

Variants G Philadelphia et G₂ de l'hémoglobine chez un immigrant marocain en Belgique

PAR

L. VERHOEVEN et G. VAN ROS

Résumé — L'hémoglobine anormale G Philadelphia a été trouvée en Belgique chez un immigrant arabe originaire des confins algéro-marocains qui s'était présenté à un examen d'embauche dans une usine métallurgique. Le sujet présentait des anomalies hématologiques suggérant une hyperhémolyse compensée, anomalies qui furent retrouvées après un intervalle de plus de deux ans. Un examen hématologique comportant la recherche d'anomalies éventuelles de l'hémoglobine est donc à conseiller avant l'embauche dans l'industrie d'immigrants originaires de régions où prévalent ces anomalies.

L'hémoglobine G Philadelphia est anormale dans les chaînes α de la globine (substitution de l'arginine par la lysine en position 68); il en résulte que le sujet était également porteur d'une hémoglobine A₂ anormale, dite G₂.

L'hémoglobine G Philadelphia a été découverte en 1960 par Atwater et ses collaborateurs chez un sujet de race noire originaire de Philadelphie qui présentait simultanément quatre fractions majeures de l'hémoglobine; trois de ces fractions présentaient une mobilité électrophorétique correspondant à celles d'hémoglobines déjà connues, les hémoglobines A, G et C; le quatrième composant fut provisoirement appelé x. Les proportions respectives de ces hémoglobines étaient respectivement de 35, 27, 23 et 15 p. cent. L'étude de la famille de ce patient montra que les variants C et G étaient transmis indépendamment et étaient sous contrôle génétique non allélique. Les auteurs en déduisirent que la fraction désignée G pourrait être anormale dans ses chaînes polypeptidiques α , compte tenu du fait démontré antérieurement que l'hémoglobine C présente son anomalie dans les chaînes β (Hunt et Ingram, 1958); il résultait de cette hypothèse que le variant x pouvait trouver son origine dans la combinaison des chaînes anormales α de G et β de C et constituer un hybride $\alpha_2^G \beta_2^C$.

Cette hypothèse fut peu après confirmée expérimentalement par Baglioni et Ingram (1961); l'analyse par « fingerprinting » des

hémoglobines de ce même sujet, séparées par électrophorèse en bloc d'amidon, montra en effet qu'après hydrolyse par la trypsine les fractions A et C présentaient les peptides caractéristiques de ces hémoglobines, mais que la fraction migrant comme l'hémoglobine G était d'un type nouveau, qui fut appelé hémoglobine G^{Philadelphia} (Hb G Philadelphia suivant la nomenclature actuelle fixée en 1964 au X^e Congrès International d'Hématologie). La substitution de l'acide responsable de l'anomalie de cette globine fut élucidée à cette occasion : il s'agissait du remplacement d'un résidu asparagyl par un lysyl dans les chaînes α de la globine. Quant au composant X, il présentait effectivement les chaînes anormales α de l'Hb G Philadelphia et les chaînes β anormales de l'hémoglobine C.

Un autre sujet porteur de ces mêmes quatre hémoglobines principales fut également décrit en 1960 par Raper et ses collaborateurs. Le composant G fut appelé Hb G Bristol; il s'avéra par la suite identique à l'Hb G Philadelphia.

D'autres sujets porteurs à l'état hétérozygote simple de l'anomalie G Philadelphia furent découverts ensuite; ils présentaient, à côté de l'hémoglobine A₂, une fraction mineure supplémentaire anormale de mobilité électrophorétique plus faible, qui fut désignée G₂. Huehns et Shooter (1961) montrèrent qu'il s'agissait de la combinaison des chaînes polypeptidiques α anormales de la globine G Philadelphia avec les chaînes δ spécifiques de l'hémoglobine A₂; il en résultait que les porteurs hétérozygotes du gène muté α^G présentaient nécessairement à côté des hémoglobines normales A, F et A₂, les hémoglobines anormales correspondantes, résultant de la combinaison des chaînes anormales α^G avec les chaînes normales β , γ ou δ , spécifiques de ces hémoglobines.

Les cas décrits de porteurs de l'Hb G Philadelphia ne sont pas très rares (Lehmann et Huntsman, 1966a); il s'agit en général de sujets de race noire appartenant à des familles originaires d'Afrique occidentale; elle a été trouvée en outre chez des Noirs des États-Unis et aux Antilles.

