

Niveles de Hemoglobina fetal en hemoglobinopatías y talasemias

Por el Dr.:

BRUNO COLOMBO^(*)

Colombo Bruno, *Niveles de hemoglobina fetal en hemoglobinopatías y talasemias*.
Rev. Cub. Ped. 43: 4, 1971.

La hemoglobina fetal está presente en cantidades elevadas en distintas enfermedades. Su determinación por lo tanto es importante y a veces indispensable para poder diagnosticar algunos trastornos hematológicos. Este aumento en la proporción de Hb F se encuentra en algunas anemias adquiridas y en muchos casos de anemia congénita. En este trabajo se discutió el aumento de la Hb F en distintas hemoglobinopatías y talasemias. Se han discutido las bases genéticas de estas enfermedades y se ha analizado la variación de la Hb F en varias hemoglobinopatías, con particular énfasis en la anemia a hemácias falciformes; en las talasemias, con particular énfasis en la β -talasemia, $\delta\beta$ -talasemia, persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal y hemoglobinopatías de tipo *Lepore* y así como algunos casos de interacción entre estas distintas enfermedades que han sido encontradas en Cuba.

INTRODUCCION

Las hemoglobinas humanas son proteínas conjugadas constituidas por una parte proteica denominada globina y una parte prostética denominada hem.^{8,75}

Cada molécula de hemoglobina está compuesta por dos pares de cadenas polipeptídicas iguales y cuatro grupos hem, uno por cada cadena.^{75,93} En el hombre han sido descritas cuatro hemoglobinas normales: embrionaria, fetal, adulta y A_2 .^{8,61} Cada una de estas cuatro hemoglobinas está formada por dos tipos distintos de cadenas polipeptídicas, una de las cuales se denomina alfa y es común a todas estas hemoglobinas, mientras que la otra cadena varía y es la que diferencia las distintas hemoglobinas, habiéndose denominado beta,

gamma, delta y epsilon, como se esquematiza en la tabla I.

Se sabe que la secuencia de los aminoácidos en cada cadena polipeptídica está bajo el control de un gen que se denomina gen estructural. Por lo tanto existen en el hombre por lo menos cinco genes estructurales, cada uno responsable de la síntesis de una determinada cadena polipeptídica de la hemoglobina.¹⁰

La actividad de estos genes no se mantiene constante durante el desarrollo del organismo, sino que como consecuencia de fenómenos de regulación, que todavía no han sido aclarados, se produce la activación o la represión de los genes como se observa en la Figura 1, en la cual se describe gráficamente el cambio de las proporciones entre las cadenas de las hemoglobinas humanas normales durante el desarrollo.⁵⁹

Las mutaciones de los genes estructurales producen cambios en la estructura primaria, es decir en la secuencia

(*) Licenciado en Química, Jefe del Depto. de Bioquímica del Instituto de Hematología e Inmunología, Hospital Infantil "William Suler", Avenida de San Francisco No. 10,112, Habana 8, Cuba.

TABLA I

Adulto	HbA	= $\alpha_2\beta_2$
Fetal	HbF	= $\alpha_2\gamma_2$
	HbF ₁	= $\alpha_2\gamma\gamma^{\text{ACETIL}}$
	$\left\{ \begin{array}{l} \text{HbF}_A \\ \text{HbF}_B \end{array} \right.$	= $\alpha_2\gamma_2^{136 \text{ ALA}}$
		= $\alpha_2\gamma_2^{136 \text{ GLY}}$
A ₂	HbA ₂	= $\alpha_2\delta_2$
Embrional		= $\alpha_2\varepsilon_2$

En el recién nacido normal la Hb F se presenta como un compuesto heterogéneo.

Dos subcomponentes se pueden separar en cromatografía y la única diferencia es que en uno de los dos una cadena gamma está acetilada en la posición N-terminal.

Dos subcomponentes no se pueden separar y se ha demostrado recientemente⁹⁹ que la única diferencia está en la posición 136. Ha sido posible demostrar que estas dos cadenas están bajo el control de dos genes diferentes y sobre la base de datos experimentales se ha sugerido que en cada individuo existen ocho genes para la cadena gamma: seis dirigen la síntesis de cadenas gamma que tienen alanina en la posición 136 y dos dirigen la síntesis de cadenas gamma que tienen glicina en posición 136.⁹⁹

de los aminoácidos. En la mayoría de los casos se produce la sustitución de un aminoácido por otro,^{18,39} lo que puede cambiar de una manera drástica las propiedades quimicofísicas y por lo tanto funcionales de la hemoglobina como en el caso de la hemoglobina presente en la anemia a hematíes falciformes (AHF) 53,84. Este tipo de mutación en los genes estructurales se denomina puntiforme y hasta ahora se conocen alrededor de cien mutantes.^{39,40} Se han encontrado otras mutaciones en

los genes estructurales que se denominan mutaciones cromosómicas, cuyo resultado es una delación de una parte del gen estructural^{24,41,67} o una delación debida a crossin-over desigual, como en el caso de las hemoglobinas de tipo *Lepore*.^{7,119}

Sin embargo, los genes estructurales no son los únicos responsables de la síntesis de las proteínas. Existen otros genes que determinan el tipo de proteína que la célula tiene que sintetizar y la velocidad de su síntesis. El meca-

la Hb F representa un 40% de la hemoglobina total, a los cuatro meses, un 9% y a los ocho meses, prácticamente ha desaparecido.¹⁵ Se han informado tiempos más largos de desaparición de la Hb F en sujetos normales³³ así como en casos patológicos, por ejemplo algunos que presentan una hemoglobina

anormal.⁹⁰ También se ha informado la presencia de pequeñas cantidades de Hb F en adultos aparentemente normales.^{57,79.}

La hemoglobina fetal está constituida por dos cadenas estructuralmente iguales a las dos cadenas alfa de la Hb A y se ha demostrado que el gen que di-

TABLA II

GENES MUTADOS	TIPO DE MUTACION	RESULTADO DE LA MUTACION	TIPO DE HEMOGLOBINAS		REFERENCIA
			HETEROCIGOTICO	HOMOCIGOTICO	
GENES ESTRUCTURALES	PUNTIFORME	SUSTITUCION DE UN AMINO-ACIDO (HEMOGLOBINAS ANORMALES)	HbA + Hb anormal LA HEMOGLOBINA ANORMAL ESTA PRESENTE EN CANTIDADES VARIABLES - A VECES AUMENTO DE LA HbF	Hb anormal FRECUENTEMENTE HAY AUMENTO DE LA HbF	8, 18, 52 75
		DELECCION DEBIDA A CROSSING-OVER DESIGUAL (HEMOGLOBINAS TIPO LEPORE)	HbA + Hb Lepore = 90% - 10% LA HbF ESTA LIGERAMENTE AUMENTADA	Hb Lepore = 10 - 25% HbF = 75-90%	7, 8, 120 88, 59, 122
	CROMOSOMICA	DELECCION DE UNA PARTE DEL GEN ESTRUCTURAL (HEMOGLOBINA GUN-HILL) Hb LEIDEN Hb FRENCHUO	HbA = 77.6% Hb GUN-HILL = 20.0% HbF = 2.4%	?	95, 18, 24 67, 41
GENES REGULADORES U OTRAS MUTACIONES	?	SINTESIS DISMINUIDA DE LA CADENA α (α -TALASEMIA)	Hb Bart's al nacimiento	Presencia de Hb Bart's y HbH	10, 44, 72 73, 77, 85, 122
		SINTESIS DISMINUIDA DE LA CADENA β (β -TALASEMIA)	AUMENTO DE LA HbA ₂ LA HbF PUEDE ESTAR LIGERAMENTE AUMENTADA	HbA = 10-90% HbF = 10-90%	10, 32, 44 52, 58, 86, 122
		AUSENCIA DE LA SINTESIS DE LAS CADENAS β Y δ (δ - β -TALASEMIA)	HbA = 80-96% HbF = 4-20%	HbF = 100%	44, 25, 167, 91
		AUSENCIA DEL CAMBIO DE LA SINTESIS DE CADENAS γ A SINTESIS DE CADENAS β (PERSISTENCIA HEREDITARIA DE LA HEMOGLOBINA FETAL)	HbA = 70-90% HbF = 10-30%	HbF = 100%	8, 10, 17, 30 46, 122

