

Esferocitosis hereditaria y beta talasemia menor

Dr. German F. Sáenz,***
*Dr. Guillermo Azofoifa****
*Dra. Xinia Lizano****
*Dra. Rosario Barboza****
*Dr. Mario Chaves***
*Sr. Alberto G. Montero***
*Sr. Javier Jiménez***

RESUMEN

En un niño caucasoide de 7 años de edad, oriundo de Turrialba, con anemia severa y esplenomegalia, fue posible demostrar una interesante y rara doble condición hematológica hereditaria: esferocitosis y beta talasemia menor. Se pudo constatar la línea materna para la herencia de la beta-tal, en tanto que lo fue la paterna para la EH de modo indirecto, al conocerse que el padre fue operado del bazo y que otro hijo suyo murió de una patología esplénica. Se hace mención de algunas características de las EH, del microesferocito, así como de los síndromes beta-tal. Finalmente el propósitus fue esplenectomizado, con buena corrección posterior de su hemograma y de su condición clínica.

INTRODUCCION

La esferocitosis hereditaria (EH) es una anemia hemolítica que se hereda como rasgo autosómico dominante y por cuya consecuencia se producen microesferocitos como resultado de un defecto de membrana. La beta talasemia menor clásica (beta-tal) forma

parte de un grupo de anemias hereditarias, clínica y genéticamente heterogéneas, que se caracterizan por eritropoyesis ineficaz, microcitosis con hipocromia y grado variable de hemólisis.

En dos trabajos previos (38,39) habíamos indicado algunos hallazgos en torno a la EH. En otros, hemos señalado el problema de las talasemias en nuestro país (32,33,34,35,36). En el presente reporte, hacemos mención de un niño caucasoide con franca anemia hemolítica en el que demostramos la interesante concurrencia de dos trastornos hemolíticos hereditarios, EH y beta-tal menor.

MATERIAL Y METODOS

Propositus:

Padecimiento actual (22 de octubre de 1981): Paciente masculino de seis años y diez meses de edad, referido de la Unidad Sanitaria por cuadro clínico de aproximadamente cuatro a cinco meses de evolución, caracterizado por palidez marcada, hiporexia, astenia, adinamia, pérdida de peso, mal estado general y masa palpable abdominal. Luego de examen físico y de exámenes de labora-

* Centro de Investigación en Hemoglobinas Anormales y Trastornos Afines, CIHATA, Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios.

torio se ingresa al servicio de Pediatría con los diagnósticos de *Anemia en estudio y esplenomegalia*.

La historia familiar indica lo siguiente: su madre de 25 años, mulata, es de padre negroide ya fallecido. Abuelo paterno de raza negra y abuela paterna caucasoide; ambos fallecidos. Su madre es caucásica y está viva. Los abuelos maternos fallecidos. La madre tiene 4 hermanos de padre y madre. Además del propósitus tiene 3 hijos más, todos naturales y en buen estado de salud. El padre del propósitus es caucásico, esplenectomizado hace varios años, imposible de localizarle, y se refiere que uno de sus 3 hijos legales murió por su mismo problema (bazo grande).

Antecedentes personales no patológicos: Nació en Hospital, pesó 3,2 Kg, no tuvo problemas al nacimiento, producto de segundo embarazo a término. Desarrollo psicomotor normal. Vacunas completas. No ha padecido de enfermedades exantemáticas. No refiere hospitalizaciones anteriores, alergias, ni traumas anteriores.

