

Herencia conjunta de α^+ -talasemia y portador de hemoglobina S

(Co-inheritance of α^+ -thalassemia and sickle trait)

Walter Cartín-Sánchez,¹ Melissa Calderón-Brenes,¹ Karol Acevedo-Viales²

Resumen

En este reporte de caso se describe el primer paciente doble heterocigoto para alfa⁺-talasemia tipo -3,7 y rasgo heterocigoto por hemoglobina S en Costa Rica, diagnosticado desde su nacimiento por medio del tamizaje neonatal como heterocigoto para hemoglobina S. Luego de la detección de la hemoglobina S por tamizaje, el paciente fue referido al servicio de Hematología del Hospital Nacional de Niños para su seguimiento, en donde se observa hemograma con índices y morfología de glóbulos rojos sugestivos de alfa talasemia, con presentación de electroforesis de hemoglobina con patrón AS cuya expresión relativa de HbS era menor de lo esperado, lo que motivó a efectuar estudio molecular del gen de alfa globina, que confirmó el diagnóstico de alfa talasemia con deleción heterocigota de tipo -3,7 en herencia conjunta con la heterocigosis de hemoglobina S.

Descriptores: hemoglobina A, anemia, talasemia alfa, hemoglobina S.

Abstract

In this case report we describe the first patient compound heterozygous for type -3.7 alpha⁺ thalassemia and sickle cell trait in Costa Rica, who was diagnosed from birth by neonatal screening as heterozygous for hemoglobin S. After detection

of hemoglobin S by screening, the patient was referred to the Hematology service of the National Children's Hospital for follow-up, where hemogram with indexes and morphology of red blood cells suggestive of alpha thalassemia is observed, presenting hemoglobin electrophoresis with AS pattern whose relative expression of hemoglobin S was lower than expected, which led to a molecular study of the alpha globin gene confirming the diagnosis of alpha thalassemia with heretozygous deletion of type -3.7, in co-inheritance with hemoglobin S heterozygosis.

Keywords: hemoglobin A, anemia, alpha thalassemia, hemoglobin S.

Fecha recibido: 27 de julio 2019

Fecha aprobado: 26 de setiembre 2019

En el adulto, usualmente la hemoglobina está conformada por un 95 % - 98 % de hemoglobina A($\alpha_2\beta_2$); hemoglobina fetal($\alpha_2\gamma_2$) en concentración menor al 1 %; y por concentraciones inferiores al 3,5 % de hemoglobina A₂($\alpha_2\delta_2$). Los genes que codifican para las cadenas alfa y gamma están duplicados ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$; $\gamma\gamma/\gamma\gamma$), mientras que los genes de las cadenas beta están codificados por un locus simple (β/β).

Las hemoglobinopatías son comunes en muchas áreas del trópico. Dos de ellas son particularmente frecuentes: los portadores heterocigotos de hemoglobina S (HbAS) y la α^+ -talasemia, habiendo sido seleccionadas en alta frecuencia por las ventajas de supervivencia contra la malaria.¹

Por un lado, la alfa talasemia es un desorden hereditario autosómico recesivo, caracterizado por una reducción en las cadenas de globina de la hemoglobina (Hb) que causan una anemia microcítica hipocrómica con fenotipo clínico variable.² Los genes que codifican para las cadenas alfa están duplicados ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), mientras que los genes de las cadenas beta están codificados por un locus simple (β/β). En las α^+ -talasemias un par de genes son delecionados ($-/-\alpha\alpha$) o inactivados por mutaciones puntuales ($\alpha^{ND}\alpha/\alpha\alpha$), la severidad de la clínica depende del número de copias del gen de alfa globina delecionadas.³ Por otro lado, la anemia drepanocítica es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva, en la cual ocurre una mutación concreta en el gen de la beta globina, que resulta en una sustitución de un ácido glutámico por una valina en el sexto aminoácido de la cadena de beta globina. Al heredar un alelo mutante de un progenitor se adquiere el rasgo de portador heterocigoto de HbAS (β^S/β), mientras que al heredar

Trabajo realizado en: Servicio de Hematología, Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, Caja Costarricense de Seguro Social.

