

SINDROAMELE TALASEMICE

DR. DANIEL CORIU, SEF LUCRARI
DR. RODICA TALMACI, ASISTENT UNIVERSITAR
UMF "CAROL DAVILA"

*Aceasta publicatie este adresata medicilor de familie si
persoanelor care doresc sa afle mai multe despre talasemie*

ACEASTA PUBLICATIE A FOST POSIBILA PRIN FINANTAREA OFERITA DE:
ACADEMIA DE STIINTE MEDICALE PRIN PROGRAMUL CERCETARE DE EXCELENTA-PROIECT
CEEX 49, DIRECTOR PROIECT DR. DANIEL CORIU
SOCIETATEA ROMANA DE HEMATOLOGIE: PRESEDINTE-CONF. DR. ADRIANA COLITA;
SECRETAR GENERAL-DR. RADU NICULESCU

CUPRINS

- **INTRODUCERE**
- **CE ESTE TALASEMIA ?**
- **CE ESTE ALFA(α)-TALASEMIA?**
- **CE ESTE BETA(β)-TALASEMIA?**
- **CE INSEAMNA PURTATOR DE TALASEMIE?**
- **TESTAREA PURTATORILOR DE TALASEMIE**
- **TESTELE DE GENETICA MOLECULARA IN TALASEMIE**
- **TESTAREA PRENATALA PENTRU TALASEMIE**
- **DESPRE PROGRAMUL DE IDENTIFICARE A PURTATORILOR DE TALASEMIE**



INTRODUCERE

Numele de **talasemie** provine din cuvântul grecesc *thalassa* care înseamnă „mare” și se referă la zonele din jurul Marii Mediterane unde această boală are cea mai mare frecvență. Sindroamele talasemice sunt cele mai răspândite boli genetice din lume.

De-a lungul anilor, talasemia se face responsabilă de moartea multor milioane de copii. Curios este faptul, că atunci, când a fost recunoscută ca boală, în 1925, a fost recunoscută în America, unde nu era atât de răspândită. Pediaterul care a descoperit talasemia se numea Thomas Cooley. Urmand cercetarile sale, au fost gasite multe cazuri și numele sub care această boală se înregistrează, era acela de *anemia Cooley*.

Zonele în care se întâlnește talasemia sunt aceleași cu cele în care a existat pe vremuri *malaria*. Cercetătorii susțin că cei ce dețin gena ce dă naștere talasemiei sunt protejați împotriva malariei și transformarea genei normale β -globinice în gena talasemică ar fi apărut ca o măsură de protecție împotriva malariei în procesul de selecție naturală.

Boala este întâlnită în peste 60 de țări de pe glob. Copiii care se nasc din părinți ambii cu talasemie minoră, au 1 din 4 „șanse” să mostenească forma cea mai severă a talasemiei și anume **talasemia majoră**. Nu cu mult timp în urmă copiii ce se nășteau cu această boală nu ajungeau până la vârsta majoratului, însă datorită progreselor medicale actuale șansa de supraviețuire a acestor pacienți a crescut semnificativ.

Talasemia este un subiect dificil de explicat, întrucât nu cuprinde o singură modificare, ci un grup de defecte cu efecte clinice similare. S-a constatat că multe confuzii vin din faptul că descrierile clinice în talasemie s-au făcut înainte de conturarea bazei moleculare a talasemiilor. Ca rezultat, structura de organizare moleculară a talasemiilor este oarecum modificată. Analiza talasemiei este cel mai bine abordată prin examinarea separată a bazei sale genetice și expresia clinică.



CE ESTE TALASEMIA?

Bolile talasemice reprezinta un grup de boli genetice caracterizate de scaderea productiei de hemoglobina.

Hemoglobina este o proteina ce transporta oxigenul de la plamani la tesuturi. Sediul hemoglobinei se afla in eritrocite. Daca hemoglobina este scazuta, eritrocitele sunt mai mici si mai goale. Este ceea ce se numeste *anemie hipocroma* si *microcitara*.