Examen físico: Peso 17.5 Kgr., estatura 105 cms., temperatura 37.5C°, presión arterial 110/70. Pálido, adelgazado, aspecto de desnutrido de segundo grado, pelo semirrubio. Ojos negros. O.R.L. normal, hidratado. Oídos con pabellón auricular normal, tímpano normal. Sin signos de dificultad ventilatoria. No se palpan adenomegalias, no se palpa bocio. Tórax simétrico, movimientos respiratorios normales, no signos de dificultad ventilatoria, pulmones limpios bien ventilados. Corazón rítmico, no soplos. Abdomen blando, depresible, no doloroso, 3 a 4 cm bajo reborde costal derecho. Existe una esplenomegalia 2 a 3 cm bajo reborde costal izquierdo, no doloroso, liso. No se palpan adenopatías inguinales. Las extremidades, tanto superiores como inferiores, son normales; los genitales son normales. Rayos X de tórax: normal, rayos X de abdomen: imagen en hipocondrio izquierdo sugestiva de esplenomegalia. Por los antecedentes de esplenectomía del padre, por un hermano fallecido de anemia y por el cuadro clínico se hace la impresión diagnóstica de *esferocitosis hereditaria*.

Exámenes de laboratorio: Un hemoglobiograma completo realizado en el CIHATA de la Universidad de Costa Rica, Hospital

San Juan de Dios, permitió el diagnóstico de certeza de EH más Beta-tal menor.

Evolución: Se traslada paciente a cirugía y se programa cirugía el 02 de noviembre de 1981 donde se realiza esplenectomía, hallándose un bazo congestivo grado IV. Un día antes se ponen glóbulos rojos empacados a 10 ml por Kg. El paciente cursa un post operatorio normal y se da salida con citas de control en el octavo día de post operatoria.

El diagnóstico de egreso es esferocitosis hereditaria más beta-tal menor y se realizó esplenectomía.

MÉTODOS

Los métodos de los análisis hematológicos utilizados se hallan consignados en la literatura (11,37), e incluyen Hto, Hb, reticulocitos, morfología eritrocítica y fragilidad osmótica (F.O.). Para estos efectos como para el resto de los análisis, se usó sangre venosa obtenida estérilmente y anticoagulada con EDTA (15,18).

En cuanto a la prueba de la autohemólisis utilizamos una prueba simplificada (37). Las haptoglobinas séricas las medimos de acuerdo con el método de Owen et al. (29) y las bilirrubinas séricas por el método tradicional de la diazo-reacción. Se investigó la G6PD eritrocítica a través de las técnicas del cianuro ascorbato (20) y de la generación de NADPH (5), y las proteínas séricas por electroforesis en acetato de celulosa. El escrutinio electroforético de la Hb se hizo en cintas Titán III (Helena) y tampón de tris-EDTA-borato (40). La HbF se cuantificó de acuerdo con el método de Singer et al. (42) y la Hb A₂ por microcromatografía con DE-52 (12).

RESULTADOS

Al momento del diagnóstico se encontraron los siguientes resultados en el propósitus:

Hto	= 24 ml/dl
Hb	= 7.6 g/dl
CHCM	= 31.8 g/dl
Reticulocitos	= 9.0%
corregidos	= 4.8%
Índice reticulocitario	= 2.4
Plaquetas	= 620.000/ul
Morfología eritrocítica	= anisocitosis (++)

con presencia de macrocitos, macrocitos con basofilia difusa, esferocitos, microesferocitos, microcitos simples, microcitos hipocrómicos, poiquilocitosis (+). algunas células en diana y ocasionales eritrocitos con punteado basófilo.

Patrón electroforético Hb = AA₂ ↑
Hb A₂ = 6.2% (nl = 2.5-3.8%)
HbF = 1.04% (nl = menos de 2.5%)
Haptoglobinas = 6 mg/dl
Electroforesis de proteínas = normal
Pruebas para deficiencia de G-6-PD = normales

Bilirrubinemia total = 2.6 mg/dl
Bilirrubinemia indirecta = 1.8 mg/dl
F.O. = muy aumentada, tipo EH (con un declive inicial pequeño de F.O. disminuida)

Autohemólisis = anormal, tipo EH

FeS = 95,8 ug/dl
CTFFeS = 264 ug/dl
IS = 36%

Médula ósea = celular, con hiperplasia de serie roja de carácter normoblástico (relación G:E, de 1:3). Hemosiderina presente.