TABLA III

Enfermedades adquiridas con aumento de Hemoglobina Fetal

Condicion	Referencia
ANEMIA PERNICIOSA	16, 69
MIELOFIBROSIS	16
ANEMIA APLASTICA	2, 105, 106
LEUCEMIA	14, 16
ERITROLEUCEMIA	122
ANEMIA DE FANCONI	66
ANEMIA REFRACTARIA NORMOBLASTICA	16, 51
ANEMIA PAROXISTICA NOCTURNA	122

rige la síntesis de estas cadenas tiene actividad durante la vida intrauterina y la vida adulta^{125,126}. La otra cadena es distinta de la cadena beta presente en la Hb A y está bajo el control de un gen diferente que normalmente actúa sólo durante la vida intrauterina y que por medio de un mecanismo que todavía no se ha aclarado, se inactiva total o parcialmente en la vida adulta. Esta cadena se define gamma y como en el caso de las cadenas alfa y beta, se ha determinado su secuencia^{49,74,100}.

El significado del cambio en la composición de las hemoglobinas durante el desarrollo ha sido discutido desde un punto de vista filogenético y fisiológico^{30,71}. Parece hoy cierto, que una de las propiedades más importantes del glóbulo rojo "fetal" es su mayor afinidad por el oxígeno con respecto a la del glóbulo rojo "adulto", lo que permite la oxigenación de la sangre en la circulación fetal,⁶ aunque la Hb F no presente más afinidad por el oxígeno que Hb A^{19,37,38}.

Existen condiciones patológicas hereditarias, en las cuales la cantidad de Hb F se mantiene elevada en la vida adulta, lo que indica que el gen gamma no se inactiva o se inactiva parcialmente. Por lo tanto, la determinación de la Hb F es importante para el diagnóstico de estos trastornos; además en algunos casos puede ser de ayuda para prever la evolución de la enfermedad.

Hemoglobinopatías:

La presencia de una hemoglobina anormal es debida a una alteración de un gen estructural (excluyendo dos casos bien conocidos de hemoglobinas anormales, cuya presencia no es debida a alteraciones de genes estructurales como son la Hb Bart's y la Hb H, lo cual se explicará cuando hablemos de las talasemias). Como se ha explicado

anteriormente existen cinco genes estructurales en el hombre, cada uno responsable de la síntesis de una de las cadenas peptídicas de las hemoglobinas.⁸ Se han descrito hemoglobinas alteradas en cuatro de estas cadenas. Algunas de éstas, producen trastornos en los heterocigóticos y en algunos de estos casos se encuentra también un aumento en el porcentaje de Hb F, como se muestra en la tabla IV. Sin embargo, la mayoría de las hemoglobinas anormales no producen ninguna alteración hematológica en el heterocigótico y sólo se detectan en el estudio de las poblaciones. Se calcula que excluyendo los tipos comunes de hemoglobinas anormales Hb S, Hb C, Hb D y Hb E, la frecuencia de las hemoglobinas anormales detectables electroforéticamente, variantes de la Hb A, sea entre 1 en 1000 y 1 en 3000.⁴⁰ El estudio de alrededor de 4300 niños, hecho en el Hospital William Soler, ha permitido detectar dos variantes electroforéticas de la Hb A. Con el método standard de electroforesis a pH 8.6 se calcula que se pueden detectar alrededor de 700 variantes de la Hb A debidas a mutaciones puntiformes, habiéndose encontrado hasta ahora solamente alrededor de cien. Para algunas de éstas, se han encontrado individuos heterocigóticos y homocigóticos, como también doble heterocigótico para dos o cuatro hemoglobinas.^{75,96,127}

El porcentaje de la Hb anormal varía en distintos casos; en general está presente en concentraciones menores que la Hb A, aunque se han encontrado casos en los cuales la Hb anormal está presente en concentraciones mayores^{11,40}.

(⁹) Recientemente se ha descubierto una nueva cadena polipeptídica en una hemoglobina presente durante el desarrollo intrauterino, que se ha denominado cadena zeta.²⁷ Por lo tanto, los genes estructurales de las cadenas polipeptídicas de las hemoglobinas humanas, son por lo menos seis.

TABLA IV

Hemoglobina Anormal	Trastorno	% Hemoglobina Anormal	% HbF	Referencia
Hammersmith	Anemia Hemolítica con cuerpos de inclusión	30	3-7	50
Zurich	Anemia inducida por drogas	20 - 36	5.4	62
Sabine	Anemia Hemolítica	8	12	98
Bristol	Anemia idiopática con cuerpos de inclusión	—	4	116
Koelliker	Aparece después Hemólisis severa	—	2.1	80
Gun Hill	Anemia Hemolítica	20	2.4	95

Es importante señalar que las hemoglobinas anormales alteradas en la cadena alfa se encuentran generalmente en porcentajes más bajos que los de las variantes en la cadena beta^{40,73}.

Los casos heterocigóticos sin manifestaciones patológicas sólo muestran la presencia de Hb A y de la Hb anormal; los casos heterocigóticos con manifestaciones patológicas frecuentemente presentan una composición más compleja con aumento en general pequeño de la Hb F, lo que indica que en estos casos el gen gamma sigue funcionando en la vida adulta, posiblemente por un mecanismo de compensación (tabla IV y V).

En general se puede afirmar que la mayoría de los heterocigóticos no presentan ninguna sintomatología. En nuestra revisión alrededor de cien casos heterocigóticos informados en la literatura hasta 1969 y cuya hemoglobina anormal ha sido identificada, se observa un 20% con trastornos serios, un 20% con ligeras anormalidades y un 60% de casos completamente asintomáticos.

Por otro lado, los casos homocigóticos y heterocigóticos para dos alelos anormales (llamados frecuentemente o incorrectamente doble heterocigóticos) muestran cuadros clínicos muy variables, pero casi siempre detectables y en estos casos la Hb F está frecuentemente aumentada. Este aumento es muy importante tanto desde un punto de vista teórico como práctico. Desde un punto de vista teórico este hecho plantea el problema de por qué en algunos casos de anemias hemolíticas la síntesis de la cadena gamma no se reprime completamente. Esto indica que el gen responsable de la síntesis de esta cadena puede ser activado en condiciones especiales, que pueden ser de distinto tipo y que no se conocen exactamente.

Sin embargo los datos sobre los porcentajes de Hb F en distintas hemoglobinopatías indican que este gen puede ser activado o reprimido y a partir del estudio de distintas hemoglobinopatías, se espera obtener informaciones sobre esta regulación y posiblemente sobre el cambio de Hb F a Hb A. Los datos

recogidos hasta ahora sólo permiten concluir que la expresión de este gen es variable, como lo indican las distintas cantidades de Hb F presentes en diferentes hemoglobinopatías y aún dentro de cada una de ellas (tabla V).

