

ANORMAL HEMOGLOBİNLER

Doç. Dr. Canan Vergin

Dr.Behçet Uz Çocuk Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi, İZMİR
e-mail: cvergin@gmail.com

Normal hemoglobin zincirlerindeki amino asitlerdeki yer değişikliği, çesitli füzyon ve mutasyonlarla ortaya çıkan anormal hemoglobinler Türkiye'de β -talasemi'den sonra en sık görülen hemoglobinopatilerdir.

Normal erişkin bir insanda hemoglobinin %95-97'sini meydana getiren HbA molekülü, yapısında iki alfa (α) ve iki de beta (β) globin zinciri ($\alpha_2\beta_2$) zincirinden meydana gelen tetramer yapıda bir metaloproteindir. Fetal hayat ve yenidoğanın major hemoglobini olan HbF ($\alpha_2\gamma_2$)ise iki alfa ve iki gama (γ) zincirinden meydana gelmekte olup normal erişkin insanda düzeyi %1'in altındadır. Yapısında iki alfa ve iki delta (δ) zinciri bulunan HbA2 ($\alpha_2\delta_2$) normal erişkinde %2-3 oranında bulunur. Embriyonik hayatın erken dönemlerinde sentezlenen Hb Gower [Hb Gower I ($\zeta_2\epsilon_2$) ve Gower II ($\alpha_2\epsilon_2$)] ve Hb Portland'ın [Portland I ($\zeta_2\gamma_2$) ve Portland II ($\zeta_2\beta_2$)] yapısında yer alan alfa benzer zinciri zeta (ζ), beta benzer zincirleri ise epsilon (ϵ) ve gama (γ) dir. İnsan hemoglobinlerinin yapısı, fetus ve erişkindeki miktarı tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Normal insan hemoglobinleri (* Total hemoglobinin %'si)

Hb cinsi	Yapısı	Erişkindeki miktarı	Fetusta bulunan miktar ve yapım zamanı
Hb Gower 1	$\zeta_2\epsilon_2$	-	İlk üç ayda
Hb Gower 2	$\alpha_2\epsilon_2$	-	İlk üç ayda
Hb Portland 1	$\zeta_2\gamma_2$	-	İlk üç aydan sonra ve kordon kanında
Hb Portland 2	$\zeta_2\beta_2$	HbH ve α -talasemi taşıyıcılarında az miktarda	İlk üç aydan sonra
Hb F	$\alpha_2\gamma_2$	%1-2*	İntrauterin 10-12.haftada
Hb A2	$\alpha_2\delta_2$	% 2-3*	Üçüncü trimesterde
Hb A	$\alpha_2\beta_2$	% 95*	6-8. haftada yapımı başlar

Hemoglobin sentezindeki kalıtsal anormallikler bir ya da daha fazla Hb polipeptid zincirlerinin azalmış sentezine veya yapısal olarak anormal Hb varyantlarına bağlı

gelişir. Hemoglobinin yapısında bulunan globin zincirlerinin yapılarındaki aminoasit değişikliği ile anormal hemoglobinler veya Hb varyantları oluşmaktadır. Bu değişim pek çoğunun fonksiyonunu değiştirmedeği gibi klinik bir semptom da göstermemektedir. Bazı anormal hemoglobinler ise yapısal özelliklerine bağlı olarak polimerleşme (HbS), kristalleşme (HbC) veya dayanıksız olmaları nedeniyle hemolitik anemiye neden olurlar. Oksijen afinitesinde artış gösteren anormal hemoglobinler eritropoezi artırırken, afinitede azalmaya neden olanlar ise siyanoz ile kendini gösterir. Bazı hemoglobin varyantları da talasemik fenotip göstermektedirler.

Anormal hemoglobinler fonksiyonel karakterlerine ya da yapısal anormalliklerine göre sınıflandırılabilirler (Tablo 2). Yapısal özelliklerine göre bir veya iki aminoasit değişimi, aminoasit eklenmesi veya çıkarılması ya da iki farklı polipeptidin birleşmesiyle meydana gelen hibrid zincirler (füzyon Hb) şeklindedir. Günümüzde total anormal Hb varyant sayısının 909'a ulaştığı belirtilmiştir. Çeşitli Hb moleküllerinin yapısında yer alan zincirler ve bunlar üzerinde meydana gelen değişiklikler aşağıda gösterilmiştir (Tablo 3).