Folatos = 16.4 mg/dl
B₁₂ = 775 pg/dl

En la madre el hemoglobinograma señaló los siguientes datos:

Hto = 38 ml/dl
Hb = 11.9 g/dl
CHCM = 31.5 g/dl
F.O. = ligeramente disminuida

Morfología eritrocítica = ligera microcitosis y discreta hipocromia, escasas células en diana y punteado basófilo.

FeS = 161 ug/dl
CTFFeS = 254.2 ug/dl
IS = 38%

Haptoglobinas = 127 mg/dl
Patrón electroforético de la Hb = AA₂ ↑
HbA₂ = 6.10%
HbF = 2.0%

Estos resultados permitieron determinar en la madre la existencia de una beta-tal menor clásica, tipo HbA₂ alta.

DISCUSION

Una extensa revisión de la literatura nos permitió advertir que no existía ningún reporte de EH más beta-tal menor. El caso que reportamos es interesante por cuanto se presentan en el paciente estos dos defectos hereditarios: por un lado, un rasgo autosómico dominante como lo es la EH y, por el otro, una hemoglobinopatía tipo síndrome beta talasémico menor. La gravedad de su anemia debemos interpretarla como producto fundamentalmente de su EH, pero sin dejar de lado la contribución de su cuadro talasémico. Debemos destacar los hallazgos proporcionados por el estudio cuidadoso de la morfología eritrocítica. Llamó la atención el observar anisocitosis marcada y poblaciones eritrocíticas: macrocitos, macrocitos con basofilia difusa, macrocitos ligeramente hipocrómicos, microesferocitos, esferocitos, microcitos normocrómicos y microcitos hipocrómicos, en unión de una ligera poiquilocitosis, células en diana y punteado basófilo. Este cuadro aberrante de la morfología roja fue el primer hallazgo que nos llamó la atención. Luego el resto de los análisis nos permitió comprender el por qué de ese pleomorfismo celular al demostrarse analíticamente la existencia de los trastornos hereditarios: F.O. aumentada, autohemólisis aumentada que corrige con glucosa, esferocitosis periférica, hiperbilirrubinemia indirecta y reticulocitosis, como patrón de EH; y, una pequeña población de eritrocitos con F.O. ligeramente disminuida, HbA₂ de 6.2%, población celular microcítica hipocrómica y patrones de FeS dentro del ámbito de la normosideremia. La línea materna de herencia de la beta-tal se pudo confirmar a través de los hallazgos en cuanto a F.O., niveles de HbA₂ y la morfología eritrocítica. La línea paterna de herencia de la EH se acepta al referirse en la historia realizada —y por testimonio de la progenitoria del propósitus—, que el padre fue operado del bazo y que uno de sus hijos legales falleció a “consecuencia de la enfermedad heredada del padre”. Otro dato que nos llamó la atención fue obtener un CHCM de 31.8% en un paciente poseedor de EH, cuando dicho índice es característicamente alto en la EH (4,13,16,17). Una vez más, la normalidad de la CHCM en este caso particular no es sino el resultado de la

** Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios.

interacción de dos factores: por un lado el defecto de la EH que tiende a dar CHCM alta en vista de la pérdida de membrana (disminución de la razón superficie/volumen), y, de la beta-tal en que hay depresión de síntesis de Hb, hipocromia y por lo tanto baja CHCM. Uno de los padres biológicos en un caso particular de EH debe esperarse que tenga al gene anormal (en ausencia de la rara posibilidad de una nueva mutación) y por supuesto 50 por ciento de sus hijos, como promedio, deberían presentar la anomalía genética (7). En vista de que aproximadamente el 25 por ciento de los casos de EH son esporádicos (46), una penetración incompleta del gene o, menos frecuentemente, una mutación espontánea, son mecanismos que se han esgrimido para explicar las diferencias que se observan tratándose de una enfermedad hereditaria mediada por un gene autosómico dominante (16,31). En vista de la naturaleza tratable de la enfermedad y de su patrón hereditario de dominación autosómica, es muy importante hacer el diagnóstico correcto de un paciente dado, así como a sus familiares en riesgo de haber heredado del gene anormal, a efecto de poder ofrecerle a todos los afectados el tratamiento efectivo, a saber, la esplenectomía. En este sentido, la EH es un ejemplo claro del uso de la genética para practicar la medicina preventiva (7). A pesar de que la mayoría de los pacientes con EH son asintomáticos, la necesidad de ese diagnóstico preciso es evidente cuando observamos la severidad en que pueden presentarse las complicaciones por crisis aplásica y hemolíticas, colelitiasis y enfermedad hemolítica en el recién nacido (14).