Desde un punto de vista práctico estas observaciones pueden ser una ayuda valiosa para prever el curso de la enfermedad en un paciente determinado. Esto se aplica especialmente a la A.H.F. que como se sabe es una enfermedad grave y muy difundida en nuestro país. El análisis de un gran número de casos permite concluir que la A.H.F. es en general una anemia hemolítica muy grave, sin embargo pre-

senta cierta variabilidad clínica, desde casos que llevan a la muerte hasta casos casi asintomáticos.^{5,71,75,102}

La mayoría de los pacientes de A.H.F. producen cantidades elevadas de Hb F^{5, 15,18,21,113} y se ha sugerido que la anemia puede estimular la síntesis de Hb F. Efectivamente, hay datos que indican que las transfusiones repetidas disminuyen la producción de la Hb F en estos pacientes. Esta producción es muy variable. Se han reportado porcentajes sólo ligeramente superiores a los niveles normales hasta porcentajes de un 35%^{23,103}. La situación se complica aún más si se comparan las cantidades de Hb F en los dos sexos; se ha informado

TABLA V

NIVELES DE HbF EN ALGUNAS HEMOGLOBINOPATIAS

Diagnostico	Tipos de Hemoglobina	% HbF
Anemia a Hematias Falciformes	S	Hasta 35
Anemia a Hematias Falc./HbC	S y C	Hasta 40
HbC Homocigotico	C	Hasta 7
HbE Homocigotico	E	Hasta 9
HbD Homocigotico	D	Normal
Anemia Hem. Falc./HbD	S y D	Hasta 12
HbG Homocigotico	G	Normal
Anemia Hem. Falc./HbG	S y G	Normal

que en pacientes de más de 15 años el 83% de las mujeres tienen Hb F elevada, mientras que sólo el 26% de los varones presentan tal aumento por lo que se concluye que los varones terminan de sintetizar Hb F después de la pubertad, mientras que las mujeres siguen sintetizándola. Para explicar este hecho se han propuesto factores hormonales.⁶⁴

La mayoría de los autores sugieren una relación entre porcentaje de Hb F y cuadro clínico. Así se ha sugerido que pacientes con Hb F de más de un 12% tienen una sintomatología más ligera comparada a la de pacientes con porcentajes de Hb F por debajo de esta cantidad.⁶⁵ Esto se relaciona con la demostración de que la falciformación disminuye cuando la Hb F está elevada^{28,29}. Se ha demostrado "in vivo" así como "in vitro" que las células que más fácilmente asumen forma de hoz son las que tienen poca Hb F. El contenido en hemoglobina de las distintas células es constante, lo que varía es la relación entre Hb S y Hb F, por lo que se concluye que la síntesis de Hb F en las células destinadas a "falciformarse" es menor que en las otras.^{20,54,103}

El fenómeno de falciformación es afectado por una serie de factores como el pH, la tensión de oxígeno en la sangre, el nivel de las enzimas celulares, la cantidad y el tipo de hemoglobina distinta de la Hb S y otros;^{19,28,29,103,170} se sabe que el heterocigótico para la Hb S, el "doble heterocigótico" Hb S/Hb C, Hb S/Hb D o Hb S/talasémico, así como el Hb S/persistencia hereditaria de la Hb F presentan cuadros clínicos menos severos que el homocigótico para la Hb S, de lo que se deduce que cuanto mayor es el porcentaje de Hb S, mayor el número de células que sufren la "falciformación", más grave la enfermedad.

En general, como se ha señalado, hemos relacionado la gravedad del cuadro clínico con el porcentaje de Hb F, sugiriéndose un efecto de protección por parte de la Hb F, siendo el caso límite el "doble heterocigótico" Hb S/persistencia hereditaria de la Hb F en el cual cantidades elevadas de Hb F distribuida uniformemente en todas las células, impiden la "falciformación" con la consecuente ausencia de cuadro clínico. Esta relación se observa en la mayoría de los casos.

Sin embargo, existen muchas excepciones; así se pueden encontrar pacientes de A.H.F. con baja Hb F y cuadro clínico ligero por un lado y pacientes con alta Hb F y cuadro clínico severo por otro^{71,104}.

Talasemias:

Las talasemias constituyen un grupo de anemias hereditarias producidas por mutaciones en los genes reguladores o alteraciones en los genes estructurales como deleciones, crossing-over y otras (tabla II).⁵² La anormalidad más evidente en los síndromes talasémicos es la disminución de la producción de la Hb A^{32,86}. Esta disminución es la consecuencia de la incapacidad de las células para sintetizar cantidades normales de una de las dos cadenas de la globina. Por lo tanto se pueden definir por lo menos dos tipos de talasemias: alfa talasemia y beta talasemia. En la alfa talasemia está deprimida parcial o totalmente la síntesis de la cadena alfa, mientras que en la beta talasemia está deprimida la síntesis de la cadena beta.¹²² Estas dos formas de talasemia son las más frecuentes. Se han encontrado otras formas más raras, como la delta-beta talasemia, la persistencia hereditaria de la Hb F y las hemoglobinopatías de tipo *Lepore*: en todos estos

casos está deprimida la síntesis de las cadenas beta y delta.^{44,45}

Es evidente que la presencia de un gen talasémico trae como consecuencia alteraciones más o menos notables en las proporciones de las hemoglobinas normales. Los síndromes talasémicos están además caracterizados por una extraordinaria heterogeneidad clínica y bioquímica. Así el cuadro en las talasemias es muy variable, desde una extrema gravedad con curso fulminante que lleva a la muerte en la infancia, hasta formas muy difíciles de diagnosticar.^{101,122} Todas las observaciones indican la existencia de distintas mutaciones que tienen efectos cualitativamente iguales, pero cuantitativamente muy distintas: la talasemia no es una enfermedad, sino una serie de entidades diferentes, que se parecen fenotípicamente, aunque puedan ser la consecuencia de mutaciones diferentes.

Alfa talasemia:

La alfa talasemia es el resultado de una síntesis defectuosa de la cadena alfa. El estado heterocigótico es en general asintomático y por lo tanto muy difícil de diagnosticar. En el recién nacido y en los primeros meses de la vida se puede, a veces, demostrar la presencia de la Hb Bart's que está formada por cuatro cadenas gamma, producidas en exceso con respecto a las cadenas alfa.^{49,127} En el adulto es a veces posible observar la presencia de Hb H, que está formada por cuatro cadenas beta.⁷³ El estado homocigótico es generalmente muy grave y lleva a la muerte antes del nacimiento a consecuencia de la incapacidad de sintetizar Hb F. En muchos casos fallecidos por hidrops fetal se ha observado la presencia de grandes cantidades de Hb Bart's^{76,77}. Esta hemoglobina no es apta para transportar el oxígeno porque tiene una gran afini-

dad para esta molécula; no es funcional fisiológicamente y por lo tanto los individuos portadores de esta hemoglobina no son viables^{77,117}.

Entre estas dos formas extremas existen muchas otras intermedias más o menos graves. Esta observación es muy importante desde un punto de vista clínico y genético. El problema de la alfa talasemia no ha sido todavía aclarado y existen distintas hipótesis para explicar los hallazgos clínicos y bioquímicos^{77,78,85}. En esta entidad la Hb F está presente en cantidades normales o sólo ligeramente aumentadas.⁷³

Beta talasemia:

El término beta talasemia se aplica a todos los trastornos caracterizados por una síntesis defectuosa de la cadena beta de la Hb A^{32,44,45,52,58,122}.

El estado heterocigótico se ha denominado talasemia menor, porque el cuadro clínico en la mayoría de los casos es extremadamente ligero o no existe.

En general se encuentran alteraciones morfológicas, aunque se hayan descrito casos con morfología completamente normal. Sin embargo la talasemia menor presenta gran variabilidad. El estado más común "Microcitemia"^{110,111} es el rasgo talasémico asintomático, en el cual se encuentran ligeras alteraciones morfológicas y fragilidad osmótica disminuida. En el extremo opuesto se encuentran individuos con anemia crónica, esplenomegalia, alteraciones esqueléticas típicas de la forma homocigótica, pero estos casos son mucho más raros. Esta forma heterocigótica grave y poco frecuente puede ser imposible de diferenciar de la forma homocigótica; esto sólo puede hacerse sobre la base de datos clínicos y hematológicos, siendo necesario, como siempre, en las enfermedades hereditarias, el estudio familiar.

En todos los casos heterocigóticos el nivel de Hb A₂ está aumentado, mientras que la Hb F se encuentra dentro de límites normales en alrededor del 50% de los casos y sólo ligeramente aumentada en la otra mitad^{16,122} y por lo tanto su determinación no ayuda en el diagnóstico. Este aumento puede llegar hasta un 5-6%, pero no presenta distribución familiar, por lo que se puede atribuir más bien a factores individuales y ambientales que a factores genéticos.¹⁰ En la tabla VI se presentan algunos casos típicos de heterocigóticos con sus hallazgos clínicos y hematológicos.

