

Thalassemia Alfa Mayor dengan Mutasi Non-Delesi Heterozigot Ganda

*Dina Muktiarti**, *Pustika Amalia Wahidiyat**, *Ita M. Nainggolan***, *Iswari Setianingsih***

Seorang anak perempuan berusia 3 tahun dengan gejala klinis anemia berat, hepatosplenomegali, dan memerlukan tranfusi darah teratur. Gejala klinis telah timbul saat pasien berusia 3 bulan. Hapusan darah tepi menunjukkan gambaran hipokrom, mikrositosis, dan anisopoikilositosis. Kadar HbA₂ normal, HbF sedikit meningkat, dan terdapat HbBart's. Ayah dan ibu memiliki gambaran hematologis yang mendekati normal. Analisis DNA menunjukkan dua mutasi non-delesi (mutasi titik) pada gen globin α yaitu pada kodon 59 (GGC^{glisin} → GAC^{aspartat}) dan IVS2-nt142 (AG → AA). Kasus ini adalah kasus pertama yang ditemukan di Departemen Ilmu Kesehatan Anak RS. Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta yang mempunyai mutasi heterozigot ganda pada kodon 59 dan IVS2-nt142. Gejala klinis thalassemia mayor diakibatkan adanya mutasi kodon 59 yang menghasilkan varian hemoglobin yang tidak stabil (HbAdana) disertai adanya mutasi non-delesi pada IVS2-nt142 yang menyebabkan proses mRNA yang tidak normal.

Kata kunci: thalassemia alfa, mutasi non-delesi, kodon 59, IVS2-nt142

Thalassemia merupakan penyakit genetik sintesis hemoglobin yang menimbulkan masalah kesehatan yang cukup penting di negara berkembang karena angka kejadiannya yang tinggi serta konsekuensi jangka panjang yang harus diderita pasiennya.¹⁻⁴ Thalassemia alfa (α) disebabkan berkurang atau tidak adanya sintesis rantai α yang disebabkan oleh mutasi gen globin α baik berupa delesi gen maupun non-delesi (mutasi titik).⁴⁻¹¹

Angka kejadian thalassemia α cukup bervariasi, namun cukup tinggi di Asia Tenggara dan Cina Selatan.^{9,12} Frekuensi pembawa sifat berdasarkan parameter indeks sel darah merah di Indonesia berkisar 2,6%-11%.

Gambaran klinis pada thalassemia α ditentukan oleh jumlah rantai α yang ada, jenis mutasi yang terjadi, atau jenis gen α yang terkena.¹³ Gambaran klinis pasien dengan mutasi non-delesi yang menghasilkan rantai globin alfa atau hemoglobin tidak stabil, biasanya lebih parah dibandingkan dengan pasien dengan mutasi delesi gen.⁹ Pemeriksaan analisis DNA sangat penting dilakukan untuk mengetahui jenis mutasi yang terjadi sehingga dapat diprediksi prognosis dan pengobatannya, informasi ini penting juga untuk konseling genetik.¹⁻³ Tujuan laporan kasus ini untuk menunjukkan bahwa gambaran klinis thalassemia mayor dapat disebabkan oleh adanya mutasi non-delesi gen globin α heterozigot ganda.

Alamat korespondensi:

Dr. Pustika Amalia Wahidiyat, SpA, Dina Muktiarti, Divisi Hematologi-Onkologi Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI-RSCM Jl. Salemba No.6 Jakarta 10430 021-31901170

Ita M. Nainggolan, Iswari Setianingsih, Lembaga Biologi Molekuler Eijkman, Jakarta

Kasus

Seorang anak perempuan, berusia 1 tahun 8 dirawat untuk pertama kali di Departemen Ilmu Kesehatan Anak RS Dr. Cipto Mangunkusumo (IKA RSCM) dengan keluhan utama terlihat pucat sejak usia 3 bulan disertai lemas dengan perut yang tampak membesar. Tidak ditemukan adanya perdarahan. Saat itu menunjukkan kadar Hb 3,4 g/dL dan pasien mendapatkan transfusi darah. Satu bulan kemudian, pasien tampak pucat kembali dengan Hb 6 g/dL sehingga mendapat transfusi lagi. Setelah itu pasien tidak pernah kontrol dan hanya menjalani pengobatan alternatif dengan jamu. Pada usia 1 tahun 8 bulan, orangtua pasien membawa pasien berobat ke RSCM.