Afiliación de los autores: ¹Laboratorio de Estudios Especializados e Investigación y ²Servicio de Hematología, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera", Caja Costarricense de Seguro Social.

Abreviaturas: hemoglobina, Hb; hemoglobina A, HbA; hemoglobina A2, HbA2; hemoglobina corpuscular media, HCM; volumen corpuscular medio, VCM; hemoglobina fetal, HbF; heterocigoto para HbS, HbAS; hemoglobina S, HbS; Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera, HNN; Cómputo de glóbulos rojos, GR; reacción en cadena de la polimerasa, PCR.

Conflicto de interés: no se tiene conflicto de interés por declarar.

✉ walter.cartin@gmail.com

ISSN 0001-6012/2019/61/4/190-194

Acta Médica Costarricense, © 2019

Colegio de Médicos y Cirujanos de Costa Rica

un alelo mutante de cada progenitor, se adquiere el síndrome drepanocítico de carácter homocigota HbSS (β^S/β^S).

Las hemoglobinopatías son desórdenes en la estructura y producción de la hemoglobina, que actúan como un factor protector al minimizar el riesgo de muerte por malaria. En muchas áreas del trópico, principalmente en el África subsahariana, existen dos condiciones que ocurren con una frecuencia particularmente alta: la alfa talasemia y la presencia de una variante de hemoglobina: la hemoglobina S. De manera independiente, cada una de estas condiciones es protectora contra la malaria por *Plasmodium falciparum*, pero se conoce muy poco de los efectos cuando se heredan de forma concomitante. Existe considerable evidencia de que cuando ambas condiciones (HbAS y α^+ -tal) se heredan de manera individual protegen contra la malaria,^{4,6} pero se conoce poco acerca de sus efectos cuando ambas se heredan de manera concomitante.⁷

Históricamente, se consideraba que los portadores de hemoglobina S (HbAS) no presentaban implicaciones clínicas ni secuelas importantes,⁸ no obstante, se reconoce la trascendencia de esta entidad para su evaluación dentro de ámbitos como la asesoría previa a la concepción, así como sus posibles complicaciones, como por ejemplo la posibilidad de presentar disminución de la filtración glomerular, hematuria, infecciones del tracto urinario, carcinoma medular renal y enfermedad renal crónica.^{9,10}

La condición doble heterocigoto para α^+ -talasemia y HbAS genera un aumento en el nivel de HbA, debido al desbalance en la síntesis de la cadena de globina que conduce a una deficiencia en la cantidad de HbS por célula, disminución en el número de células densas y aumento en la deformabilidad de los glóbulos rojos en pacientes con talasemia alfa concurrente, sin embargo, su clínica podría ser variable.³

Es conocido que, en pacientes con síndromes drepanocíticos, la co-herencia de α -talasemia tiene un factor protector contra varias de las complicaciones presentes en los pacientes drepanocíticos (Hb SS), incluyendo crisis vaso-oclusivas, úlceras en miembros inferiores y nefropatía, ya que la delección -3,7 disminuye los efectos reológicos de la hemoglobina S.³

Recientemente, se ha descrito en individuos portadores de hemoglobina S (HbAS), en una población afroamericana, una asociación entre la normalización de los parámetros de los índices de serie roja por cada copia de la delección -3,7 coheredada. Sin embargo, al mismo tiempo esta co-herencia se asocia con una disminución en la protección contra el infarto. Estudios funcionales han demostrado que la principal causa es la variante rs11865131, un polimorfismo localizado en la región de la alfa globina (16p13.3), localizada 70 kb corriente arriba de los genes *HBA2-HBA1* y dentro del promotor Mayor de la alfa globina (HS-40/MCS-R2).³