Los microesferocitos presentan una reducción de la superficie de la membrana, en comparación con el volumen celular, que se mantiene normal (44). Esto hace a las células susceptibles a su atrapamiento y destrucción (10) o a la lisis osmótica, tal y como se demuestra con las pruebas de F.O. (7,44,46).

A pesar de que se han reportado varias aberraciones de membrana, los informes son controversiales, por lo que la lesión molecular en EH continúa siendo un enigma (1,6,24, 27,43). En todo caso, la alteración de la membrana conduce a una permeabilidad aumentada para los cationes, y, como consecuencia a una hiperactividad de la bomba de

sodio para luchar contra la entrada excesiva de ese catión (19,21,45) y la salida de potasio (23). La glicólisis se encuentra muy aumentada, tanto para asegurar el funcionamiento de esta bomba de cationes como por la población de células jóvenes típicas de la enfermedad y por la utilización incrementada de ATP dada por el bombeo adicional de cationes a través de la membrana (7). Por alguna razón mal conocida, existe una anomalía de estructura o a una hiperactividad metabólica (3,9), siendo la microesferocitosis su consecuencia. Estos lípidos tienden a normalizarse después de la esplenectomía (41), por lo que la anomalía parece ser secundaria al defecto primario (30). Lo mismo se ha señalado para la permeabilidad anormalmente aumentada al sodio (41). Se sabe que prácticamente todo el calcio está en la membrana, y la acumulación de ese catión se relaciona con una deformabilidad disminuida de la célula (47). Una disminución de la relación entre ATP e iones Calcio (ATP/Ca^{++}) provoca una mayor rigidez de la membrana (22,25,48). En EH, hay una menor cantidad de ATP y a acumular iones calcio, por lo que se requieren mayores concentraciones de ATP para mantener la membrana con deformabilidad normal. La depleción de ATP lleva a esferocitosis (28). La evidencia acumulada indica, entonces, que para el mantenimiento normal del eritrocito bicóncavo se requiere una espectrina normal adecuadamente fosforilada y que cualquier cambio en el sistema, que iría desde los niveles de ATP hasta las quinasas de proteína, la espectrina y cualquier otro componente de esta cadena de reacciones, llevará a esferocitosis (7). El cambio de forma de discocito a esferocito hace a las células poco elásticas y no filtrables a través de los capilares esplénicos, que son los tamices más finos del organismo (46). La F.O. aumentada y la autohemólisis incrementada, corregible por glucosa, son la consecuencia de las anomalías de los cambios iónicos y de glucólisis exagerada resultante (3). Otros dos factores que pueden contribuir al secuestro esplénico de las células de la EH son, entre otras cosas, el bajo pH y la baja tensión de oxígeno presentes en la pulpa esplénica (2). Una gran parte de los pacientes con esferocitosis hereditaria desarrolla litiasis biliar si no son esplenectomizados antes de la