Pasien adalah anak pertama dari dua orang bersaudara, lahir spontan, cukup bulan dengan berat lahir 2600 gram, langsung menangis. Adik pasien saat itu berusia 1 bulan dan sehat. Tidak terdapat riwayat abortus dalam keluarga ini. Ayah berusia 30 tahun, suku Betawi, dan ibu berusia 33 tahun, suku Sunda-Batak.

Pemeriksaan fisis saat awal perawatan anak tampak sakit sedang, sadar, tidak sesak, tidak sianosis, dan tampak pucat. Berat badan 6,8 kg (<P₃ NCHS), tinggi badan 70 cm (<P₃ NCHS); kesan gizi kurang. Tanda vital baik tidak didapatkan fasies Cooley. Konjungtiva pucat, sklera tak ikterik. Telinga, hidung, dan tenggorok dalam batas normal. Pada jantung dan paru dalam, didapatkan bising ejeksi sistolik di seluruh ostia. Paru

normal, perut datar, lemas, terdapat hepatosplenomegali. Akral hangat, perfusi perifer cukup.

Pada pemeriksaan darah tepi ditemukan hemoglobin 3,6 g/dL, hematokrit 10 vol%, leukosit 11.700/μL, trombosit 141.000/μL, hitung jenis (%): basofil 1, eosinofil 1, batang 3, segmen 75, limfosit 18, monosit 2. Hapusan darah tepi menunjukkan gambaran anisopoikilositosis. Pada analisis Hb didapatkan kadar HbF 1,2% (normal: < 2%), HbA2 2,6% (normal: 2,5-3,5%). Hasil aspirasi sumsum tulang menunjukkan hiperaktif sistem eritropoetik.

Pada saat itu ditegakkan diagnosis tersangka thalassemia, gagal tumbuh, gizi kurang, perawakan pendek. Selanjutnya pasien kontrol teratur di Poliklinik Thalassemia dan mendapatkan transfusi darah teratur setiap bulannya, asam folat, dan vitamin E. Analisis Hb pasien beserta kedua orangtuanya tertera pada **Tabel 1** dan **Gambar 1**.

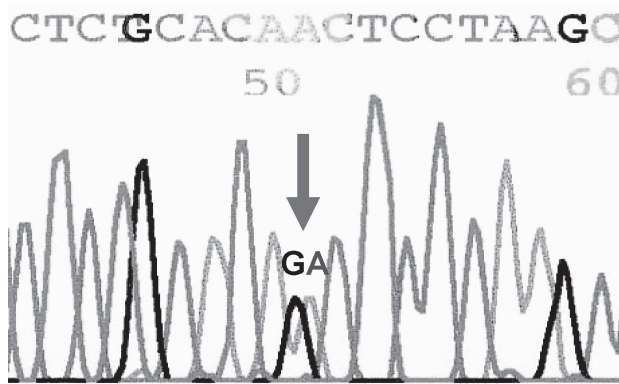
Hasil analisis DNA di Lembaga Eijkman Jakarta menunjukkan bahwa pasien mempunyai mutasi heterozigot ganda yaitu mutasi titik pada kodon 59 (GGC^{glisin} → GAC^{aspartat}) dan mutasi titik IVS2-nt142 (AG → AA). Mutasi titik kodon 59 diturunkan dari ayahnya dan mutasi titik IVS2-nt142 diturunkan dari ibunya (**Gambar 2, 3, 4**).

Diagnosis akhir pasien adalah thalassemia a dengan mutasi heterozigot ganda (mutasi titik pada kodon 59 dan mutasi titik IVS2-nt142).

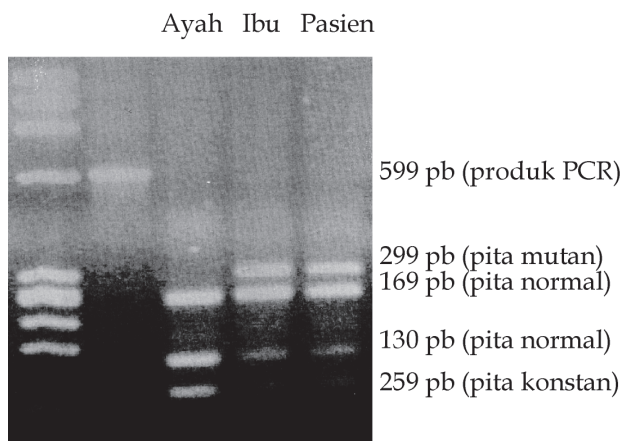
Tabel 1. Hasil pemeriksaan pasien dan kedua orangtuanya

