

ESTUDIO SOBRE LA COEXISTENCIA DE HEMOGLOBINA S Y DE LA DEFICIENCIA DE LA GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA, EN POBLACIÓN DE RAZA NEGRA

Ricardo Sáenz B. *, Manuel Jiménez D. * Mario Chaves V. **
Eugenia Ma. Quintana G. **, German F. Sáenz R. **

INTRODUCCIÓN

En nuestro país se ha investigado bastante lo relativo a la presencia de hemoglobinas anormales (37,39,40,43) y a la deficiencia de la glucosa -6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) (38,40,43). Sin embargo, no se ha efectuado un estudio concreto sobre la coexistencia de dichos trastornos en pacientes individuales dentro de una población en donde prevalecen esos dos defectos. Con el deseo de conocer la frecuencia de dicha asociación, y comparar ésta con lo que sucede con el genotipo hemoglobínico normal AA, nos propusimos establecer un protocolo para dichos fines, utilizando muestras de sangre de sujetos de raza negra del Hospital Tony Facio de la Provincia de Limón, Costa Rica, no siendo nuestro objetivo el correlacionar clínicamente la existencia de Hbs S y C y la deficiencia de G6PD.

Interacción de la G6PD y Hbs Anormales:

La deficiencia de la G6PD y las Hbs anormales a menudo afectan a las mismas poblaciones que han sido expuestas a una presión selectiva por parte de la malaria *falciparum* (12,13,14,20). La existencia de ambos defectos, especialmente en raza negra, obliga a la determinación de la G6PD como parte integral del diagnóstico de los desórdenes de la Hb (20). Los genes de estos dos trastornos se encuentran en diferentes cromosomas, siendo el de la Hb S, por ejemplo, autosómico codominante, en tanto que el de la G6PD se halla ligado al sexo. Su segregación, obviamente, es independiente. Se ha sugerido que la alta frecuencia del gene β^s se mantiene en continentes como el africano por la protección parcial que se suscita en el heterocigoto (Hb AS) contra los efectos del *Plasmodium falciparum* (11). De igual forma, la deficiencia de G6PD (Gd A— en África) se ha encontrado con alta frecuencia en áreas de malaria holoendémica, conjeturándose que también juegue un papel protector contra dicha enfermedad infecciosa (29). Luzzato et al. (25) consideran que las alte-

raciones metabólicas dadas por la deficiencia de G6PD, y las físico-químicas por la presencia de HbS, son las responsables de ofrecer un microambiente celular adverso de *P. falciparum*. Papel similar se le ha achacado a la talasemia (18, 24, 32).

En 1963, Lewis y Hathorn (21) sugirieron que la deficiencia de Gd era más común en individuos con anemia drepanocítica (Hb SS) que en la población general de raza negra en Ghana. Posteriormente, otros autores se permitieron llegar a esas mismas conclusiones, tanto para el heterocigoto (Hb AS) como para el homocigoto (Hb SS) (12,22,23,35). Beutler et al. (5), particularmente, encuentran en población de raza negra de los Angeles, EE.UU., que la frecuencia de la deficiencia de la Gd A- es más alta en población general Afro-Americana. Sin embargo, la prevalencia de este defecto fue tan alta en los pacientes SS como en sus familiares. Esta frecuencia incrementada fue, por lo tanto, interpretada por los autores como producto de la dilución del pool de genes para la Hb S y para Gd A- por genes no africanos. Esta explicación, por otra parte, no es válida para la frecuencia incrementada de Gd A-/Hb SS o de Gd A-/Hb AS que se observa en el África (2), pues aquí el pool de genes no ha sido significativamente diluido por genes no africanos. Bernstein et al. (2), comparando estudios sobre estos dos defectos hereditarios tanto en individuos de raza negra de Camerún como de un Hospital de Chicago, EE.UU., demostraron que el número de hombres con Hb AS y deficiencia de G6PD fue mayor de lo esperado en Camerún, y estadísticamente significativo, no así en los de raza negra de Chicago, explicándose esta diferencia en el hecho de que hay menor presión selectiva en los EE.UU. que en la población africana, que no es posible detectar fácilmente cualquier mortalidad diferencial, y de que también es posible que la dilución del p001 de genes pueda jugar algún papel. Es muy posible que los datos conflictivos sobre la prevalencia de G6PD y Hb S puedan ser explicados en términos técnicos y/O epidemiológicos (7): tipo de métodos utilizados para detección de la G6PD, heterogeneidad de

* Facultad de Microbiología, Proyecto de Graduación

** CIHATA, Cátedra de Hematología, Facultad de Microbiología. Hospital San Juan de Dios. Universidad de Costa Rica.

la estructura genética de las poblaciones estudiadas y del medio ambiente en que se desarrollan y, de la selección de los pacientes objeto de estudio (edad, ambulatorios, hospitalizados, intra o extrafamiliares, etc.).

