

Kalıtsal sferositoz

Hereditary spherocytosis

Tiraje Celkan

Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Özet

Kalıtsal sferositoz (KS) oldukça sık rastlanılan bir hemolitik anemidir, etkilenen bireylerde hafif veya orta derece bir hemoliz vardır. Klinik ağırlığı, eksik olan protein ve kalıtımı açısından birbirinden farklı seyir görülebilir. Genellikle aile öyküsü alınır, klinik ve laboratuvar bulguları da tipik olduğu için çoğunlukla ileri tetkike gereksinim duyulmadan tanı konulur. Aile öyküsü alınmayan ve atipik seyreden olgularda eritrosit zar bozukluğunu belirlemek için eritrosit zar proteinlerinin ölçümü gerekebilir. Hafif seyirli KS'de splenektomi ve folat yerine koyma tedavisine gerek olmaz. Orta ve ağır klinik şekillerinde etkilenen bireyler 5-6 yaş sonrasında yapılması önerilen splenektomiden fayda görürler. (*Türk Ped Arş 2009; 44 Özel Sayı: 27-34*)

Anahtar kelimeler: Anemi, herediter sferositoz, tanı, tedavi

Summary

Hereditary spherocytosis (HS) is a relatively common hemolytic anemia; most affected individuals have mild or only moderate haemolysis. It is a heterogeneous group of disorders with regard to clinical severity, protein defects and mode of inheritance. There is usually a family history, and a typical clinical and laboratory picture so that the diagnosis is often easily made without additional laboratory tests. Atypical cases may require measurement of erythrocyte membrane proteins to clarify the nature of the membrane disorder and in the absence of a family history. Mild HS can be managed without folate supplementation and does not require splenectomy. Moderately or severely affected individuals are likely to benefit from splenectomy, which should be performed after the age of 5-6 years. (*Turk Arch Ped 2009; 44 Suppl: 27-34*)

Key words: Anemia, diagnosis, hereditary spherocytosis, treatment

Eritrosit zarı bozukluğuna bağlı hemolitik anemiler, kalıtsal anemiler içinde önemli bir yer tutar. Bunlar içinde kalıtsal sferositoz (KS), kalıtsal eliptositoz ve kalıtsal piropoikilozis en sık görülenlerdir (1-4).

Kalıtsal sferositoz, sferosit şeklinde, ozmotik dirençleri (OD) azalmış eritrositler ile belirgin olan ve genellikle baskın (dominant) kalıtımla geçiş gösteren bir anemidir. Temel bozukluk eritrosit zarında olup hücrelerde yüzey kaybı vardır. Eritrosit zarının lipit katman ile hücre iskeletini oluşturan protein ve glikoproteinlerden oluştuğu, eritrosit şeklinin korunmasının zar iskeletinin yapısını oluşturan proteinlere bağlı olduğu bilinmektedir. Bu iskelet yapısının temel taşlarını oluşturan proteinlerdeki moleküler bozukluklar hemolitik anemi ile sonuçlanmaktadır. Yüzey kaybı ve buna bağlı artmış zar frajilitesi, eritrosit zarında yer alan proteinlerden olan ankrin, spektrin, bant 3 ve protein 4,2'nin yapısındaki bozukluklara bağlıdır. Bu proteinlerdeki eksiklik sonucunda eritrositlerde hacim yüzey ilişkisi bozulur;

başlangıçta esnek olan eritrosit zarı yüzeyden kayıp sonucunda küre halini aldığı gerilmeye dayanıksız hale gelir ve esneme yeteneğini kaybeder (4). Esneyemeyen eritrositlerin dalakta tutularak yıkılması sonucu hemoliz ortaya çıkar; bu nedenle temelde zar bozukluğuna bağlı olan hemolizde dalağın da önemli rolü vardır (1-6).

Kalıtsal sferositoz, ilk olarak yaklaşık 100 yıl kadar önce Vanlair ve Masius adında iki Belçikalı bilim adamı tarafından tanımlanmıştır (1-6). Bundan 20 yıl kadar sonra Wilson ve Minkowski bir ailede üç nesilde sekiz olgu bildirmişlerdir (1). Daha sonra Chauffard tarafından eritrositlerin OD azalmış olduğu gösterilmiştir (7). Bu nedenle hastalık Minkowski-Chauffard hastalığı ismiyle de anılır.

