

CARACTERISTICAS HEMATOLOGICAS DE LA POBLACION
DEL ESTADO FALCON (VENEZUELA).
I. VARIANTES HEMOGLOBINICAS, ANTIGENO AUSTRALIA Y
NIVELES DE INMUNOGLOBULINAS

Tulio Arends*, **Edmundo Piña B.****, **Olimpia Pérez-Báñez***, **Trina Arends***, **Gilberto Garlín***, **Fernando Merino*** y **Carmen Amesty**

** Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas. ** Banco de Sangre, Hospital Alfredo van Grieken, Coro.*

RESUMEN

Se estudiaron 501 donantes voluntarios del Banco de Sangre del Hospital Alfredo van Grieken de Coro en cuanto a variantes o alteraciones hemoglobínicas, antígeno Australia y niveles de inmunoglobulinas. Los grupos sanguíneos ABO y Rh mostraron una distribución que puede considerarse característica para la población venezolana. Se encontró 2,40% con valores aumentados de Hb F, 2,99% con valores moderadamente aumentados de Hb A₂, 0,40% con valores francamente aumentados de A₂, 3,79% de Hb AS, 0,80% de Hb AC y 0,20% de Hb AD Punjab, lo cual indica que en el estado Falcón de cada 11 sujetos 1 tiene alguna variante o alteración hemoglobínica. Estos resultados representan la intensa mezcla racial que viene operándose en el estado desde la época del descubrimiento, habiéndose encontrado variantes hemoglobínicas prevalentes en africanos y españoles. El antígeno Australia, estudiado en 300 donantes, mostró una positividad del 2,33%, que

es mayor que la encontrada en Caracas. Los niveles de inmunoglobulinas A, G y M, determinadas en 25 donantes, resultaron un poco más altos que los obtenidos en donantes de Caracas.

INTRODUCCION

Habiendo sido el territorio del estado Falcón puerta de entrada de las primeras oleadas de inmigrantes llegadas a lo que posteriormente fue Venezuela, proceso que ha continuado hasta nuestros días, es natural que todo estudio poblacional que se haga de las características hematológicas de sus habitantes tendrá no sólo importancia para la asistencia médica actual, sino que podría aportar datos de significación histórica y hasta para deducir la composición antropológica de su presente población.

A la llegada de los españoles, el estado Falcón tenía indios Caquetíos en el Norte, Jirajaras en las montañas del Sur, Ciparicote (Chipas) en el Este y Xaguas, Ayamanes y Cayones en los límites con Lara y Yaracuy(2). Estos diversos grupos pueden reducirse a dos parcialidades: los Arawacos y los Caribes. Los europeos que llegaron fueron principalmente vascos, andaluces, castellanos y navarros, aunque no es posible descartar inmigrantes de otras partes de España y aún de Europa. Por ejemplo, se han conservado cartas de italianos escritas desde Coro en 1534, en las cuales describen el extraño país donde residen (14). Luego vinieron los alemanes, quienes se hicieron acompañar por ciudadanos de otros países europeos.

Individuos procedentes de Africa llegaron desde el tiempo de los Welsers. Algunos navíos vinieron directamente de Africa, pero la mayoría de los esclavos llegados a Falcón procedían de los centros negreros de Curazao, Cuba, Santo Domingo y Puerto Rico. Durante la Colonia fue conocida la presencia de negros cimarrones fugados de Curazao que clandestinamente se pasaban al estado y permanecían completamente libres en las montañas del Sur, temidos por su número y agresividad, los cuales vinieron a constituir a la larga el núcleo inicial de algunas poblaciones del interior del estado (1, 7).

Posteriormente, el estado Falcón ha recibido otras oleadas de inmigrantes. En unas estadísticas de 1831 se tabulan los datos sobre 54 extranjeros que viven en Coro y en Paraguaná, aunque se sospecha que en otros sitios "debe haber bastantes". La mayoría de éstos eran holandeses, españoles y franceses (3). En nuestros días, han llegado nuevas oleadas de españoles, italianos y portugueses.