Tablo 2. Anormal hemoglobinlerin sınıflandırılması

- | |
|--|
| <p>A) Anormal hemoglobinlerin moleküler baza dayalı sınıflandırılması</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Bir amino asitin yer değiştirmesi
En sık görülenler: HbS, HbC, Hb D Los Angeles, Hb O Arab 2. Aminoasit delesyonu (Hb Freiburg) 3. Füzyon hemoglobinler (Hb Lepore) 4. Uzamış subünite (Hb Constant Spring) <p>B) Klinik önemlerine göre sınıflandırma</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Orak Hücre Sendromu <ol style="list-style-type: none"> a) Orak hücre taşıyıcıları b) Orak hücre hastalığı
(Hb S-S; Hb S-C; Hb S-D Los Angeles; Hb S-O Arab) 2. Unstable Hemoglobinler 3. Anormal oksijen afinitesi gösteren hemoglobinler <ol style="list-style-type: none"> a) Yüksek afinite: Ailesel eritrositoz b) Düşük afinite: ailesel siyanoz 4. M hemoglobinler 5. Talasemik fenotip gösteren yapısal varyantlar
Hb Lepore
Hb E |
|--|

Tablo 3: Anormal hemoglobinlerin yapısında yer alan α , β , δ ve γ globin varyantları

Bozukluk	Toplam	α zinciri	β zinciri	δ zinciri	γ zinciri
Bir a.a.değişimi	759	253	405	34	67
İki a.a. değişimi	29	1	23	0	5
Delesyon (çıkarma)	21	9	12	0	0
İnserion (eklenme)	7	5	2	0	0
Delesyon/insersion	11	0	11	0	0
Uzamış zincir	18	9	9	0	0
Füzyon (birleşme)	18	0	9	8	1
Toplam	863	277	471	42	73

Bunlardan 277 tanesi alfa, 471 beta, 73 gama, 42 delta, 29 iki amino asit değişimi aynı zincirde, 18 füzyon, 18 uzamış zincir ve 39 tanesinde delesyon, inserion veya delesyon/insersionun birlikte bulunduğu gösterilmiştir.

Alfa, beta, gamma veya delta zincirlerindeki amino asitlerde yer değişikliği, çeşitli füzyon ve mutasyonlar sonucu ortaya anormal hemoglobinlerin dünyadaki dağılımı coğrafi bölgelere ve etnik gruplara göre değişmektedir. Milyonlarca insanın etkilendiği anormal hemoglobinlerden en yaygın olanları S, C, D-Punjab ve E'dir. Sık görülen HbS'nin Afrika kıtasındaki bazı yörelerde dağılımı %40-50 civarındadır. Anormal hemoglobin varyantlarından 33 tanesi ülkemizde gözlenmiş olup bunlardan 7 tanesi ilk olarak Türklere gösterilmiştir. Ülkemizde belirlenen anormal hemoglobinlerden en önemlisi Hb S olup, daha az oranda Hb D Los Angeles (β -121) ve Hb O Arab (β -121) görülmektedir. HbC ise birkaç vakada gösterilmiş, diğer anormal hemoglobinler ise çok az sayıda olguda tanımlanmıştır (Tablo 4). Bunların dışında Hb J Ankara (β -10 (A7) Ala-Asp); Hb Ube II (α -68 Asn-Asp) ve Hb J Iran (β -77 (EF1) His-Asp) gibi varyantlar; ilk kez Türkiye'de saptanmış anormal hemoglobinlerden Hb Ankara, Hb Antakya, Hb Başkent, Hb İstanbul, Hb Çapa, Hb Adana, Hb Hakkari; yurtdışında çalışan Türk işçilerinde ilk kez bulunan anormal hemoglobinlerden Hb J Anatolia, Hb Moabit bulunmuştur.