pubertad. El retraso en la esplenectomía, puede tener consecuencias significativas (46). Otra amenaza que pesa sobre estos pacientes es el desarrollo de crisis aplásicas que suelen acompañarse de infecciones. Dado que la demanda de folatos está aumentada en este proceso, así como en otros estados hemolíticos, la administración de ácido fólico puede colaborar en disminuir el fallo de la respuesta medular ante una demanda aumentada. La eritropoyesis ineficaz tiene escasas consecuencias en una persona cuyos hematíes tengan una vida media normal de alrededor de 120 días. Si la vida media se reduce a unos 10-20 días o menos, como ocurre con la mayoría de pacientes con esferocitosis hereditaria no esplenectomizados, una disminución marcada de la eritropoyesis, asociada con infección, puede representar un serio problema. En ausencia de infección o de déficit de folatos, la médula ósea suele compensarse suficientemente como para mantener valores del hematocrito por encima del 30 por ciento y, en algunos pacientes, por encima del 40 por ciento. Por otra parte, las características comunes a los desórdenes talasémicos son un desequilibrio en la síntesis de las cadenas polipeptídicas de globina, disminución de la síntesis de la hemoglobina reflejada en un bajo nivel de la HCM y por lo tanto hipocromía, eritrocitosis microcítica, efecto deletéreo sobre las células del exceso de cadenas no unidas al polipéptido cuya síntesis se halla perturbada y herencia de tipo mendeliano simple (13). El desequilibrio en la síntesis de globina es entonces el signo característico de las talasemias, ya que sólo con determinadas excepciones, este rasgo es demostrable en todos los pacientes, sean heterocitotos u homocitotos para un gene talasémico. Quiere decir que la mutación talasémica reduce o del todo suprime la síntesis de una de las cadenas de globina como producto sea de defectos cuantitativos o cualitativos de los RNA mensajeros, o a mutaciones en los genes o a pérdida de ellos. El diagnóstico convencional de los síndromes de beta-tal requiere de la electroforesis de la hemoglobina, la cuantificación de las fracciones menores (por ejemplo hemoglobinas

*** Hospital William Allen, Turrialba, Caja Costarricense de Seguro Social.

A₂ y F) y, si es pertinente, la medición cuantitativa del FeS y la determinación del I.S. Se ha sugerido (26) que la Hb A₂ se halla elevada en la beta-tal heterocigota como resultado de la disminución en la síntesis de cadenas beta que ocasiona un incremento compensatorio en la síntesis de cadenas delta.

BIBLIOGRAFIA

1. Anselestetter, V.: Gel electrophoresis of the Human Erythrocyte Membrane Proteins: Aberrant Patterns in Hematological and Nonhematological Diseases. *Blut*, 36:135, 1978.
2. Bellingham, A.J., Pranker, T.A.J.: Esferocitosis hereditaria. En: *Clínica Hematológica*, Salvat Editores, 3: 44, 1976.
3. Bernard, J., Levy, J.P.: *Manual de Hematología* 2a. Ed. 78-99 pp. Toray-Masson, S.A., 1979.
4. Bessis, M.: *Blood smears reinterpreted*. 96-98 pp. Springer-Verlag, Berlin, 1976.
5. Beutler, E.: *Red cell metabolism. A manual of biochemical methods*. 62-64 pp. Grune & Stratton, N.Y., 1967.
6. Beutler, E., Guinto, E. & Johnson, C.: Human red cell protein kinase in normal subjects and patients with hereditary spherocytosis, sickle cell disease and autoimmune hemolytic anemia. *Blood* 48: 887, 1976.
7. Brewer, G.J.: Inherited erythrocyte metabolic and membrane disorders. In: *Medical Clinics of North America*. 64: 579-596 pp. W. B. Saunders, Co., Pa, 1980.
8. Bunn, H.F.; Forget, B.G.; Ranney, H.M.: "Hemoglobinopathies". Vol. XII, Chapter 2, pp. 28-94, Series Major Problems in Internal Medicine, Ed. W. B. Saunders. Co., Philadelphia, USA, 1977.
9. Cooper, R.A., Jandl, J.H.: Role of membrane lipids in the survival of red cells in hereditary spherocytosis. *J. Clin. Invest.* 48: 736, 1969.
10. Cooper, R.A., Jandl, J.H.: *Erythrocyte disorders-anemias due to increased destruction of erythrocyte with abnormal shape and normal hemoglobin (membrane defects?)*. In: Williams, W. et al.: *Hematology*, 453-458 pp. McGraw Hill. 2nd. Ed., 1977.
11. Dacie, J.V., Lewis, S.M.: *Practical Haematology*, 21-83 y 202-212 pp. Churchill Livingstone, 5th. Ed. 1975.
12. Efremov, D.; Huisman, T.H.J.; Bowman, K.; Wrightstone, R.N.: "Microchromatography of hemoglobins. II. A rapid method for the determination of hemoglobin A₂". *J. Lab. Clin. Med.* 83: 657, 1974.