Certaines descriptions ont appliqué à l'hémoglobine anormale des noms différents, tombés en synonymie avec l'Hb G Philadelphia après analyse des globines : c'est ainsi que les hémoglobines G Bristol, G Azakouli, D Saint-Louis et D Washington ont été trouvées identiques à G Philadelphia (voir notamment Huehns et Shooter, 1965); il en est de même pour l'hémoglobine Knoxville 1 (Chernoff, 1965).

Nous présentons ici le cas d'un sujet marocain de race arabe immigré en Belgique, qui était porteur de cette double anomalie, du fait des particularités suivantes :

1. Cette anomalie génétique n'a pas été mentionnée jusqu'à présent chez un sujet de race arabe.

2. Le sujet, bien que porteur hétérozygote des variants G et G₂, présentait des anomalies hématologiques de type hémolytique, retrouvées identiques à deux reprises, séparées par un intervalle de deux ans.

3. Les anomalies héréditaires connues de la globine humaine sont nombreuses; malgré l'immigration importante de travailleurs étrangers en Belgique, seules l'hémoglobinoase S (Fonteyne *et al.*, 1964), la thalassémie (Van Ros, 1966; Chantraine et Hurlet, 1967) et la thalassodrépanocytose (Van Ros *et al.*, 1965) ont été mentionnés chez ces immigrants; or la majorité de ceux-ci proviennent de régions où les hémoglobinoses sont fréquentes (Italie, Grèce, Turquie, Afrique du Nord, Congo) et d'autres types d'anomalies peuvent donc encore être trouvés; ceux-ci peuvent, comme dans notre cas, poser des problèmes, notamment en médecine du travail; c'est d'ailleurs à l'occasion d'un examen préalable à l'embauche dans une usine métallurgique que l'anomalie de notre patient a été décelée.

Techniques

Les techniques utilisées ont été rapportées dans des publications antérieures (Van Ros *et al.*, 1967; Gatti *et al.*, 1967); s'y ajoutent les méthodes d'analyse des globines anormales par recombinaison avec l'hémoglobine canine (Huehns *et al.*, 1962) et l'étude par « fingerprinting » des peptides de la globine hydrolysée par trypsinisation suivant les modalités décrites par Beale dans l'ouvrage récent de Lehmann et Huntsman (1966c).

Données cliniques et hématologiques

Le sujet marocain M. B..., récemment immigré en Belgique, se présente en juin 1965 à un examen d'embauche dans une usine métallurgique des environs d'Anvers. Il est né en 1942 à Ahfir, dans la région d'Oujda, au nord-est du Maroc, à proximité de la frontière algérienne. Il se déclare d'origine arabe, sans ascendance berbère. Ses parents, encore en vie, sont, comme tous ses ascendants connus, originaires de la même région. Ses six frères et sœurs seraient bien portants. Rien de particulier n'est à signaler dans ses antécédents; il n'a jamais été employé dans l'industrie auparavant. L'examen clinique est négatif, la rate est impalpable. L'examen hématologique

révèle néanmoins de l'hyperréticulocytose et des dysmorphies globulaires sur frottis :

Taux de l'hémoglobine : 16,1 g/p. cent;
Volume globulaire total : 48 p. cent;
Concentration moyenne globulaire en Hb : 33,7 p. cent;
Volume globulaire moyen : 85 microns-cube;
Réticulocytes : 40 pour mille hématies.

Les frottis montrent de l'anisopoïkilocytose, des hématies à ponctuation basophile, de la polychromasie et quelques ovalocytes et hématies en cible.

Il n'y a pas d'éosinophilie (316 éosinophiles par mm^3).

La fragilité osmotique est légèrement diminuée (50 p. cent d'hémolyse à 0,39 g/p cent de NaCl), le test de Coombs direct est négatif et la teneur en glucose-6-phosphate déshydrogénase des érythrocytes est normale (1,59 unités/ml); le taux d'haptoglobine du plasma est bas (35 mg/p. cent).

Le sujet est revu en janvier 1968, après deux ans et demi d'occupation ne comportant pas de contact avec des toxiques de l'hématopoïèse. L'examen hématologique montre des anomalies quasi identiques aux précédentes : dysmorphies globulaires, polychromasie et ponctuation basophile; le taux des réticulocytes est toujours élevé (45 pour mille), la bilirubine indirecte est légèrement augmentée (0,6 mg/p. cent); le fer sérique (85 mcg/p. cent), la capacité totale de fixation du fer (234 mcg), les tests hépatiques et les transaminases sériques sont normaux.