Tablo 4. Türkiye’de belirlenen anormal hemoglobinler

Hb Adı	Mutasyon	Bulunduğu yöre	Yazarlar
Hb Adana*	α 2-59 Gly→Asp	Adana	Çürük ve ark.
Hb Ankara*	β -10 Ala→Asp	Kastamonu	Arcasoy ve ark.
Hb J Antakya*	β -65 Lys→Met	Antakya	Huisman ve ark.
Hb Beograd	β -121 Glu→Val	Göçmen	Arcasoy ve ark.
Hb Brockton	β -138 Ala→Pro	İstanbul	Ulukutlu ve ark.
Hb C	β -6 Glu→Lys	İzmir, Adana	Göksel/Kılınç/Özsoylu
HbD-Los Angeles	β -121 Glu→Gln	Birden fazla bölgede	Dinçer/Çavdar/Özsoylu
Hb E	β -26 Glu→Lys	Birden fazla bölgede	Aksoy/Arcasoy/Altay
Hb E Saskaton	β -22 Glu→Lys	Kayseri	Prozorova/Gürgey
Hb F-Başkent*	γ 128 Ala→Thr	Ankara	Altay ve ark.
Hb G-Coushatta	β -22 Glu→Ala	Kastamonu, Denizli	Dinçol/Sözmen
Hb Hakkari*	β -31 Leu→Arg	Hakkari	Gürgey ve ark.
Hb Hamadan	β -56 Gly→Arg	Batı Trakya	Dinçol ve ark.
Hb City of Hope	β -69 Gly→Ser		Kutlar ve ark.
Hb İstanbul*	β -92 His→Gln	Göçmen	Aksoy ve ark.
Hb J-İran	β -77 His→Asp	Ankara	Arcasoy ve ark.
Hb Knossos	β -27 Ala→Ser		Kutlar ve ark.
Hb Köln	β -95 Val→Met	Malaya	Gürgey ve ark.
HbLepore-Boston	Fusion Hb	Diyarbakır, K. Kıbrıs	Çavdar ve ark.
Hb M-İwate	α -87 His→Try	Bursa	Özsoylu ve ark.
Hb Moabit	α -86 Leu→Arg	Denizli	Knuth ve ark.
Hb N-Baltimore	β -95 Lys→Glu	Antalya	Bircan ve ark.
Hb O-Arab	β -121 Glu→Lys	Kütahya, Kıbrıs, Trakya	Altay/Cin/Aksoy
Hb O-Padova	α -30 Glu→Lys	Adana	Kılınç ve ark.
Hb Q-İran	α -75 Asp→His	Adana, Batı Trakya	Aksoy ve ark.
Hb P-Nilotic	α - (β - δ) ₂	Orta Anadolu	Altay ve ark.
Hb Ube-2	α -68 Asn→Asp	Kayseri	Bilgin ve ark.
Hb Summer Hill	β -52 Asp→His	Kuzey Kıbrıs	Cin ve ark.
Hb J-Anatolia	α -61 Lys→Thr		Giardano ve ark.
Hb Strumia	α -112 His→Arg	Bursa	Akar ve ark.
Hb Çapa*	α -94 Asp→Gly	Kars	Dinçol ve ark.
Hb J-Meerut	α -120 Ala→Glu		Yalçın ve ark.
Hb J-Paris I	α -12 Ala→Asp	Çukurova	Dikmen ve ark.

Hb S (β 6 Glu→Val) dünyada en sık görülen ve ilk belirlenen anormal Hb varyantı olup, klinik açıdan çok önemlidir. Karakteristik bir coğrafi dağılım gösteren varyant

en sık Afrika'da ve bu kıtadan göç eden siyahların yaşadığı ülkelerde, daha az sıklıkla Akdeniz Ülkeleri, Suudi Arabistan ve Hindistan'ın bazı bölgelerinde gözlenir. Ülkemizin güneyinde yer alan Çukurova bölgesinde (Antakya, Adana ve İçel) OHA taşıyıcılık prevalansı %25 olarak tespit edilmiş olup, taşıyıcılık oranı bazı köy ve kasabalarda %44'e kadar ulaşmaktadır. Orak hücre anemisi ve taşıyıcıları elektroforez ile belirlendikten sonra taşıyıcıların evlenmesi durumunda gebeliğin 10-12. haftasında DNA analizi ile prenatal tanı yapılarak hasta çocukların doğması önlenmektedir.

Bu hastalık resesif olarak kalıtılan, 11. kromozomun kısa kolu üzerinde yer alan β -globin gen mutasyonları sonucu oluşmaktadır. Orak hücre anemisine neden olan Hb S molekülü β -globin zincirindeki bir aminoasit değişimiyle ortaya çıkmakta ve β -globin geninin 6. pozisyonundaki A \rightarrow T dönüşümü ile glutamik asit yerine valin (GAG \rightarrow GTG) geçmektedir. Bu aminoasit değişikliği ile oluşan HbS'in deoksijenize durumda çözünürlüğü azalarak eritrositler içinde çökmesi sonucu oraklaşma meydana gelmektedir. Bu mutasyonun homozigot olduğu bireylerde orak hücre hastalığı (HbSS) görülmekte, bulgular yaşamın altıncı ayından sonra ortaya çıkmaktadır.

