

La Ferrihemoglobina en el Hombre que Vive a Grandes Alturas

D. GOURDIN — H. VERGNES — J. CONSTANS — J. C. QUILLICI — N. GUTIERREZ

Instituto Boliviano de Biología de la Altura

I. INTRODUCCION

Durante los quince últimos años, se ha podido poner en evidencia una gran cantidad de factores eritrocitarios que intervienen en la lucha contra las agresiones oxidantes, y se han descrito numerosas anomalías hereditarias.

De todas maneras, cualquier parámetro biológico parece ser el resultado de un equilibrio, y podría ser interesante estudiar ciertos aspectos oxidativos del glóbulo rojo, en el individuo que permanentemente vive en condiciones de baja presión parcial de oxígeno.

Este trabajo tiene por objeto estudiar dos grupos humanos que viven en los Andes Peruanos y Bolivianos a una altura media de 3.500 metros.

II. RESULTADOS

El primer grupo estudiado se halla formado por 208 individuos de raza Quechua, adultos de ambos sexos, que viven en los valles andinos (altura media de 3.500 metros) situados al Sud de HUNCAYO (Perú Central), y que corresponderían al establecimiento de dos antiguas jefaturas pre-incásicas: la de los Asto y la de los Chunku.

Los resultados de los dosajes practicados en el lugar: tasa de hemoglobina (método de DRARKIN), y el porcentaje de metahemoglobina, (EVELYN y MALLOY, 14) están representados en la fig. 1 y en el cuadro 1.

Se constata que cierto número de individuos anémicos, con diferentes grados de ane-

mia, presentan una elevación muy significativa de la tasa de metahemoglobina ($p < 0.0005$).

El mismo trabajo se realizó posteriormente en La Paz (altura de 3.500 metros) donde un grupo de 71 individuos mestizos-aymaras fué estudiado de acuerdo al mismo protocolo.

En total, cada uno de los dos grupos comportaba cierta cantidad de individuos anémicos, normales y poliglobúlicos.

La comparación de los resultados obtenidos a nivel de estas dos poblaciones, nos muestra —según el total de la hemoglobina del individuo— una respuesta variable en la tasa de metahemoglobina (c.f. cuadro 1).

—en el individuo normal: (valores de hemoglobina comprendidos entre 14 y 21 gramos/100 ml. de sangre total) se nota una elevación neta del porcentaje de metahemoglobina que sobrepasa en muchos casos el límite superior de lo normal que, en tierras bajas, generalmente se fija en 2% con los métodos espectrofotométricos (15).

—en el individuo anémico: (valores de hemoglobina inferiores a 14 gramos/100 ml. de sangre total) se constata una elevación franca de la metahemoglobina cuya intensidad parece estar ligada al grado de anemia (fig. 1). Pero, de ninguna manera, el total de metahemoglobina sobrepasa el valor de 25%.

—en el individuo poliglobúlico: (valores de hemoglobina superiores a 21 gramos/100 ml. de sangre total) se observa, inversamente a los dos casos anteriores, que el porcentaje de

metahemoglobina permanece débil, y no sobrepasa en ningún caso del 4%.

III. COMENTARIO

Parece paradógico a primera vista, constatar la existencia de un aumento de la metahemoglobina, amputando la capacidad de transporte del oxígeno en los individuos que, por otra parte estuvieron sujetos a una expoliación sanguínea, y viven en una atmósfera de escaso oxígeno. De todas maneras, conviene discutir los mecanismos y quizás la finalidad de tal reacción.

Primeramente, se puede descartar las causas clásicas de metahemoglobinemias:

- se excluye un déficit en NADH — diaforasa en todos los casos la dosis de esta enzima, según la técnica de HECESH (8) es normal.

- la electroforesis de dicha enzima, realizada según la técnica de HOPKINSON (9), nos muestra que todos los individuos pertenecían al fenotipo Dia — 1 habitual.

- finalmente, en algunos casos, se han practicado: los test de reversión de la metahemoglobina, sobre eritrocitos intactos, y algunos tests de BREWER; en todos los casos, la respuesta fué normal, lo que prueba que la capacidad reductora de los piridin-nucliotidos no ha sido alcanzada.

- las migraciones electroforéticas de la hemoglobina no han mostrado ninguna anomalía, y excluyen por consecuencia una hemoglobinosis de tipo M.

- finalmente, en este caso, las causas tóxicas exógenas no parecen muy probables.