No hay relación alguna entre los niveles de Hb A₂, volumen celular, anomalías morfológicas, niveles de Hb F y otros hallazgos hematológicos. Se han informado casos en los cuales se en-

cuentran altos niveles de Hb F y Hb A₂^{109,122}. Estos casos son poco frecuentes y es probable que se trate de individuos "doble heterocigóticos" para la beta talasemia y otro tipo de talasemia que no se puede reconocer en el estado heterocigótico.

Por el contrario la Hb F está siempre elevada en la talasemia mayor (anemia de Cooley), que caracteriza al estado homocigótico.¹²⁴ En esta enfermedad se observa anemia severa, hepatoesplenomegalia, retraso en el crecimiento y un notable desequilibrio en la síntesis de las cadenas de la globina, con disminución en la síntesis de la cadena beta.³²

En los padres de estos sujetos siempre se encuentran altos niveles de Hb A₂ y este dato es necesario para poder hacer el diagnóstico con seguridad; tam-

Tabla VI

Hallazgos Hematológicos en distintos casos Heterocigóticos para la Beta-talasemia

Cuadro Clínico	Hb g/100 ml	PCV	RBC	Retic %	Hb A ₂ %	Hb F %	Morfología	Ref
Asintomático Mayor (U.S.A.)	12.2	43	-	-	5.6	1.5	+	15
Asintomático Caucásico (Alabama)	11.7	41.5	6.62	3.3	5.4	2.6	+	16
Muy ligero Caucásico (Francia)	14.7	47	7.16	1.2	4.82	2.0	+	122
Muy ligero Caucásico (Francia)	13.2	-	5.3	-	4.29	0.90	++	108
Ligero Caucásico (Italia)	12.2	-	4.5	-	3.51	3.02	++	108
Ligero Caucásico (Francia)	11.1	39	6.02	-	5.3	1.2	+	16
Ligero Caucásico (Francia)	10.5	36	5.11	-	6.3	4.6	+	48
Ligero Caucásico (Francia)	12	48	5.20	-	4.5	0	+	73
Severo Caucásico (Francia)	9.4	35	6.06	2.1	4.61	3.5	+	122

bién se encuentran frecuentemente alteraciones morfológicas. La Hb A puede estar presente o ausente y en este caso sólo se encuentran Hb A₂ y Hb F. Hay que señalar que las técnicas que se utilizan generalmente para la determinación de la Hb F son poco confiables para niveles de esta hemoglobina de más de un 70%. Los resultados de esta determinación pueden indicar la presencia de pequeñas cantidades de Hb A; sin embargo, utilizando métodos más sensibles como la electroforesis en gel de agar a pH 6, se puede demostrar su completa ausencia. En la mayoría de los casos la Hb F representa un 30-60%, pero se han encontrado niveles por debajo de un 10% y de más de un 90%^{94, 108}. Estudios sobre la distribución intracelular de la Hb F demuestran que está distribuida de manera heterogénea y que su síntesis no está localizada en un solo clon de células, ya que la mayoría de las células contienen Hb F.¹²²

No existe relación alguna entre cuadro clínico y niveles de Hb F. Además, estos niveles se mantienen constantes después de la esplenectomía.

Se ha sugerido que la producción de Hb F en talasémicos es un fenómeno de compensación, pero no existe evidencia experimental alguna. Al contrario, se ha demostrado que la destrucción de glóbulos rojos con Hb F es menor que la de glóbulos sin Hb F: separando eritrocitos viejos y jóvenes se ha observado que el porcentaje de Hb F en eritrocitos maduros es de un 50 hasta un 300% mayor que en los hematíes jóvenes, lo que indica que la presencia de Hb F en talasémicos es la consecuencia de una mayor supervivencia de los hematíes más hemoglobinizados que contienen Hb F.⁴⁷

En la tabla VII se señalan algunos datos hematológicos y clínicos en homocigóticos.

Delta-Beta talasemia:

En esta forma de talasemia existe una síntesis defectuosa de las cadenas beta y delta.^{44,48,83}

El estado heterocigótico presenta niveles normales o ligeramente bajos de Hb A₂ y niveles elevados de Hb F^{25, 44, 91}. Esta condición es menos frecuente que la beta talasemia heterocigótica, a la cual se parece desde un punto de vista clínico, pero se ha encontrado en distintos países, inclusive en Cuba.⁴²

Característica del rasgo delta-beta talasémico es la cantidad de Hb F que siempre se encuentra elevada, por lo que esta condición ha sido también definida F-talasemia. Estas cantidades, sin embargo, son muy variables desde un 3.5% hasta un 36%.⁴⁴ Como en la beta talasemia la distribución de la HbF es heterogénea.

Se han informado pocos casos homocigóticos para este trastorno y como es de esperar estos sujetos sólo sintetizan Hb F^{25, 91, 107}. Todos estos casos presentan un cuadro clínico relativamente benigno, con anemia microcítica hipocrómica moderada y alteraciones morfológicas.

El estudio de los sujetos homocigóticos indica que existe en la delta-beta talasemia una compensación muy efectiva de la supresión de la síntesis de las cadenas beta y delta por una síntesis suficiente de cadenas gamma, las cuales, combinándose con las cadenas alfa, mantienen niveles de hemoglobina casi normales.

Para los mecanismos genéticos responsables de este trastorno, ver las referencias^{35, 44}.

En las tablas VIII y VIII a) se señalan algunos datos hematológicos y clínicos en heterocigóticos y homocigóticos respectivamente.

Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal:

La persistencia hereditaria de la Hb F es una condición caracterizada por la presencia en la vida adulta, de altos niveles de Hb F^{78,118,122}. Este trastorno en la síntesis de las hemoglobinas se ha encontrado en distintos países, inclusive en Cuba^{17,42,122}. El estado heterocigótico se ha descrito en algunos centenares de individuos. En todos estos casos no existe asociada ninguna anomalía hematológica o clínica, siendo la única alteración la presencia de algunos target-cel's en la periferia.

El nivel de Hb F varía desde un 15 hasta un 35% en los negros,³⁶ mientras que en los blancos se encuentran niveles más bajos que varía de un 10 a un 20% (tipo griego).⁴⁶ Se ha descrito un tercer tipo "swise" con porcentajes aún más bajos de Hb F^{63,123}.

La característica típica de esta condición hereditaria que permite diferenciarla de la delta-beta talasemia a la cual se parece, es la distribución de la Hb F que es homogénea. Este es el único caso, hasta ahora descrito, en el cual la Hb F está presente en todas las células en una forma homogénea, es de

TABLE VII

Hallazgos Hematológicos en distintos casos Homocigóticos para la β -Talasemia

Cuadro Clínico	Hb g/100	PCV	RBC	Retic %	HbA ₂ %	HbF %	Morfología	Ref
Muy Ligero Caucasico Albania	8.3 6.9	30.5 25	5.02 4.50	6.8 5.9	3.9 4.8	11.8 6.2	• •	101
Ligero Negro USA	10.1	34	—	—	3.7	34	••	55
Ligero Negro USA	7.8 8.8	— —	— —	2.7 2.9	5.15 4.30	21 49.8	•• ••	122
Ligero Caucasico Italia	7.3	26	3.82	4.6	2.2	62.2	••	122
Ligero Caucasico Italia	8.8 9.9	— —	— —	5.6 6.4	1.00 1.26	79.0 90.2	•• ••	122
Ligero Caucasico Italia	9.8	—	—	1.5	2.47	11.4	•	122
Severo Caucasico Grecia	6.5	—	—	5	3.86	35	••	122
Severo Caucasico Italia	—	—	—	—	1.26	90.17	••	108
Severo Caucasico Italia	—	—	—	—	2.3 0.80	78 98	•• ••	108
Severo Caucasico Turquia	3.5 3.3 2.8 4.0	14 12 8 18	2.0 2.0 1.4 2.5	— — — —	0.70 2.50 5.70 4.60	54 80 4.3 2.5	•• •• •• ••	4

Hallazgos Hematológicos en distintos casos de Heterocigóticos para la $\delta\beta$ Talasemia