Lewis y Hathorn (21), habían sugerido que la prevalencia incrementada de la deficiencia de G6PD con Hb S, ejerce un efecto benéfico sobre el curso clínico de la anemia drepanocítica. Se ha citado, por ejemplo (22), que la sobrevida eritrocítica es ligeramente mayor en los pacientes SS con deficiencia de la enzima. Piomeli et al (35) consideran, asimismo, que la mayor prevalencia de la Gd A— en pacientes SS, da una ventaja a éstos por la rápida destrucción de los eritrocitos viejos, irreversibles, deficientes en la enzima, por lo que su remoción de la circulación sería el mecanismo que opere para explicar los efectos protectores o beneficiosos de la deficiencia de G6PD en los homocigotos para Hb S. Otras investigaciones, sin embargo, no han demostrado ningún efecto favorable en la herencia concomitante de la Gd A— y la Hb SS ((19). Asimismo han aparecido reportes conflictivos acerca de la no existencia de una frecuencia mayor de la deficiencia de G6PD en hombres con Hb AS ó SS (7,8,26,27,31,49,51). Esta controversia que se ha suscitado acerca de si la coexistencia de ambos trastornos logra un efecto beneficioso en el curso clínico del paciente drepanocítico, ha permanecido todavía en la literatura mundial. Se sabe que la población eritrocítica extremadamente joven que se presenta en la anemia drepanocítica (3,4,7,19) da como resultado un incremento de la actividad de la G6PD. Este efecto es más marcado en personas que genóticamente tienen el defecto de la Gd A—, pudiendo enmascarse la expresión fenotípica de la deficiencia enzimática (35). Esta dificultad, para detectar claramente la deficiencia de la G6PD en pacientes con Hb SS también ha sido señalada por otros autores (4,7,19). De esta suerte, los análisis enzimáticos para la G6PD pueden dar "normales" en estos pacientes drepanocíticos con reticulocitosis que poseen la variante Gd A—. Bienzle et al. (7), al estudiar 100 varones SS cuyo genotipo de la G6PD fue determinado por una combinación de cuatro métodos diferentes, descartan la prueba de la mancha fluorescente (Spot test) para la detección de la actividad enzimática en esos pacientes homocigotos. Según Stemberg et al. (51) la presencia del gene Gd A— en este tipo de población puede ser sospechado si se encuentran niveles normales o disminuidos de la enzima en presencia de reticulocitosis, de una enzima con rápida movilidad electroforética, si