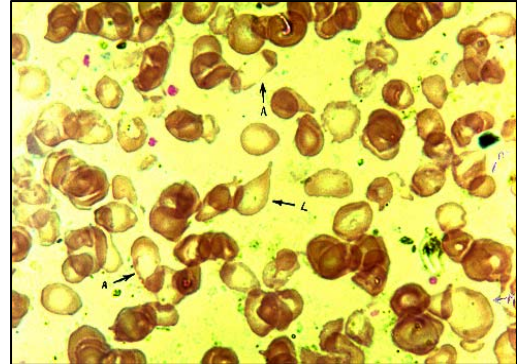
Pe perioada dezvoltarii se sintetizeaza mai multe tipuri de hemoglobina:

Hemoglobina Embrionara (HbE): Gower I - $\xi_2\varepsilon_2$
Portland - $\zeta_2\gamma_2$
Gower II - $\alpha_2\varepsilon_2$

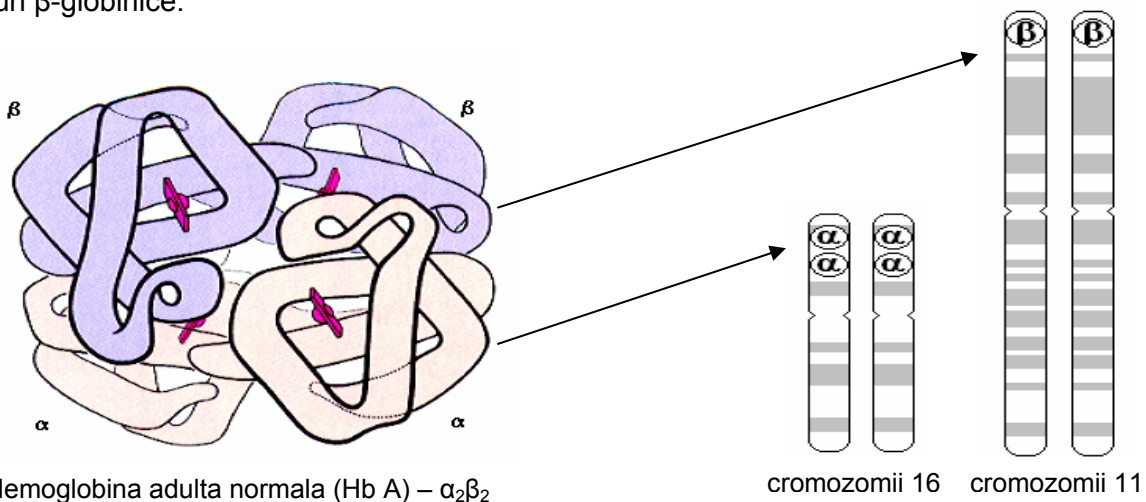
Hemoglobina Fetala (HbF) - $\alpha_2\gamma_2$

Hemoglobina Adulta (HbA) - $\alpha_2\beta_2$

Hemoglobina 2 Adulta (HbA₂) - $\alpha_2\delta_2$



Molecula de hemoglobina (HbA) este formata din patru lanturi polipeptidice: 2 lanturi α -globinice si 2 lanturi β -globinice.



Aceste lanturi globinice sunt produse de gene situate pe cromozomi diferiti. Genele α -globinice se afla pe cromozomii 16, iar genele β -globinice se gasesc pe cromozomii 11. Pe un cromozom 16 exista 2 gene α -globinice: α_1 si α_2 . Pe un cromozom 11 exista o singura gena β -globinica.

Talasemia apare ca rezultat al alterarii acestor gene prin mutatii la nivelul ADN. Daca o mutatie apare in genele α -globinice (α_1 si/sau α_2) talasemia se numeste α -talasemie. Daca o mutatie se produce in gena β -globinica, aceasta determina β -talasemia.

Toate celulele umane, cu exceptia celulelor germinale (spermatozoizi si ovule), sunt diploide; aceasta inseamna ca ele poarta 2 copii ale fiecarui cromozom. De aceea, fiecare celula poarta 2 copii ale fiecarei gene, una din fiecare cromozom pereche.

Astfel, o persoana cu talasemie poate fi:

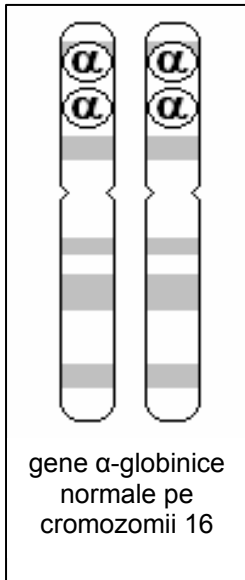
- **HOMOZITOTA**, atunci cand nu are nici o gena globinica (α - sau β -) normala; toate genele α - sau β - sunt defecte.
- **HETEROZIGOTA**, atunci cand are si gene globinice normale (α - sau β -), si gene globinice defecte.



CE ESTE α -TALASEMIA?

Producerea de lanturi α -globinice este “comandata” de genele α -globinice (α_1 si α_2) de pe cromozomul 16. O persoana are 4 gene α -globinice: α_1 si α_2 pe un cromozom 16 mostenit de la mama si α_1 si α_2 pe celalalt cromozom 16 mostenit de la tata.