Por otra parte, la correlación entre HbA1c y los niveles de glicemia en ayuno y 2 horas postprandial se altera en pacientes dobles heterocigotos para HbS y alfa talasemia de etnia negra, con elevación de los niveles de hemoglobina glicosilada.¹¹

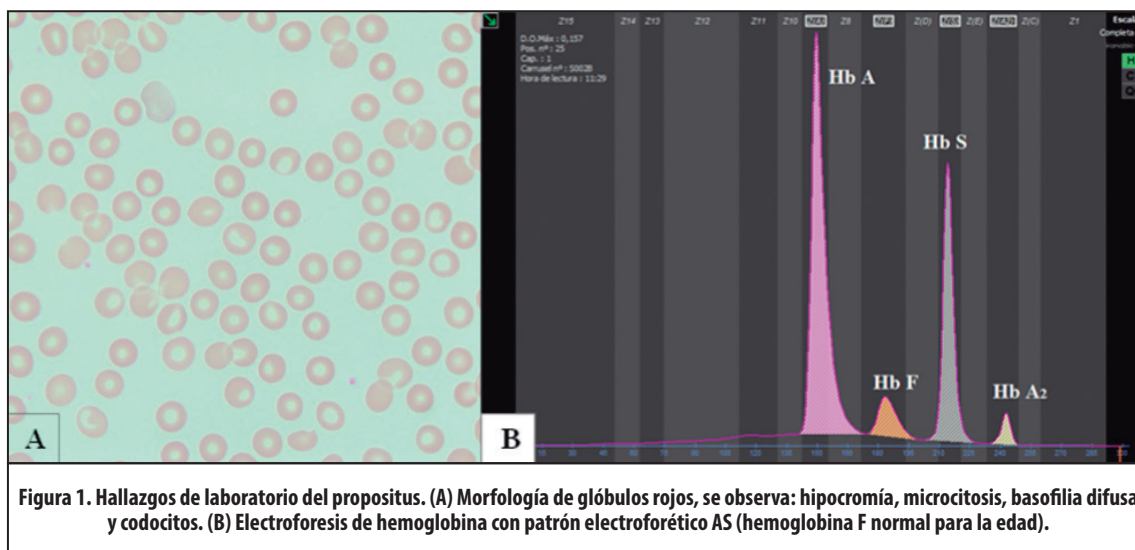
En cuanto a la enfermedad renal, la herencia concomitante de alfa talasemia al ser un determinante mayor en la concentración intracelular de la HbS, produce disminución de los niveles totales de HbS y los protege contra la concentración urinaria, en comparación con pacientes que no coheredan la alfa talasemia, cuyos casos tienen un riesgo 2,6 veces mayor de sufrir enfermedad crónica renal.⁹

Se describe aquí el primer caso de un paciente doble heterocigoto para HbS y alfa talasemia en Costa Rica.

Presentación del caso

Se trata de un paciente masculino, quien al cuarto día de nacido se diagnosticó como portador heterocigoto para HbS, patrón FAS obtenido mediante electroforesis de hemoglobina por HPLC, realizado como parte del tamizaje por hemoglobinopatías, perteneciente al Programa Nacional de Tamizaje Neonatal de Costa Rica, de la Caja Costarricense de Seguro Social. A partir de ese momento, el niño es referido al Servicio de Hematología del Hospital Nacional de Niños *Dr. Carlos Sáenz Herrera*, para su seguimiento y control.