la actividad enzimática se halla ausente en un número significativo de eritrocitos por la técnica de la elución de la metaHb y, por último si hay deficiencia de la enzima en otros miembros de la familia. Se ha pretendido señalar (2) que al haber valores más elevados de la G6PD en los eritrocitos jóvenes de genotipo AS ó SS, ello sugeriría que la Hb S puede ejercer un efecto benéfico sobre la deficiencia más que el efecto opuesto y sobre el cual se ha hipotetizado tanto, pues se cree que dichas células (GdA—/HbSS— AS) serían capaces de soportar en mejor forma el estrés oxidativo, el cual puede precipitar una severa crisis hemolítica en la deficiencia aislada de G6PD. Por otra parte, se ha indicado que las crisis hemolíticas son más comunes en pacientes SS que también son deficientes en G6PD (34,48). Según Beutler (5), no parece lógica esta presunción de que los eritrocitos SS deficientes en G6PD sean particularmente sensibles al estrés hemolítico ya que, como se señaló arriba, se trata de células jóvenes que poseen una actividad relativamente normal de la variante anormal Gd A—. En Jamaica, Gibss et al. (13), han demostrado que la deficiencia de Gd no influye en la concentración de Hb, en el cómputo de reticulocitos, en la concentración de Hb F, en el cómputo de drepanocitos irreversibles ni en la concentración de Hb plasmática, no encontrándose tampoco relación alguna entre la severidad clínica y la existencia o ausencia de la deficiencia de G6PD. A las mismas conclusiones llegaron Carpentieri et al. (10) al estudiar pacientes con Hb E, β talasemia y deficiencia de la G6PD. Samuel et al. (44) demuestran que la actividad de los alelos (Gd A⁺, A⁻, B⁺ y B⁻) no se ve influenciada por el genotipo hemoglobínico AS, AC o β talasémico. Steimberg y Dreiling (51), en r0 pacientes adultos en Hb SS (sólo uno de ellos con deficiencia de Gd), consideran que no hay evidencia alguna de que la deficiencia de Gd ofrezca a ellos alguna ventaja en su sobrevida. Consideran los autores que sus hallazgos en adultos deben ser necesariamente diferentes de o que acontece en niños en donde es más problemática la asociación GdA—/Hb SS por las frecuentes infecciones a esa edad (33). Finalmente, Bienzle et al. (7) creen que la coexistencia del gene Gd A— posiblemente cause una ligera desventaja a los pacientes SS en la comunidad de Nigeria, y ciertamente, no mejora el curso de la enfermedad SS en el contexto genético y ecológico del África tropical. A esa misma conclusión llega Konotey-Ahulu (19) quien en Ghana logra demostrar, bajo parámetros clínico-epidemiológicos, que la deficiencia de Gd en el paciente SS lo hace más enfermo y se

muere más rápido.

MATERIALES Y MÉTODOS

A) Obtención de muestras sanguíneas para el estudio:

Se recolectó 744 especímenes de sangre de sujetos de raza negra, que llegaron al Hospital Tony Facio de la Provincia de Limón para diversos estudios clínicos. Las edades de los pacientes oscilaron entre los 2 y 70 años, siendo 301 varones y 443 mujeres.

B) Para efectuar el estudio se practicaron los siguientes procedimientos:

Para G6PD eritrocítica:

- 1) Prueba de la reducción del azul de metileno de Sass y Carusso (45).
- 2) Prueba cinética rápida para G6PD, de acuerdo con la mancha fluorescente de Beutler (6).
- 3) Determinación genotípica de la G6PD, de acuerdo con Sparkes et al. (50), la OMS (17) y bajo modificación en el CIHATA con el uso de acetato de celulosa (TITAN III, de Helena Laboratories, Beaumont, Texas).

El método electroforético brinda dos ventajas: la caracterización del genotipo con base en la movilidad de la o las enzimas y la actividad de la o las fracciones, pues se realiza sobre el medio de soporte (acetato de celulosa) una tinción que permite evaluar semicuantitativamente dicha actividad, la cual es producto de la reacción entre las fracciones electroforéticas no desnaturalizadas y una mezcla reactiva de MTT Tetrazolium. Esta

electroforesis se lleva a cabo en acetato de celulosa en un sistema tampón y con revelado de acuerdo con la OMS.

- 4) Electroforesis de la Hb en acetato de celulosa de acuerdo con el método de Schneider (47) y del Center for Disease Control (46).
- 5) Electroforesis de la Hb en gel de agar citrato de capa fina (pH 6.2 ± 0.1), de Robinson et al. (36), modificado por el CIHATA.
- 6) Prueba de la solubilidad de la desoxi Hb en sangre total o hemolizado (30), ligeramente modificada por el CIHATA.
- 7) Prueba de la solubilidad diferencial con urea, de acuerdo con el método de Henry et al. (15), ligeramente modificado por el CIHATA.