Les anomalies constatées suggérant une hyperhémolyse compensée, et tenant compte de l'origine méditerranéenne du sujet, on procède à des investigations concernant la structure de son hémoglobine.

Étude de l'hémoglobine

Les tests de *falciformation in vitro* sont négatifs.

L'électrophorèse sur papier en tampon alcalin au « tris », pH 8,9 montre deux fractions majeures d'hémoglobine, dont l'une présente la même mobilité que l'Hb A d'un témoin porteur du « sickle-cell trait »; l'autre fraction est de mobilité légèrement plus rapide que celle de l'Hb S et n'est pas complètement séparée de la fraction A (figure 1).

Le taux d'hémoglobine alcalirésistante (Hb F) est de 0,84 p. cent, ce qui dépasse légèrement la limite de la normalité pour la technique utilisée (Betke *et al.*, 1959).

Le test de solubilité d'Itano, effectué en tampon phosphate 2,24 M, ne montre aucun précipité, contrairement au témoin A + s.

L'électrophorèse en gel de gélose en milieu acide (tampon phosphate de pH 6,2) ne sépare pas l'hémoglobine anormale de l'Hb A, alors qu'elle sépare l'Hb A de l'Hb s.

Ce résultat, ainsi que ceux des tests de falciformation et de solubilité, excluent que l'hémoglobine anormale soit de l'Hb s; par contre toute une série d'autres variants connus présentent ces propriétés, notamment les hémoglobines D, G, P et L, ces deux dernières étant les plus rares; les hémoglobines D toutefois migrent exactement comme l'hémoglobine s à l'électrophorèse sur papier en tampon alcalin et sont donc de ce fait exclues dans le cas présent.

L'électrophorèse en gel d'amidon en système discontinu de tampons révèle également, outre l'Hb A, la présence d'une fraction majeure anormale; elle montre de plus en arrière de l'hémoglobine A₂ et de la première « non-haem protein » la présence d'une fraction supplémentaire peu prononcée (figure 2). Cette fraction présente une réaction peroxydasique positive et est donc bien une hémoglobine supplémentaire. Cette constatation permet de supposer que l'hémoglobine anormale principale présente son anomalie dans les chaînes α de la globine (Atwater *et al.*, 1960).

Le dosage des fractions de l'hémoglobine après séparation par électrophorèse préparative en bloc d'amidon et élution donne les résultats suivants :

Hémoglobine A	68,7 p. cent
Hémoglobine anormale principale	29,2 p. cent
Hémoglobine A ₂	1,43 p. cent
Hémoglobine anormale lente	0,71 p. cent

La technique de recombinaison de l'hémoglobine anormale avec l'hémoglobine canine (Huehns *et al.*, 1962), après purification par électrophorèse préparative et concentration par dialyse sous vide, provoque la formation d'un hybride lent (α_2 humain β_2 canin) de mobilité anormale, alors que l'hybride rapide (α_2 canin β_2 humain) présente la même mobilité électrophorétique que l'hybride témoin résultant de la recombinaison de l'hémoglobine canine avec l'hémoglobine humaine normale (figure 3). Ce résultat confirme que l'hémoglobine étudiée est anormale dans ses chaînes α .

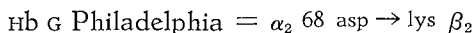
Le « fingerprint » de l'hémoglobine anormale principale (figure 4) montre comparativement à celui de l'hémoglobine A témoin analysée simultanément l'absence de deux peptides caractéristiques de l'Hb A : ces derniers portent les numéros 3 et 9 dans l'ancienne nomenclature

(Ingram, 1958) et $\alpha\text{Tp IX}$ et $\alpha\text{Tp VIII} + \text{IX}$ dans la nomenclature séquentielle actuelle (Gerald et Ingram, 1961); ils appartiennent aux chaînes polypeptidiques α . Par contre trois « nouveaux » peptides sont présents. L'un d'entre eux (marqué 4 dans la figure 4), n'est pas complètement séparé d'un peptide normal (n° 11 ou $\text{Tp I} + \text{II}$), les deux autres (marqués 2 et 3 dans la figure 4) sont situés à gauche du précédent; le plus marqué donne une réaction positive (couleur jaune) au réactif au chloroplatinate de potassium, indiquant la présence de méthionine. Cette « carte » peptidique est typique de la globine de l'hémoglobine G Philadelphia (Baglioni et Ingram, 1961).