Por lo tanto, a falta de una etiología clásica, trataremos de considerar otros mecanismos, y podríamos admitir que en el individuo normal y sobre todo en el anémico, existen en las grandes alturas dos posibles tipos de mecanismo:

- Puede tratarse de un desfallecimiento de los sistemas de reducción;

- o bien, de una exaltación de los sistemas oxidantes intraeritrocitarios (los que en realidad, se conocen muy poco).

De todas maneras, nos queda por definir prácticamente todos los parámetros enzimáticos del funcionamiento del eritrocito humano en las grandes alturas, a fin de situar en cuales "ambientes bioquímicos" (oxido-reductrices y energéticos) se presenta esta metahemoglobinización, y establecer el balance de estas modifica-

ciones en el seno de los dos grupos: el anémico y el individuo normal por una parte, y el individuo poliglobúlico por otra parte.

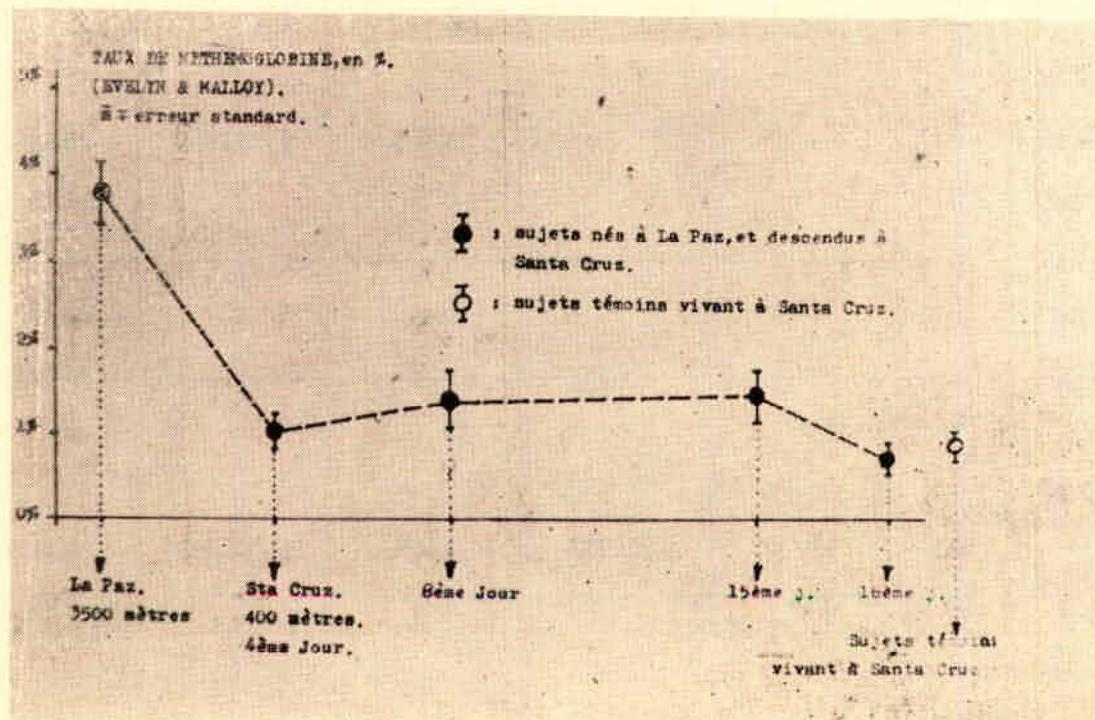
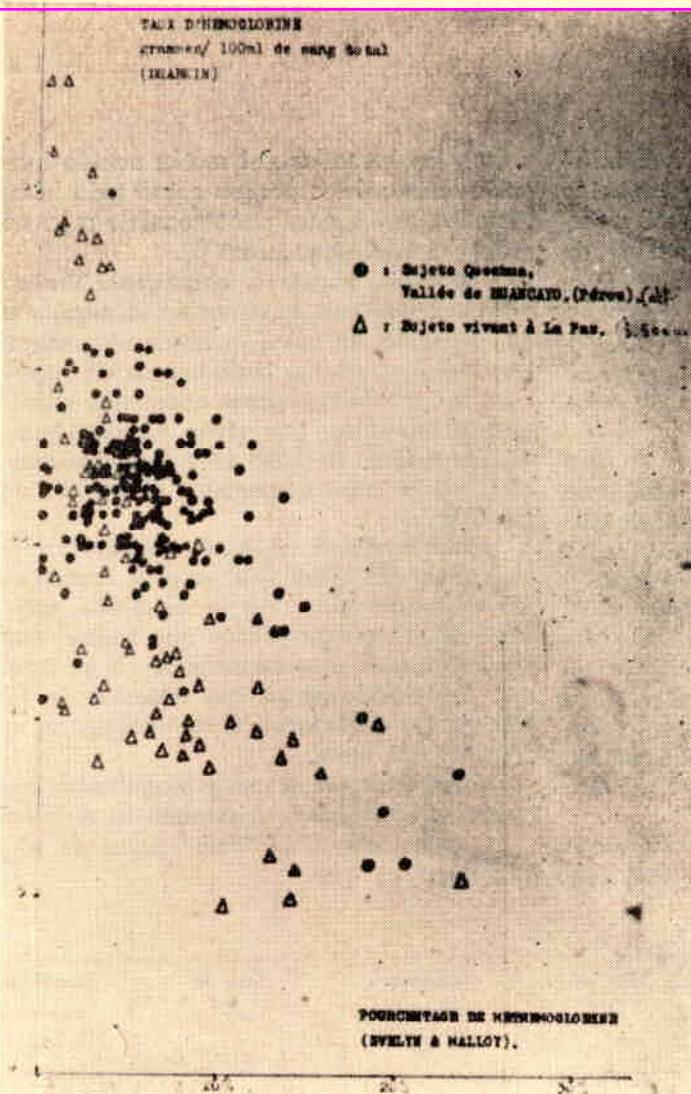
Además, esta metahemoglobilemia parece reversible, con la modificación de las condiciones ambientales. Al efecto, se ha estudiado un grupo de 17 individuos adultos normales, nacidos en LA PAZ y habitantes del altiplano andino (altura 3.800 metros), han sido estudiados en LA PAZ (altura 3.500 metros), y luego de un descenso a tierras bajas, en Santa Cruz (Bolivia — altura 420 metros), en diferentes momentos de su estadía en tierras bajas. Los resultados se representan en la figura 2, ellos muestran una neta disminución del porcentaje de metahemoglobina en tierras bajas ($p < 0.0005$) la cual alcanza hacia el 18 día, un valor vecino al que se encontró en un grupo de individuos testigos residentes permanentes de Santa Cruz.