RESULTADOS

En el Cuadro 1 se puede apreciar la distribución de los fenotipos de la Hb en relación a los genotipos de la G6PD. Se infiere del mismo una frecuencia del 11,3 por ciento para Hb AS y de 3,3 por ciento para Hb AC. Fue interesante el hallazgo de la Hb G Philadelphia heterocigota, el encontrar dos casos con variantes lentas de la G6PD, y un sujeto con la deficiencia de G6PD tipo Gd B—. En el Cuadro 2 se observa una deficiencia de G6PD del 15 por ciento en los poseedores (hemocigotos) del rasgo drepanocítico (Hb AS) y del 12 por ciento en los de patrón normal AA, con una deficiencia global en los 289 varones del 12 por ciento. En el Cuadro 3 se indican los resultados obtenidos en 443 mujeres, con una frecuencia para Hb AS de 10,8 por ciento y para Hb AC de 4,7 por ciento. Tam-

CUADRO 1

PATRÓN HEMOGLOBÍNICO Y GENOTIPO DE LA G6PD EN 301 VARONES DE RAZA NEGRA

GENOTIPO G6PD	FENOTIPO HEMOGLOBINA					TOTALES (301)
	A/A (256)	A/S (33)	A/C (10)	A/G ^{Ph} (1)	SS (1)	
A ⁺	43	7	2	1	—	53
A ⁻	29	4	1	—	—	54
B ⁺	181	21	7	—	1	210
B ⁺ (lenta)	1	—	—	—	—	1
B ⁺ (muy lenta)	1	—	—	—	—	1
B ⁻	1	1	—	—	—	2

G^{Ph}: Hb G-Philadelphia

bién se observó un caso de Hb A/G Philadelphia, tres fenotipos con Hb A₂' (variante de la Hb A₂) y tres genotipos de G6PD de tipo lento. Del cuadro se infiere que se logró detectar, ante diverto de homocigotas y 2,9 por ciento de heterocigotas, cifras esperables en un defecto que como el de la G6PD se halla ligado al sexo.

CUADRO 2

ASOCIACIÓN DE Hb S Y DEFICIENCIA DE G6PD EN 289 VARONES DE RAZA NEGRA

G6PD	Hemoglobina		TOTAL
	AS	AA	
Deficientes	5	30	35
no deficientes	28	226	254
TOTALES	33	256	289
% deficientes	(15%)	(12%)	(12%)

χ^2 (corrección de Yate) = 0,08, p > 0.05

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los trabajos preliminares habían sugerido que la deficiencia de la G6PD es más común en sujetos con Kb S que en la población general de raza negra (1,12,16,22,23), ofreciéndose para tal situación varias explicaciones (2,5), las cuales en general tienden a abarcar a a tomar en cuenta aspectos epidemiológicos, la estructura genética de las poblaciones estudiadas, la selección de los sujetos objeto de estudio y, aspectos técnico-analíticos (9). Los reportes de años recientes han puesto en duda la sugerencia de que la deficiencia de la G6PD tuviera un efecto benéfico para el paciente drepanocítico (7,13,44,48,51) y otros reportes no indican una frecuencia mayor de la deficiencia de G6PD en varones con Hb AS o SS (7, 8, 26, 27, 28, 34, 49, 51). Con nuestra modesta contribución creemos que apoyamos la tesis de que no existe mayor frecuencia del defecto enzimático en los individuos de raza negra con Hbs anormales respecto del defecto enzimático en los individuos de raza negra con Hbs anormales respecto de la población negra general con fenotipo normal AA. Con relación a la frecuencia de Hbs anormales, queremos llamar la atención a varios hechos: Al menos en varones, la frecuencia encontrada de Hb AS y AC fue muy semejante a

CUADRO 3

PATRÓN HEMOGLOBÍNICO Y GENOTIPO DE LA G6PD EN 443 MUJERES DE RAZA NEGRA

GENOTIPO G6PD	FENOTIPO HEMOGLOBINA					TOTALES (443)
	A/A (370)	A/A ₂ ' (3)	A/S (48)	A/C (21)	A/G ^{Ph} (1)	
A ⁺ A ⁺ (*)	44	—	12	4	—	60
A—A—	1	—	1	1	—	3
B ⁺ B ⁺	267	3	29	11	—	310
A—B ⁺	10	—	1	2	—	13
A ⁺ B—	1	—	1	—	—	2
B—B—	1	—	—	—	—	1
A ⁺ B ⁺	43	—	4	3	1	51
B ⁺ B ⁺ (lenta)	1	—	—	—	—	1
B ⁺ (lenta) B ⁺ (más lenta)	1	—	—	—	—	1
B ⁺ B ⁺ (extrem. lenta)	1	—	—	—	—	1

(*) A⁺A⁺ y A⁺A— no pueden diferenciarse por electroforesis ni por la mancha fluorescente. G^{Ph} = Hb G-Philadelphia.