Discussion

L'hémoglobine G Philadelphia a été découverte à diverses reprises chez des sujets ayant des ascendants de race noire originaires d'Afrique occidentale, mais n'a pas été trouvée jusqu'à présent chez des Arabes. Dans son étude étendue des hémoglobines anormales en Afrique du Nord, au Sahara et en Afrique occidentale, Cabannes (1965) ne mentionne l'hémoglobine G que dans cette dernière région, en ajoutant qu'elle y est trop rare pour qu'on puisse calculer valablement son incidence. Encore n'est-il pas certain qu'il s'agisse toujours du variant G Philadelphia, l'hémoglobine G Accra, anormale dans ses chaînes β étant aussi présente en Afrique occidentale (Edington et Lehmann, 1954; Edington *et al.*, 1955; Gammack *et al.*, 1961). Notre sujet est né dans le nord-est du Maroc et ne montre aucune apparence de métissage; il se déclare pur arabe, sans mélange berbère; il ne peut évidemment être exclu pourtant que le gène structurel α muté dont il est porteur ne puisse avoir son origine, dans l'ascendance lointaine, en Afrique occidentale.

L'anomalie de la globine G Philadelphia consiste dans le remplacement du 68^e aminoacide des chaînes α normales, l'asparagine, par une molécule de lysine (Baglioni et Ingram, 1961) :



Ceci explique l'absence de *deux* peptides normaux et l'apparition de *trois* « nouveaux » peptides dans les « fingerprints » de cette hémoglobine. La composition des deux peptides normaux absents est en effet connue : ils contiennent tous deux le 68^e aminoacide des chaînes α normales de l'hémoglobine A : le premier ($\alpha\text{Tp IX}$) est en effet constitué de la partie des chaînes α normales comprenant les aminoacides 62 à 90, le second ($\alpha\text{Tp VIII} + \text{IX}$) est constitué de ce

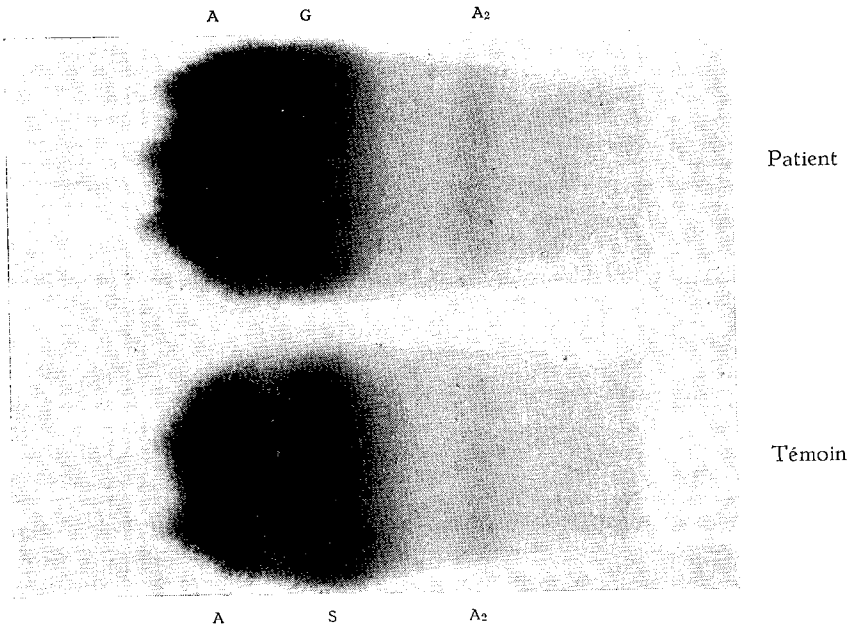


Figure 1

Electrophorèses sur papier en tampon alcalin.
 La mobilité électrophorétique de l'hémoglobine anormale est légèrement plus grande que celle de l'hémoglobine s.