Kalıtsal sferositoz siyah ırkda daha az olmakla beraber bütün ırklarda ve etnik gruplarda görülebilir. Kuzey Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da en sık görülen kronik hemolitik anemi tipidir ve sıklığı yaklaşık olarak 1/5 000 olarak bildirilmiştir ancak

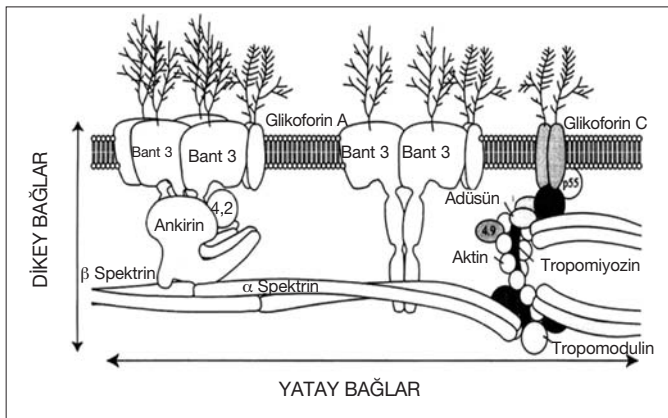
kan vericilerinin incelenmesi sonucunda sessiz olgularda tanı almış ve sıklık 1/2 000'e yükselmiştir (5). Türkiye'de de sık görülmele birlikte kesin sıklığı ve protein bozukluk tipleri hakkında veriler henüz yeterli değildir.

Genetik

Eritrosit zar proteinlerini kodlayan genler ve bunların kromozomal yerleşimleri (8,9) bilinmektedir (Tablo 1). Kalıtsal sferositozdan sorumlu olan genler içinde ANK1, SPTA1, SPTB, AE1, EPB41, EPB42 yer alır (10-14). Olguların yaklaşık %75'inin otozomal baskın geçiş gösterdiği, %25'inin ise sporadik olduğu kabul edilir (1-6). Sporadik olguların da yaklaşık yarısının kendiliğinden yeni mutasyonlar sonucu, diğer yarısının da otozomal çekinik (resesif) geçişe bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (5). Genellikle hastalığı taşıyan aile bireylerinde hemolizin şiddeti çok farklılık göstermez. Aynı aile bireylerinde hastalığın klinik seyri arasında ciddi farklılığın olması genetik bozukluğun farklı "penetrasyonu", de novo mutasyon bozukluğun dokuya özgül mozaisizmini, çekinik geçişin hafif formu birlikte toplumda %12-18 oranında saptanabilecek Gilbert hastalığı veya C282Y olması gibi çeşitli nedenlerle açıklanmaya çalışılmıştır (5,15). Kalıtsal sferositoz tanısı almış hastanın aile bireyleri mutlaka hastalık açısından araştırılmalıdır. Yurtdışında yayınlanmış serilerde hastaların yaklaşık %75'inde aile öyküsünde KS olduğu bildirilmiştir (5). Kalıtsal sferositoz'lu hastalar sıklıkla çocukluk ve genç erişkin döneminde tanı almakla beraber herhangi bir yaşta da tanı konabilir. Yetmiş ve doksan yaşlarında tanı almış olgular bildirilmiştir (5,16).

Tablo 1. Eritrosit zarı proteinlerinin genleri ve kromozomları

Protein	Gen	Kromozomal yerleşim
Alfa spektrin	SPTA1	1q22-q23
Beta spektrin	SPTB	14q23-q24,1
Ankirin	ANK1	8p11,2
Bant 3	AE1	17q21-q22
Protein 4,1	EPB41	1p36,p34
Protein 4,2	EPB42	15q15-q21
Glikoforin C	GYPC	2q14-q21



Şekil 1. Eritrosit zarının yapısı

Patojenez

Eritrositler, lipit tabaka, zar iskelet ağını oluşturan periferik proteinler, lipit tabakaya ve zar yüzeyine dikey uzanan integral zar proteinleri ve az miktarda karbonhidrattan oluşmuş bir hücre zarı ile çevrilidir. Zarın dış yüzeyi kolesterol, serbest yağ asitleri, fosfolipit ve glikolipitlerden oluşan bir lipit tabaka ile kaplıdır. Bu lipit tabakanın hemen altında sitoplazmik yüzeyde zar iskeleti adı verilen, alfa ve beta spektrin, ankirin, aktin, protein 4,1 gibi yapısal proteinlerden oluşan bir protein bileşimi yer alır ve bunlara çevresel proteinler denir. Zarda iskelet proteinleri ile lipit tabaka ve "transmembran" proteinleri arasındaki bağlantılar zarın dengesini sağlar. Bu bağlantılar dikey ve yatay olarak iki tiptir. Dikey bağlar zar iskeleti ve lipit tabaka arasında yer alırken yatay bağlar bant 3, ankirin, spektrin ve protein 4,2 arasındadır. Bunlar içinde en önemlileri alfa ve beta spektrin, beta spektrin ve protein 4,1, protein 4,1 ve aktin (14) arasındakilerdir (Şekil 1).