Al año de vida, se decide efectuar estudios por presentar anemia asintomática, pero persistente, desde los 6 meses de



edad, que no respondía al tratamiento con hierro oral a una dosis de 5mg/kg/día, durante un período de 4 meses. Entre los antecedentes heredofamiliares, se conoce al padre como portador heterocigoto para HbS (establecido al momento del diagnóstico del niño durante el tamizaje neonatal y como parte del mismo programa en donde se tamiza también a los progenitores para determinar patrón hereditario), y además, tanto el padre como el tío paterno poseen una historia de anemia persistente sin causa aparente. La madre era conocida sana, y en la electroforesis realizada junto con el tamizaje del niño, presentó un patrón de hemoglobina AA, siendo este normal. El hemograma del *propositus* al momento de ser referido al Servicio de Hematología mostró un cómputo de glóbulos rojos de 5,55 millones/ μ L, una Hb de 8,2 g/dL, VCM de 49,5 fL, HCM de 14,8 pg, reticulocitos en el 0,35 %, sin evidencia de otras citopenias. La morfología de glóbulos rojos presentó marcada hipocromía, marcada anisocitosis dada por microcitos, moderada cantidad de codocitos y leve basofilia difusa (Figura 1A). Los índices de hierro sérico se encontraban dentro del rango de referencia (50-120 μ g/dL).

Se les realiza electroforesis de hemoglobina por electroforesis capilar (*Capillarys 2; Sebia, París, Francia; software versión 6.2*), obteniéndose un patrón electroforético AS para el *propositus* y su padre, sin embargo, la concentración de la HbS en ambos casos es inferior a lo esperado (Figura 1B). En pacientes heterocigotos para HbS (Hb AS), no se espera observar ningún cambio morfológico de los glóbulos rojos ni alteración de los índices eritrocitarios. Dichos hallazgos generaron la sospecha de que el *propositus* posee un rasgo adicional al de heterocigoto por Hb S; probablemente una alfa talasemia. El análisis molecular, cuya metodología consiste en la identificación de 21 de las mutaciones / deleciones más frecuentes del gen α -globina basado en amplificación por PCR e hibridación inversa (*ViennaLab labor-diagnostikaGmbH, Vienna, Austria*); se extrajo ADN genómico de los leucocitos de sangre periférica del *propositus* y sus progenitores. Mediante PCR e hibridación inversa se identificó la mutación -3,7 tanto en el *propositus* como en el padre; ambos poseen el rasgo de alfa talasemia heterocigoto para la deleción -3,7 (Cuadro 1). A los progenitores se les realizó electroforesis capilar de hemoglobina, y solo el padre es heterocigoto para HbS. Con esto es posible demostrar

que tanto el *propositus* como el padre son portadores del rasgo heterocigoto para HbS (genotipo $\beta^S\beta$), en concomitancia con el rasgo alfa talasémico heterocigoto para la deleción -3,7 del gen de alfa globina (genotipo $\alpha\alpha^{-3.7}/\alpha\alpha$), siendo así genotípicamente dobles heterocigotos para alfa talasemia -3,7 y Hb AS.

Con los resultados obtenidos se orientó al *propositus* hacia una dieta rica en hierro, eliminando su suplementación, y se brindó consejo genético, razón por la cual se decide realizar los análisis moleculares correspondientes.

Discusión

En Costa Rica, la población afrodescendiente es de aproximadamente el 1,05 % de la población total (INEC, X Censo Nacional de Población y Vivienda, 2011), siendo las provincias de Limón, Guanacaste y San José, las que presentan mayor porcentaje (con un 4,7 %, un 0,92 % y un 0,8 %, respectivamente, del total de la población). Dado que las mutaciones aquí descritas poseen mayor frecuencia en poblaciones afrodescendientes, es preciso considerar la probabilidad de encontrar este tipo de hallazgos, dada la fácil y rápida movilización de las personas dentro y fuera del país.