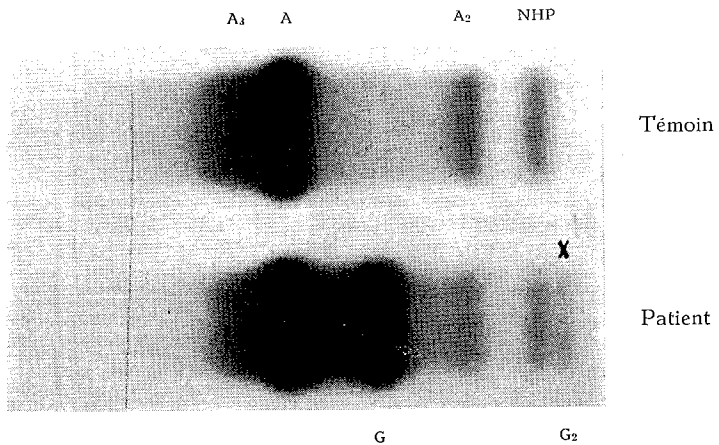


Figure 2

Electrophorèses en gel d'amidon en système discontinu de tampons alcalins
 montrant les hémoglobines G Philadelphia et G₂.
 N. H. P. : « non-haem proteins ».

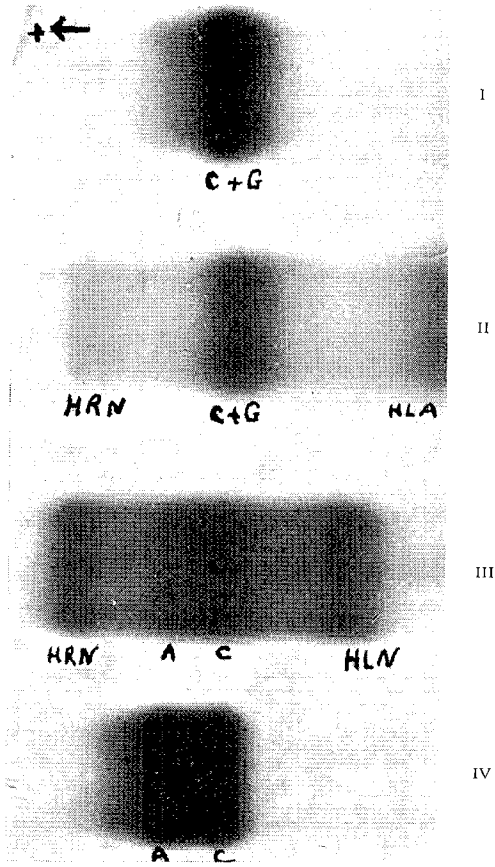


Figure 3

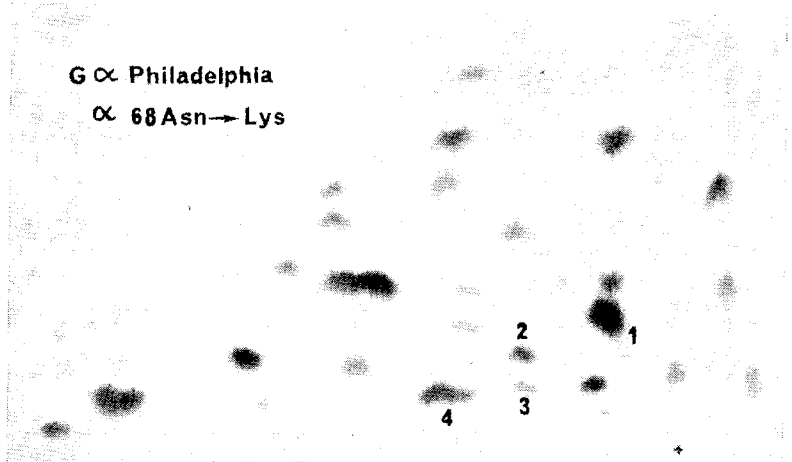


Figure 4

même fragment de la chaîne auquel reste appendu l'acide aminé situé en 61^e position (un résidu lysyl), du fait d'une action incomplète de la trypsine. Ces deux peptides sont donc affectés par la mutation α G Philadelphia. Ils sont remplacés dans la globine G par trois autres fragments peptidiques. La trypsine hydrolyse en effet les chaînes d'acides aminés exclusivement au niveau des liaisons peptidiques formées par la lysine ou l'arginine; l'apparition d'un « nouveau » lysyl en position 68, caractéristique de la globine anormale, constitue un point d'attaque supplémentaire pour la trypsine, d'où la scission du peptide α Tp IX en deux semi-peptides : α G61-68 et α G69-90 (figure 4); c'est ce dernier qui contient le seul résidu méthionyl du peptide α Tp IX, situé en position 76, et mis en évidence sur les « fingerprints » par sa réaction positive au réactif au chloroplatinate de potassium.