DEFECTUL GENELOR α -GLOBINICE PRODUCE α -TALASEMIE.



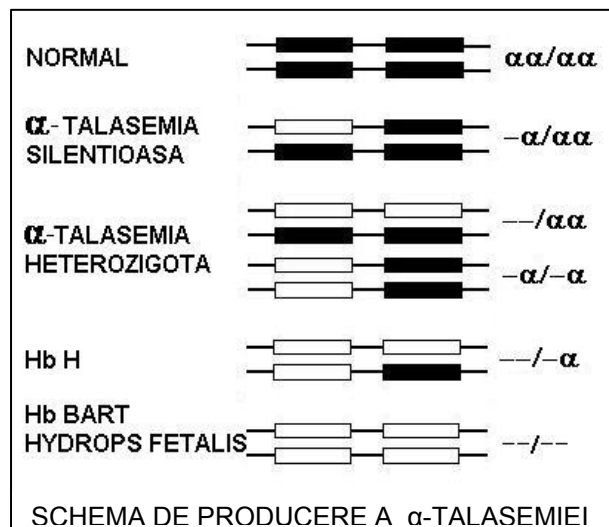
Daca o persoana are o singura gena α -globinica defecta (din cele patru), aceasta nu va avea nici un fel de manifestare clinica. Aceasta situatie se numeste **conditie de purtator silentios de α -talasemie**. Diagnosticul este pus numai prin teste genetice si este mai curand un diagnostic “deductiv” la o persoana aparent sanatoasa care are un copil cu α -talasemie.

Daca persoana are doua gene α -globinice defecte, atunci diagnosticul va fi de **α -talasemie minora**. De regula, nu exista manifestari clinice, iar in hemograma aceasta va avea o anemie usoara hipocroma-microcitara. De obicei, pacientul este gresit diagnosticat ca avand anemie prin lipsa de fier. Diagnosticul corect implica mai multa experienta din partea hematologului, deoarece inclusiv electroforeza de hemoglobina este normala. Genele α -globinice defecte pot fi situate pe acelasi cromozom (pozitie *cis*) sau pe cromozomul omolog din pereche (pozitie *trans*).

Daca amandoi parinti au α -talasemie minora cu genele defecte in pozitie *trans* (pe cromozomi diferiti) copii lor vor mosteni **α -talasemie minora**.

Daca un parinte are α -talasemie minora cu genele defecte in pozitie *cis* (situate pe acelasi cromozom), iar celalalt parinte are conditia de purtator silentios (o singura gena defecta), exista riscul de 25% ca la fiecare sarcina sa se nasca un copil cu trei gene α -talasemice defecte, adica **boala hemoglobinei H**. Boala se manifesta prin anemie moderata sau severa, splenomegalie importanta, astenie, deformari osoase.

Daca ambii parinti au α -talasemie minora cu genele defecte in pozitie *cis* exista riscul de 25% ca la fiecare sarcina sa apara α -talasemia majora, in care toate genele α -globinice sunt defecte, adica **Hemoglobina Bart - Hidrops Fetalis** si produsul de conceptie nu este viabil si va muri in uter.

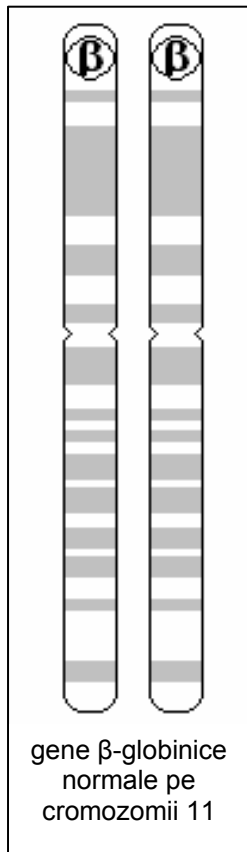




CE ESTE β -TALASEMIA?

Producerea de lanturi β -globinice este comandata de o singura gena β -globinica situata pe cromozomul 11. O persoana are 2 gene β -globinice: o gena β -globinica situata pe un cromozom 11 mostenit de la mama si o gena β -globinica pe celalalt cromozom 11 mostenit de la tata.

DEFECTUL GENELOR β -GLOBINICE PRODUCE β -TALASEMIA.