Bu hastalığı taşıyanlar asemptomatik olup A \rightarrow T mutasyonu için heterozigot (HbAS) olarak bilinmektedir. Taşıyıcılar Hb elektroforezi ile kolayca teşhis edilebilir. Orak hücre taşıyıcılığında HbA ve HbS birlikte bulunur. Ancak HbA oranı her zaman HbS' den fazladır. Taşıyıcılarda klinik veya hematolojik herhangi bir bulgu yoktur. Ancak ciddi hipoksi oluşturan koşullarda, vazooklusiv komplikasyonlar ortaya çıkabilir.

Hastalarda orta derecede normositik, normokromik anemi vardır. Hb konsantrasyonu genellikle 5-9 g/dl (ortalama 7.5g/dl) arasındadır. Periferik yaymada tipik olarak hedef hücreler, poikilositoz, orak hücreler, ovalositler, çekirdekli eritrositler ve Howell-Jolly cisimcikleri görülür. Retikülosit sayısı %5-15 arasındadır.

Klinik olarak, ciddi hemolitik hastalık tablosu ile seyreder. Bu klinik tablo, eritrositlerin deformabilite özelliğinin kaybolması ve yıkılması yanı sıra; oraklaşan eritrositlerin oluşturduğu tıkanıklıklar sonucu oluşan iskemik değişikliklerle karakterizedir.

HbE (β 26: Glu \rightarrow Lys), dünyada ikinci sıklıkla görülen Hb varyantıdır. Yeryüzünde yaklaşık 1 milyon homozigot ve 30 milyon heterozigot olgu bulunmakta ve bu olguların %80'ni Güneydoğu Asya'da yaşamaktadır. Tayland'ın bazı yörelerinde bu oran %45'lere kadar çıkmaktadır.

HbE hafif β -talasemi gibi ya da kronik transfüzyona bağımlı homozigot β -talasemiden ayırdedilemeyen değişken bir klinik seyir gösterebilir. Birçok olguda ağır anemi, büyüme geriliği, bacak ülserleri, kemik deformitesi, enfeksiyona yatkınlık, demir yükü ve hipersplenizm görülür.

Diğer Hb varyantlarından farklı olarak eritrositlerde mikrositoz ve hipokromi gözlenir. Elektroforezde (pH 8.6) mobilitesi HbC'ye çok benzer olup kesin ayırım asit pH'da agar jel elektroforezi, HPLC ve mutasyon analizleri ile yapılmaktadır. Heterozigot olgular sessizdir. Klinik olarak, hafif anemi olsun ya da olmasın mikrositoz (MCV: 65 fl), ayrıca hafif eritrositoz gözlenir. Taşıyıcılarda Hb

elektroforezinde %30-45 HbE bulunur. Homozigot olgularda ise belirgin mikrositoz (MCV: 55-65 fl) ve morfolojik değişimler (hedef hücreler, leptositoz) görülür. Anemi hafif seyrederek.

HbC ($\beta 6$: Glu→Lys), dünyada üçüncü sıklıkla gözlenen Hb varyantı olup, β zincirinin altıncı pozisyonunda glutamik asit yerine lizin geçmiştir. Batı Afrika kıyılarında taşıyıcılık oranı %25, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki siyah ırkta görülme oranı %3'tür.

Heterozigotlarda klinik bulgu görülmez, Hb konsantrasyonu normal, eritrosit kitlesi ve yaşam süresi azalmış, retikülosit normaldir. Periferik yaymada %5-30 kadar hedef hücre, elektroforezde %30-40 HbC, %50-60 HbA saptanır.

Hastalarda hafif hemoliz bulguları ve splenomegali vardır. Dolaşımında normalden daha rijid olan HbC içeren eritrositlerin parçalanması ile mikrosferosit oluşumu ve eritrositlerde HbC kristalleri görülür. Hastaların eritrositlerinin oksijene afinitesi düşük bulunmuştur. Hb düzeyleri 8-12 g/dl arasında olup, periferik yaymada hedef hücreleri ve özellikle eritrositlerin gece boyunca %3 sodyum kloridle inkübasyonu sonrasında eritrosit içinde HbC kristalleri görülür. Osmotik frajilite azalmıştır. HbC, elektroforetik tekniklerde (alkalen pH'da) HbA2, HbE ve HbO Arab ile aynı mobiliteye sahip olması nedeniyle ayrılamaz. Tam olarak ayırım kolon kromatografisi ve HPLC ile yapılır.