Yatay bağlardaki bozukluk kalıtsal eliptositoz veya kalıtsal piropoikilosis, dikey bağlardaki bozuklukların da KS'ye neden olduğu bilinmektedir (17-19).

Eritrosit zarı protein bozuklukları

1- Spektrin: Spektrin eritrosit zarının yapısındaki temel bileşendir. Farklı genler tarafından kodlanan alfa ve beta spektrin olmak üzere iki alt tipi vardır. Spektrinin görevi hücrenin şeklini korumak, bütünleyici zar proteinlerinin yan hareketliliğini sağlamak ve lipit tabaka için yapısal destek sağlamaktır. Eksikliği hem baskın hem çekinik şekillerde görülebilir. İnsanlarda alfa spektrin yapımı beta spektrin yapımından üç-dört kat daha fazladır. Zar iskeletinin biyosentezinde zincir üretim hızını belirleyen beta spektrindir. Heterozigot alfa spektrin bozukluğunda bile beta spektrin zincirleriyle eşleşecek yeterli alfa zincirler bulunmaktadır. Bu nedenle kalıtsal sferositozda spektrin bozukluklarının çoğunluğu beta spektrin geninde bulunmaktadır. Alfa spektrin eksikliği olan hastalar ancak homozigot olduklarında bulgu verirler. Beta spektrin zincir yapımında bozukluk olduğunda baskın geçiş olduğu düşünülür (20-21).

2- Ankirin: Ankirin bant 3 ile bağlanarak zar iskeletinin lipit tabakaya tutunmasını sağlar. Genetik çalışmalar çok sayıda ankirin geninde (ANK1) de novo mutasyon olduğunu ve ankirin eksikliğinin baskın geçiş gösterdiğini ortaya koymuştur (3).

3- Bant 3: Bant 3, ankirin, protein 4,1 ve protein 4,2 aracılığı ile zar iskeletine bağlanan ana bütünleyici proteindir. Hücrenin su ve anyon taşınmasından sorumludur. Amerika ve Avrupa'daki KS'li hastaların %20' sinde bant 3 eksikliği tespit edilmiştir. Japonya'da çok daha sık olduğu düşünülmektedir (22). Bu eksikliği taşıyan hastaların periferik yaymasında mantar şeklinde eritrositler görülür (23).

4- Protein 4,2: Bazı KS'li hastalarda tek başına protein 4,2 eksikliği bulunmakla birlikte sıklıkla ankirin veya bant 3 eksikliği ile birlikte bulunur. Tek başına eksikliği çekinik geçiş gösterir. Hafif bir klinik tablo oluşturur ve hastaların periferik yaymalarında az sayıda sferositin yanısıra ovalosit ve stomatositler de görülebilir.

Kalıtsal sferositozun fizyopatolojisinde dalak çok önemli bir yer tutar. Hemolizin temel nedeni bozulmuş yüzey-hacim oranı ve artmış hücre dehidratasyonudur. Sferositlerin potasyum ve su içeriği azalmış, eritrosit içine pasif sodyum geçişi artmıştır. Artmış sodyum geçişi Na-K-ATPaz ile katyon pompasını aktive ederek ATP döngüsünü ve glikolizi artırır. Dalağı çıkarılmış hastaların sferositlerinin daha az dehidrate olması sferositlerin dalaktan geçerken de su kaybettiklerini düşündürmektedir (24).

Eritrositler çok dar kapilerlere uyum sağlamalarına yarayan şekil değiştirme yeteneklerini kaybettikleri için dalak sinüzoidlerinde, mikrodolaşımda parçalanarak yok edilirler. Ayrıca dalak mikrodolaşımdaki düşük pH, düşük glikoz ve ATP düzeyi ile artmış toksik serbest köklerin de sferositlerin fagositozunu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (24,25).

Klinik

Hastalığın tipik bulguları doğumdan ileri yaşlara kadar herhangi bir dönemde ortaya çıkabilir. Klinik bulgular bulgu vermeyen taşıyıcılıktan ağır hemolize kadar değişebilir. Çocukluk çağında en sık (%50) görülen bulgu anemidir, bunu dalak büyüklüğü ve sarılık takip eder (Tablo 2). Ailede %75 oranında benzer yakınmalar vardır (1-5). Bu nedenle ailede anemi, sarılık, safra kesesinde taş varlığı ve dalak büyüklüğü öyküsü mutlaka sorgulanmalıdır. Hastaların hemen hemen 3/4'ünde tam olmayan kompanse hemolize bağlı hafif veya orta şiddette anemi mevcuttur. Anemi genellikle hafif yorgunluk ve solukluk dışında bulgu vermez. Küçük çocuklarda iritabilite gibi özgül olmayan bulgu da verebilir. Yenidoğan döneminde kan değişimi gerektirecek derecede ağır hemoliz ve hiperbilirubinemi olabilir (26-29).