Finalmente, habría que tratar de definir el rol de esta reacción. En el actual estado de nuestros conocimientos, no podemos limitarnos sino a formular algunas hipótesis:

Se sabe, desde los trabajos de CHANUTIN — BENESH y LEFANT (2, 4, 6, 7, 10, 11, 12, 13), que el valor de la p_{50} de la curva de disociación de la oxi-hemoglobina, del individuo que vive en la altura, se halla aumentado, y que este fenómeno está en relación con un nivel más elevado de 2-3 difosfoglicerato eritrocitario. Esta desviación hacia la derecha de la curva de saturación tiene como consecuencia, el aumento de la cantidad de oxígeno proporcionado a los tejidos.

De todas maneras, el aumento de la p_{50} no puede ser considerado como indefinidamente benéfico. Se puede presumir que este hecho encierra un peligro a partir del momento en que la desviación produce una disminución considerable de la saturación de oxígeno en la zona pulmonar de la curva.

Se admite que la síntesis de 2-3, difosfoglicerato está al principio, controlada por la concentración de hemoglobina reducida (2). Por otra parte, se ha mostrado que en los anémicos en tierras bajas, el 2-3 difosfoglicerato sufre una elevación proporcional al grado de la anemia, con aumento correlativo de la p_{50} (10). Es posible que en los anémicos en la altura, este mecanismo se amplifique debido a una desaturación inicial de la hemoglobina demasiado importante, y que aparezca un enorme riesgo por el desplazamiento creciente de la curva hacia la derecha.



Travail réalisé:

- au Centre d'Hémotypologie du C.N.R.S. CHU Purpan — Ac. de Grande Bretagne TOULOUSE - 31 - FRANCE.
- et à l'Institut Bolivien de Biologie d'Altitude LA PAZ - BOLIVIA.

Ahora bien, los trabajos de R. C. DARLING y de F. J. W. ROUGHTON (5) han establecido que una metahemoglobinización progresiva produce desplazamientos, a la izquierda esta vez, de la curva de disociación de la hemoglobina. Existiría entonces, la posibilidad de un mecanismo regulador de los movimientos de traslación y de ajuste de la curva de disociación de la oxi-hemoglobina, en el individuo que vive a alturas muy grandes.