En el último estudio de hemoglobinas anormales en la población neonatal nacida en Costa Rica,¹² se encontró que la frecuencia de casos detectados con alguna variante de hemoglobina a nivel nacional es de aproximadamente el 1,26 %, siendo San José (23,3 %), Guanacaste (18,1 %) y Limón (17,2 %) las provincias que poseen mayor frecuencia de este tipo de variantes y además, encontrando que el 15 % de las muestras analizadas pertenecían a neonatos cuyos padres eran de procedencia extranjera. En el mismo estudio, del total de casos de variantes detectadas, la variante de Hb más frecuente fue la HbS (90,7 %), seguida de la Hb C (6,3 %) y la Hb D (2,9 %). De ellos, el 27 % de los casos por HbS provenían de la provincia de San José, seguidos de un 18,8 % de Guanacaste, y un 16,5 %, de Limón.¹² En Costa Rica no se cuenta con datos nacionales actualizados y publicados de prevalencia de las alfa talasemias. A pesar de no ser zona endémica de

Cuadro 1. Hallazgos electroforéticos y moleculares del <i>propositus</i> y sus progenitores			
Parámetro	Propositus	Madre	Padre
Sexo	M	F	M
HbA (%)	59,2	96,9	62,1
HbA2(%)	3,1	3,1	3,2
HbF (%)	7,4	ND	ND
HbS(%)	30,3	ND	34,7
Patrón electroforético	AS	AA	AS
Genotipo	$\beta^S\beta, \alpha\alpha^{-3.7}/\alpha\alpha$	$\beta\beta, \alpha\alpha/\alpha\alpha$	$\beta^S\beta, \alpha\alpha^{-3.7}/\alpha\alpha$
ND: no detectado; $\beta^S\beta$: heterocigota para hemoglobina S			

hemoglobinopatías, Costa Rica se posiciona como un país con alta migración, lo que le da relevancia a este tipo de casos que evidencian la aparición de combinaciones de las distintas hemoglobinopatías. Al funcionar el Laboratorio de Estudios Especializados e Investigación del Hospital Nacional de Niños *Dr. Carlos Sáenz Herrera*, como laboratorio de referencia para el estudio de hemoglobinopatías en la Caja Costarricense de Seguro Social, luego del presente hemos detectado otros casos en adultos de herencia concomitante entre HbAS y alfa talasemia (datos no publicados), los cuales han sido reportados a las unidades correspondientes que nos refieren muestras.

La mutación que involucra a la variante para HbS es un prototipo conocido como polimorfismo balanceado, es decir, que la frecuencia de esa variante en la población está determinada tanto por la selección positiva de los heterocigotos (HbAS), como por la selección negativa de los homocigotos (HbSS), y que causa la drepanocitosis. Aun cuando se conoce que tanto la condición HbAS como la α^+ -talasemia protegen contra la forma severa y fatal de la malaria por *P. falciparum*, los mecanismos que confieren esta protección no son conocidos en su totalidad.

Se han propuesto varios modelos que intentan explicar la interacción de las Hb anormales y la malaria, entre ellos, uno de los probables mecanismos de protección de la HbAS está relacionado con las propiedades físicas o bioquímicas de los eritrocitos que contienen HbS. *In vivo*, la invasión, el crecimiento y desarrollo de los parásitos de *P. falciparum* se disminuyen en dichas células por la tensión de oxígeno reducida, y porque dichos eritrocitos son objeto de destrucción temprana por el bazo.¹³

Estos mecanismos hipotéticos son respaldados por la reducida incidencia de malaria clínica y la baja densidad de parásitos en los eritrocitos de niños infectados con malaria y que son heterocigotos para HbS. Por otro lado, se conoce poco el mecanismo por el cual la alfa talasemia, tanto en los heterocigotos ($-\alpha/\alpha\alpha$) como en los homocigotos ($-\alpha/-\alpha$), es un factor protector contra la malaria severa o fatal. A pesar de ello, en los pacientes dobles heterocigotos (HbAS y α^+ -talasemia), se pierde el efecto protector de esos dos genes, lo cual indicaría que pueden estar actuando epistásicamente en relación con los efectos positivos contra la malaria.