Din punct de vedere al manifestarilor clinice, β -talasemia este:

1. **β -talasemie minora** – asimptomatica sau anemie usoara
2. **β -talasemie intermediara** – mai mult sau mai putin severa
3. **β -talasemie majora** - severa

Din punct de vedere genetic (al prezentei genelor defecte) o persoana poate fi:

1. **heterozigot** sau **purtator de β -talasemie** - are o gena β -globinica defecta pe un cromozom 11 si o gena β -globinica normala pe celalalt cromozom 11
2. **homozigot** sau **bolnav de β -talasemie** - are ambele gene defecte pe cei 2 cromozomi 11 omologi

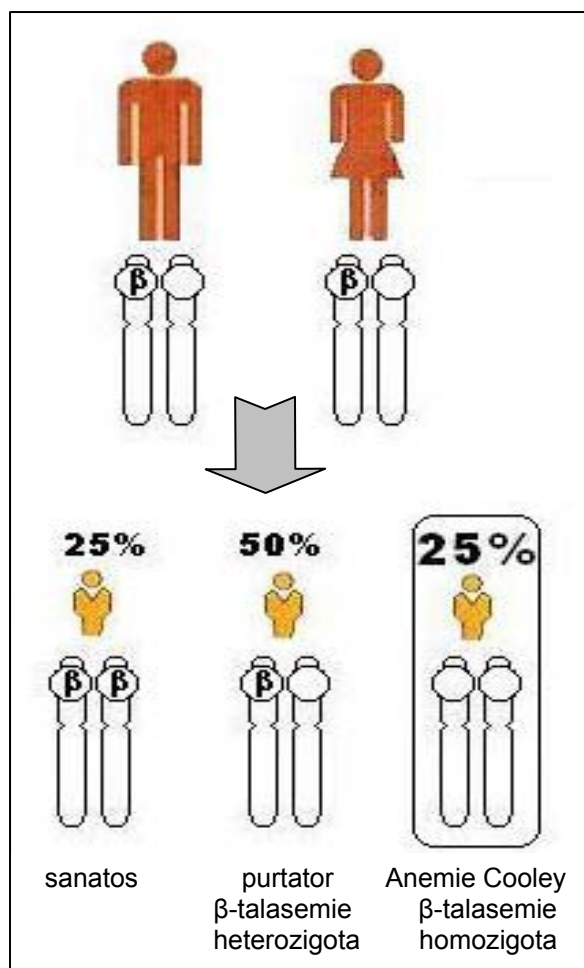
Daca o persoana are **β -talasemie minora** productia de lanturi β -globinice scade sub nivelul normal, dar fara o afectare importanta a functiei normale a hemoglobinei. In aceasta situatie, de regula, persoana nu are manifestari clinice, cu exceptia unei anemii usoare hipocrome microcitare descoperite uneori intamplator la un examen de laborator efectuat pentru alte motive. Uneori, in astfel de situatii, aceste persoane primesc diagnosticul de anemie prin deficit de fier si medicii recomanda, in mod gresit, administrarea de preparate cu fier fara vre-o ameliorare a anemiei.

Exista situatii destul de frecvente, in care persoana respectiva are hemoglobina cu valori normale la efectuarea hemogramei.

HEMOGLOBINA CU VALORI NORMALE NU EXCLUDE PREZENTA TALASEMIEI MINORE.

TALASEMIA MINORA NU ESTE O BOALA, CI O CONDITIE GENETICA, IN CARE PERSOANA ESTE PURTATOARE ASIMPTOMATICA DE GENA DEFECTA CARE VA FI TRANSMISA LA URMASI.

Persoanele purtatoare de gena β -globinica defecta transmit aceasta gena copiilor, care la randul lor devin purtatori de gena β -globinica defecta.



Daca ambii parinti sunt purtatori de gena β -globinica defecta exista riscul de 25% ca la fiecare sarcina sa se nasca un copil cu **β -talasemie majora** sau **anemie Cooley**. Aceasta este cea mai severa forma de boala in care sunt defecte ambele gene β -globinice. Deci, productia de lanturi β -globinice nu mai are loc sau este scazuta dramatic. Dupa nastere copilul prezinta splenomegalie importanta si anemie severa care impune transfuzii regulate toata viata. Acest copil nu va produce sange propriu si va avea nevoie sa primeasca sange de la alte persoane (transfuzie). In timp, apare incarcare cu fier (hemocromatoza) in diferite organe (inima, ficat, rinichi, splina) si evolutia este de obicei dramatica.

In forme clinice numite **β -talasemie intermediara** apare, totusi, un grad de productie proprie de hemoglobina. In aceasta situatie anemia este moderat severa, dar apar deformari osoase si splenomegalie. Paleta de manifestari clinice la aceasta forma de β -talasemie este foarte variata.