HbD ($\beta 121$ Glu→Lys): HbD- Los Angeles ve HbD- Punjap olarak da adlandırılır. Hindistan da Punjap Sih'lerinde %2-3 oranında görülürken İran, Amerikalı siyahlar ve beyaz ırkta da nadiren gözlenir. Ülkemizde Hb D nadir değildir. Tamamen asemptomatik heterozigot şekli de tanımlanmıştır. Türkiye'de yapılan çalışmalarda bu oran %0.2 olarak bulunmuştur. pH 8.6'da elektroforetik mobilitesi HbS ile aynı olarak bulunmuştur. HbS' den ayırımı oraklaşma testi, asit pH'da yapılan agar jel elektroforezi, HPLC ve mutasyon analizleri ile yapılır. Taşıyıcılarda klinik, hematolojik yada fizyolojik herhangi bir anomali gözlenmezken, homozigot olgularda orta derecede hemolitik anemi ve splenomegali vardır. Periferik yaymada hafif mikrositoz, poikilositoz, minimal hemoliz bulguları görülür. HbF ve HbA2 düzeyleri normaldir.

Hb D Los Angeles (β -121 Glu-Gln) ilk kez Penjap'da İngiliz ve Hintli karışımı bir ailede keşfedilmiş, kimyasal yapısı 1972'de gösterilmiştir. Pakistan, Kuzey Batı Hindistan, Penjap ve Çin'in belirli bölgelerinde yüksek sıklıkta olmak üzere dünyanın pek çok bölgesinde görülmektedir.

Hb O: β -globin zincirinin 121. kodonunda glutamik asit yerine lizin gelmesi ile oluşan Hb O Arab, Amerikan zencileri, Araplar, Sudanlılar, Bulgarlar gibi farklı etnik gruplarda ve Türk halkı ile Kıbrıs Türklerinde bildirilmiştir.

ANORMAL HEMOGLOBİNLERİN AYIRIMI

Anormal hemoglobinleri, diğerlerinden ayırd edebilmek amacıyla tam kan sayımı ve değişik Hb elektroforez yöntemleri kullanılmakta ve kesin ayırım yüksek performans likid kromatografi tekniği (HPLC) ile yapılmaktadır. Kolon kromatografisi ile aynı prensipe dayanan reverse faz HPLC ile globin zincir ayırımı

mümkün olmaktadır. Hemoglobinoz programında katyon değiştirici HPLC kullanılır. Hemoglobinoz programında Hb F, Ao, A2/E, D, S ve C'ler için belirlenen pencereler ile retansiyon zamanı kullanılır. Retansiyon markerında 7 hemoglobin yer alır: A, F, S, C, D, E ve A2. Her örnek analizinden sonra kromatogram kopyası otomatik olarak yazdırılır.

Unstable hemoglobin varyantları elektroforezde az veya hiç görülmeyebilir. Bu varyantlar DNA analizi ile belirlenir. Hangi globin geni üzerinde mutasyonun bulunabileceği tahmin edilerek PCR temeline dayalı DNA yöntemleri ile moleküler defekt belirlenir.

Hemoglobin Elektroforezi

Elektroforez, genel olarak, bir çözelti içerisindeki elektrik yüklü partiküllerin elektriksel alanda göç ettirilerek ayrıştırılması prensibine dayanan bir analiz yöntemidir. Yüklü moleküller, çözelti içerisinde ortamın pH'sına bağlı olarak değişmek üzere (+) veya (-) elektrik yüklü birer partikül olarak davranırlar. Elektriksel alanda (+) yüklü partiküller katoda (negatif yüklü elektrot), (-) yüklü olanlar ise anoda (pozitif yüklü elektrot) doğru göç ederler.