Tablo 2. KS'nin klinik bulguları

1. Anemi
2. Sarılık
3. Dalak Büyüklüğü

Hastalık genellikle aralıklı bulgu verir, hafif veya orta derecedeki enfeksiyonlardan sonra retiküloendotelial sistemin uyarılmasıyla hemoliz ve buna bağlı olarak da sarılık gelişir. Akolürik olan sarılıkta, direkt hiperbilirubinemi mevcuttur. Dalak büyüklüğü daha çok büyük çocuklar ve erişkinlerde olmak üzere %75-95 oranında vardır. Dalak 2-6 cm büyüme gösterir, nadiren çok büyük dalak görülür. Dalak büyüklüğü ile hastalığın şiddeti arasında bir bağlantı tespit edilmemiştir. (1-6,30).

Hastaların Hb, bilirubin ve retikülosit değerlerine göre KS hafif, orta, ağır, çok ağır (1-6) olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 3). Bu sınıflandırma eritrosit zarındaki spektrin düzeyi ile bağlantılıdır. Daha ağır hastalarda daha düşük spektrin düzeyi vardır (2,30).

Hastaların %20-30'unda eritrosit yapım ve yıkımı dengede, Hb değerleri normaldir, buna "kompanse" hemoliz denir (1-6). Bu kişiler bulgusuzdur. Eritrosit ömrü normalden kısa olsa bile artmış eritropoez nedeniyle Hb değeri normal sınırdadır, tanı almaları zordur. Retikülosit değerleri %6'dan düşüktür, periferik yaymada sferositler eritrositlerin %60'ında görülür. Ancak araya giren enfeksiyöz mononükleoz gibi viral enfeksiyonlar ile veya gebelik gibi durumlarda hemoliz artar, dalak büyüklüğü gelişir (31). Bazen de olgular aile içinden diğer bir bireye tanı konulduktan sonra tarama sırasında saptanır.

Hasta yenidoğanlarda en sık bulgulardan biri anemi olup doğumda %43'ünün Hb değeri 15 gr/dl'nin altındadır (26,27). Anemik olanların 2/3'ünde transfüzyon gerekir. Erken dönemde yenidoğanlarda ağır anemi nadirdir. Genellikle doğumdan sonraki üçüncü haftada Hb düşmeye başlar ve bu düşüş >3g/dL düzeyindedir (5). Sarılık genellikle ilk 2 günde gelişir. Fototerapi, kan transfüzyonu, kan değişimi gereksinimi olabilir. Bu dönemdeki aneminin ağırlığı ile hastanın daha ileri yaşlarındaki hastalığının ağırlığı arasında bir ilişki yoktur. Çok ağır olgularda ilk bir yaşta sık transfüzyon gerekebilir. Bant 3 veya spektrin eksikliğine bağlı olarak intrauterin transfüzyon ihtiyacı olan ağır hidrops fetalisli olgular da bildirilmiştir (5,28). Yenidoğanlarda hastalığın ağır seyretmesinin bir nedeni bu dönemde Hb F'nin yüksek olmasıdır. Diğer bir neden ise bu dönemde kan eritropoetin düzeyinin yeterli olsa bile hücre

Tablo 3. Kalıtsal sferositozda sınıflama

	Taşıyıcı	Hafif	Orta	Ağır	Çok ağır
Oran (%)	???	20-30	60-70	10	3-5
Hb g/dL	N	11-15	8-12	6-8	<6
Retikülosit %	<3	3,1-6	>6	6-10	>10
Bilirubin mg/dL	<1	1-2	>2	2-3	>3
Spektrin %	100	80-100	50-80		40-60
Ozmotik Kırılganlık Taze	N	N- Hafif ↑			
Enküstasyonlu	Hafif ↑	Belirgin ↑	Belirgin ↑	Belirgin ↑	Belirgin ↑
Otohemoliz (%)					
Glükozsuz	>60	>60	0-80	50	50
Glükozlu	<10	>10	>10	>10	>10
Dalağın Çıkarılması	gereksiz	Genellikle gereksiz	Ergenlik öncesi	>5 yaş	3-5 yaş!!
Bulgu	yok	yok	Soluk, Aplastik Kriz Dalak Büyüklüğü, Safrakesesi Taşı	Soluk, Aplastik Kriz Dalak Büyüklüğü, Safrakesesi Taşı	Soluk, Aplastik Kriz Dalak Büyüklüğü, Safrakesesi Taşı

düzeyinde yeterli yanıt oluşturamadığı, bu nedenle eritropoetin tedavisinin yararlı olabileceği düşünülmektedir (32,33). Eritropoetin tedavisinin yaşamın ilk bir yılındaki transfüzyon ihtiyacını azalttığı gösterilmiştir.