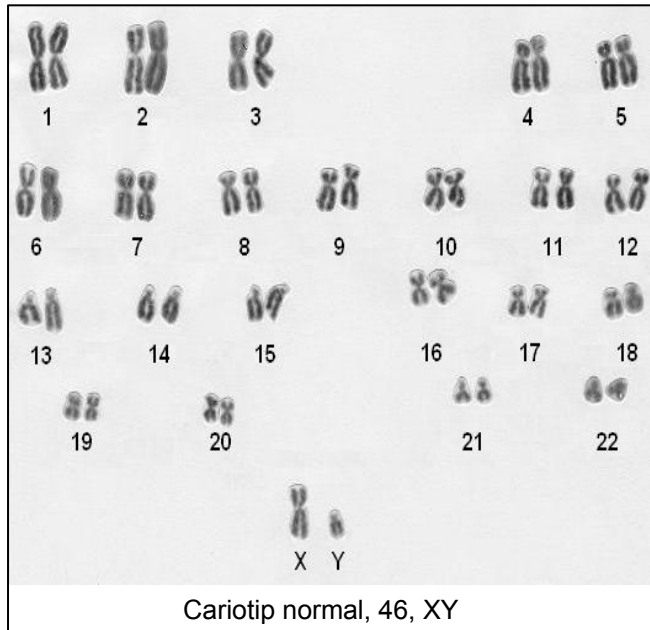
Exista o variabilitate foarte mare in ceea ce inseamna severitatea acestor boli talasemice de aceea delimitarea intre TALASEMIA MAJORA si TALASEMIA INTERMEDIARA poate crea confuzie. De aceea, in acest caz este absolut necesara investigarea prin metode de genetica moleculara.

TALASEMIA MAJORA ESTE O BOALA GENETICA (MOSTENITA DE LA PARINTI), CARE NU POATE FI VINDECATA IN ACEST MOMENT. SINGURA SOLUTIE ESTE PREVENIREA BOLII PRIN TESTAREA PARINTILOR, CARE SUNT PURTATORI DE TARA TALASEMICA.



CE INSEAMNA PURTATOR DE TALASEMIE?

Talasemia este o boala genetica ce se transmite numai de la parinti la copii. Transmiterea este determinata de prezenta la mama sau la tata (sau la ambii) a unei gene defecte (talasemice). In momentul conceptiei copilul primeste un set de 23 cromozomi de la mama (din ovul) si un set de 23 cromozomi de la tata (din spermatozoid). Prin unirea celor doua seturi rezulta setul complet de 46 cromozomi specifici speciei umane.



Daca unul din parinti poarta gena talasemica, aceasta va fi transmisa mai departe la copil care, la randul lui, poate deveni purtator de talasemie.

Din punct de vedere medical, notiunea de purtator de talasemie inseamna **talasemie minora**. Aceasta se manifesta, de obicei, printr-o anemie usoara care poate fi confundata cu anemia prin lipsa de fier, care este tot o anemie hipocroma microcitara. Uneori, in astfel de situatii, medicii recomanda, in mod gresit, administrarea de preparate de fier fara nici o ameliorare a anemiei.

ADMINISTRAREA FIERULUI SE FACE NUMAI DUPA MASURAREA NIVELULUI SERIC DE FIER (SIDEREMIE) SI A DEPOZITELOR DE FIER (FERITINA).

Totusi, trebuie sa avem in vedere asocierea intre deficitul de fier si prezenta talasemiei minore. Acest lucru este intalnit in situatiile in care, desi se administreaza fier, hemoglobina creste, dar nu ajunge la valori normale si se pastreaza microcitoza si hipocromia.

DE OBICEI, PURTATORII DE TALASEMIE NU AU NICI UN FEL DE MANIFESTARI CARE SA ANUNTE PREZENTA DEFECTULUI GENIC, DAR ACEASTA POATE AFECTA IN MOD DRAMATIC VIATA COPILULUI.



TESTAREA PURTATORILOR DE TALASEMIE

Testarea purtatorilor de talasemie incepe cu analiza hemogramei efectuate de analizorul automat. Aceasta este cea mai simpla si cea mai utilizata analiza din practica medicala. La ora actuala poate fi realizata aproape in orice laborator din Romania. In aceasta **hemograma** sunt cativa parametrii care sunt modificati in caz de talasemie minora:

- **Hb (hemoglobina)** este de obicei scazuta, dar, atentie, uneori poate fi normala.
- **Ht (hematocrit)** este scazut, dar uneori poate fi normal.
- **RBC (Red Blood Cells – numarul de eritrocite)** este discordant fata de nivelul hemoglobinei. Adica **anemie cu numar normal sau crescut de eritrocite**. In talasemie scade sinteza de hemoglobina, dar se mentine normal numarul de eritrocite.
- **RDW (Red Cell Distribution Width – largimea distributiei eritrocitare)** in talasemie este normal, deoarece toate eritrocitele sunt mici. In anemia feripriva este crescut, deoarece exista *anizocitoza*, adica variatii de marime eritrocitara.
- **MCV sau VEM (Mean Corpuscular Volume sau Volumul Eritrocitar Mediu) este cel mai important indicator de talasemie minora daca este scazut sub 78 fl.**