Todo este conjunto de datos indica que el estudio de los marcadores genéticos en la población de donantes de sangre residentes en el estado Falcón, puede arrojar alguna información relacionada con esta mezcla racial permanente, que ha sido su sino histórico, además de establecer el estado de salud de la población actual, lo cual puede traducirse en información para orientar la acción asistencial. El presente reporte detalla lo encontrado en un estudio realizado en 1973 sobre 501 donantes.

MATERIAL

Se utilizaron 501 donantes voluntarios del Banco de Sangre del Hospital Alfredo van Grieken de Coro, cuyas edades oscilaban entre 18 y 53 años de edad, siendo más de la mitad de 21 a 30 años de edad. El 99% de ellos era de sexo masculino; la mayoría (89%) era nativa del estado Falcón, principalmente de los Distritos Miranda y Zamora, pero un 10% procedía de otros estados y sólo el 1% era extranjero. Físicamente estaban en buenas condiciones de salud, aunque un 3% resultó con la prueba de VDRL positiva.

METODOS

Hemoglobinas

Se hizo electroforesis de hemoglobina en membranas de acetato de celulosa (Sephaphore III, Gelman Instruments, Ann Arbor, Michigan) a pH 8,9 utilizando equipo microzonal (Beckman Instruments, Palo Alto, Cal.). El hemolizado fué preparado para prueba rápida de acuerdo al método de Giorgio (16), y para determinaciones cuantitativas con tetracloruro de carbono según el método de Lehmann y Huntsman (20).

La Hb A₂ fué determinada en membrana de acetato de celulosa, utilizando membranas de Celagram y aparato electroforético Modelo U77 (Shandon Scientific Apparatus, Londres), de acuerdo al método de Marengo-Rowe (21) con modificaciones de Weatherall y Clegg (26). Los niveles de Hb A₂ para 24 donantes de sangre estudiados por este método fué de 1,91 - 3,15% (promedio 2,59 ± 0,32%). Las variaciones encontradas haciendo ocho determinaciones de una misma muestra de una persona normal fue de 1,5 - 2,0% (promedio 1,87 ± 0,17%) y de un sujeto con β-talasemia menor fué de 4,93 - 5,18% (promedio 5,11 ± 0,09%). Estos resultados son comparables con los reportados en la literatura usando similar metodología (26).

Los niveles de Hb F fueron determinados por la técnica de Betke, Marti y Schlicht (13), y la distribución intracelular se determinó con la técnica de Kleihauer, Braun y Betke (18). La prueba de solubilidad de la hemoglobina fué hecha de acuerdo al método de Itano (17).

Los mapas peptídicos de la hemoglobina fueron hechos preparando la globina por precipitación con acetona ácida y luego digerida con tripsina. Electroforesis de alto voltaje y cromatografía fueron utilizados para el mapa peptídico doble dimensional, coloreando luego los péptidos con coloraciones específicas como ha sido reportado previamente (9).

Antígeno Australia

El antígeno Australia o antígeno de la hepatitis tipo B (AgHb) fué determinado empleando técnicas de inmunodifusión e inmunoelectroforesis descritas por Millman et al. (23), usando agarosa al 1,1% en tampón de barbital, pH 8,6, en placas de 8 x 10 cm. La prueba de electroforesis reaccional fué realizada en iguales condiciones a las de inmunodifusión, de acuerdo a la técnica de Lang (19) con algunas modificaciones. Como anti-AgHb se usó anticuerpo preparado en conejo (22).

Inmunoglobulinas

Los niveles de inmunoglobulinas fueron determinados en placas de agar con anticuerpo incorporado (Immunoplates, Hyland Lab., Los Angeles, USA), siguiendo las instrucciones de los fabricantes con algunas modificaciones tendientes a darle mayor precisión al método.

Grupos Sanguíneos

A 435 de estos donantes se les hizo grupos del sistema sanguíneo ABO y determinación de Rh (D), utilizando reactivos comerciales, controlados con hemátíes conocidos (Tabla I).