Cuadro Clínico	Hb g/100ml	PCV	RBC	Retic %	HbA ₂ %	HbF %	Morfología	Referencia
Prácticamente Asintomático Caucásico (Grecia)	10.6 11.8 10.6	37 39 36	4.45 4.52 4.09	— — —	2.1 2.8 1.7	16 20 17.2	+ + +	48
Prácticamente Asintomático Caucásico (Grecia)	13.3 13.2 10.6	44 44 34	6.50 6.53 4.84	— — —	2.5 2.9 3.8	13.6 12.4 15	+ + +	48
Prácticamente Asintomático Caucásico Negro (USA)	11.5 12.7 11.8 12.9	38 43 39 42	5.48 5.76 5.61 5.73	1.3 1.2 2.2 0.7	2.55 2.53 2.17 2.24	6.85 9.98 6.12 9.25	+ + + +	35
Prácticamente Asintomático Caucásico (Árabe)	— — —	41 43 42	— — —	— — —	2.1 1.8 2.67	6.5 16 14.5	+ + +	91
Prácticamente Asintomático Caucásico (Italia)	— —	— —	5.4 5.9	— —	1.1 2.7	8.8 8.3	+ +	25
Prácticamente Asintomático Negro (Cuba)	13	40	4.41	2.0	2.15	6.96	+	42

cir, que los niveles de Hb F son iguales en todos los eritrocitos.¹²²

Por lo menos dos casos homocigóticos para la persistencia hereditaria de la Hb F han sido descritos hasta ahora. Estos sujetos no presentan ningún cuadro clínico, sólo marcadas anomalías morfológicas, como hipocromía y microcitosis. El estudio de la hemoglobina muestra la presencia de un 100% de Hb F que es igual a la del cordón umbilical. Este cuadro es idéntico al de la condición homocigótica para la delta-beta talasemia, pero esta última a diferencia de la anterior tiene expresión clínica.

Estos hechos no han sido hasta ahora explicados. Es claro que los fenotipos son diferentes por lo que hay que postular distintos mecanismos genéticos.

Síndromes talasémicos tipo Lepore:

Las talasemias están caracterizadas por cuadros clínicos de distinta gravedad, asociados a cantidades variables de hemoglobinas normales (Hb A, Hb A₂ y Hb F). Existen trastornos en los cuales se encuentran presentes hemoglobinas estructurales anormales, que presentan cuadros clínicos muy parecidos a la talasemia; estos síndromes se pueden definir como de "tipo Lepore", nombre de

TABLA VIII a

**Hallazgos Hematologicos en distintos casos
Homocigoticos para la $\delta\beta$ Talasemia**

Cuadro clinico	Hb g/100 ml	PCV	PBC	Retic %	HbA %	HbF %	Morfologia	Ref
LIGERO <small>Araba</small>	12.3	42	49	3.5	0	100%	++	91
LIGERO <small>CAUCASICO (Italia)</small>	—	—	39	—	0	100%	++	25

la primera hemoglobina de este tipo descrita.⁷

Han sido encontradas hasta ahora por lo menos tres hemoglobinas tipo *Lepore* distintas^{7,13,88} que son frecuentes especialmente en Grecia y en Italia. Sin embargo, se han encontrado también en otros países, incluso Cuba.⁸¹ Algunas de éstas se han detectado sólo en el estado heterocigótico o en asociación con otras hemoglobinopatías, otras también en el estado homocigótico.

Estas hemoglobinas son la consecuencia de una mutación cromosómica. Estudios químicos de las distintas hemoglobinas tipo *Lepore* han permitido determinar el tipo de alteración genética que ha producido estas variantes.^{7,13,88} Se trata de un crossing-over desigual entre un gen beta y un gen delta.⁷ El producto de este gen es una cadena polipeptídica de fusión cuya secuencia N-terminal de aminoácidos es igual a la de la cadena delta y cuya secuencia C-terminal es igual a la de la cadena beta. La diferencia de estructura entre los distintos tipos de hemoglobinas depende del lugar donde este crossing-over se produce. La alteración bioquímica en estos síndromes se caracteriza por lo tanto por un producto de fusión delta-beta que se sintetiza a velocidad muy baja. Esto se refleja en un defecto he-

matológico y un cuadro clínico parecido a la talasemia.¹²²

La Hb F está en casi todos los casos aumentada, lo que es de gran importancia para el diagnóstico. Como ya se ha observado la diferencia entre estos síndromes y la talasemia es la presencia de una hemoglobina anormal. En la tabla IX se comparan las características de los síndromes *Lepore* con los síndromes talasémicos.

Interacciones:

Debido a la presencia de pares de cromosomas en los animales diploides es posible la presencia en el mismo individuo de dos productos diferentes del mismo gen, si cada uno de los dos alelos tiene una mutación diferente. Por lo tanto se puede prever la existencia de individuos "doble heterocigóticos", en los cuales existen dos hemoglobinas anormales distintas en la cadena alfa o en la cadena beta, así como la presencia de hemoglobinas anormales y tal asemia.^{52,75,119,178}

Efectivamente se han encontrado individuos portadores de distintas hemoglobinas (tabla IV) e individuos portadores de una hemoglobina patológica y talasemia. Es justamente por el estudio de individuos "doble heterocigóticos" para el gen talasémico y para una de

Comparación entre síndromes de Hb lepre
con β -Talasemia

	Lepore				β Talasemia			
	Cuadro Clínico	HbA %	HbA ₂ %	HbF %	Cuadro Clínico	HbA %	HbA ₂ %	HbF %
Heterocigótico	Talasemia ligera	Variable	Variable promedio 2%	Siempre aumentada promedio 5%	Talasemia ligera	Variable	Siempre aumentada	Normal hasta 6%
En Combinación con β Talasemia	Variable	0-40	Variable 0.6-3	60-90	—	—	—	—
Homocigótico	Variable general síndrome Talasémico	Ausente	Ausente o baja	70-75	Variable	0-90	Variable	10-30
En Asociación con una Hemoglobina anormal en la cadena β	Variable	Ausente	Baja	10-25	Variable	Variable (0-30)	Aumentada	1-30 Frecuentemente Aument
	Hb Variante 65-80				Hb Variante 60-90			

las hemoglobinas anormales que ha sido posible comprender las bases genéticas de las talasemias.

La primera asociación de este tipo se informó en 1944 en Italia en un sujeto heterocigótico para la beta talasemia y la A.H.F.: el trastorno resultante fue denominado "sickle-cell thalassemia" o "anemia microdrepanocítica".¹¹² Este síndrome es relativamente frecuente y ha sido encontrado en distintos países, inclusive en Cuba.⁸⁹

Los casos de interacción entre la beta talasemia y una hemoglobina anormal alterada en la cadena beta, muestran

una inversión en los porcentajes de Hb A y Hb anormal.⁸ Así en la S/ β talasemia el porcentaje de Hb S siempre es mayor que el porcentaje de Hb A, la cual en algunos casos puede estar ausente, cuando el gen talasémico es completamente inactivo.^{8,108,115} Por esta razón hay que tener cierto cuidado cuando se analizan los resultados electroforéticos: un paciente con A.H.F. con Hb F elevada puede ser confundido con un S/ talasémico o con un S persistencia de la Hb F. Todos estos casos han sido encontrados en nuestro país.^{89,42}

Obviamente como existe la combinación de la A.H.F. con la beta talasemia,

pueden existir otras combinaciones. En todos estos casos de combinación de beta talasemia con una variante hemoglobínica alterada en la cadena beta se observa la inversión de la relación Hb A/Hb anormal (así como en las combinaciones alfa talasemia con una hemoglobina anormal en la cadena alfa), y se define este tipo de talasemia como "interactuante".⁸

Existen casos de combinación entre talasemia y una hemoglobina anormal en los cuales no se observa esta inversión y este tipo se define como "no interactuante". Son todos los casos de combinación entre beta talasemia y una variante alfa, o alfa talasemia y una variante beta.⁸ En la tabla X se presenta un resumen de las características hematológicas de distintos casos de Hb S/Talasemia.