lo que en esa misma raza reportarán Sáenz, et al. (37). Asimismo, fue interesante la reiteración del hallazgo de la Hb A₂ señalado en un trabajo previo (41), como también el de la Hb G Philadelphia (42). Merece un estudio posterior el hallazgo de cinco variantes lentas de la G6PD. Deseamos concluir que, tomando como indicador la variante Gd A-, la frecuencia de la deficiencia de la G6PD fue de 11,3 por ciento en varones de raza negra con fenotipo normal de la Hb (AA), y de un 12,1 por ciento en los poseedores del rasgo drepanocítico, valga decir, del heterocigoto AS, y que por lo tanto no existen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos; toda vez que $p > 0,05$, lo cual indica que no existe relación entre el fenotipo hemoglobínico (AA, AS) y el genotipo deficiente (Gd A-), situación análoga a la demostrada en raza negra de Chicago por Bernstein et al. (2).

BIBLIOGRAFÍA

- Barret-Connor, E.: Bacterial infection and sickle cell anemia. *Medicine*, 1971; 59:97-99.
- Bernstein, S.C., Bowma, J.E & Noche, K. Interaction of sickle cell trait and glucose-6-phosphate dehydrogenase in Cameroon. *Hum. Hered*, 1980; 30:7-11
- Beutler, E. Glucose-6 phosphate dehydrogenase deficiency. p. In Williams, W.J. et al. "*Hematology*," 3rd. Ed. McGraw-Hill Book, Co N.Y. 1983. Cap. 58, 561-574.
- Beutler, E. The sickle cell disease and related disorders. In: Williams, N.J. et al. "*Hematology*". 3rd. Ed. Mac Graw-Hill Book Co. N.Y. 1983; Cap. 60, 583-609.
- Beutler, E., Johnson, C., Rowars, D., West, C. Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in sickle cell disease. *N. Eng. J. Med.* 1974; 290:826-828.
- Beutler, E. *Red cell metabolism. A manual of biochemical methods*. 2nd. Grune & Stratton, N.Y., 1975; 166 - 167.
- Bienzie, U., Sodeinde, O., Effiong, E.E. & Luzzatto, L. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and sickle cell anemia: frequency and features of the association in an african community. *Blood*, 1975; 46: 591 -597.
- Bunn, H.F., Forget, B.G. & Ranney, H.M. Hemoglobinopathies. Vol XII *Major problems in Internal Medicine*. W.B. Saunders Co., Pha, 1977; 152.
- Burka, E.R., Weaver, Z., III, and Marks, P.A. Clinical spectrum of hemolytic anemia associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Ann. Intern. Med.* 1966; 64. 817-823.
- Carpentieri, U., Haggard, M.E., Schneider, R.G., & Hightower, B.J. Hb E-B-thalassemia associated with G6PD deficiency. *Southern Med J.* 1980; 73:518-520.
- Friedman, M.J., Roth, E.F., Nagel, R.L. & Trager, W. *Plasmodium falciparum*: physiological interactions with the human sickle cell. *Exp. Parasitol.*, 1979; 47:73-80
- Gelpi, A.P. Glucose-6-phosphate dehydrogenase, the sickling trait, and malaria in Saudi Arab children. *J. Pediat.*, 1967; 71 :138-146.
- Gibbs, W.N., Wardle, J. & Serjeant, GR. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and homozygous sickle cell disease in Jamaica. *Br. J. Haematol*, 1980; 45:73-79.
- Gloria-Bottini, F., Falsi, A.M., Martera, J. & Boltini, E. The relations between G6PD deficiency, thalassaemia and malaria. Further analysis of data from Sardinia and the Po Valley. *Experientia*, 1980; 36:541-543.
- Henry, R.L., Nalbandian, R.M., Nichols, B.M., Camp, R.F., Conte, N.F. y Wolf, P.L.: Modified sickledex tube test: A specific test for S Hemoglobin. *Clin. Biochem.* 1971; 196-200.
- Holzmann, L., Finn, H., Lichtman, H.C., et al.: Anesthesia in patients with sickle cell disease. A review of 112 cases. *Anesth. Analg.*, 1969; 48:566-571.
- Informe OMS: Normalización de las técnicas de estudio de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. *Ser. Inf. Tec.* 1967; 366:3-54.
- Karayalcin, G., Rosner, F., Kim, K.Y., Chandra, P. & Aballi, A.J. Sickle cell anemia. Clinical manifestations in 100 patients and review of the literature. *Am. J. Clin. Sciences*, 1975; 269:51-68.
- Konotey-Ahulu, F.I.D. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and sickle cell anemia. *N. Engl. J. Med.*, 1972; 287:887-888.
- Lehmann, H. & Huntsman R.G. *Man's haemoglobins*. Revised edition, 1976 Publisher North-Holland, Amsterdam. 1976; 319-321.
- Lewis, R. A. & Hathorn, M. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency correlated with S Hemoglobin. *Ghana med. J.*, 1963, 2:131-142.
- Lewis, R. A., Kay, R.W. & Hathorn, M. Sickle cell disease and glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Acta Haemat.*, 1966; 36:399-411.
- Lewis, R.A. Sickle cell anaemia in G6PD deficiency. *Lancet*. 1967; i :852-853.
- Longinotti, M., Dore, F., Masala, B. & Latte, G.C. Haematologic indices in alpha and beta-thalassaemia trait: interacting with total and partial G-6-PD deficiency. *IRCS Medical Science*, 1981; 9:238-239.
- Luzzatto, L., Usanga, E. A. & Reddy, S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient red cells: resistance to infection by malarial parasites. *Science*, 1969:164:839-842.
- Luzzatto, L., & Allan, N C. Relationship between the genes for G6PD and for haemoglobin in a Nigerian populations. *Nature*, 1968; 219:1041-1042.
- Marti, H.R., Schoepf, K. & Gsell, O.P. Frequency of hemoglobin S and G6PD deficiency in Southern Tanzania. *Br. Med. J.*, 1965; i:1476-1477.
- Milner, P.F. Thalassemias, Hemoglobinopathies, and sickle cell disease. *Hematology*, Vol. 2. John Wiley and Sons, Inc. N.Y. 1983; Chap 7, 181-241.