Sous le fragment α G69-90 se trouve un troisième peptide anormal, d'intensité plus faible, dont l'analyse démontre qu'il constitue un dérivé oxydé du peptide précédent, dans lequel la méthionine précitée se présente sous forme de sulfoxyde; il s'agit donc d'un artefact produit durant la trypsinisation et non d'un constituant dépendant de l'anomalie spécifique de la globine analysée.

Explication de la figure 3 :

Recombinaisons avec l'hémoglobine canine de l'hémoglobine anormale purifiée du patient d'une part, de l'hémoglobine humaine normale A d'autre part.
Electrophorèses en gel d'amidon.

I et IV : avant recombinaison.

II et III : après recombinaison.

A : hémoglobine A.

C : hémoglobine canine.

C + G : hémoglobine canine et hémoglobine anormale superposées.

H. R. N. : Hybride rapide normal : α_2 canin β_2 humain.

H. L. N. : Hybride lent normal : α_2 humain β_2 canin.

H. L. A. : Hybride lent anormal; l'hybride lent ne comportant que les chaînes humaines α , l'hémoglobine du sujet présente donc son anomalie dans ces chaînes.

Explication de la figure 4 :

«Fingerprint» de l'hémoglobine anormale principale du patient (voir le texte). L'emplacement des peptides normaux manquants α IX et α VIII + IX est marqué 1. Les peptides anormaux caractéristiques du variant sont marqués 2 (peptide α G69-90), 3 (le même peptide oxydé) et 4 (peptide α G61-68). Fingerprint réalisé à l'« Abnormal Haemoglobin Research Unit », Université de Cambridge; reproduit avec l'aimable autorisation du Professeur H. Lehmann).

L'analyse des peptides anormaux de l'hémoglobine G Philadelphia par Baglioni et Ingram (1961) a donc apporté l'explication du fait, à première vue étrange, de l'apparition de trois peptides anormaux après trypsinisation de sa molécule, alors qu'habituellement les mutations affectant un gène structurel d'une protéine n'entraînent l'apparition que d'un seul peptide anormal, avec absence de l'unique peptide normal correspondant.

L'hémoglobine A₂ anormale qui accompagne l'hémoglobine G Philadelphia (Hb G₂) a également été analysée (Huehns et Shooter, 1961); elle comporte des chaînes α^G anormales identiques à celles de l'hémoglobine G Philadelphia et des chaînes δ normales.

Mentionnons également l'intérêt particulier de l'anomalie G Philadelphia du point de vue génétique : présence de quatre hémoglobines chez les hétérozygotes doubles, porteurs simultanés de l'hémoglobine G et d'une hémoglobine à chaînes β anormales, l'hémoglobine C (Atwater *et al.*, 1960; Raper *et al.*, 1960) et présence d'une hémoglobine A₂ supplémentaire chez les hétérozygotes simples, faits qui apportèrent la première démonstration que la synthèse des chaînes polypeptidiques α et β de la globine est sous contrôle génétique séparé, l'étude familiale des hétérozygotes doubles démontrant par ailleurs le non allélisme des gènes en cause.

Les signes biologiques d'hyperhémolyse compensée qu'a présenté le patient ici décrit à deux ans d'intervalle peuvent vraisemblablement être attribués à l'anomalie génétique dont il est porteur, du fait de l'absence de toute autre cause connue d'hémolyse; en l'absence d'étude familiale on ne peut pourtant formellement exclure la présence d'une autre tare surajoutée capable de provoquer des anomalies analogues, particulièrement la thalassémie mineure. Dans le cas présent toutefois, l' α -thalassémie paraît à exclure : en présence d'une anomalie α de la globine, l' α -thalassémie provoque en effet une inhibition de la synthèse de l'hémoglobine normale A, avec taux de l'hémoglobine anormale dépassant 50 p. cent (« interacting α -thalassaemia » : Ingram et Stretton, 1959); or le taux d'Hb G chez notre sujet, 29 p. cent, correspond au taux normal du variant pathologique chez les hétérozygotes simples; quant à la tare β -thalassémique, les taux d'hémoglobine alcalirésistante et des hémoglobines A₂ et G₂ présentés par le sujet ne sont pas en faveur de sa présence, bien que ces seuls critères soient insuffisants pour l'exclure formellement.