Aunque la relación entre niveles de Hb A y cuadro clínico no es constante, existe una relación entre la cantidad de Hb S y cuadro clínico, como demuestra el hecho que la completa supresión de la síntesis de Hb A lleva a situaciones más graves, parecidas a la A.H.F. La Hb F está aumentada, pero raramente tiene niveles superiores a un 15% y además se encuentra distribuida de manera heterogénea, por lo que no puede jugar un papel protector muy grande contra la falciformación, como en el caso de Hb S/persistencia hereditaria de la Hb F.^{118,122} Esta combinación fue descrita por primera vez en 1955 en África⁴³ y se ha encontrado en distintos países, incluso en Cuba.⁴² Las hemoglo-

binas presentes en estos casos son Hb S, Hb F y Hb A₂ y los porcentajes de estas hemoglobinas son muy parecidos a los que se encuentran en la A.H.F. y a los de la Hb S/ talasemia sin Hb A. Sin embargo, el cuadro clínico es muy diferente, siendo los Hb S/ persistencia hereditaria de la Hb F casi asintomáticos. Se ha explicado esta diferencia sobre la base de la distribución de la Hb F, que en este caso se encuentra distribuida uniformemente en todos los eritrocitos.²⁷ Experimentos de determinación de la vida media de los eritrocitos demuestran que eritrocitos con baja Hb F se destruyen prematuramente, mientras que la presencia de Hb F protege las células de la destrucción en bazo.⁵⁶ Se sugiere por lo tanto, que la presencia en cada célula de cantidades considerables de Hb F protege esas células de la falciformación fisiológica.^{22,56}

Otra combinación del gen falcémico con un síndrome talasémico es la Hb S/delta-beta talasemia, que aunque no muy frecuente se ha encontrado en distintos países.⁴⁴

Esta combinación es difícil de distinguir de la combinación Hb S/ persistencia hereditaria de la Hb F, aunque en general se presenta con un cuadro clínico más grave.

Las bases genéticas y bioquímicas que caracterizan cada uno de estos trastornos han sido discutidas en distintos trabajos.^{8,44,86,122,124,130}

En la tabla XI se señalan los hallazgos en varias combinaciones.

TABLA X

Hallazgos Hematologicos en
distintos casos de S/Talasemia

RAZA	CUADRO CLINICO	HbA %	HbS %	HbF %	Ref
Negro U.S.A	NO ANEMIA	29.9	63.1	3.1	92
Negro U.S.A.	NO ANEMIA	22.2	74	3.8	121
Caucasico (Grecia)	ANEMIA LIGERA	0	90	10	68-132
Negro U.S.A.	ANEMIA LIGERA	11.6	79.9	8.5	114
Negro U.S.A.	ANEMIA	17	82	1.0	12
Caucasico (Grecia)	ANEMIA	20	61	19	87
Negro U.S.A.	ANEMIA SEVERA	0	91	9	115
Negro U.S.A.	ANEMIA SEVERA	0	93.6	6.4	121
Afro - Chino	ANEMIA SEVERA	0	84	16	129
Caucasico Italia	ANEMIA SEVERA	0	92	8	26
Caucasico Italia	ANEMIA SEVERA	0	87.8	12.2	97
Caucasico Turquia	ANEMIA SEVERA	1.5	77.3	16	1
Caucasico Turquia	ANEMIA SEVERA	—	—	25	3

Niveles de Hemoglobina Fetal en
distintas Hemoglobinopatias y Talasemias

	Heterocigotico	Homocigotico	"Doble Heterocigotico"
β Talasemia	Normal o ligeramente aumentada	Generalmente entre 50 - 90%	—
δ - β Talasemia	4-20%	100%	—
Persistencia Hereditaria de la Hemoglobina Fetal	Tipo Suizo 25-4% Tipo Griego 10-20% Tipo Negro 20-35%	100%	—
Hb Lepore	Normal o ligeramente aumentada	72-75%	—
Siclemia	Normal	5-35%	—
S/β Talasemia	—	—	1.0 - 25%
$S/\text{Persistencia HbF}$	—	—	15 - 39%
HbS/Hb Lepore	—	—	10 - 25%
β Talasemia/Lepore	—	—	46 - 90%
β Talasemia/persistencia Negro USA / HbF	—	—	65 - 75%
β Talasemia/HbF Griego CAUCASICO	—	—	25 - 45%

SUMMARY

Colombo Bruno. *Fetal hemoglobin levels in hemoglobinopathies and thalassemias.* Rev. Cub. Ped. 43: 4, 1971.

Fetal hemoglobin is frequently found in high concentrations in several diseases. Its determination is important and sometimes necessary for the diagnosis of many hematological disorders. High proportions of HbF are found in some acquired as well as many congenital anemias. In this brief review the increase of HbF concentration has been discussed in several cases of hemoglobinopathies and thalassemias. The genetical bases of these disorders have been briefly discussed and the variation of HbF in many hemoglobinopathies has been analysed, in particular sickle-cell anemia. The variation of HbF in different thalassemias has also been considered, giving special emphasis to β -thalassemia, $\delta\beta$ -thalassemia, hereditary persistence of HbF, Lepore hemoglobins and some cases of interaction between them. All these disorders have been found in Cuba.

RESUME

Colombo B. *Niveaux d'hémoglobine fétale dans hémoglobinopathies et thalassémies.* Rev. Cub. Ped. 43: 4, 1971.

L'hémoglobine fétale est présente en quantités élevées dans quelques maladies. Sa détermination est donc importante et parfois indispensable pour pouvoir diagnostiquer quelques troubles hématologiques. Cette augmentation dans la proportion de HbF est trouvée dans quelques anémies acquises et dans beaucoup de cas d'anémies congénitales. Dans ce

travail on discute l'augmentation de la Hb F dans quelques hémoglobinopathies et thalassémies. On a discuté les bases génétiques de ces maladies et on a analysé la variation de la Hb F dans quelques hémoglobinopathies, avec emphase particulier dans l'anémie de cellules falciformes; dans les thalassémies, spécialement dans la beta-thalassémie, la delta-beta-thalassémie, persistance héréditaire de l'hémoglobine fœtale et hémoglobinopathies du type Lepore ainsi que quelques cas d'interaction entre ces diverses maladies qui ont été trouvées à Cuba.

РЕЗЮМЕ

Коломбо Бруно . Уровни плодного гемоглобина при гемоглинопатии и талаземии . Rev. Cub. Ped. 43, 4, 1971.

Плодная гемоглобина находится в больших количествах в разных болезнях . Ее определение является очень важным и иногда необходимым для установления диагноза некоторых гематологических нарушений . Такой уровень в количестве Hb F находится в некоторые приобретенных анемии в многих случаях врожденных анемии . В этом статье был анализирован увеличение Hb F в некоторые гемоглинопатии и талаземии . Обсуждали генетические основы этих болезней и анализировали изменения Hb F при гемоглинопатиями , уделяя особое внимание на хрепаноцитарной анемии , при талаземии уделяя особая внимания на В-талаземии , БВ талаземии , наследственная постоянство В- гемоглинопатии и гемоглинопатии типа - Лепоре и некоторые случаи в взаимодействии между этими разными болезнями встречались на Кубе .