29. Motulsky, A.G. Metabolic polymorphisms and role of infectious diseases in human population. *Hum. Biol.*, 1960; 32:26-62.
30. Nalbandian, R. M., Nichols, B.M Camp, F.R., Lusher, J.M., Conte, N.F., Henry, R.L., and Wolf, P.L.: Dithionite tube test.- A rapid inexpensive technique for the detection of Hemoglobin S and Non-S sickling hemoglobin. *Clin. Chem.* 1971; 17:1033-1040.
31. Nayler, J., Rosenthal, I., & Grossmann, A. Activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in erythrocyte of patients with various abnormal hemoglobins. *Pediatrics*, 1960; 26:285-292.
32. Necheles, T.F., Allen, D.M., & Finkel, H.E. *Clinical disorders of hemoglobin structure and synthesis*. Appleton-Century-Crofts, NY, 1969,158-161.
33. Necheles, T.F. & Gorshein, D. Virus-induced hemolysis in erythrocytes deficient in glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Science*, 1968; 160:535-536.
34. Oski, F.A. & Brody, J.I. The "hemolytic crisis" of sickle cell anemia. The role of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Clin. Res.*, 1967; 15:463-471.
35. Piomeli, S., Reindorf, C.A., Arzaraian, M.T. & Corash, L.M. Clinical and biochemical interactions of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and sickle-cell anemia. *N. Engl. J. Méd.* 1972; 287:213-215
36. Robinson, A.R. Robson, M., Harrison, A.P. & Tullzer, W. W. A new technique for differentiation of Hemoglobin. *J. Lab. Clin. Med.*, 1957; 50:745-749.
37. Sáenz, G.F., Arroyo, G., Brilla, E., Gutiérrez, A., Barrenechea, M., Valenciano, E & Jiménez, J. Investigación de hemoglobinas anormales en población de raza negra costarricense. *Rev. Biol. Trop.*, 1971; 19:251-256.
38. Sáenz, G.F. Brilla, E. Arroyo, G. Valenciano, E. y Jiménez, J. Deficiencia de la glucosa-6-fosfato (G6PD) eritrocítica en Costa Rica. *Rev. Méd. Hosp. Nal. Niños*, 1971; 6:129-143.
39. Sáenz, G.F., Alvarado, M.A., Atmetlla, F., Arroyo, G., Jiménez, R. & Valenciano, E. Investigación de hemoglobinas anormales en población costarricense del Guanacaste. *Acta Méd. Cost.*, 1973; 16:147-159.
40. Sáenz, G.F., Elizondo, J., Arroyo, G., Valenciano, E., Rojas, L.F., Jiménez, J. Montero, A.G., Sánchez, J.E. Hemoglobinopatías en 12.000 escolares. *Acta Méd. Cost.*, 1980; 23 :89-99
41. Sáenz, G F., Elizondo, J., Arroyo, G., Jiménez, J., Montero, A.G., Valenciano, E. Diagnóstico de hemoglobinopatías y de trastornos afines. Enfoque poblacional del problema. *Bol. Of. Pan. Salud*, 1981; 90:127-143.
42. Sáenz, GP., Elizondo, J., Arroyo, G., Valenciano, E., Jiménez, J., Montero, A.G., Sánchez, E., Grant, S.: Hallazgo de la Hemoglobina G-Philadelphia (alfa 68 (E17) Asn-Iis) en Costa Rica. Consideraciones bioquímico-genéticas. *Sangre*, 1981; 2:224-228.