Laboratorium	Anak	Ayah	Ibu	Nilai normal Dewasa/3 tahun
Hb (g/dL)	4,9	13,5	13,5	12-18/10-14
MCV (fl)	71,7	78,0	79,3	80-97/75-87
MCH (pg)	23,6	26,5	26,7	26-32/24-30
MCHC (g/dL)	32,9	33,9	33,7	31-36/31-37
RDW (%)	29,0	15,8	14,4	11,5-14,5
HbA2 (%)	2,6	2,5	2,7	2,5-3,5
HbF (%)	2,4	0,5	0,0	< 1%
Jenis Hb	A,F,A2, Bart's	A,F,A2	A,F,A2	A,F,A2
Hapusan darah tepi	Mikrositik-hipokrom, aniso-poikilositosis, sel target, sel kodosit, sel eritrosit muda dan fragmentosit	Mikrositik-hipokrom ringan, anisositosis ringan, sel <i>tear drops</i> (sangat jarang)	Mikrositik-hipokrom ringan, anisositosis ringan, sel elips (sangat jarang)	

Keterangan: Hb= hemoglobin, MCV= *mean corpuscular volume*, MCH= *mean corpuscular hemoglobin*, MCHC= *mean corpuscular hemoglobin concentration*, RDW= *red cell distribution width*



Gambar 3. Sekuensing gen globin α_2



Gambar 4. PCR-RFLP: Mutasi IVS2-nt142

Akibat berkurangnya sintesis rantai α , maka terjadi kelebihan rantai γ dan β yang akan membentuk tetramer γ_4 (HbBart's) pada masa janin dan β_4 (HbH) pada dewasa. Penyebab utama anemia pada penyakit HbH karena hemolisis lebih dominan di perifer dan bukan karena eritropoiesis yang tidak efektif seperti yang terjadi pada thalassemia β . Hal ini disebabkan karena HbH dan HbBart's relatif stabil dibandingkan α_4 , yang menjadi tidak stabil bila ada pencetus seperti infeksi, dan zat oksidatif. Untuk itu sangat penting menghindari obat-obatan atau hal-hal yang dapat menyebabkan kejadian oksidatif dan meningkatkan hemolisis.^{1,2,5}

Pasien thalassemia α dapat menunjukkan gejala thalassemia minor (*trait*/pembawa sifat), anemia ringan sampai sedang (thalassemia intermedia), anemia berat (thalassemia mayor) dan *hydrops fetalis*. Hal ini dipengaruhi oleh jenis gen α yang terkena (α_1 atau

α_2), tipe mutasi (delesi atau non-delesi), atau jumlah gen yang inaktif.^{8,13}

Tipe mutasi yang dapat terjadi adalah delesi gen dan non-delesi atau mutasi titik. Delesi gen yang sering terjadi adalah delesi dua gen yaitu tipe *Southeast Asian* (SEA), dan delesi satu gen (delesi 3,7 kb gen globin α , delesi 4,2 kb gen globin α).⁶ Jenis mutasi non-delesi gen sangat banyak jumlahnya, terdapat lebih dari 100 jenis mutasi yang sudah diketahui.¹⁶ Di Asia Tenggara mutasi non-delesi yang dapat ditemukan antara lain Hb Constant Spring (kodon 142), Hb Pakse (kodon 142), Hb Quong Sze (kodon 125), Hb Suan Dok (kodon 109), Hb Adana (kodon 59), kodon 0, dan kodon 30.⁷