Por otra parte, observamos, que si bien parece establecido que en el hombre normal de las tierras bajas que llega a grandes alturas, se opera una desviación hacia la derecha de esta curva (10), el sentido de esta desviación no es ciertamente unívoco en todos los seres que viven en este mismo ambiente. Se sabe que en la llama (1), la curva de disociación no se modifica en el momento de una subida a la altura, y ésta se sitúa a la izquierda de la curva del hombre adulto normal. Hemos podido observar en este animal, porcentajes de metahemoglobina del orden de 15 a 20% (*).

Además, parecería poco probable observar una desviación hacia la derecha de esta cur-

va, en los hematíes del recién nacido humano en la altura; éstos poseen sobre todo hemoglobina F, que es muy poco sensible a la acción del 2 - 3 disfosfoglicerato (2).

De todas maneras, es urgente realizar el establecimiento de la curva de saturación de la hemoglobina en estas diversas circunstancias. Este trabajo se halla actualmente en curso.

En conclusión, hemos observado en ambos grupos humanos, que viven en Los Andes, a alturas medias de 3.500 metros, una metahemoglobinemía cuyo mecanismo y rol aún queda por definir.

Esta reacción es muy significativa en el sujeto normal, pero mucho más franca en el individuo anémico. Por el contrario, está ausente en los poliglobúlicos que hemos estudiado. Podríamos preguntarnos si no se trata de una disociación entre dos órdenes de mecanismos que concurren a la adaptación eritrocitaria en la altura:

—intra-corpusculares y bioquímicos que se hallarían empujados al extremo en el anémico,

—eritro poyéticos "casi" puros en el poliglobulico.

CUADRO I.

		Individuos poliglobúlicos Hb 21g/100	Test de T	Individuos normales 21 Hb 14	Test de T	Individuos anémicos Hb 14g/100
N:	1			185		22
SUJETOS						
Quechua (Perú) 3.500 m	m: E.S.:			5,31% 0,13	p<0,0005	10,92% 1,36
Test de t:				p 0,05		p 0,10
N:	12			19		40
SUJETOS						
Mestizos-Aymara (LA PAZ) 3.500 m.	m: E.S.:	2,07% 0,29	p<0,0005	3,66% 0,46	p<0,0005	9,31% 0,81

(*) Resultados no publicados.

Hemos presentado en el cuadro de arriba, para los dos grupos estudiados, y en cada clase, valores de hemoglobina; la media (m) de los totales de metahemoglobina (expresada en por ciento); el número de individuos (N); y el error standard (E.S.).

Cualquiera que sea el grupo: la comparación de los niveles de metahemoglobina, entre la clase de individuos normales y la de individuos anémicos, es muy significativa ($p < 0,0005$).

La comparación entre Quechua y mestizo aymara; no es muy significativa en la clase de individuos anémicos; es poco significativa en la clase de individuos normales. Este último punto presenta el problema de una variación genética entre estos dos grupos humanos y merece una confirmación ulterior.

Finalmente, entre el grupo de los individuos mestizos aymaras, la comparación de los totales de metahemoglobina entre la clase de poliglobúlicos y la de individuos normales es muy significativa ($p < 0,0005$).

Note préliminaire

La Ferrihemoglobine Chez L' Homme Vivant à Haute Altitude

D. GOURDIN — H. VERGNES — J. CONS TANS — J. C. QUILLICI — N. GUTIERREZ

Instituto Boliviano de Biología de la Altura

I. INTRODUCTION

Au cours des quinze dernières années, on a pu mettre en évidence un grand nombre de facteurs érythrocytaires intervenant dans la lutte contre les agressions oxydantes, et de nombreuses anomalies héréditaires ont été décrites.

Toutefois, tout paramètre biologique semble résulter d'un équilibre, et il pouvait être intéressant d'étudier certains aspects oxydatifs du globule rouge, chez l'individu vivant en permanence dans des conditions de basse pression partielle en oxygène.

Ce travail a pour objet l'étude de deux groupes humains vivant dans les Andes Péruviennes et Boliviennes, à l'altitude moyenne de 3.500 mètres.