La epistasis se define como el efecto de un alelo de un *locus*, que depende del genotipo que se cohereda en un segundo *locus* no relacionado. Aun cuando se han descrito en modelos animales ejemplos clásicos de epistasis,¹⁴ en humanos existen pocos disponibles. Con base en esto, la malaria presenta una oportunidad única para explicar dichos efectos en los pacientes dobles heterocigotos para HbS y alfa talasemia.

La concentración de HbS es menor que la de HbA en los eritrocitos de pacientes con HbAS, porque la cadena de alfa globina tiene mayor afinidad para la globina normal β que para la cadena β^S . Con la coexistencia de la α^+ -talasemia, la deficiencia relativa de cadenas de alfa globina magnifica ese efecto, de tal manera que la concentración intraeritrocítica de HbS es casi de la mitad en dobles heterocigotos HbAS y α^+ -talasemia, en

comparación con lo que se observa en individuos HbAS con todos los genes de alfa globina presentes ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$).⁷

El efecto protector de la HbAS contra la malaria podría involucrar también la unión de los hemicromos (productos de degradación de la hemoglobina) a la membrana eritrocítica citoplasmática, lo que causa una agregación de la proteína de la banda 3 a nivel de dicha membrana. Esto a su vez, provoca una opsonización de IgG y fragmentos del complemento C3c autólogo, lo que acelera la remoción de eritrocitos infectados por fagocitosis. Esta cascada depende críticamente de la concentración intracelular de la HbS. Ambas razones explican en parte por qué los dobles heterocigotos pierden la protección contra la malaria.⁷

Importancia del tamizaje por hemoglobinopatías

El tamizaje neonatal por hemoglobinopatías es particularmente útil al prevenir complicaciones severas; en Costa Rica se realiza desde 2005.¹² En dicho tamizaje, al *propositus* se le diagnosticó como heterocigoto para HbS. La mayoría de los programas de tamizaje se enfocan como parte de un programa para la prevención de las beta talasemias y algunas variantes de hemoglobina como la S. Sin embargo, al no incluir el tamizaje por alfa talasemia, el programa no es adecuado para determinar la frecuencia de estas. Por lo tanto, se recomienda valorar la necesidad de incluir el diagnóstico por alfa talasemias como parte del tamizaje neonatal, en donde se ofrecería diagnóstico temprano a los niños con alguna alfa talasemia y, además, a partir de estos datos se puede llegar a conocer la prevalencia a nivel nacional de las alfa talasemias.

En conclusión, la alfa talasemia coexiste hasta en un 30 % de los pacientes africanos con síndrome drepanocítico,¹⁵ y en más de un 50 % de los pacientes con esta enfermedad en la India,¹⁶ y en Arabia Saudita.¹⁷ Sin embargo, es la primera vez que se da a conocer esta condición de doble heterocigoto para HbAS y alfa talasemia en un paciente en Costa Rica. Con la globalización, los aumentos en la migración de las poblaciones son ahora más frecuentes, y la diversidad de las combinaciones de las variantes de alfa talasemias entre sí, o incluso con otras hemoglobinopatías, seguirá en aumento. Las manifestaciones clínicas oscilan en estos pacientes, sin embargo, al ser comparados con otros síndromes drepanocíticos sin la presencia de alfa talasemia, la morbilidad y mortalidad disminuye, principalmente debido a un decremento en el nivel de hemoglobina S, disminuyendo su tendencia a la polimerización, y por ende, también los índices de hemólisis.

El *propositus* se mantiene asintomático, sin embargo, se ha descrito en la bibliografía pacientes dobles heterocigotos para HbS y α^+ -talasemia con complicaciones clínicas relevantes, principalmente oculares,¹⁸ cardíacas² y renales,¹⁹ y de ahí la importancia de perfilar estos pacientes desde la infancia para su seguimiento preventivo.

Referencias

1. Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB. The population genetics of the haemoglobinopathies. *Baillieres Clin. Haematol.* 1998; 11:1-51.