BIBLIOGRAFIA

- 1.—L. Aksoy, M.: Blood 22: 757, 1963.
- 2.—Aksoy, M. and Secer, F.: Acta Haematol. 32: 188, 1964
- 3.—Aksoy, M.: Acta Haematol. 37: 181, 1967.
- 4.—Aksoy, M. and Erdem, S.: Ann N. Y. Acad. Sci., 165: 13, 1969
- 5.—Ali, S. A.: Brit. J. Haematol.; 19: 613, 1970.
- 6.—Allen, D. W., Wyman, J. and Smith C. A.: J. Biol. Chem 203: 81, 1953.
- 7.—Baglioni, C.: Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 48: 1880, 1962.
- 8.—Baglioni, C.: Correlations between Genetics and Chemistry of Human Hemoglobins. In: H. Taylor, Ed. Molecular Genetics, Ac. Press 1963.
- 9.—Baglioni, C.: Nature, 198: 1117, 1963.
- 10.—Baglioni, C.: Le Talassemie. Un Errore Quantitativo della Sintesis de Hemoglobina. XXX Congreso Ital. Ped. Catania, 1964.
- 11.—Baglioni, C. and Colombo, B.: Cold Spring Harb. Symp. Quant.: Biol XXIX. 347, 1964.
- 12.—Banks, I. O., Scott, R. B. and Simmons, J.: Am. J. Dis. Child, 84: 601, 1952.
- 13.—Barnabas, J. and Muller, C. J.: Nature, 194: 931, 1962.
- 14.—Bartolozzi, G. and Marianelli, C.: Acta Haematol., 35: 214, 1966.
- 15.—Beaven, G. H., Ellis, M. J. and White, J. C.: Brit. J. Haematol., 7: 169, 1961.
- 16.—Beaven, G. H., Ellis, M. J. and White, J. L.: Brit. J. Haematol., 6: 201, 1960.
- 17.—Becker, J.: Ann. Int. Med., 65: 1071, 1966.
- 18.—Bellingham, R. and Huchns, E. R.: Nature, 218: 924, 1968.
- 19.—Benesch, R. and Benesch, R. E.: Biochem. Biophys. Res. Comm., 26: 162, 1967.
- 20.—Bertles, J. F. and Milner, P. F. A.: J. Clin Invest., 47: 1731, 1968.
- 21.—Bickers, J. N.: Ann Int. Med., 64: 1028, 1966.
- 22.—Bradley, T. B. and Conley, C. L.: Trans. Ass. Amer. Phys 73: 72, 1960.
- 23.—Bradley, J. B. Jr., Browner, J. L. III and Conley, C. L.: Bull Johns Hopkins Hosp. 108: 242, 1961.
- 24.—Bradley, T. B., Wohl, R. C. and Rieder, R. F.: Science, 157: 1581, 1967.
- 25.—Brancati, C. and Baglioni, C.: Nature, 212: 262, 1966.
- 26.—Brown, D. E. and Ober, W. B.: Am. J. Obst. Gyn., 75: 773, 1958.
- 27.—Capp, G. L., Rigas, D. A., Jones, R. T.: Nature, 228: 278, 1970.
- 28.—Cawein, M. J., O'Neil, R. P., Danzer L. A. Lappat, E. J. and Roach, T.: Blood 34: 682, 1969.
- 29.—Charache, S. and Conley, C. L.: Blood, 24: 25, 1964.
- 30.—Charache, S. and Conley, C. L.: Am. N. Y. Acad. Sci., 165: 37, 1969.
- 31.—Chernoff, A. I.: New Engl. J. Med., 253: 322, 1955.
- 32.—Clegg, J. B., Weatherall, D. J., Nakorn, S. and Wasi, P.: Nature, 220: 664, 1968.

- 33.—*Coelho, G. and Simmons, C.*: Indian J. Child. Health, 9: 274, 1961.
- 34.—*Colombo, B., de la Torre, E.*: Observaciones no publicadas.
- 35.—*Comings, D. and Motulsky, A. G.*: Blood, 28: 54, 1966.
- 36.—*Conley, C. L., Weatherale, D. J., Richardson, M. K. and Charache, S.*: Blood, 21: 261, 1963.
- 37.—*Cook, C. D., Brodie H. A. and Allen, D. W.*: Pediatrics, 20: 272, 1957.
- 38.—*Crowley, J. Ways P. and Jones, J. W.*: J. Clin. Invest., 44: 989, 1965.
- 39.—*Dayhoff, M. O. and Eck, R. V.*: Atlas of Protein Sequence and Structure: National Biochem. Res., 1967, 1968.
- 40.—*De Jong, W. W. W.*: Ph. D. Thesis University of Leiden, 1969.
- 41.—*De Jong, W. W. W., Went, L. N. and Bernim, L. F.*: Nature, 220: 788, 1968.
- 42.—*De la Torre, E., Pérez Atencio, R. and Colombo, B.*: Rev. Cubana Ped., 42: 91, 1970.
- 43.—*Edington C. M. and Lehmann, A.*: Brit. Med. J.: 1, 1308, 1955; 2, 1328, 1955.
- 44.—*Fessas, P.*: The Heterogeneity of Thalassemia: Proc. XII Congress, Int. Soc. Haematol., P. 52, New York, 1968.
- 45.—*Fessas, P.*: The Disturbance of Hemoglobin Synthesis in Thalassemia: The International Symp. of Comparative Hemoglobin Structure, Thessaloniki, p. 51, 1966.
- 46.—*Fessas, P. and Stamatoyanou Poulos, G.*: Blood, 24: 223, 1964.
- 47.—*Gabuzda, T. G., Nathan, D. G., Gardner, F. H., Council, A. and Limauro, A. J.*: Clin. Invest., 42: 1678, 1963.
- 48.—*Gabuzda, T. G., Nathan, D. G. and Gardner, F. H.*: New Engl. J. Med., 270: 1212, 1964.
- 49.—*Goldstein, J., Konigsberg, and Hill, R. J.*: Biol. Chem., 238: 2038, 1963.
- 50.—*Grimes, H. J., Meister, A. and Dacie, J. V.*: Brit. J. Haematol., 10: 281, 1964.
- 51.—*Grode, H. E.*: Ann. Int. Med., 65: 321, 1966.
- 52.—*Harris, H.*: The Principles of Human Biochemical Genetics: North Holland Publishing, P. 97: 1970.
- 53.—*Harris, J. W.*: Funciones de los Factores Físicos y Químicos en el Fenómeno de la Falciformación: En "Progresos en Hematología", Tocantina, L. M. E., Pág. 49, 1961.
- 54.—*Heller, P.*: Blood, 25: 10, 1965.
- 55.—*Heller, P., Yakilis, V. J., Rosenzweig, A. I., Abilgald, C. F. and Rucknagel, D. L.*: ANN. Int. Med., 64: 52, 1966.
- 56.—*Herman, E. C. and Conley, C. L.*: Am. J. Med., 29: 9, 1960.
- 57.—*Horton, B. F., Hahn, D. A., and Huisman, T. J.*: Acta Haematol., 33: 312, 1965.
- 58.—*Huehns, E. R. and Modell, C. B.*: Trans. Rog. Soc. Trop. Med. Hyg. 61: 157, 1967.
- 59.—*Huehns, E. R., Dance, N., Beaven G. H., Hecht, F. and Motulsky A. G.*: Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. XXIX, 327, 1964.
- 60.—*Huehns, E. R., Flynn, F. V., Buler, E. A., and Shooter, E. M.*: Brit. J. Haematol. 6: 388, 1960.
- 61.—*Huehns, E. R., Hecht, F., Keil, J. W. and Motulsky, A. G.*: Proc. Natl. Acad. Sci., 51: 89, 1964.
- 62.—*Huisman, T. H., Horton, B. and Bridges, M. T.*: Clin. Chim. Acta.: 5, 709, 1960.
- 63.—*Hutchison, H. E.*: An Introduction to Haemoglobinopathies. E. Arnold Publ. London, 1967.
- 64.—*Isaacs, W. A.*: Nature 215: 1139, 1967.
- 65.—*Jackson, J. F., Odom, J. L. and Bell, W. N.*: J. Am. Med. Ass. 177: 867, 1961.
- 66.—*Jones, R. T.*: Nature 192: 983, 1961.
- 67.—*Jones, R. T., Brimhall, B., Huisman, T. H., Kleihauer, E. and Betke, K.*: Science 154: 1024, 1966.
- 68.—*Josephson, A. M.*: Proc. Int. Soc. Haemat. Boston 1958.: Blood 12: 90, 1958.
- 69.—*Josephson, A. M., Masri, M. S., Singer, I., Dworkin, M. and Inger, K.*: Blood, 13: 543, 1958.
- 70.—*Joshi, K. C. and Dube, M. K.*: J. Indian Med. Ass. 49: 61, 1969.
- 71.—*Kaltsoya, A., Fessas, P. and Stavropoulos, A.*: Science, 153: 1417, 1966.
- 72.—*Kattamis, C. and Lehmann, H.*: The Lancet, September, 1970, P. 635.
- 73.—*Kattamis, C. and Lehmann, H.*: Human Heredity 20: 156, 1970.
- 74.—*Konigsberg, W., Guidotti, C. and Hill, R. J.*: Biol. Chem. 236: 55, 1961.
- 75.—*Lehmann, H. and Huntsman, R. G.*: Man's Haemoglobins, North-Holland Publishing Co., Amsterdam, 1966.
- 76.—*Lie Injo, L. E.*: Blood 22: 581, 1962.
- 77.—*Lie Injo, Luang Eng., Lie Hong, G., Ager, J. A. M. and Lehmann, H.*: Brit. Med. J. 8: 1, 1962.
- 78.—*Mc. Iver, J. E., Went, L. N. and Irvine, R. A.*: Brit. J. Haematol. 7: 373; 1961.
- 79.—*Marti, H. R.*: Acta Haematol., 26: 65, 1961.
- 80.—*Marti, H. R., Beale, D., and Lehmann, H.*: Acta Haematol., 37: 164, 1967.
- 81.—*Martinez, C. Savio, A. y B. Colombo:* Resultados no publicados.
- 82.—*Mollica, F.*: Ped., 70: 231, 1962.
- 83.—*Motulsky, A. G.*: Cold Spring. Harb. Symp. Quant. Bil. XXIX, 399, 1964.
- 84.—*Murayama, M.*: Science, 153: 145, 1966.
- 85.—*Nanakorn, S. Wasi, P., Pornpatkul, M. and Pootrakul, S.*: Nature 223: 60, 1970.
- 86.—*Nathan, D.*: Am. J. Med., 41: 815, 1966.