Diagnosticul formulat dupa efectuarea hemogramei este *anemie hipocroma microcitara*. Dar trebuie avut in vedere ca cea mai frecventa cauza de anemie hipocroma microcitara este lipsa de fier – **anemia feripriva**. **Deci, imediat trebuie sa se analizeze nivelul seric al fierului (*sideremia*) si nivelul depozitelor de fier (*feritina*)**. Daca acestea sunt normale se ridica suspiciunea de talasemie minora.

Urmatoarea etapa este efectuarea **electroforezei de hemoglobina** si eventual a **cromatografiei cu lichide de inalta performanta (HPLC)**. Ambele presupun experienta si se recomanda efectuarea lor in centre specializate. Aceste analize indica valori scazute pentru Hb A si crescute pentru Hb A2 si Hb F.

EXISTA SITUATII IN CARE TALASEMIA MINORA SE ASOCIAZA CU DEFICITUL DE FIER. In aceste conditii se recomanda initial corectarea deficitului de fier (tratament corect de 6 luni) si daca microcitoza (VEM scazut) persista, se vor efectua testele specifice pentru talasemie.

Nu se recomanda efectuarea electroforezei de Hb sau HPLC daca exista suspiciunea carentei de fier, deoarece aceste teste pot da rezultate fals negative.

Diagnosticul de α -talasemie minora este de obicei facut prin excludere: pacient cu microcitoza (cu sau fara anemie), excluderea deficitului de fier, aspect normal la electroforeza de hemoglobina si HPLC.

Pentru un diagnostic exact se realizeaza **testele de genetica moleculara**, care sa precizeze natura exacta a defectului genic si sa confirme diagnosticul acolo unde sunt dubii.

In toate situatiile un rol important il are **istoricul familial**, adica prezenta unei boli similare la alti membri din familie.

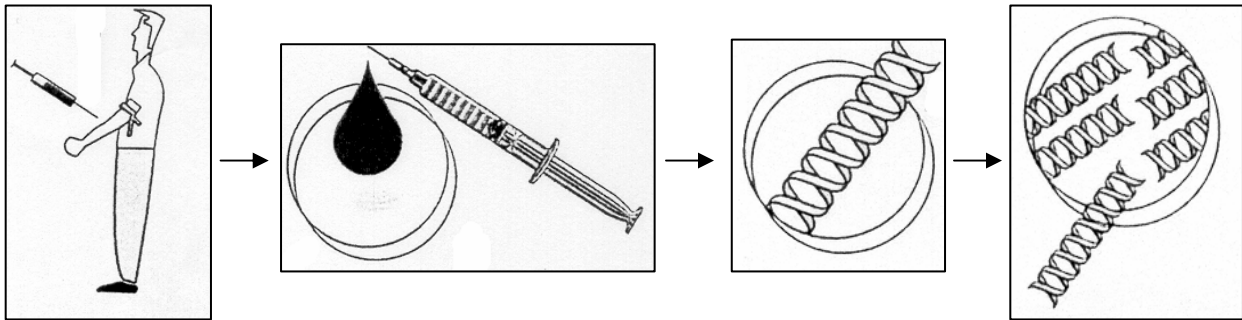


TESTELE DE GENETICA MOLECULARA IN TALASEMIE

STRATEGIA DE INVESTIGARE A MUTATIILOR TALASEMICE se refera la “cautarea” modificarilor produse in genele globinice normale ce au dus la transformarea lor in gene talasemice.

Majoritatea **α -talasemiilor** sunt consecinta unor deletii ale genelor α -globinice, in timp ce **β -talasemiile** sunt produse ca rezultat al mutatiilor punctiforme aparute in ADN la nivelul genelor β -globinice.

In scopul identificarii mutatiilor β -talasemice se realizeaza urmatoarele etape:



recoltarea de sange periferic → extractie ADN din sange → prelucrare ADN → aplicarea metodelor moleculare bazate pe tehnica PCR pentru genele de interes

Prin metode de genetica moleculara se realizeaza identificarea mutatiilor produse la nivelul genelor de interes. Mai intai se identifica prezenta sau absenta vreunei modificari in gena studiata, aceasta se realizeaza cu ajutorul metodei **DGGE** (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis* – electroforeza in gel cu gradient de denaturare). Aceasta metoda permite aflarea daca in gena s-a produs vre-o mutatie, chiar si o schimbare a unei singure nucleotide (A,T,G,C) si locul unde se afla aceasta mutatie.