RESULTADOS

Hemoglobinas

Los resultados obtenidos en 501 donantes a los que se les estudió su hemoglobina electroforéticamente, a algunos de los cuales se les hizo cuantificación de Hb A₂ y Hb F, se encuentran en las Tablas II y III.

El estudio cuantitativo de la Hb A₂ fue hecho en 116 donantes. Al excluir dos casos cuyos valores (4,4% y 5,8%) estaban francamente aumen-

tados, se obtuvo un valor normal de $2,33 \pm 0,52\%$ (Tabla III), teniendo quince sujetos valores de 3,03 a 3,53%. Un histograma de los valores obtenidos (Fig. 1) muestra solamente dos poblaciones, la normal y la talasémica.

TABLA I

GRUPOS SANGUINEOS EN DONANTES DE SANGRE DEL ESTADO FALCON (VENEZUELA)

Grupo sanguíneo	N (%)	Frecuencia génica	Rh + %	Rh - %
O	262 (56,59)	75,78	93,13	6,87
A	141 (30,45)	17,51	93,62	6,38
B	53 (11,45)	6,71	98,11	1,89
AB	7 (1,51)	—	100,00	0,00
Totales	435 (100,00)	100,00	93,95	6,05

TABLA II

RESULTADO DE LOS ESTUDIOS HEMOGLOBINICOS HECHOS EN DONANTES DE SANGRE DEL ESTADO FALCON (VENEZUELA)

Hemoglobinas	N	%
Hb A con valores normales de A ₂ y F	448	89,42
Hb A con valores aumentados de F	12	2,40
Hb A con valores moderadamente aumentados de A ₂	15	1,99
Hb A con valores francamente aumentados de A ₂	2	0,40
Hb AS	19	3,79
Hb AC	4	0,80
Hb AD	1	0,20
Totales	501	100,00

10,58
(1/11 personas)

El estudio cuantitativo de la Hb F se hizo en 36 donantes, en quienes por inspección visual de la membrana electroforética se sospechó aumento de la misma, habiéndose encontrado 12 sujetos con valores iguales o mayores del 1,0%. Los que tenían valores menores de 1,0% dieron un promedio de $0,59 \pm 0,20\%$. (Tabla III). Un histograma de los resultados de Hb F mostró (Fig. 2) tres poblaciones.

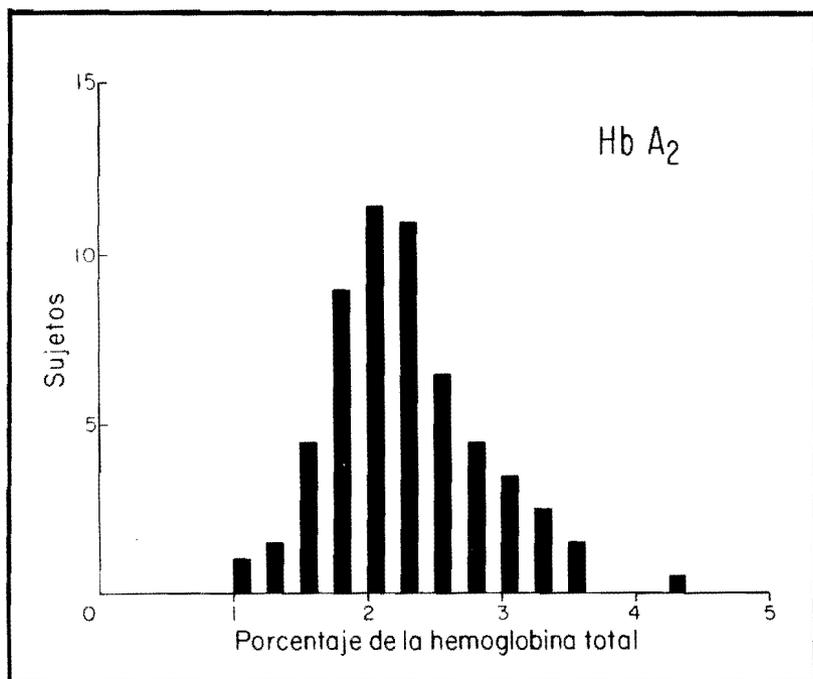


Fig. 1.— Histograma de las determinaciones cuantitativas de Hb A₂ de los donantes de sangre del estado Falcón. Excluyendo los dos casos de β -talasemia menor, el resto constituye una sola población homogénea.