87. Neel, J. W., Itano, H. A. and Laurence, J. S.: *Blood*, 3: 434, 1953.
88. Ostersag, O. and Smith, R.: *Europ. J. Biochem.*, 10: 371, 1969.
89. Pérez Atencia, R., de la Torre, E., Colombo, B.: Observaciones no publicadas.
90. Pottrukul, S., Wasi, P. and Na-Nakom, S.: *Brit. J. Haematol.*, 13: 303, 1967.
91. Ramot, B., Ben Bassai, I., Cafni, D. and Zannon, R.: *Blood*, 35: 158, 1970.
92. Reynolds, W. A.: *Ann. Int. Med.* 57: 121, 1962.
93. Rhinesmith, A. S., Schroeder, W. and Pauling, L.: *J. Am. Chem. Soc.*, 79: 4682, 1957.
94. Rich, A.: *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 38: 187, 1952.
95. Rieder, R. F. and Bradley, T. B.: *Blood*, 32: 355, 1968.
96. Rieder, R. F. and Naughton, M. A. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 116: 17, 1964.
97. Russo, G. and Mollica, F.: *Acta Haematol.*, 28: 329, 1962.
98. Schneider, R. G., Veda, S., Alperin, J. D., Brimball, B. and Jones, R. T.: *New England J. Med.* 280: 739, 1969.
99. Schroeder, W. A., Huisman, T. H., Shelton, J. R., Shelton, J. B., Kleihauer, F. F., Dozy, A. M. and Robberson, B.: *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 60: 537, 1968.
100. Schroeder, W. A., Shelton, R., Shelton, J. B., Cormick, J. and Jones, R. T.: *Biochemistry*, 2: 992, 1963.
101. Schuartz, E.: *New Eng. J. Med.*, 281: 1327, 1969.
102. Serjeant, G. R.: *West. Ind. Med. Journal* 19: 1, 1970.
103. Serjeant, G. R.: *Brit. J. Haematol.* 19: 635, 1970.
104. Serjeant, G. R., Richards, R., Barboux, P. R. H. and Milner, P. F.: *Brit. Med. J.* 3: 36, 1968.
105. Shalhidi, N. T., Gerald, P. S. and Diamond, L. K.: *New England, J. Med.* 266: 117, 1962.
106. Sheperd, M. K., Weatherall, D. J. and Cowley, L. L.: *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 110: 293, 1963.
107. Silvestroni, E., Bianco, I. and Reitano, G.: *Acta Haematol.*, 40: 220, 1958.
108. Silvestroni, E., Bianco, I. and Graziani, B.: *Brit. J. Haematol.*, 14: 303, 1968.
109. Silvestroni, E., Bianco, I., Mazzolini, M., Modiano, G. and Vallisner, E.: *Prog. Med.*, 13: 706, 1957.
110. Silvestroni, E. and Bianco, I.: *Min. Med.*, 37: 206, 1946.
- 111.—Silvestroni, E. and Bianco, I.: The Distribution of the Microcythaemias in Italy in Abnormal Haemoglobins: A Symposium, Ed. Jounis, J. H. P. and Delafresnoye, J. F., p. 242, 1959. Blackwell Sci., Pub. Ltd., Oxford.
- 112.—Silvestroni, E. and Bianco, I.: *Bull. Acad. Med.*, 70: 347, 1944.
- 113.—Singer, K.; Chernoff, A. J. and Singer, L.: *Blood*, 6: 413, 1951.
- 114.—Singer, L.; Singer, L. and Goldberg, S. R.: *Blood*, 10: 405, 1955.
- 115.—Singer, K.; Josephson, Am.; Singer, L.; Heller, P. and Zimmerman, H. J.: *Blood*, 12: 593, 1957.
- 116.—Steadman, J. H.; Yates, A. and Huchus, E. R.: *Brit. J. Haematol.*: 18: 935, 1970.
- 117.—Todd, D.; Lai, M. and Braga, L. A.: *Brit. Med. J.*: 3: 347, 1967.
- 118.—Thompson, R. B.; Mitchener, J. W. and Huisman, T.: *Blood*, 18: 267, 1961.
- 119.—Venturato, V.: *Acta Haematol.*, 37: 266, 1967.
- 120.—Watson, William, E. J.; Beale, D.; Irvine, D. and Lebinan, H.: *Nature*, 205: 1273, 1965.
- 121.—Weatherall, D. J.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*: 119: 450, 1964.
- 122.—Weatherall, D. J.: *The Thalassaemia Syndromes*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1965.
- 123.—Weatherall, D. J.: *The Thalassaemia*. Sternberg, A. G. and Bearn, A. G. Ed.: *Progress in Medical Genetics*, Vol. 5: p. 8, 1967. Grune and Stratton.
- 124.—Weatherall, D. J.: *Brit. J. Haematol.*, 16: 251, 1969.
- 125.—Weatherall, D. J.; and Baglioni, C.: *Blood*, 21: 675, 1962.
- 126.—Weatherall, D. J. and Boyer, J. H.: *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 110: 8, 1962.
- 127.—Weatherall, D. J.; Sigler, A. R. and Baglioni, C. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 11: 143, 1962.
- 128.—Weatherall, D. J.; Clegg, J. B.; Blankson, J. and McNeil, J. H.: *Brit. J. Haematol.*, 17: 517, 1969.
- 129.—Went, L. N. and Mc Iver, J. E.: *Lancet*, 2: 824, 1958.
- 130.—Went, L. N. and Shokker, R. C. *Rev.*: 10th Cong. Europ. Soc. Haematol. Part. II, p. 273, 1965, Strasbourg.
- 131.—Zipursky, A.: *Seminars in Hematology*, 2: 167, 1965.
- 132.—Zuelzer, W. W.: *Abnormal Haemoglobins. A Symposium* (Ed. Duxis, J. H. D. Delafresnoye) p. 100. Blackwell Oxford, 1959.

Reconocimiento:

Nuestro agradecimiento a los doctores: Eva Svarch, Ernesto de la Torre, Alberto Carmena, por haber revisado y aportado sugerencias a este trabajo. Asimismo al Cro. Gregorio de la Puente por sus dibujos.