Identificarea si caracterizarea directa a mutatiilor se realizeaza prin amplificare specifica a alelei mutante (**ARMS-PCR**, *Amplification Refractory Mutation System-PCR*) sau analiza situsului de restrictie (**PCR-RFLP**, *PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism*). Aceste metode ne indica exact mutatia produsa in gena studiata, fiind si metode de verificare, absolut necesare intr-un diagnostic molecular.

O metoda eficienta de ultima ora si mult mai rapida, aplicata cu succes in diagnosticul talasemiilor este **REAL TIME PCR**. Aceasta metoda este o varianta de PCR cantitativ, realizata cu un aparat numit *thermocycler* cu detectie fluorescenta care se utilizeaza pentru screening de mutatii si polimorfisme.

Prin aceste metode se stabileste diagnosticul molecular, starea de homozigot (bolnav) sau heterozigot (purtator) al β -talasemiei, se identifica mutatia exacta care a produs boala si se stabileste prognosticul bolii talasemice.



TESTAREA PRENATALA PENTRU TALASEMIE

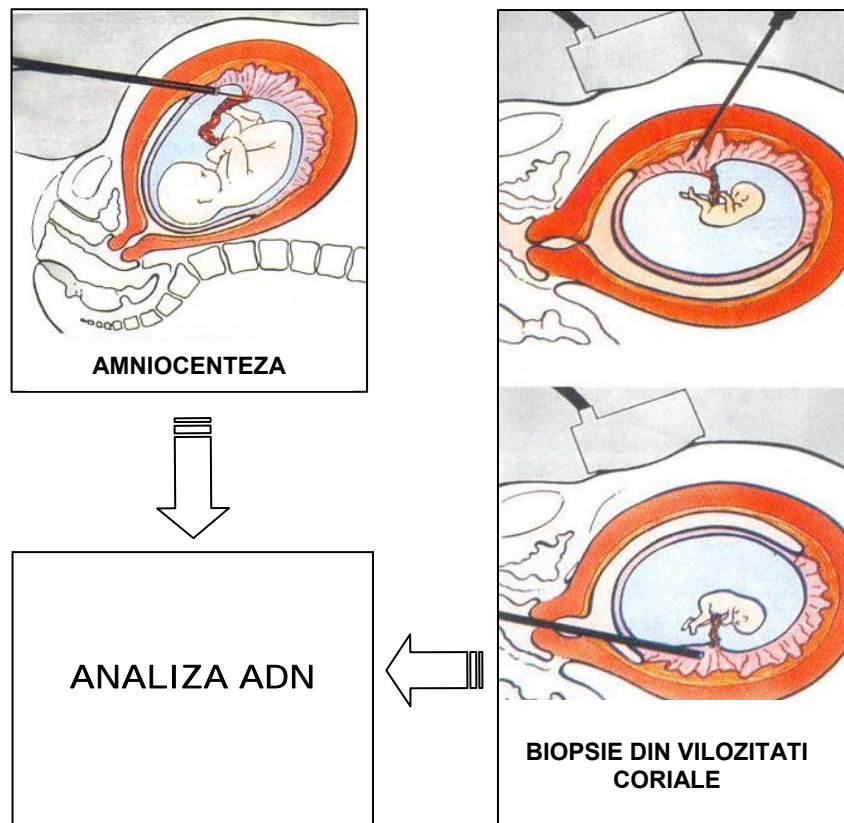
Pentru purtatorii de talasemie minora care isi doresc sa aiba copii testarea partenerului este **obligatorie**.

Pentru cuplurile la care diagnosticul de talasemie minora a fost pus la ambii parinti dupa ce partenera a ramas insarcinata, se recomanda efectuarea testelor de genetica moleculara la fat pentru a identifica prezenta mutatiilor talasemice.

Pentru a obtine material fetal se recomanda **AMNIOCENTEZA** sau prelevare de probe din **VILOZITATILE CORIALE**. Ambele pot fi efectuate numai in centre specializate sub control ecografic.

Amniocenteza se efectueaza dupa saptamana a 15-a de sarcina si inseamna recoltarea de cativa mililitri de lichid amniotic.

Biopsia din vilozitatile coriale se poate efectua in saptamana 10-12 de sarcina si inseamna recoltarea de fragmente foarte mici de tesut cu origine fetala.