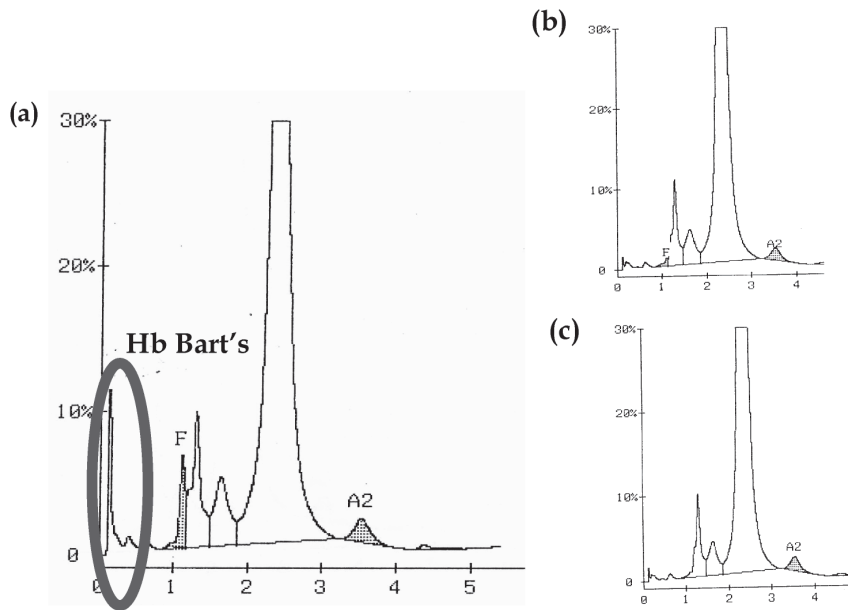
Di Indonesia, mutasi non-delesi yang ditemukan adalah mutasi pada gen globin α_2 yaitu di kodon 59 (Hb Adana), kodon 22 (GGC^{glisin} → GGT^{glisin}), dan jenis Hb Constant Spring. Mutasi di kodon 59 ini terdeteksi pada 3 orang etnis Jawa.⁸

Pasien yang mengalami mutasi non-delesi gen mempunyai gejala yang lebih berat bila dibandingkan dengan mereka yang mengalami mutasi delesi gen, karena adanya rantai globin alfa atau hemoglobin yang tidak stabil.

Berdasarkan jumlah gen yang inaktif maka dapat terdapat empat kelompok besar thalassemia α yaitu *silent carrier* (delesi 1 gen), *trait thalassemia α* (delesi 2 gen), penyakit HbH (delesi 3 gen), dan *hydrops fetalis/ thalassemia α mayor* (delesi 4 gen). Pada delesi 1 gen dan 2 gen pasien tidak memiliki gejala klinis. Diagnosis ditegakkan secara tidak sengaja dan biasanya terdapat gambaran hipokrom dan mikrositik.^{2,3}

Gambaran penyakit HbH (β_4) adalah anemia hemolitik, ikterus, splenomegali, transfusi darah biasanya tidak diperlukan kecuali terdapat penyakit lain. Penelitian terhadap populasi Cina mendapatkan hanya sekitar 24% dari pasien penyakit HbH yang mempunyai gejala seperti anemia dan ikterus dan sebagian besar (76%) diagnosis ditegakkan secara tidak sengaja, seperti saat pemeriksaan kesehatan saat masuk bekerja atau saat hamil. Kejadian gagal tumbuh pada anak terdapat pada 13% kasus dan transfusi darah hanya dibutuhkan pada 46% pasien.

Delesi 4 gen akan berakibat fatal dan dikenal sebagai thalassemia α homozigot atau sindrom hidrops fetalis HbBart's. Janin tanpa gen globin α akan menderita anemia berat, hipoksia, gagal jantung, dan hidrops fetalis. Janin dapat hidup sampai trimester ketiga dan hanya memiliki



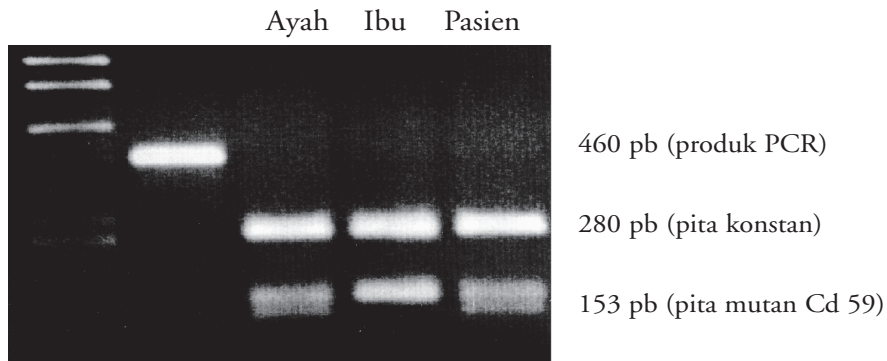
Gambar 1. Hasil elektroforesis Hb: (a) Pasien; (b) Ayah pasien; (c) Ibu pasien. Pada pasien terlihat adanya kenaikan grafik pada menit 0-1, yang menunjukkan gambaran Hb Bart's