Yenidoğan döneminde transfüzyon ihtiyacına göre KS hastaları

- a) Hiç transfüzyon gereksinimi olmayanlar (%24)
- b) Genellikle ilk iki ayda transfüzyon alan, daha sonra hiç transfüzyon almayanlar (%34)
- c) 4-9 aylık döneme dek tekrarlayan transfüzyon ihtiyacı olanlar (%24)
- d) Dalak çıkarılana dek transfüzyon gereksinimi olanlar (%18) olarak dört grupta toplanabilir (26). Genel olarak yenidoğan dönemi sonrasında hastaların %20'sine transfüzyon gerekmektedir.

Çekinik KS'li hastaların ebeveynleri klinik olarak bulgu vermez, anemi, dalak büyüklüğü, hiperbilirübinemi ve periferik yaymada sferosit yoktur. Yüzde 2 civarında retikülosit, hafif azalmış haptoglobulin ve hafif artmış ozmotik kırılabilirlik saptanabilir. Enkübyasyonlu ozmotik kırılabilirlik testi taşıyıcılar için en duyarlı test olarak kabul edilmektedir. Dünya nüfusunun %1,4'ünün taşıyıcı olduğu düşünülmektedir (1-6).

Ankrin proteininin geninin bulunduğu 8. kromozom'da oluşan mutasyonlarda hem klinik olarak KS, hemde psikomotor gerilik birlikte olabilir.

Kalıtsal sferositoz'lu hastaların çoğunda değişik oranlarda dalak büyüklüğü bulunur. Dalak büyüklüğü süt çocuklarının %50'sinde, büyük çocukların ve erişkinlerin %75-95'inde vardır (5). Dalak büyüklüğü kot altı 2-6 cm arasındadır ama altı cm'den çok büyük dalak da gelişebilir (5,34). Klinik önemi yoktur. Dalak büyüklüğü ile dalağın çıkarılması arasında bir ilişki yoktur ve bu hastalarda dalak yırtılması sıklığının normal toplumdaki biraz daha sık olduğu görülmüştür (5).

Komplikasyonlar

1. Hemolitik, aplastik ve megaloblastik krizler

Hemolitik krizler genellikle çocukluk çağında, viral enfeksiyonlar sonrasında gelişir. Sarılık ve dalak büyüklüğünde artış, retikülositoz ve Hb'de düşüş olur. Genellikle çok ağır değildir, transfüzyona ihtiyaç duyulmaz (35).

Viral enfeksiyonların kemik iliğini baskılaması sonucu gelişen aplastik krizler nadir olmakla beraber çok ağır anemiye ve ciddi komplikasyonlara neden olabilir. En sık görülen etken eritema enfeksiyozum etkeni olan parvovirüs B19'dur. Virüs seçici olarak eritropoetik öncü hücreleri enfekte ederek büyümelemini baskılar (35,36). Orta düzeyde nötropeni, trombositopeni, bazen pansitopeni gelişebilir, hematokrit (Hct) ve retikülosit düzeyinde belirgin düşüş olur. Kemik iliğinde eritroblastlar kaybolur ve serumda demir birikimi gözlenir. Kemik iliğinde parvovirüs B19'un sitopatik etkisini gösteren dev pronormoblastlar ortaya çıkar (Lantern hücreleri). Mikrosferositlerin oranında ve ozmotik frajilitede artış görülür. Aplastik kriz genellikle 10-14 gün sürer (5,35-37). Genel olarak yaşam süresince bir kez aplastik

kriz olması beklenir, çünkü Parvovirüs koruyuculuğunun enfeksiyon sonrası gelişmesi beklenir. Aplastik kriz başlangıcında ilk bulgu kemik iliğinden eritroblast kaybına bağlı serum demir düzeyinin artması ve yıkılan hücre azaldığı için bilirubin düzeyinin düşmesidir. Bu olgularda tedavide damardan immünglobülin (IVIG) verilmesi pek gerekli olmaz.

Megaloblastik krizler folat ihtiyacının arttığı, çok çalışan kemik iliğinin folik asit gereksiniminin yeterince karşılanmadığı durumlarda ortaya çıkar. Gebelerde, büyüme çağındaki çocuklarda ve aplastik krizden çıkan hastalarda görülür. Folat desteği ile kolayca önlenir (1-6,38).