II.— RESULTATS

Le premier groupe étudié comprend 208 individus Quechua, adultes des deux sexes, vivant dans les vallées andines (altitude moyenne de 3.500 mètres) situées au sud de HUANCAYO (Pérou central), et correspondant à l'établissement de deux anciennes chefferies préincaïques: celles des Asto et des Chunku.

Les résultats des dosages pratiqués sur le terrain: taux d'hémoglobine (méthode de DRABKIN), et pourcentage de méthémoglobine, (EVELYN et MALLOY, 14) ont été reportés au niveau de la fig. 1 et du tableau 1.

On constate qu'un certain nombre de sujets anémiques à des degrés divers, présentent une

élévation très significative du taux de méthémoglobine ($p < 0,0005$).

Ce travail a été repris ultérieurement à LA PAZ (altitude de 3.500 mètres) où un groupe de 71 sujets métis-Aymara a été étudié suivant le même protocole.

Au total, chacun des deux groupes comportait un certain nombre de sujets anémiques, normaux et poluglobuliques.

La comparaison des résultats obtenus au niveau de ces deux populations nous montre —selon le taux d'hémoglobine du sujet— une réponse méthémoglobinémique variable (cf tableau 1):

—chez le sujet normal: (valeurs d'hémoglobine comprises entre 14 et 21 grammes/100 ml de sang total) on note une nette élévation du pourcentage de méthémoglobine qui dépasse dans de nombreux cas la limite supérieure de la normale qui, en basse terre, est généralement fixée à 2% avec les méthodes spectrophotométriques. (15).

—chez le sujet anémique: (valeurs d'hémoglobine inférieures à 14 grammes/100 ml de sang total) on constate une franche réaction méthémoglobinémique dont l'intensité paraît liée au degré de l'anémie (fig. 1). Mais en aucun cas, le taux de méthémoglobine ne dépasse la valeur de 25%.

—chez le sujet polyglobulique: (valeurs d'hémoglobine supérieures à 21 grammes/100

ml de sang total) on observe, à l'inverse des deux cas précédents, que le pourcentage de méthémoglobine reste faible, et ne dépasse jamais 4%.

III. DISCUSSION

Il semble paradoxal, à première vue, de constater l'existence d'une telle méthémoglobinémie, amputant la capacité de transport de l'oxygène chez des sujets ayant par ailleurs subit une spoliation sanguine, et vivant en atmosphère raréfiée en oxygène. Toutefois, il convient de discuter les mécanismes et peut-être la finalité d'une telle réaction.

Tout d'abord, les causes classiques de méthémoglobinémies peuvent être écartées:

—un déficit en NADH-diaphorase est exclu; dans tous les cas, le dosage de l'enzyme, selon la technique de HEGESH (8), est normal.

—l'électrophorèse de cette enzyme, réalisée selon la technique de HOPKINSON (9), a montré que tous les individus appartiennent au phénotype Dia-1 habituel.

enfin, dans quelques cas, ont été pratiqués: les tests de réversion de la méthémoglobine, sur erythrocytes intacts, et quelques tests de BREWER; dans tous les cas, la réponse était normale, ce qui prouve que la capacité réductrice des pyridine-nucléotides n'est pas atteinte.

—les migrations électrophorétiques de l'hémoglobine n'ont montré aucune anomalie, et excluent par conséquent une hémoglobinose de type M.

—enfin, les causes toxiques exogènes paraissent bien peu probables dans un tel contexte.

Donc, à défaut d'une étiologie classique, il nous faut tenter d'envisager d'autres mécanismes, et on pourrait admettre qu'il existe chez l'individu normal et surtout anémique, en haute altitude deux groupes de mécanismes possibles:

—soit une défaillance des systèmes de réduction;

—soit une exaltation des systèmes oxydants intra-érythrocytaires (qui sont, à vrai dire, très mal connus).

De toutes manières, il reste à définir pratiquement tous les paramètres enzymatiques du fonctionnement de l'erythrocyte humain en altitude, afin de situer dans quelles "ambiance biochimique" (oxydo-réductrice et énergétique) se présente cette méthémoglobinisation, et d'éta-

blir le bilan de ces modifications au sein de deux groupes: l'anémique et le sujet normal d'une part, et le sujet polyglobulique d'autre part.