Diskusi

Angka kejadian thalassemia α cukup tinggi di Asia Tenggara dan Cina Selatan, di Hongkong berkisar 3%-5%, sedangkan di Thailand adalah 20%-30%.^{9,12} Setianingsih I, dkk⁸ menemukan frekuensi pembawa sifat thalassemia α di tiga daerah di Indonesia (Jawa, Sulawesi Selatan, Sumatera Selatan) 2,6%-11%. Di klinik genetik, Lembaga Eijkman, Jakarta didapatkan 32% kasus thalassemia α dari 99 kasus thalassemia

yang diteliti. Latar belakang etnis yang terbesar adalah etnis Cina (69%) dan sisanya etnis Jawa (31%). Di Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI RSCM Jakarta, Wahidiyat I (1979) menemukan 6 kasus penyakit HbH (2,7%) dan sampai saat ini tercatat 20 pasien thalassemia α (1,8%).^{14,15}

Thalassemia α disebabkan berkurang atau tidak adanya sintesis rantai α . Sebagian besar hemoglobin (Hb) normal pada dewasa terdiri dari HbA ($\alpha_2\beta_2$), dan hanya sedikit HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) dan HbF ($\alpha_2\gamma_2$).



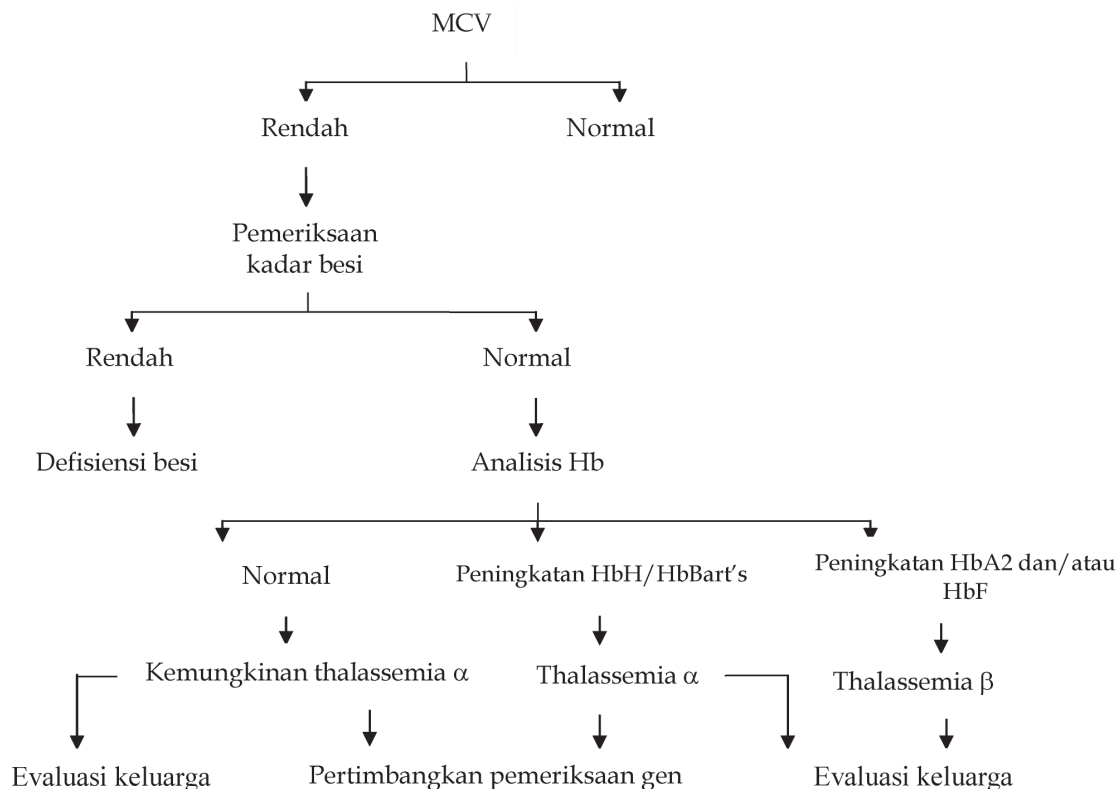
Gambar 2. PCR-RFLP: Mutasi kodon 59 (GGC^{glisin} → GAC^{Aspartat}, Hb Adana)