2. Safra kesesi taşı

Kronik hemoliz sonucu gelişir. Kalıtsal sferositozda en sık görülen komplikasyondur. Taşlar süt çocuklarında bile görülebilmekle birlikte, genel olarak taş gelişimi üç yaşından büyük çocuklarda oluşmaya başlar, özellikle on yaşından sonra ve erişkinlerde sorun yaratır (5,39). On yaş altında %5, 10-20 yaşta %40-50 oranında saptanır. Birlikte Gilbert hastalığı varsa taş oluşma riski 4-5 kat katlanır. Hastalar bulgusuz olabilecekleri için ultrasonografi kontrolleri ile takipleri önerilir (1-6). Safra taşları %50 oranında radyopaktır ve ultrasonografik olarak %96 olguda tanı konulabilir. Safra kesesi taşı görülme sıklığı %21 ile %63 gibi çok farklı oranlarda bildirilmiştir (5,40). İtalya'da 468 çocuk hastanın 79'unda (%17) safra kesesi taşı tespit edilmiş ve bunların yarısı 11 yaş öncesinde tanı almıştır (41). Taş saptanan olguların sadece %15-20'sinde sorun gelişmektedir. Nitekim çocukluk çağında rastlantısal olarak saptanan taşların en önemli nedeni henüz tanı konulmamış KS'dir (1-6).

3. Büyüme gelişme geriliği, bacak ülserleri ve medülla dışı hemopoeze bağlı olarak gelişen özellikle toraks ve lomber bölgede kitlelere rastlanabilir. Genellikle yanlış tanı alan bu kitleler splenektomiden sonra da saptanır, yağlanma gelişir veya büyümesi durur ama küçülme olmaz.

4. Kronik kemik iliği uyansına bağlı olarak KS'li hastalarda multipl myelom ve lösemilerin daha fazla gelişebileceğini savunan hematologlar vardır (5).

Laboratuvar

Hastalığın belirgin bulgusu periferik yaymada sferositlerin görülmesidir fakat %20-25'inde yayma tamamen normal de olabilir. Anizositoz ve poikilositoz görülebilir. Nadiren sferostomatositler de bulunabilir. Özgün olarak beta spektrin eksikliğinde sferositik akantositler, bant 3 eksikliğinde mantar şekilli eritrositler görülür. Çocukların birçoğunda anemi "kompanse" durumdadır, Hb 9-12 gr/dl'dir. Eritroblastopenik krizlerde Hb değeri 2-3 gr/dl'ye kadar düşebilir. Retikülosit sayısı %3-15 arasındadır. Ortalama eritrosit hacmi (MCV) normaldir fakat çok ağır olgularda hafif düşük olabilir. Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) hücre içi dehidratasyona bağlı olarak hastaların yaklaşık %50'sinde yüksektir (%35-38 arası). Coombs testi negatiftir. Kemik iliği incelemesinde normoblastik hiperplazi ve demir artışı görülür (13) (Tablo 4).

Normal eritrositler diskoid bir şekle sahiptir ve yüzeyleri geniştir. Sferositlerde ise yüzey hacim oranı azalmıştır. Ozmotik direnç testi bu şekil bozukluğuna dayanır (Şekil 2). Eritrositlerde ozmotik direncin azaldığı, ya da tam karşıtı; ozmotik kırılabilirliğin arttığı şeklinde ifade edilir. Test, eritrositlerin giderek yoğunluk

yüzdesi azaltılan hipotonik tuzlu su ortamında tutulması ve her yoğunlukta hemoliz oranının belirlenmesi şeklindedir. Normal eritrositler buna şişerek yanıt verebilirken sferositler azalmış yüzey-hacim oranından dolayı erken dönemde, yüksek tuz yoğunluğunda parçalanırlar. Hastaların %10-20'sinde taze kanda test normal bulunabilir (42). Eritrositler 24 saat süreyle 37 derecede bekletildiklerinde (enkübasyonlu ozmotik direnç testi) zar daha geçirgen ve dengesiz hale gelir, yüzeyini daha kolay kaybeder. Böylece sferositler hemolize uğrar. Bu nedenle enkübasyonlu OD testi tanıda bilinen bir test olmuştur ama duyarlılığı zayıftır (42). Sferositi olan otoimmün hemolitik anemi (OIHA), yanıklar ve clostridium Welchi gibi enfeksiyonlarda da test HS'deki gibi bulgu verir. Ozmotik direnç testinin normal olması tanıyı dışlamaz. Akut hemolizlerde, yeni transfüzyon yapılmış hastalarda, az sayıda sferositi olanlarda güvenilir değildir (5). Demir, B12 vitamini ve folik asit eksikliğinde, tıkaçıcı sarılık varlığında ve retikülosit sayısının yüksek olduğu aplastik krizden çıkış döneminde test normal bulunabilir (5). Dalağı çıkarılmayan hastalarda dalakta sferositlerin hücresel dehidratasyona uğramasının da OD testinin normal bulunmasına neden olabileceği düşünülmüştür (42). Kalıtsal eliptositoz ve hemoliz varlığında test pozitif olabilmektedir. Yapılabilen bir diğer test de eritrosit zar proteinlerinin nitelik ve nicelik olarak gösterilmesidir. Otohemoliz testi, hipertonic kriyohemoliz testi, asidifiye gliserol testi, ozmotik gradient ektasitometri ve eozin 5-maleinimide (EMA) bağlama testi sık kullanılan diğer testlerdir (5,42).