TABLA III

DETERMINACIONES CUANTITATIVAS DE Hb A₂ y Hb F EN DONANTES DE SANGRE DEL ESTADO FALCON (VENEZUELA)

Determinación	N	Promedio	D.E.*	Valores extremos	E.E.*
<u>Hb A₂</u>					
Normales	114	2,33	0,52	1,24 - 3,63	0,05
β -talasemia menor	2	5,10	0,99	4,40 - 5,80	—
<u>Hb F</u>					
< 1,0	24	0,59	0,20	0,30 - 0,95	0,04
1,0 - 2,0	11	1,39	0,32	1,0 - 1,9	0,06
> 2,0	1	14,5	—	—	—

Los valores de Hb A₂ y Hb F están expresados en porcentaje de la hemoglobina total.

* D.E. = desviación estándar

** E.E. = error estándar

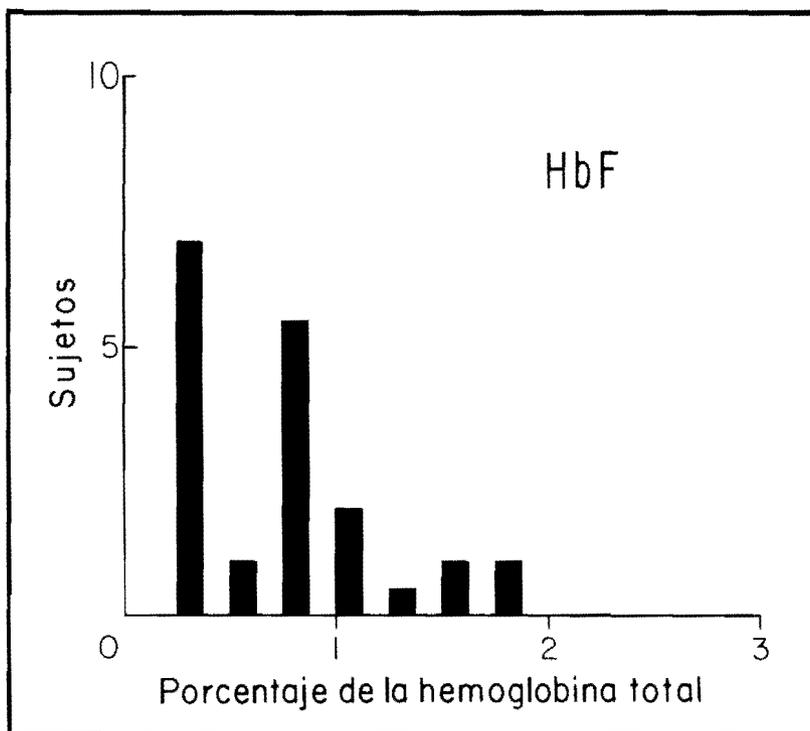


Fig. 2.— Histograma de las determinaciones cuantitativas de Hb F de los donantes de sangre del estado Falcón. Luce como si existieran tres poblaciones.

Los casos de Hb AS fueron confirmados mediante la demostración de drepanocitos y/o la prueba de solubilidad de Itano (17). Las muestras de Hb AC fueron identificados mediante el mapa de péptidos, habiendo resultado típico para la mutación ($\alpha_2\beta_2$ 6 Glu→Lys). Igualmente la Hb D fué identificada como D Punjab ($\alpha_2\beta_2$ 121 Glu→Gln) por el mismo procedimiento.

Antígeno Australia

El AgHb fué determinado en suero o plasma de 300 donantes, habiendo encontrado 4 positivos en inmunodifusión, 6 positivos en electroforesis reaccional siendo 3 positivos con ambas técnicas, dando un total de 7 donantes positivos y una frecuencia del 2,33%.

Inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas G, A y M, determinadas en suero de 25 donantes, dieron los valores contenidos en la Tabla IV.

TABLA IV

INMUNOGLOBULINAS DETERMINADAS EN 25 DONANTES
DE SANGRE DEL ESTADO FALCON (COMPARADAS
CON VALORES OBTENIDOS EN LA POBLACION DE CARACAS)
(mg/100 ml)

Inmunoglobulinas	Coro	Caracas
IgG	1711 ± 278	1244 ± 384
IgA	341 ± 99	240 ± 116
IgM	174 ± 67	74 ± 33

Grupos Sanguíneos

El sistema ABO mostró una distribución que es característica para la población general de Venezuela (Tabla I).

DISCUSION

Hemoglobinas

Los resultados de los estudios hemoglobínicos (Tablas II y III) indican que una persona de cada once de la población del estado Falcón tiene alguna variante o alteración hemoglobínica, pero que solamente una persona de cada veinte tiene lo que puede considerarse una hemoglobinopatía en forma heterocigota (β -talasemia menor y taras de Hbs S, C o D). Estos datos permiten calcular la cantidad de pacientes para el estado Falcón (Tabla V), utilizando una tabla elaborada de acuerdo a la conocida ecuación: $p^2 + 2 pq + q^2 = 1$ (7). Para este cálculo hemos reunido todas las alteraciones hemoglobínicas, excepto los casos con valores moderadamente aumentados de Hb A₂, para tener una cifra que permita calcular la magnitud de la frecuencia total, para valorar si tiene significación como problema de salud pública para el estado Falcón. La frecuencia de 35.542 variantes hemoglobínicas para todo el estado, no deja de ser una cifra importante a pesar de tratarse de heterocigotos, especialmente cuando se toma en cuenta su posibilidad de ser transmitida a sus descendientes y la interferencia diagnóstica que pueden presentar ocasionalmente, en especial la β -talasemia menor. En el caso de los pacientes, el hecho de que cualquier población del estado del orden de 10.000 habitantes pueda tener alrededor de 16 pacientes, indica que se trata de un problema de salud pública no despreciable.

TABLA V

FRECUENCIA DE VARIANTES HEMOGLOBINICAS ESTIMADA PARA LA POBLACION DEL ESTADO FALCON (VENEZUELA)

Ecuación $p^2 + 2 pq + q^2 = 1$	
gen p	0,96065
gen q	0,03935
p^2	0,9228
$2 pq$	0,0756
q^2	0,0016
Población estimada: 503.896 habitantes (Censo de 1981)	

Frecuencia de heterocigotos: 7,59%, total 35.542
 Frecuencia de homocigotos o doble heterocigotos: 0,2%, total 937
 Proporción heterocigotos/homocigotos: 38:1
 Heterocigotos en 10.000 habitantes: 759
 Pacientes en 10.000 habitantes: 16

La presencia de Hbs S y C en la población del estado Falcón puede explicarse por los grupos africanos traídos durante la Colonia para las haciendas de caña y café. La existencia de Hb D posiblemente tenga otro origen. La identificación precisa de Hb D Punjab ($\alpha_2\beta_2$ 121 Glu \rightarrow Gln) ha sido hecha en Venezuela en dos familias venezolanas procedentes de Pregonero (Edo. Táchira) (7, 8). Posteriormente se ha hecho en otros casos procedentes de varias partes del país, reuniéndose en total 13 familias (10) cuyos antecesores eran venezolanos de varias generaciones, excepto una familia portuguesa y otra hindú. La Hb D Punjab ha sido encontrada en España (12, 25), lo cual sugiere que posiblemente la que se encuentra en Venezuela es de origen hispánico (11).