HbBart's (γ_4). HbBart's ini sangat sulit mengantarkan oksigen ke jaringan dan tidak stabil. Bayi dapat meninggal dalam kandungan atau bila lahir bayi akan tampak sangat pucat dan terdapat edema. Bayi biasanya lahir prematur dengan rata-rata usia gestasi 31 minggu. Sampai saat ini terdapat sedikitnya enam anak yang dapat bertahan hidup. Mereka mendapatkan transfusi segera setelah lahir atau transfusi intrauterin, serta transfusi darah teratur sesudahnya dan kelasi besi.⁶

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan untuk menegakkan diagnosis thalassemia α adalah darah perifer lengkap (Hb, MCV, dan MCH), gambaran darah tepi, analisis Hb, dan analisis DNA. Pasien thalassemia mempunyai nilai MCV yang rendah dan dikatakan bahwa nilai MCV 72 fl adalah nilai yang sangat sensitif dan spesifik untuk diagnosis thalassemia.¹⁷ Suatu penelitian di Hong Kong memakai parameter MCV kurang dari 80 fl dapat menjangkit 150 pasien dan 145 di antaranya mempunyai mutasi thalassemia α atau β . Pada

penelitian ini didapatkan 90 pasien yang mempunyai mutasi sehubungan dengan thalassemia α .¹⁸ Suatu program skrining di Itali menggunakan kadar MCV 78 fl dan MCH 27 pg sebagai nilai batas.¹⁹ Alur diagnosis untuk thalassemia dapat dilihat pada **Gambar 5**.

Gambaran khas untuk HbH selain sel darah merah mikrositik, hipokrom, anisopoikilositosis juga adanya badan inklusi HbH.¹⁷ Analisis Hb merupakan metode pilihan untuk identifikasi jenis Hb dan penggunaan teknik HPLC dapat mendeteksi varian thalassemia beta dan mendeteksi Hb A2, Hb F, dan Hb abnormal seperti HbS dan HbC, tapi tidak dapat mendeteksi HbBart's. Sementara itu harga alat untuk mendeteksi varian dari thalassemia α jauh lebih mahal. Namun, Fucharoen, dkk²⁰ menemukan bahwa dengan menggunakan alat ini terdapat kenaikan grafik antara menit 0 – 1, maka grafik tersebut merupakan gambaran HbBart's. Dengan cara ini HbBart's hanya dapat dinilai secara kualitatif saja dan tidak kuantitatif.



Gambar 5. Alur diagnosis thalassemia

Diagnosis kerja pertama kali pada pasien ini adalah thalassemia berdasarkan adanya gejala pucat, pembesaran hati dan limpa, serta kadar Hb, nilai MCV dan MCH yang rendah, ditemukan tanda-tanda hemolisis, namun tak ditemukan badan inklusi HbH. Pada analisis Hb ditemukan kadar HbA2 normal sedangkan HbF sedikit meningkat. Diagnosis thalassemia α agak terlambat ditegakkan karena baru pada saat analisis Hb terakhir ditemukan adanya HbBart's, berdasarkan gambaran grafik analisis Hb.

Analisis DNA sangat diperlukan untuk menemukan mutasi yang terjadi, karena kedua orangtuanya tidak ada yang menunjukkan pembawa sifat thalassemia α yang berat dengan kadar MCV mendekati nilai normal (78 dan 79,3fL). Keadaan seperti ini biasanya disebabkan oleh adanya mutasi titik. Analisis DNA menunjukkan adanya mutasi heterozigot ganda yaitu mutasi pada mutasi titik pada kodon 59 dan mutasi titik IVS2-nt142. Mutasi pada kodon 59 diturunkan dari ayah sedangkan mutasi titik IVS2-nt142 diturunkan dari ibu pasien.