Kalıtsal sferositoz, kalıtsal eliptositoz ve kalıtsal piropoikilositozda eritrosit zar proteinlerindeki sıra dışı sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yöntemleri ile incelenebilmektedir (5,43). Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi KS'de eritrosit zar protein eksikliğinin belirlenmesinde ve kalıtsal eliptositozda spektrin varyantlarının tespit edilmesinde şu anda halen kaynak laboratuvar yöntemi olarak kabul edilmektedir. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi, jelde elde edilen bantların dansitometrik eğrilerinin çizdirilmesi ve böylece zar proteinlerinin miktarının ölçülmesi esasına dayanır. Sodyum dodesil sülfat (SDS) anyonik bir deterjan olup zar proteinlerini lipit tabakada ayırtmak amacıyla kullanılır, SDS, su sever özellik gösterip zar proteinlerinin eritilmesinde oldukça etkili bir deterjandır. Sodyum dodesil sülfat, proteinlerin yapısını değiştirmeden molekülü sararak dış yüzeyi (-) yükü kaplar. Böylece poliakril-

amid jel elektroforeziyle zar proteinleri anoda doğru göç ederek moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırılırlar. Bölümümüzde yapılan bir çalışmada KS tanısı almış olan hastaların ve onların klinik bulgu olmasa bile KS'nin laboratuvar bulguları mevcut olan aile bireylerinin eritrosit zar protein eksikliklerini SDS-PAGE yöntemi ile araştırıldı. Çalışmada 27 farklı aileden 50 olgu değerlendirildi. Elli hastanın 21'inde (%42) protein eksikliği tespit edilebildi. Hastalarımızda en sık görülen protein eksikliği tek başına ve diğerleriyle birlikte olmak üzere spektrin eksikliği olarak bulundu. Hastalarımızın %22'sinde (11/50) tek başına spektrin eksikliği vardı (44). Çeşitli ülkelerden yapılmış olan çalışmalarda protein eksikliği tespit edilme oranları oldukça farklılık göstermektedir. İtalya'dan %93, Brezilya'da %70, Fransa'da %45 olguda protein eksikliği bildirilmiştir (45-47). Klinik ve diğer laboratuvar tetkikleri ile KS tanısı almış olan hastaların bir kısmında herhangi bir eritrosit zar bozukluğunun ortaya konamaması şu anda mevcut olan tekniklerin yetersiz olmasından da kaynaklanabilir. Çok hafif eksikliklerin SDS-PAGE yöntemi ile henüz tespit edilemediği, çok hafif bozukluklar için daha karmaşık biyokimyasal analiz yöntemlerine ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir (5).

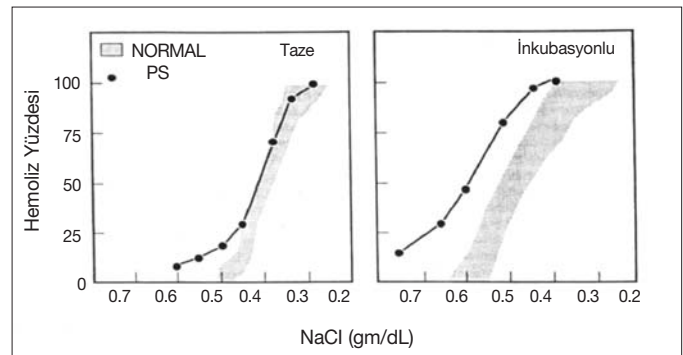
Kalıtsal sferositozda tanıda laboratuvar değişkenleri Tablo 5'de özetlenmiştir (3):

Ayrıcı tanı

Yeni doğan döneminde hastalığın ABO uyumsuzluğu ve Coombs negatif hemolitik anemiler ile ayrıcı tanısı güç olabilir. Ayrıca çok hafif kalıtsal sferositozlarda veya transfüzyona bağımlı sferositozlarda, ilk kez aplastik krizle başvuran hastalarda da tanı güçlüğü çekilebilir. Aplaziye rağmen dalak büyüklüğünün bulunması ve sferositlerin görülmesi sferositozu akla getirmelidir. Klostridial sepsis, transfüzyon tepkimesi, ağır yanıklar, yılan, örümcek, arı gibi hayvan ısırıklarında gelişen tepkimelerde sferositik hemolitik anemi gelişebilir Tıkaçıcı sarılıklar, vitamin B₁₂, folat eksikliği, demir eksikliği, β talasemi taşıyıcılığı ve hemoglobin SC hastalığında eritrositlerin yüzey-hacim oranı arttığı için sferositoz ile ayrıcı tanı gerekir (5). En sık olarak OIHA, konjenital dizeitropoietik anemi (KDA) tip 2 ve kalıtsal stomasferositozla karışır. Kalıtsal sferositozlarda direkt coombs negatif olması ile OIHA'dan, kemik iliğinde belirgin bulguların olmaması ile KDA tip 2'den ve yaymada stomatositlerin gözükmesi ile kalıtsal stomasferositozdan ayrıt edilmelidir.