La presencia de β -talasemia en la población del estado Falcón puede tener triple origen:

- 1) Los italianos que han estado viniendo a Coro prácticamente desde que fué fundada, como se evidencia por referencias históricas (4, 7, 14).
- 2) Los españoles, especialmente los de la zona mediterránea, Madrid, Castilla La Vieja, Castilla La Nueva y Andalucía. Pellicer (24) en una muestra de 6.610 sujetos procedentes de diversos sitios de España encontró una positividad para talasemia minor del 1,21%.
- 3) Los alemanes que estuvieron administrando la Colonia durante varios años. Se debe puntualizar sin embargo, que la frecuencia encontrada

en la población de Falcón (menor de 1%) de β -talasemia, es una de las más bajas encontradas en el país (7).

Los valores encontrados para la Hb A₂ en normales está de acuerdo tanto con lo encontrado previamente para el país (Tabla VI) como con lo reportado en la literatura mundial (26). Llama un poco la atención los 15 casos encontrados con valores de Hb A₂ por encima de 3,0%, pero por debajo del nivel mínimo aceptado como β -talasemia menor. No existiendo en el estado Falcón paludismo, que puede provocar valores algo inferiores a los de la β -talasemia menor (6), posiblemente representan procesos megaloblásticos subclínicos.

Los valores normales encontrados de Hb F ($0,59 \pm 0,20\%$) están de acuerdo con lo reportado en la literatura (13). El caso con 14,5% de Hb F representa un sujeto con persistencia hereditaria de Hb F (HPFH) tipo africano. La interpretación es más difícil en los 11 casos con valores de Hb F de 1,0 a 1,9%, los cuales para nuestro laboratorio y de acuerdo a la técnica usada, representan casos con niveles aumentados. Siendo personas normales, o por lo menos asintomáticas, habría que relacionarlas con la HPFH tipo Venezuela (Tabla VII) que hemos encontrado en indios Waraos (8), habitantes del Delta del Orinoco, aunque por supuesto no hay ninguna evidencia histórica de que haya podido ocurrir mezcla alguna entre estas dos poblaciones.

Antígeno Australia

El hallazgo de una positividad del 2,33% en donantes de Falcón indica que la posibilidad de provocar una hepatitis infecciosa tipo B mediante transfusiones administradas en Coro es un peligro real. Esta frecuencia es mayor que la encontrada en Caracas, igual a la de la Colonia Tovar (Estado Aragua), pero inferior a la encontrada en varias poblaciones del estado Táchira y en Puerto Ayacucho (Territorio Federal Amazonas), como se deduce del trabajo de Merino et al. (22).

Inmunoglobulinas

Los valores obtenidos para las inmunoglobulinas en los donantes de Falcón son un poco más altos que los obtenidos en donantes de Caracas, pero están dentro de los límites esperados para algunas regiones del interior (22). Es posible que estos valores representen secuelas de procesos infecciosos en recuperación o infecciones subclínicas.

Grupos Sanguíneos

Proveniendo la población del estado Falcón de un triple origen: europeo, africano e indígena, es natural que los grupos sanguíneos retraten

TABLA VI

VALORES DE Hb A₂ EN VARIAS POBLACIONES SURAMERICANAS

Población	N	Promedio	Límites	D.E.	Referencia
Venezuela					
Población mestiza	76	2,46*	1,47-3,37	± 0,48	Arends, 1960
Residentes europeos	19	2,25*	1,25-3,14	± 0,57	
Donantes de sangre	24	2,59**	1,91-3,15	± 0,32	Arends, 1975
Población mestiza	114	2,33**	1,24-3,63	± 0,52	Este estudio
Indios Paraujanos	105	2,32*	1,25-3,49	± 0,58	Arends, 1960
Indios Yaruros	44	2,38*	1,32-3,34	± 0,62	
Pacientes de paludismo	8	3,41*	3,00-4,00	± 0,33	Arends, 1967
Guyana					
Indios Wapishana	29	2,46*	1,59-3,35	± 0,45	Arends y Gallango, 1965 (5)
Colombia					
Indios Ica	74	2,59*	1,34-3,44	± 0,52	Gallango y Arends, 1966 (15)