Mutasi di kodon 59 mengakibatkan perubahan asam amino glisin menjadi aspartat ($GGC^{glisin} \rightarrow GAC^{aspartat}$) dan menghasilkan varian hemoglobin yang sangat tidak stabil. Gambaran klinis yang dapat terjadi pada mutasi ini adalah mulai dari thalassemia intermedia atau mayor, bahkan hidrops fetalis. Mutasi ini dilaporkan juga di Turki, Cina, Israel, dan Indonesia.^{8,9,21-24} Mutasi IVS2-nt142 mempengaruhi proses RNA (*splice acceptor consensus sequence*) yaitu adanya perubahan sekuens dari AG menjadi AA. Mutasi ini dilaporkan pada dua orang pasien di Argentina yaitu seorang ibu dan putrinya. Sang ibu menderita anemia, ikterus, dan hepatosplenomegali. Mutasi yang terjadi pada ibu adalah mutasi pada IVS2-nt142 dan mutasi delesi dua gen. Sedangkan anaknya tidak mempunyai gejala klinis dan hanya mempunyai mutasi IVS2-nt142 saja.²⁵

Kasus ini merupakan kasus pertama yang mempunyai mutasi heterozigot ganda pada kodon 59 dan IVS2-nt142. Gejala klinis pada pasien ini adalah thalassemia mayor diakibatkan adanya mutasi kodon 59 yang menghasilkan varian hemoglobin yang tidak stabil (HbAdana) disertai adanya mutasi titik pada IVS2-nt142.

Tatalaksana pada thalassemia α adalah transfusi darah merah (bila diperlukan), asam folat, dan terapi kelasi besi. Penghindaran terhadap obat-obatan yang menyebabkan oksidasi dan hemolisis seperti sulfa, obat

antimalaria, dan aspirin. Selain itu perlu untuk mencegah dan mengatasi infeksi dengan baik. Transfusi sebaiknya diberikan bila kadar Hb sudah mencapai 9-10 g/dL dan mencapai Hb pasca transfusi tidak lebih dari 13-14 g/dL. Hal ini akan menjamin pertumbuhan yang normal, menekan eritropoesis di tempat lain, dan meminimalisasi akumulasi besi. Terapi kelasi besi dengan deferioksamin dilakukan bila kadar feritin telah melebihi 1000 ng/mL dengan dosis 40-50 mg/kg/hari. Splenektomi diperlukan bila kebutuhan transfusi meningkat atau telah terjadi hipersplenisme. Dukungan psikologis dan sosial juga dibutuhkan pada anak yang lebih besar dan remaja.^{2,26}

Prognosis penyakit HbH sangat bervariasi, namun secara umum prognosis cukup baik; banyak pasien yang dapat hidup sampai dewasa. Walaupun demikian kasus ini memberikan informasi penting, bahwa thalassemia α dapat memberikan gejala anemia berat pada masa bayi.²

Konseling genetik sangat dibutuhkan pada keluarga pasien thalassemia. Diagnosis prenatal biasanya diambil dari biopsi vilus korionik pada usia kehamilan antara minggu ke-10 dan ke-11 atau dengan amniosintesis antara minggu ke-16 dan ke-20. Setelah usia kehamilan 20 minggu, pemeriksaan ultrasonografi dapat mendeteksi kelainan pada janin dengan sindrom hirops fetalis HbBart's.⁶ Pada pasien ini, dengan adanya mutasi heterozigot pada orangtuanya, maka kemungkinan untuk mendapatkan keturunan yang menderita thalassemia α sebesar yaitu 25% ($\alpha^{Cd59}/\alpha^{IVS2-nt142}$), sedangkan 50% akan menjadi pembawa sifat seperti kedua orangtuanya ($\alpha^{Cd59}/\alpha/\alpha$ atau $\alpha/\alpha^{IVS2-nt142}$), dan 25% normal (α/α). Adik pasien sampai saat ini tidak menunjukkan gejala klinis, namun pemeriksaan lebih lanjut untuk kemungkinan menderita thalassemia Dua hal yang menarik dari kasus ini adalah parameter indeks sel darah merah yang mendekati normal pada orang tua sebagai pembawa sifat mutasi titik thalassemia α dan gejala klinis yang berat pada keturunannya yang mendapat mutasi dari kedua orang tuanya. Keadaan ini memungkinkan pembawa sifat tidak terdiagnosis saat skrining antenatal.

Daftar Pustaka

1. Weatherall DJ. Fortnightly review: the thalassaemias. Br Med J 1997;314:1675.
2. Lo L, Singer ST. Thalassemia: current approach to an old disease. Pediatr Clin N Am 2002;49:1165-91.