Ayrıştırılmak istenen örneğin uygulandığı ve üzerinde veya içerisinde göç ettiği ortam olarak kağıt, nişaşta, agar, poliakrilamid jelleri ve sellüloz asetat membranı kullanılır. Nişasta jelinin uygun hazırlanışı diğerlerine göre daha zor olması nedeniyle günümüzde yaygın değildir. Agaroz jel elektroforezi destekleyici ortam olarak bileşenleri agaroz ve agaropektin olan agarın kullanıldığı kullanılışlı bir yöntemdir. Sellüloz asetat elektroforezinin avantajı ayrıştırma hızının yüksek oluşu ve şeffaşlaştırılan membranların uzun süre saklanabilmesidir. Poliakrilamid jel elektroforezinde elektroforetik ayırımı sağlayan başlıca faktör bileşiklerin büyüklüğü olup, elektrik yüklerinin önemi daha azdır. Büyük bileşikler göç sırasında küçük olanlara göre daha fazla polimerde tutulurlar ve daha yavaş göç ederler.

Normal yetişkin bir kişide sellüloz asetat üzerinde (pH 8.6; 9.1) yapılan elektroforezde %98 oranında Hb A gözlenir. Hb F %1'in altında olduğu için görülmez. Aplikasyon noktasına yakın bölgede eritrosit membran artıkları ve karbonik anhidraz eser halde izlenebilir. Bu kısımda göç eden Hb A2 eser miktarda bulunur. Kordon kanı ve yenidoğan örneklerinde ise Hb A'nın hemen yanında (katodik tarafta) Hb F gözlenir. β -talasemi taşıyıcılarda Hb A2 miktarı artmış olup bazı vakalarda Hb F miktarında görülür.

Orak hücre anemisi taşıyıcılarda Hb A yanısıra Hb A2 ile Hb F arasında göç eden Hb S bandı görülür. Hastalarda ise Hb A gözlenmez, bantların büyük kısmı Hb S olup değişik oranda Hb F bulunmaktadır.

Alfa talasemi olgularında kordon kanı incelenmesinde Hb A'dan daha hızlı göç eden (daha anodik) Hb Bart's izlenir. Bu Hemoglobin 4 γ globin zincirinden oluşmuştur. Yetişkin hastalarda ise 4 β globin zincirden oluşan Hb H izlenebilir. Bu hemoglobinde (HbH) A'dan daha hızlı olup elektroforezde HbA'nın önünde görülür. Kolayca denatüre olduğu için elektroforezde az miktarda veya bekletilmiş kan örneklerinde hiç görülmeyebilir.

Hb C ve Hb E selüloz asetat elektroforezde Hb A2 ile aynı yerde göç ederler. Hb S, Hb D, Hb G aynı yerde bant verirler. Hb S ile diğerlerinin ayrımı oraklaşma testi ile yapılabilir.

Alkali pH'da hemoglobin molekülü negatif yüklüdür ve elektriksel ortamda anoda doğru göç eder. Yüze yük değişikliği olan yapısal varyantlar ise farklı göç ederler. Alkali ortamda selüloz asetat kağıdı üzerine uygulanan hemolizat elektriksel güç uygulanarak basit ve seri bir şekilde hemoglobin tiplendirilmesi yapılır ve anormal hemoglobinler tiplendirilebilir.

Elektroforez veya diğer yöntemlerde farklılık olmakla beraber yöntem hatası olarak düşünülen ve keşfedilmeyi bekleyen yeni anormal Hb moleküllerinin olabileceği unutulmamalıdır.

KAYNAKLAR

1. Benz EJ: Hemoglobin variants associated with hemolytic anemia, altered oxygen affinity, and methemoglobinemias. Hematology Basic Principles and Practice. 4th edition. 2005, 645-652
2. Beutler E: The sickle cell diseases and related disorders. Williams Hematology. 6th edition 2001, 581-597
3. Lukens JN: Unstable hemoglobin disease. Wintrobe's Clinical Hematology. 2th edition 2004, 1313-1318
4. Lukens JN: Abnormal hemoglobins: general principles. Wintrobe's Clinical Hematology. 2th edition 2004, 1247-1262
5. Katsanis E., Luke KH., Hsu E, Yates JR: Hemoglobin E: a common hemoglobinopathy among children of Southeast Asian origin. Canadian Medical Association Journal, 1987; 137(1): 39-42
6. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, N. Sae-ung, Jetsrisuparb A. Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of α -thalassemia in Thailand Ann Hematol 2003; 82(10): 612-616
7. Sauntharajah Y, Vichinsky EP, Embury SH: Sickle cell disease. Hematology Basic Principles and Practice. 4th edition. 2005, 605-634
8. Wang WC: Sickle cell anemia and other sickling syndromes. Wintrobe's Clinical Hematology. 2th edition 2004, 1263-1296.