 1955, 26:911-913.
14. Hanash, S.M., Rucknagel, D.L. Clinical implications of recent advances in Hemoglobin disorders. Symposium on advances in hematology. *Medical Clinics of North America*, 1980, 64: 775-800.
15. Hernández, P.; Vidal, H., y Colombo, B. Enfermedad por hemoglobina H. Estudio de una familia. *Rev. Cub. Méd.*, 1975, 14:191-194.
16. Iparraguirre, B.; Peñalver, J.A.; Bonnesana, A.N.C.; Bresti, P.M.; Carmena, A.; Cavagnaro, A.; Osantinsky, R. y Bonchil, G. Observaciones sobre hemoglobinopatías en la Argentina. *Proc. Congr. Int. Soc. Hematol.*, México, 1962.
17. Jeri, A.; Rojas, Milagros, y Castillo, J. Enfermedad por hemoglobina H. Estudio de dos familias peruanas. *Sangre*, 1976, 21:67-71.
18. Kan, Y.W., Dozy, A.M., Trecartin, R., Todd, D. Identification of a nondeletion defect in α -thalassemia. *N. Engl. J. Med.*, 1977, 297:1081-1083.
19. Kan, Y.W., Dozy, A.M., Stamatoyannopoulos, G., Hadjiminias, M.G., Zachariades, Z., Furbetta, M. and Cao, A. Molecular basis of Hemoglobin-H Disease in the Mediterranean Population. *Blood*, 1979, 54:1434-1438.
20. Lehmann, H. Different types of alpha-thalassaemia and significance of haemoglobin Bart's in neonates. *Lancet*, 1970, 2:78-80.
21. Lehmann, H. & Huntsman, R.G. Man's haemoglobins. XI + North-Holland Publishing Co., Oxford, 1974, 315-316 p.
22. Marengo-Rowe, A.J. Rapid electrophoresis and quantization of hemoglobins on cellulose acetate. *J. Clin. Path.*, 1965, 18:790-793.
23. Milner, P.F. Thalassemias, Hemoglobinopathies, and Sickle Cell Disease. *Hematology (2)* (Edited by Virgil F. Fairbanks), John Wiley and Sons, Inc., 1983, 181-241 p.
24. Moreira, J.; Andrade, Adyr; De Campos, Ana Lucía; Nascimento, Rosa María; Da Cunha, A., y Salgado, Adriane. Investigação em uma família com alfa talassemia. *Rev. Bras. Pesquisas Méd. e Biol.*, 1973, 6:349-352.
25. Musumeci, S., Schiliro, G., Pizzarelli, G., Fischer, A., and Russo, G. Thalassaemia of intermediate severity resulting from the interaction between α -thalassaemia. *J. Med. Genet.*, 1978, 15:448-451.
26. Ohene-Frempong, K. & Schwartz, E. Clinical features of thalassemia. Symposium on pediatric hematology. *Pediatric clinics of North America*, 1980, 27:403-420.
27. Orkin, S.H., Old, J., Lazarus, H., Altay, C., Gurgey, A., Weatherall, D.J., Nathan, D.G. The molecular basis of α -thalassemias: Frequent occurrence of dysfunctional loci among non-Asians with Hb H disease. *Cell*, 1979, 17:33-36.
28. Ottolenghi, S., Lanyon W.G., Pual, J., Williamson R., Weatherall, D.J., Clegg, J.B. Pritchard, J., Pootrakul, S., Boon, W.H. Gene deletion as the cause of α thalassaemia. *Nature*, 1974, 251:389-391.
29. Philip, T., Souillet, G., Philippe, N., Freycon, F., Bektas, S., Morlé, L., Trabuchet, G. and Godet, J. B⁺-thalassemia intermedia. *Hum. Hered.*, 1980, 30: 324-330.
30. Pressley, L., Higgs, D.R., Clegg, J.B., Perrine, R.P., Pembrey, M.E. and Weatherall, D.J. A new genetic basis for Hemoglobin-H Disease. *New Engl. J. Med.*, 1980, 303: 1383-1388.
31. Pressley, L., Higgs, D.R. & Aldridge, B. Characterisation of a new α -thalassemia 1 defect due to a partial deletion of the α globin gene complex. *Nucleic Acids Res.*, 1980, 8:4889-4898 (Abstract).

32. Rozman, C.; Capdevila, J.; Woessner, S., y Martí, I. Hemoglobinopatía H (forma de alfa talasemia) en una familia española. *Rev. Clín. Esp.*, 1966, 103:373-376.
33. Sáenz, G.F., Jiménez, E y Mora, L. Enfermedad por hemoglobina H en Costa Rica. *Sangre*, 1979, 24:333-339.
34. Sáenz, G.F., Briceño, J., Montero, G., Jiménez, J. y Chaves, M. Enfermedad por Hemoglobina H. *Acta Méd. Cost.*, 1981, 24:151-155.
35. Sancar, G.B., Cedenó, M.M. and Rieder, R.F. The varied arrangement of the globin genes in thalassemia and Hb H Disease in American Blacks. *The Johns Hopkins Medical Journal*, 1980, 146:264-269.
36. Sansone, G., Sciarratta, F.S. and Agosti-Vallerino. A thalassaemia syndrome resulting from the interaction of delta-beta, beta, and alpha thalassaemia genes. A case report. *Pathologica*, 1980, 72:715-721.
37. Singer, K., Chernoff, A.I. & Singer, L. Studies on abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali-denaturation. *Blood*, 1951, 6:415-425.
38. Wasí, P.; Na-Nakorn, S. & Pootrakul, S. The α -thalassaemias, chap. 7. In: "Clinics in Haematology", Vol. 3 (Abnormal Haemoglobins). W.B. Saunders Co., 1974, 383-410 p.
39. Went, L.N. and McIver, J.E. Thalassemia in the West Indies. *Blood*, 1961, 17:166-170.