DESPRE PROGRAMUL DE IDENTIFICAREA A PURTATORILOR DE TALASEMIE

Statisticile recente indica faptul ca aproximativ 250 milioane de oameni (4.5% din populația globului) sunt purtatori ai unei gene globinice defecte. In fiecare an se nasc cam 300 000 de homozigoti (talasemie majora si siclemie) conform raportului Organizatiei Mondiale a Sanatatii din 1996. Specialistii se asteapta ca numarul pacientilor cu talasemie majora sa creasca.

In Romania nu exista informatii exacte despre incidenta persoanelor cu talasemie minora. Intre 2003 - 2005 grupul nostru a efectuat un studiu finantat de Academia de Stiinte Medicale, programul VIASAN, care a avut drept scop identificarea si caracterizarea moleculara a genelor implicate in talasemie. Rezultatele obtinute sunt publicate in reviste nationale si internationale. Cateva aspecte trebuie sa fie mentionate:

✓ In aceasta perioada am identificat in Centru nostru 145 persoane purtatori de tara talasemica. Daca vom compara datele cu totalul pacientilor diagnosticati in perioada 1998-2003 (144 pac) observam ca studiul nostru a identificat in 24 de luni un numar mai mare de pacienti. Acest lucru demonstreaza ca o activitate coerenta a unui program de screening este esentiala in obtinerea unor rezultate bune.

✓ Se observa existenta unei prevalente ridicate in anumite zone geografice situate, in special, in partea de sud a Romaniei. In aceste zone purtatorii asimptomatici sunt identificati deseori intamplator sau in cadrul programelor de screening. Scaparea de sub control a acestei forme β -talasemice inasa, poate duce la homozigotizare (forme majore de talasemie) si deci, aparitia manifesta a bolii cu toate costurile sociale si suferinta umana implicata.

✓ Am construit un algoritm eficient de diagnostic pentru talasemie (anexa pag.14)

✓ Am reusit efectuarea examenului molecular la un numar important de pacienti. Aceste rezultate demonstreaza ca originea β -talasemiei in Romania este comuna cu cea observata in tarile bazinului mediteranean.

✓ Am realizat, pentru prima data in Romania, un diagnostic prenatal de β -talasemie la un fetus in al doilea trimestri de sarcina, identificand forma homozigota de β -talasemie la acesta.

✓ Studiul realizat reprezinta o baza solida pe care sa se sprijine un program preventiv pentru β -talasemie si credem ca rezultatele obtinute vor facilita imbunatatirea si progresul serviciilor medicale precum screening-ul purtatorilor, sfatul genetic si diagnosticul prenatal.

✓ Poate cel mai important rezultat este constituirea unei echipe de lucru pentru studiul bolilor genetice, in special, pentru sindroamele talasemice:

*Clinica de Hematologie din Institutul Clinic Fundeni,
Clinica de Pediatrie din Institutul Clinic Fundeni,
Institutul de Genetica al Universitatii din Bucuresti,
Institutul National de Hematologie Transfuzionala.*

Plecand de la experienta acumulata in aceasta perioada, am obtinut sprijinul Academiei de Stiinte Medicale prin Programul Cercetare de Excelenta pentru crearea unui Centru de diagnostic si monitorizare a bolilor genetice hematologice, in special a sindroamelor talsasemice.

POLITICA NOASTRA PLEACA DE LA PRINCIPIUL DE PREVENIRE SI CONTROL AL BOLILOR GENETICE.

In esenta ne propunem sa intensificam programele de screening prenatal, adica identificarea si informarea purtatorilor de tara talasemica inainte de perioada de procreatie.

PENTRU MAI MULTE INFORMATII VA RUGAM SA NE CONTACTATI LA ADRESA:

Dr. Coriu Daniel

INSTITUTUL CLINIC FUNDENI, DEPARTAMENTUL de HEMATOLOGIE

Soseau Fundeni nr. 258, sector 2, Bucuresti, ROMANIA

TEL: +4021 318 04 23 / 0729988960

Fax: +4021 318 04 23

e-mail: daniel_coriu@yahoo.com

MATERIAL BIBLIOGRAFIC:

1. Strachan T., Read A.P. *Human Molecular Genetics* 3. Garland Publishing, 2004
2. Elles R. (edited by) *Molecular Diagnosis of Genetic Diseases*. Humana Press, 1996
3. Talmaci R., J. Traeger-Synodinos, E. Kanavakis, D. Coriu, D. Colita, L. Gavrila, *Scanning of β -globin gene for identification of β -thalassemia mutation in Romanian population*, J. Cell. Mol. Med., 8 (2) 232-240, 2004
4. Eleftheriou A. *About Thalassaemia*. Published by Thalassaemia International Federation, 2003
5. Brosura Fundatiei «Cooley's Anemia» - *What is Thalassemia Trait ?*