Valores calculados como porcentajes de la concentración de hemoglobina

D.E. = Desviación estándar

* = Determinado mediante electroforesis en bloque de almidón

** = Determinado mediante electroforesis en acetato de celulosa

TABLA VII
DIVERSOS TIPOS DE PERSISTENCIA HEREDITARIA DE Hb F (HPFH)

Tipo	Hb F		Hb A ₂		Frecuencia	Distribución geográfica
	% Promedio (valores extremos)	Distribución intracelular	% Promedio (valores extremos)			
Africano	26 (18 - 30)	Homogénea	1,6 (1,0 - 2,1)		1/1000	Africa y poblaciones descendientes
Griego	15 (10 - 20)	Homogénea	2,1 (1,2 - 3,0)		1/500	Grecia, Italia y Portugal
Suizo	2 (1 - 5)	Heterogénea	Normal		?	Suiza, China, Inglaterra y Tailandia
Venezolano	3 (1 - 8)	Homogénea	Normal		?	Delta del Orinoco, Venezuela

esta mezcla. A pesar de que los sistemas de grupos sanguíneos estudiados fueron apenas dos —y eso parcialmente—, sin embargo se obtuvo datos que están de acuerdo a lo que se debe esperar. Siendo el indio venezolano originalmente de grupo O y Rh (D) positivo, la frecuencia encontrada (Tabla I) revela la influencia de este aporte, al tener 76% del gen r (grupo O) y 94% del gen D. En cambio, el gen p (grupo A) con un 18% debe estar representando la influencia europea, donde generalmente es mayor del 30%.

Agradecimiento

Este trabajo fue financiado parcialmente por el CONICIT (Proyecto S1-426). A la Srta. María Antonieta Baute L., por su labor secretarial.

ABSTRACT

Hematologic Characteristics of the Population of the Falcón State (Venezuela). I. Hemoglobin Variants, Australia Antigen and Immunoglobulin levels. Arends T. (*Centro de Medicina Experimental. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Apartado Postal 1827. Caracas 1010-A*). Piña B. E., Pérez-Báñez O., Arends T., Carlin G., Merino F., Amesty C. *Invest Clín* 25(3): 139-153, 1984.— Hemoglobin variants, Australia antigen and immunoglobulin levels were studied in 501 blood donors of the Alfredo van Grieken Hospital of Coro (Falcón State). Blood groups ABO and Rh (D) showed results compatible with a Venezuelan tri-hybrid population. The hemoglobin variants found were 2.40% individuals with elevated levels of Hb F; 2.99% with moderately increased Hb A₂; 0.40% with clearly Hb A₂ elevated; 3.79% with Hb AS, 0.80% with Hb AC and 0.20% with Hb D Punjab. These results indicate that of every 11 subjects in the Falcón State one has a hemoglobin variant or an abnormal level of Hb A₂ or Hb F. This finding is representative of the intense admixture that have been in action in this region since Columbus time. The hemoglobin variants more frequently found were of African or European origin. In 300 donors the Australia antigen gave a positivity of 2.33%, which is higher than the one found in Caracas. Immunoglobulins A, G and M were also higher than those in the Caracas population.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1— ARCAYA PM.: Estudios sobre Personajes y Hechos de la Historia Venezolana. Caracas, Tip. Cosmos, 1914; pp. 277-280.