De plus, cette méthémoglobinémie paraît réversible, avec la modification des conditions mésologiques. A cet effet, un groupe de 17 sujets adultes normaux, nés à LA PAZ et vivant sur l'altiplano andin (altitude 3.800 mètres), ont été étudiés à LA PAZ (altitude 3.500 mètres), et après une descente en basse terre, à SANTA CRUZ (Bolivie - altitude 420 mètres), à différents temps de séjour en basse altitude. Les résultats reportés au niveau de la figure 2 montrent une très nette diminution du pourcentage de méthémoglobine en basse terre ($p < 0.0005$) qui atteint vers le 18ème jour, une valeur voisine de celle rencontrée au niveau d'un groupe de sujets témoins résident en permanence à SANTA CRUZ.

Enfin, resterait à tenter de définir un rôle à cette réaction. En l'état actuel de nos connaissances, on ne peut se borner qu'à formuler quelques hypothèses.

On sait, depuis les travaux de CHANUTIN - BENESH et LENFANT (2, 4, 6, 7, 10, 11, 12, 13), que la valeur de la p_{50} de la courbe de dissociation de l'oxy-hémoglobine, du sujet vivant en altitude, est augmentée, et que ce phénomène est en relation avec un niveau plus élevé de 2-3 diphosphoglycérate érythrocytaire. Cette déviation à droite de la courbe de saturation a pour conséquence: l'augmentation de la quantité d'oxygène livrée aux tissus.

Toutefois, l'augmentation de la p_{50} ne peut pas être considérée comme indéfiniment bénéfique. On peut poser qu'elle deviendrait néfaste à partir du moment où la déviation entraîne une baisse trop importante de la saturation en oxygène dans la zone pulmonaire de la courbe.

Il est acquis que la synthèse du 2-3, diphosphoglycérate est au départ, contrôlée par la concentration en hémoglobine réduite (2). Par ailleurs, on a montré que, chez l'anémique en basse terre, le 2-3, diphosphoglycérate subissait une élévation proportionnelle au degré de l'anémie, avec augmentation corrélative de la p_{50} (10). Il est possible que chez l'anémique en altitude, ce mécanisme soit très amplifié du fait d'une désaturation initiale de l'hémoglobine trop importante, et qu'apparaisse un risque de translation à droite, trop grand.

Or, les travaux de R. C. DARLING et de F. J. W. ROUGHTON (5) ont établi qu'une méthémoglobinisation progressive entraîne des

Octubre - Diciembre, 1972

IBBA

déplacements successifs, à gauche cette fois, de la courbe de dissociation de l'hémoglobine. Il y aurait donc là, possibilité d'un mécanisme régulateur des mouvements de translation et d'ajustement de la courbe de dissociation de l'oxy-hémoglobine, chez le sujet vivant en très haute altitude.

Par ailleurs, on remarquera, que s'il paraît établi que chez l'homme normal des bases terres qui arrive en haute altitude, s'opère une déviation à droite de cette courbe (10), le sens de cette déviation n'est certainement pas unique chez tous les êtres vivant dans ce même milieu. On sait que chez le lama (1), la courbe de dissociation ne se modifie pas lors d'une montée en altitude, et celle-ci se situe à gauche de la courbe de l'homme adulte normal. Il nous a été donné d'observer chez cet animal des pourcentages de méthémoglobine de l'ordre de 15 à 20% (*).

De plus, il apparaîtrait peu probable d'observer une déviation à droite de cette courbe, au niveau des hématies de nouveau-né humain, en altitude: celles-ci possèdent surtout de l'hémoglobine F qui est près peu sensible à

l'action de 2-3 diphosphoglycérate (2).

Quoi qu'il en soit, il est urgent de réaliser l'établissement de la courbe de saturation de l'hémoglobine dans ces diverses circonstances. Ce travail est actuellement en cours.

En conclusion, nous avons observé, au niveau de deux groupes humain, vivant dans les Andes à l'altitude moyenne de 3.500 mètres, une méthémoglobinémie dont le mécanisme et le rôle restent à définir.

Cette réaction est très significative chez le sujet normal, mais beaucoup plus franche chez le sujet anémique. Elle est par contre absente chez les quelques polyglobuliques que nous avons rencontrés. On pourrait se demander s'il ne s'agit pas là d'une dissociation entre deux ordres de mécanismes qui concourent à l'adaptation érythrocytaire en altitude:

- intra-corpusculaires et biochimiques qui seraient poussés à l'extrême chez l'anémique;
- érythropoïétiques "presque" purs chez le polyglobulique.

TABLEAU I.