2. Nguyen L, Redheuil A, Mangin O, Salem, J. Sickle-cell and alpha-thalassemia traits resulting in non-atherosclerotic myocardial infarction: Beyond coincidence? *World J Clin Cases*. 2017. Dec 16; 5: 428–431.
3. Saleh-gohari N, Mohammadi-Anaie M. Co-inheritance of sickle cell trait and thalassemia mutations in South Central Iran. *Iranian J Publ Health*. 2012, 41:81-86.
4. Allen SJ, O'Donnell A, Alexander N, Alpers M, Peto T, Clegg J, *et al*. Alpha (+) thalassemia protects children against disease caused by other infections as well as malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1997; 94:14736-14741.
5. Aidoo M, Terlouw DJ, Kolczak M, McElroy P, Ter Kuile F, Kariuki S, *et al*. Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality. *Lancet*. 2002; 359:1311-1312.
6. Williams T, Wambua S, Uyoga S, Macharia A, Mwacharo J, Newton C, *et al*. Both heterozygous and homozygous alpha+ Thalassemias protect against severe and fatal *Plasmodium falciparum* malaria on the coast of Kenya. *Blood* 2005; 106:368-371.
7. Wambua S; Mwacharo J; Uyoga S; Macharia A & Williams TN. Co-inheritance of α^+ -thalassemia and sickle trait results in specific effects on haematological parameters. *British Journal of Haematol*. 2006. 133: 206-209.
8. Key NS, Derebail VK. Sickle-cell trait: novel significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2010; 2010:418-22.
9. Raffield LM, Ulirsch JC, Naik RP, Lessard S, Handsaker RE, Jain D, *et al*. Common α -globin variants modify hematologic and other clinical phenotypes in sickle cell trait and disease. *Plos Genet*. 2018; 14:293.
10. Naik RP, Irvin MR, Judd S, Gutierrez OM, Zakai NA, Derebail VK, *et al*. Sickle Cell Trait and the Risk of ESRD in blacks. *J Am SocNephrol*. 2017; 28:2180-7.
11. Lacy Me, Wellenius GA, Summer AE, Correa A, Carnethon MR, Liem RI, *et al*. Association of sickle cell trait with hemoglobin A1c in African Americans. *JAMA*. 2017; 317:507-15.
12. Abarca G, Navarrete M, Trejos R, Céspedes C, Saborío M. Hemoglobinas anormales en la población neonatal de Costa Rica. *Rev biol trop*. 2008; 56:995-1001.
13. Friedman MJ. Erythrocytic mechanism of sickle cell resistance to malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1978; 75:1994-1997.
14. Carlborg O, Haley CS. Epistasis: too often neglected in complex trait studies? *Nat. Rev. Genet*. 2004; 5:618-625.
15. Higgs DR, Aldridge BE, Lamb J, Clegg JB, Weatherall DJ, Hayes RJ, *et al*. The interaction of alpha thalassaemia and homozygous sickle-cell disease. *N Engl J Med*. 1982; 306: 1441-46.
16. Kar BC, Satapathy RK, Kulozik AE, Kulozik M, Sirt S, Serjeant BE, *et al*. Sickle cell disease in Orissa State, India. *Lancet* 1986; 2:1198-201.
17. Padmos MA, Roberts GT, Sackey K, Kulozik A, Bail S, Morris JS, *et al*. Two different forms of homozygous sickle cell disease occur in Saudi Arabia. *Br J Haematol*. 1991; 79: 93-98.
18. Ouzzif Z, Maatoui A, Traore Z, Biaz A, Machtani S, Dami A, *et al*. A retinopathy in young patient with co-inheritance of heterozygous alpha⁺-thalassemia and sickle trait: a case report. *BMC Ophthalmol*. 2017: 17:6.
19. Sumboonnanonda A, Malasit P, Tanphaichitr V, Ong-ajyooth S, Petrarat S, Vongjirad A. Renal tubular dysfunction in α -thalassemia. *Pediatr Nephrol*. 2003; 18:257–260.