Les anomalies hématologiques du patient furent découvertes à l'occasion d'un examen préalable à l'embauche dans une usine métallurgique où l'on manipule des minerais. À défaut de cet examen, les anomalies présentées, particulièrement la ponctuation basophile et l'hyperréticulocytose, auraient pu faire soupçonner une intoxication

saturnine ou autre après une certaine durée d'occupation; ce cas montre donc l'importance d'un examen hématologique complet avec en vue la possibilité d'une anomalie moléculaire de l'hémoglobine, avant l'embauche d'un immigrant originaire d'une région où ces anomalies présentent une certaine incidence. Par ailleurs il est certainement préférable d'écartier ces sujets de travaux comportant la mise en contact avec des substances pouvant affecter la lignée rouge, que ce soit dans le sens d'une aplasie (benzol) ou dans celui d'une hémolyse accélérée (plomb, arsenic) lorsqu'ils présentent des signes d'hémolyse, même compensée : leur érythropoïèse est en effet déjà soumise à un effort accru rendant beaucoup plus vulnérable cet équilibre entre production et destruction des érythrocytes qui conditionne normalement l'absence d'anémie.

Samenvatting — **Varianten G Philadelphia en G₂ van het haemoglobine bij een Marokkaanse immigrant in België.**

Bij een Arabische immigrant, afkomstig uit het Algerijns-Marokkaanse grensgebied, werd bij een medische keuring voor aanwerving in een staalbedrijf, het abnormale haemoglobine G Philadelphia aangetroffen. De patiënt vertoonde haematologische afwijkingen die een gecompenseerde hyperhaemolyse deden veronderstellen; deze afwijkingen werden na een tussentijd van meer dan twee jaar opnieuw bevestigd.

Het is dus raadzaam bij het bloedonderzoek van immigranten die door de plaatselijke industrie worden aangeworven en afkomstig zijn uit streken waar haemoglobine-afwijkingen voorkomen, hieraan de nodige aandacht te schenken.

Het haemoglobine G Philadelphia is abnormaal in de α -ketens van het globine (substitutie van het arganine door lysine in de positie 68); dit betekent dat de patiënt tevens drager is van een abnormaal haemoglobine A₂, bepaald als G₂.

Summary — **Haemoglobin variants G Philadelphia and G₂ in a Moroccan immigrant in Belgium.**

Haemoglobin variant G Philadelphia has been found in Belgium in an Arab immigrant born in Morocco near the Algerian border, when the carrier was examined before engagement in a metal works. Some abnormalities suggested a compensated hyperhaemolysis and were found again after more than two years. Haematological examinations, including investigations for haemoglobin abnormalities, should be performed in persons native of regions where these abnormalities are prevalent, before employing them in industry.

Haemoglobin G Philadelphia is abnormal in the α chains of globin (substitution of arginine by lysine in 68th position); this implied that the patient was also a carrier of an abnormal haemoglobin A₂, called G₂, which was actually found.

Les auteurs remercient M. le Professeur H. Lehmann, Directeur de l'« Abnormal Haemoglobin Research Unit », Département de Biochimie, Université de Cambridge, qui a bien voulu se charger de l'analyse par « fingerprinting » de l'hémoglobine G décrite et les a

aimablement autorisés a reproduire le chromatogramme obtenu. Ils remercient également M^{lle} M.-Th. Van Hoof et M. M. Lips de leur assistance.

Ce travail a été réalisé au Service médical, Métallurgie de Hoboken, Anvers (Chef de Service : Dr L. Verhoeven) et à l'Institut de Médecine tropicale, Anvers (Directeur : Prof. P. G. Janssens) et reçu pour publication le 16 février 1968.