	Sujets polyglobuliques Hb 21g/100	Test de t	Sujets normaux 21 Hb 14	Test de t	Sujets anémiques Hb 14/g/100
N:	1		185		22
SUJETS					
Quechua — (Pérou)	m:		5,31%	p<0,0005	10,92%
3.500 m E.S.:			0,13		1,36
Test de t:			p 0,05		p 0,10
N:	12		19		40
SUJETS métis-Aymara — (La Paz)	m:	2,07%	p<0,0005	3,66%	p<0,0005
3.500 m E.S.:		0,29		0,46	0,81

(*) résultats non publiés.

Nous avons reporté dans le tableau ci-dessus, pour les deux groupes étudiés, et dans chaque classe de valeurs d'hémoglobine: la moyenne (m) des taux de méthémoglobine (exprimée en pour cent); le nombre de sujets (N); et l'erreur standard (E.S.).

Quel que soit le groupe: la comparaison des niveaux de méthémoglobine, entre la classe des sujets normaux et celle des anémiques, est très significative ($p < 0,0005$).

La comparaison, entre Quechua et métis-Aymara: n'est pas significative dans la classe des sujets anémiques; elle est peu significative dans la classe des sujets normaux. Ce dernier point pose le problème d'une variation génétique entre ces deux groupes humains et mérite une confirmation ultérieure.

Enfin, parmi le groupe des sujets métis-Aymara: la comparaison des taux de méthémoglobine entre la classe des polyglobuliques et celle des sujets normaux est très significative, ($p < 0,0005$).

BIBLIOGRAPHIE

1. N. BLANCHERO — R.F. GROVER — J. A. WILL. Oxygen transport in the llama (lama glama). *Resp. Physiol.* 1971. 13 - 102 - 115.
2. R. BENESH - R. E. BENESH.— Intracellular organic phosphates as regulators of oxygen release by haemoglobin. *Nature*, 1969. 21. 618 - 622.
3. V. BYCKOVA.— Interprétation moléculaire de la fonction respiratoire de l'hémoglobine. *Nouv. Rev. Fran. d'Hémat.* 1971. 11. 47 - 56.
4. ACHANUTIN - R. R. CURNISH.— Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. *Arch. Biochem.* 1967. 96. 121.
5. R. D. DARLING - F. J. W. ROUGHTON.— The effect of methemoglobin on the equilibrium between oxygen and hemoglobin.— *Amer. J. Physiol.* 1942. 137. 56 - 68.
6. J. W. EATON - G. BREWER - R. F. GROVER. Role of red cell 2, 3 - diphosphoglycerate in the adaptation of man to altitude.— *J. Lab. and clin. Med.* 1969. 73. 603 - 609.
7. Exposés annuels de biochimie médicale: Vingt - neuvième série. Masson. 1969.
— J. C. KAPLAN
Diaphorase et glutathion - réductase érythrocytaires pp. 76 - 99.
— P. CARTIER
Glycolyse du globule rouge normal et pathologique pp. 24 - 75.
8. S. E. HEGESH - N. CALMANOVICI - M. AVRON.— New method for determining ferrihemoglobin - reductase (NADH - methemoglobinreductase).— *J. Lab. and Clin. Med.* 1968. 72(2). 339 - 344.
9. HARRIS H. - A. HOPKINSON - J. LUFFMAN. Enzyme diversity in human populations. *Ann. of New-York. Acad. Sci.* 1968. 232 - 242.
10. C. LENFANT - J.D. TORRANCE - C.A. FINCH. The regulation of hemoglobin affinity for oxygen in man. *Trans. Ass. Amer. Physicians.* 1969. 82. 121 - 128.
11. J. P. LEROUX - A. NAJMAN.— Biochimie et physiologie du 2 - 3, diphosphoglycérate érythrocytaire. *Ann. de Biol. Clin.* 1971. 29. 279 - 295.
12. S. RAPPOPORT - J. LUEBERING. — Glycerate, 2 - 3, diphosphate. *J. of. Biol. Chem.* 1969. 189. 683.
13. J. ROSA - H. WACJMAN - Y. BEUZARD.— Structure des hémoglobines normales. *Nouv. Rev. Fran. d'Hémat.* 1971. 11. 33-46.
14. K. A. EVELYN - H. T. MALLOY.— *J. of. Biol. Chem.* 1938. 126. 655.
15. J. BERNARD - J. RUFFIE.— Hématologie géographique. Tome 1. Edit. Masson. (Paris). 1966 - pp. 151 - 152.