13. Frslev, A.J., Atwater, J.: Effects of mean corpuscular hemoglobin concentration on viscosity. *J. Lab. Clin. Med.*, 62: 401-504, 1963.
14. Fukagawa, N., Friedman, Gill, F.M., Schwartz, E., & Shaller, C.: Hereditary spherocytosis with normal osmotic fragility after incubation. Is the autohemolysis test really obsolete? *JAMA*, 242: 63, 1979.
15. Gear, A.R.L.: Erythrocyte Osmotic Fragility: Micromethod based on Resistive-Particle Counting. *J. Lab. Clin. Med.*, 90: 914-928, 1977.
16. Harris, J.W. & Kellenmeyer, R.W.: *The Red Cell*, 539-559 pp. Commonwealth Fund-Harvard University Press, 1970.
17. Hillman, R.S., Finch, C.A.: *Manual de Hematología*, 67 pp. Edit. El Manual Moderno, S.A., 1977.
18. Ito, Y., Carmeci, P., Steele, R.: Continuous Flow Method for Determination of Erythrocyte Osmotic Fragility. *Am. J. Hemat.* 2: 402-412, 1977.
19. Jacob, H.S.: Hereditary spherocytosis. A disease of the red cell membrane. *Semin. Haematol.*, 2: 139, 1965.
20. Jacob, H.S. & Jandl, J.H.: A simple visual screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency employing ascorbate and cyanide. *N. Engl. J. Med.*, 274: 1162-1166, 1966.
21. Jacob, H.S.: Dysfunction of the red blood cell membrane in hereditary spherocytosis. *Brit. J. Haematol.*, 14: 99, 1968.
22. Jacob, H.S., Ruby, A., Overland, E.S., Mazia, D.: Abnormal membrane protein of red blood cells in hereditary spherocytosis. *J. Clin. Invest.*, 50: 1800, 1971.
23. Johnsson, R., Santaholma, S. & Saris, N.E.: Calcium transport and adenosine triphosphatase activities of erythrocyte membrane in congenital spherocytosis. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 38: 121, 1978.
24. Kimberling, W.J., Taylor, A.A., Chapman, R.G. & Lubs, H.A.: Linkage and gene localization of hereditary spherocytosis (HS). *Blood*, 52: 859, 1978.
25. LaCelle, P.L. y Weed, R.I.: Low oxygen pressure: A cause of erythrocyte membrane rigidity. *J. Clin. Invest.*, 49: 54, 1970.
26. Lehmann, H.; Hunstman, R.G.: "Man's hemoglobins". Revised edition, XI 478 pp. Publisher North-Holland, Publishing Amsterdam, 1974.
27. Mazo, E., Fernández, J., Zubizarreta, A. & Rocha, E.: Estudio de la composición proteica de la membrana eritrocitaria en esferocitosis hereditaria. *Sangre*, 24: 376, 1979.
28. Nakao, N., Nakao, T., Yamazoe, S.: Adenosine triphosphate and maintenance of shape of the human red cells. *Nature*, 187: 945, 1980.
29. Owen, J.A., Better, F.C., & Hoban, J.: A simple method for the determination of serum haptoglobins. *J. Clin. Pathol.*, 13: 163-164, 1960.
30. Reed, C.F., and Swisher, A.N.: Erythrocyte lipid loss in hereditary spherocytosis. *J. Clin. Invest.*, 45: 777, 1966.