43. Sáenz, G.F., Chaves, M., Grant, S., Barrenechea, M., Arroyo, G., Valenciano, E. Jiménez, J., Montero, A.G. Hemoglobinas anormales, alfa talasemia y deficiencia de la G6PD eritrocítica en recién nacidos de raza negra. *Sangre*, 1984; 29:861-867.
44. Samuel, A.P.W., Sha, N. Omer, A. & Hoffbrand, A.V. Quantitative expression of G6PD activity of different phenotypes of G6PD and haemoglobin in a Sudanese population. *Hum. Hered.*, 1981;31:110-115.
45. Sass, M.D. and Caruso, C. A simple and rapid dye test for glucose-6-phosphate deshydrogenase deficiency for routine use. *J. Lab. Clin. Med.*, 1980; 76:523-527.
46. Schmidt, R & Brosious, E.M.: Basic laboratory Methods of hemoglobinopathy detection. 6th., Edition. DHEW Pub. No. (CDC) 75-8266, Center for Disease Control, Public Health Service U.S. Department of Health, Education and Welfare, Atlanta, 1976.
47. Schneider, R.G., Haggard, E., Gustavson, L.P., Brimhall, B. and Jones, R.T. Genetic haemoglobin abnormalities in about 9000 black and 7000 white newborns. Haemoglobin F dickinson (A gamma 97 His-Arg), A New Variant. *Brit. J. Haemat.*, 1974; 28:515-524.
48. Smits, H.L., Oski, F.A. and Brody, J.I.: The hemolytic crisis of sickle cell disease; the role of glucose-6-phosphate de hydrogenase deficiency. *J. Pediatr.*, 1969; 74:544-548.
49. Soneet, J. & Michaux, J.L. G6PD deficiency, haptoglobin groups and sickle cell trait in the Bantus of West Belgian Conge. *Nature*, 1960; 188:501-504.
50. Sparkes, R.S., Beluda, M.C. And Townsends, D.E. Cellulose acetate electrophoresis of Human Glucose-6-phosphate Dehydrogenase. *J. Lab. Clin. Med.*; 1969; 73:531 -536.
51. Stemberg, M.H. & Dreiling, B.J. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in sickle cell anemia. A study in adults. *Ann. Int. Med.*, 1974; 80:217-220.

ADDENDUM

Samuel et al. recientemente han indicado que en Arabia Saudi sí existe asociación entre la deficiencia de G6PD y hemoglobinopatías. En individuos con HbAS y HbSS ésta coexiste significativamente mayor que en sujetos con HbA, encontrándose también sea asociación con α y β -Talasemia, Los autores concluyen en que los tres defectos hereditarios del glóbulo rojo (deficiencia de G6PD, HbS y talasemia), se han incrementado como resultado de un mismo factor ecológico, probablemente la malaria, hiperendémica en esa región. (Samuel, A.P.W., Saha, N., Acquaye, J.K, Omer, A.E. Ganeshagum, K. Association of red cell glucose6-phosphate dehydrogenase with Haemoglobinopathies. *Hum. Hered.* 1986; 36:107-112).