BIBLIOGRAPHIE

- Atwater, J., Schwartz, I. R. et Tocantins, C. M., A variety of human haemoglobin with four distinct electrophoretic components. *Blood*, 1960, **15**, 901.
- Baglioni, C. et Ingram, V. M., Four adult haemoglobin types in one person. *Nature*, 1961a, **189**, 465.
- Baglioni, C. et Ingram, V. M., Abnormal human haemoglobins. V. Chemical investigation of haemoglobins A, G, C, X from one individual. *Biochim. Biophys. Acta*, 1961b, **48**, 253.
- Betke, K., Marti, H. R. et Schlicht, I., Estimation of small percentages of fetal haemoglobins. *Nature*, 1959, **184**, 1877.
- Cabannes, R., Répartition des hémoglobines anormales dans la partie Ouest du continent africain *in* Abnormal haemoglobins in Africa. J. H. P. Jonxis ed., Oxford, Blackwell, 1965, p. 291.
- Chantraine, J. M. et Hurlet, A., Deux hémoglobinoses rencontrées chez des immigrants. I. Thalassémie ou anémie méditerranéenne. *Rev. méd. Liège*, 1967, **22**, 11.
- Chernoff, A., Séparation of the tryptic peptides of hemoglobin Knoxville. *Biochim. Biophys. Acta*, 1965, **97**, 47.
- Dixième Congrès International d'Hématologie, Stockholm, 1964. Recommendations on the Nomenclature of Abnormal Haemoglobins. *Brit. J. Haemat.*, 1965, **11**, 121.
- Edington, G. M. et Lehmann, H., Haemoglobin G : a new haemoglobin found in a West African. *Lancet*, 1954, **2**, 173.
- Edington, G. M., Lehmann, H. et Schneider, R., Characterization and genetics of haemoglobin G. *Nature*, 1955, **175**, 850.
- Fonteyne, J., Demartelaere-Laurent, E., Henry, P. et Denolin-Reubens, R., Etude clinique et biologique de six cas d'hémoglobinopathies. *Acta clin. belgica*, 1964, **19**, 13.
- Gammack, D. B., Huehns, E. R., Lehmann, H. et Shooter, E. M., The abnormal polypeptide chains in a number of haemoglobin variants. *Acta Genet. Statist. med.*, 1961, **11**, 1.
- Gatti, F., Nicolas, J., Van Ros, G. et Vandepitte, J., Trois cas de beta-thalassodrépanocytose avec taux très élevés de l'hémoglobine alcalirésistante dans une famille congolaise. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1967, **47**, 313.
- Gerald, P. S. et Ingram, V. M., Recommendation for the nomenclature of hemoglobin. *Science*, 1961, **134**, 2037.
- Huehns, E. R. et Shooter, E. M., The polypeptide chains of haemoglobin A₂ and haemoglobin G₂. *J. mol. Biol.*, 1961, **3**, 257.
- Huehns, E. R. et Shooter, E. M., Human haemoglobins. *J. med. Genetics*, 1965, **2**, 48.
- Huehns, E. R., Shooter, E. M. et Beaven, G. H., On the recombination of canine and human haemoglobins. *J. mol. Biol.*, 1962, **4**, 323.

- Hunt, J. A. et Ingram, V. M., Allelomorphism and the chemical differences of the human haemoglobins A, s and c. *Nature*, 1958, **181**, 1062.
- Ingram, V. M., Abnormal human haemoglobins. I. The comparison of normal human and sickle-cell haemoglobins by fingerprinting. *Biochim. biophys. Acta*, 1958, **28**, 539.
- Ingram, V. M. et Stretton, A. O. W., The genetic basis of the thalassaemia diseases. *Nature*, 1959, **184**, 1903.
- Itano, H. A., Solubilities of naturally occurring mixtures of human haemoglobins. *Arch. Biochem.*, 1953, **47**, 148.
- Lehmann, H. et Huntsman, R. G., Man's haemoglobins. North Holland Publ. Company, Amsterdam, 1966, a) p. 129; b) p. 281; c) p. 299.
- Organisation Mondiale de la Santé, Série de rapports techniques. N° 338, Hémoglobinopathies et troubles apparentés, 1966, p. 36.
- Raper, A. B., Gammack, D. B., Huehns, E. R. et Shooter, E. M., Four hemoglobins in one individual. *Brit. med. J.*, 1960, **2**, 1257.
- Van Ros, G., Méthode de séparation et de purification des fractions de l'hémoglobine par électrophorèse en bloc d'amidon; application au dosage de l'hémoglobine A₂. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1966, **46**, 355.
- Van Ros, G., Janssens, P. G. et De Muynck, A., Sicklanémie ou interaction-sicklémique-thalassémique ? Les moyens actuels de diagnostic et leur application à un cas de beta-thalassodrépanocytose. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 1965, **46**, 355.
-