31. Rubins, J., Lawrence, E.Y.: Hereditary spherocytosis and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Double hemolytic jeopardy. *JAMA*, 237: 797, 1977.
32. Sáenz, G.F., Alvarado, M.A., & Arroyo, G.: F(Delta-Beta) Talasemia en Costa Rica. *Acta Méd. Cost.*, 17: 63, 1974.
33. Sáenz, G.F., Monge, B., Arroyo, G. & Alvarado, M.A.: Enfermedad de Cooley (Beta Talasemia Mayor) en Costa Rica. *Sangre*, 21: 117, 1976.
34. Sáenz, G.F., Elizondo, J., Arroyo, G., Montero, G. y Jiménez, J.: Talasemia A₂F en raza negra costarricense. A propósito de un caso. *Acta Méd. Cost.* 20: 373, 1977.
35. Sáenz, G.F., Elizondo, J. y Páez, C.A.: Hallazgo del gene B⁰ talasémico (supresor) en Costa Rica. V. Síndrome de heterocigosis doble S/Beta⁰-Tal. *Sangre* 23: 196, 1978.
36. Sáenz, G.F., Jiménez, E. & Mora, L.: Enfermedad por Hb H en Costa Rica. *Sangre*, 24: 333, 1979.
37. Sáenz, G.F. & Moreira, J.: *Laboratorio Hemoglobinopatías: Manual latinoamericano*. 40-44 pp. Ministerio de Salud, Costa Rica. Dpto. Publicaciones-impresos 1980.
38. Sáenz, G.F., Orlich, J., Chaves, M. et al.: Observaciones sobre una familia con esferocitosis hereditaria y revisión de la literatura. (En prensa- Revista Costarricense de Ciencias Médicas).
39. Sáenz, G.F., Zúñiga, L.G., Brilla, E., Chaves, M., Montero, A.G. & Jiménez, J.: Esferocitosis Hereditaria y Síndrome de Bilis Espesa. (*Acta Méd. Cost.*: en prensa)
40. Schneider, R.G. y Schmidt, R.M.: Electrophoretic screening for abnormal hemoglobin pág. 33. En: Schmidt: R.M.: *Abnormal Haemoglobins and Thalasemia. Diagnosis Aspects*. Nueva York, Academic Press, 1975.
41. Shohet, S.B., Ness, P.M.: Hemolytic Anemias-Failure of the red cell membrane. *Med. Clin. N. Amer.*, 60: 913, 1976.
42. Singer, K., A. I. Chernoff y L. Singer: Studies on abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali denaturation. *Blood* 6: 413, 1951.
43. Valentine, W.N.: The molecular lesion of here

- editary spherocytosis (HS): A continuing enigma. *Blood* 49: 241, 1977.
44. Wiley, J.S.: Red cell survival studies in hereditary spherocytosis. *J. Clin. Invest.* 49: 666, 1970.
45. Wiley, J.S.: Co-ordinated increase of sodium leak and sodium pump in hereditary spherocytosis. *Br. J. Haemat.*, 33: 529, 1972.
46. Young, L.E.: Hereditary spherocytosis In: Weed, R.I. (ed): *Hematology for Internists*. 111-127 pp. Little Brown & Co., 1971.
47. Zail, S.S., Van den Hoek, A.K.: Studies on calcium transport and calcium adenosine triphosphatase activity of erythrocyte membrane in hereditary spherocytosis. *Br. J. Haematol.*, 34: 605, 1976.
48. Zail, S.S.: The erythrocyte membrane abnormality of hereditary spherocytosis. *Brit. J. Haematol.*, 37: 305, 1977.