3. Weatherall DJ. ABC of clinical haematology: the hereditary anaemias. *Br Med J* 1997;314:492-6.
4. Gu X, Zeng Y. A review of the molecular diagnosis of thalassemia. *Hematology* 2002;7:203-9.
5. Chui DHK, Fucharoen S, Chan V. Hemoglobin H disease: not necessarily a benign disorder. *Blood* 2003;101:791-800.
6. Chui DHK, Waye JS. Hydrops fetalis caused by α -thalassemia: an emerging health care problem. *Blood* 1998;91:2213-22.
7. Wang W, Ma, ESK, Amy YYC, Chui DHK, Chong SS. Multiple minisequencing screen for seven Southeast Asian nondeletional α -thalassemia mutations. *Clin Chem* 2003;49:800-3.
8. Setianingsih I, Harahap A, Nainggolan IM. Alpha thalassemia in Indonesia: phenotypes and molecular defects. *Adv Exp Med Biol* 2003; 531:47-55.
9. Chen FE, Ooi C, Ha SY, Cheung BMY, Todd D, Liang R, dkk. Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients. *N Engl J Med* 2000; 343:544-50.
10. Fisher CA, Premawardhena A, De Silva S, Perera G, Rajapaksa S, Olivieri NA, dkk. The molecular basis for the thalassaemias in Sri Lanka. *Br J Haematol* 2003;121:662-71.
11. Villegas A, Ropero P, Gonzalez FA, Anguita E, Espinos D. The thalassemia syndromes: molecular characterization in the Spanish population. *Hemoglobin* 2001; 25:273-83.
12. Greenberg PL, Gordeuk V, Issaragrisil S, Siritanaratkul N, Fucharoen S, Ribeiro RC. Major hematologic disease in the developing world-new aspects of diagnosis and management of thalassemia, malarial anemia, and acute leukemia. *Hematology* 2001;:479-98.
13. Orkin SH, Nathan DG. The thalassemsias. Dalam: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT. Nathan & Oski's hematology of infancy and childhood. Edisi ke-6. Philadelphia: WB Saunders Company, 2003. h. 843-919.
14. Wahidiyat I. Penelitian thalassemia di Jalarta. Tesis, 1979.
15. Rekam Medis Pusat Thalassemia Departemen Ilmu Kesehatan Anak RSCM, 2004 (data tidak dipublikasi).
16. Huisman THJ, Carver MFH, Efremov GD. A syllabus of human hemoglobin variants. Augusta,USA: The Sickle cell anemia foundation 1997.
17. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemsias: review and update. *Clin Chem* 2000;46:1284-90.
18. Lau YL, Chan LC, Chan YYA, Ha SY, Yeung CY, Waye JS, dkk. Prevalence and genotypes of α - and β -thalassemia carriers in Hong Kong-implications for population screening. *N Engl J Med* 1997;336:1298-301.
19. Cao A, Rosatelli MC, Monni G, Galanello R. Screening for thalassemia, a model of success. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2002;29:305-28.
20. Fucharoen S, Winichagoon P, Wisedpanichkij R, Saengow B, Sriphanich R, Oncoung W, dkk. Prenatal and postnatal diagnoses of thalassemsias and hemoglobinopathies by HPLC. *Clin Chem* 1998;44:740-8.
21. Curuk MA, Dimovski AJ, Baysal E, Gu LH, Kutlar F, Molchanova TP, dkk. Hb Adana or α 2(59) (E8)Gly \rightarrow Asp β 2, a severely unstable α 1-globin variant, observed in combination with the α 20.5 Kb α -thal-1 deletion in two Turkish patients. *Am J Hematol* 1993;44:270-5.(abstrak)
22. Altay C. Abnormal hemoglobins in Turkey. *Turk J Haematol* 2002;19:63-74.
23. Oron-Karni V, Filon D, Shifrin Y, Fried E, Pogrebijsky G, Oppenheim A, dkk. Diversity of α -globin mutation and clinical presentation of α -thalassemia in Israel. *Am J Hematol* 2000;65:196-203.
24. Chan V, Chan VWY, Tang ML, Todd D, Chan TK. Molecular defects in Hb hydrops fetalis. *Br J Haematol* 1997;96:224-8.
25. Noguera NI, Gonzalez FA, Davoli RA, Milani AC, Villegas A. A novel splice acceptor site mutation of the α 2-globin gene causing α -thalassemia. *Hemoglobin* 2001;25:311-5.
26. Galanello R. A thalassemsic child becomes adult. *Rev Clin Exp Hematol* 2003;7:4-21.