- 2- ARDAYA PM.: Historia del Estado Falcón. Caracas, Tip. Cosmos, 1920; pp. 31-63.
- 3- ARELLANO MORENO A. (ed.): Las Estadísticas de las Provincias en la Epoca de Páez. Caracas, Academia Nacional de la Historia, 1973.
- 4- ARENDS T.: Thalassaemia and its variants in Venezuela. Proceed. 8th Int. Congr. Hemat., Tokyo 1960, pp. 1214-1217, (Karger, Basel/New York, 1962).
- 5- ARENDS T., GALLANGO ML.: Haemoglobin types and blood serum factors in British Guiana indians. Brit J Haemat 11: 350-359, 1965.
- 6- ARENDS T.: High concentrations of haemoglobin A₂ in malaria patients. Nature 215: 1517-1518, 1967.
- 7- ARENDS T.: Epidemiology of hemoglobin variants in Venezuela. In: Genetical, Functional and Physical Studies of Hemoglobin. p 82-98. Arends, T., Bemski, G., Nagel, R. (eds.) Basilea, S. Karger, 1971.
- 8- ARENDS T.: Increased levels of Hb F or A₂ in Venezuelan subjects. In: Abnormal Haemoglobins and Thalassaemia - Diagnostic Aspects. p 229-246. Schmidt, R.M. (ed.) Nueva York, Academic Press, 1975.
- 9- ARENDS T., LEHMANN H., PLOWMAN D., STATHOPOULOU R.: Haemoglobin North Shore-Caracas B134 (H12) Valine → Glutamic Acid. FEBS Letters, 80: 261-265, 1977.
- 10- ARENDS T., GARLIN G., PEREZ-BANDEZ O., ANCHUSTEGUI M.: Hemoglobin variants in Venezuela. Hemoglobin 6: 243-246, 1982.
- 11- ARENDS T., GARLIN G., ANCHUSTEGUI M., ARENDS T.: Variantes hemoglobínicas y tipos de talasemia de origen español en la población venezolana. Sangre 28: 542-550, 1983.
- 12- BAIGET M., DEL RIO E., GIMFERRER E.: Hemoglobin D-Punjab (β 121 Glu → Gln) in a Spanish family. Hemoglobin 6: 193-198, 1982.
- 13- BETKE K., MARTI HR., SCHLICHT I.: Estimation of small percentages of foetal haemoglobin. Nature 184: 1877-1878, 1959.
- 14- ERNST A.: Dos cartas antiguas de Venezuela. Revista Nacional de Cultura, Caracas, N° 37: 107-123, 1943.

- 15- GALLANGO ML., ARENDS T.: Haemoglobin types and blood serum factors in Colombian indians. *Acta Genet* 16: 162-168, 1966.
 - 16- GIORGIO AJ.: A direct method of hemoglobin electrophoresis using capillary blood. *Clin Chim Acta* 27: 362-363, 1970.
 - 17- ITANO HA.: Solubilities of naturally occurring mixtures of human hemoglobin. *Arch Biochem Biophys* 47: 148-159, 1953.
 - 18- KLEIHAUER E., BRAUN H., BETKE K.: Demonstration von Fetalem hamoglobin in den erythrocyten eines blutausstrichs. *Klin Wochens* 35: 637-638, 1957.
 - 19- LANG N.: The overtaking of reaction electrophoresis as a quantitative immunological methods. *Prot Biol Fluids* 14: 517-526, 1966.
 - 20- LEHMANN H., HUNTSMAN RG.: Laboratory detection of abnormal haemoglobin. In: *Man's Haemoglobins*. p. 383-430. Amsterdam, North-Holland, 1968.
 - 21- MARENCO-ROWE AJ.: Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobin on cellulose acetate. *J Clin Pathol* 18: 790-792, 1965.
 - 22- MERINO F., TAPIA T., ARENDS T.: Frecuencia del antígeno de la hepatitis tipo B en poblaciones aparentemente sanas de Venezuela. *Sangre* 20: 121-126, 1975.
 - 23- MILLMAN I., HUTANENT H., MERINO F., BAYER ME., BLUMBERG BS.: Australia antigen: physical and chemical properties. *Res Commun Chem Pathol Pharm* 2: 667-681, 1971.
 - 24- PELLICER A.: Frequency of thalassemia in a sample of the Spanish population. *Am J Human Genet* 19: 695-699, 1967.
 - 25- ROMERO C., FERNANDEZ FUERTES I., QUINTANA A., NAVARRRO JL.: Asociación Hb D Punjab (β 121 Glu \rightarrow Gln) y beta⁰ talasemia. *Sangre* 27: 431, 1982.
 - 26- WEATHERALL D., CLEGG JV.: The laboratory diagnosis of thalassaemia. In: *The Thalassaemia Syndromes*. p. 303-314. Oxford, Blackwell, 1972.
-