Tablo 4. Kalıtsal sferositozda tanıda laboratuvar

Eritrosit özellikleri:	Hb düşük
	MCV düşük
	MCHC yüksek
	Sferosit artmış
	RDW yüksek
	Retikülosit yüksek
Periferik yayma:	Anormal morfoloji- sferosit varlığı
Hemoliz bulgusu:	Endirekt bilirübin artışı
	Retikülositoz
	Bozuk ozmotik direnç



Şekil 2. Ozmotik direnç eğrisi (taze ve bekletilmiş kan)

Tedavi

Hastalığın tedavisi dalağın çıkarılmasıdır (1-6). Dalağın çıkarılması esas hastalığı yok etmemekle birlikte aneminin ve komplikasyonlarının gelişmesine engel olur (Tablo 5). Dalak çıkarılmadan önce öncesinde bütün çocuklara pnömokok, meningokok, hemofilus influenza B aşılarnın yapılması ve operasyon sonrasında hastaların penisilin profilaksisine alınması önerilir (48). Kalıtsal sferositoz tanılı hastalarda dalağın çıkarılmasının hemolizi azalttığı, eritrosit ömründe belirgin uzamaya neden olarak anemiye de azalttığı bilinmektedir (5,49). Böylece dalağın çıkarılması sonrası sarılık, anemi ve retikülositoz hızla kaybolur; eritrosit morfolojisindeki değişiklikler ve OF testinin bozukluğu ise devam eder. Nadiren dalağın çıkarılmasına rağmen hastalık kontrol altına alınamaz. Bu gibi durumlarda aksesuar dalak varlığı, piruvat kinaz eksikliği gibi eşlik eden bir başka eritrosit patolojisi akla gelmelidir. Dalağın çıkarılması ile düzelmeyen hastaların %15-40'ında aksesuar dalak tespit edilmiştir. Ağır blastopenik krizlerde eritrosit transfüzyonu yapılabilir. Dalağın çıkarılması sonrası özellikle küçük çocuklarda sepsis riski yüksektir. Bu riski azaltmak amacıyla dalağın çıkarılmasının aşı ve antibiyotik profilaksisi uygulayarak 5-6 yaş sonrasında yapılması ancak 10-12 yaşından sonraya da bırakılmaması gerektiği gösterilmiştir (5,48). Çok ağır olgularda dalağın çıkarılma yaşı üç yaşa çekilebilir.

Dalağın çıkarılması sonrasında erken dönemde yerel enfeksiyon, kanama ve pankreatit gelişebilir. Uzun izlemede ise en önemli komplikasyon kapsüllü bakterilerle gelişen enfeksiyonlardır.

Dalağın çıkarılmasında son yıllarda değişik yaklaşımlar gelişmektedir (5). Kısmi dalağın çıkarılması, dalak işlevlerinin devamını sağlayacak ancak hemolizi en düşük düzeyde tutacak şekilde belli bir miktarda dalağın yerinde bırakılması esasına dayanır. Laparoskopik dalağın çıkarılması ise ameliyat sonrası hastanede kalış ve maliyetin çok azaldığı, ameliyat sonrası skarın küçük yara iyleşmesinin hızlı olduğu bir dalağın çıkarılması yöntemidir (50).

Dalak ve safra kesesinin çıkarılması yerine, dalağın çıkarılması ve sadece taşların çıkarılmasını öneren cerrahlar da vardır. Bu cerrahlar safra kesesi çıkarılan olgularda kolon karsinomunun daha sık olduğunu vurgulamaktadırlar (50).

Tablo 5. Transfüzyon ve dalağın çıkarılma gerekçeleri

Transfüzyon gereksinimi
1. Ağır anemi; Hb <8 g/dL
2. Aplastik kriz
3. Hipersplenizm
4. Yetersiz gelişme ve büyüme
5. Kronik yorgunluk
Dalağın çıkarılma gerekçeleri
1. Ağır anemi; Hb <8 g/dL
2. Yetersiz gelişme ve büyüme
3. Kronik yorgunluk
4. Medülle dışı hemopoez
5. Retikülosit >10
6. Yaş >5

Dalağın çıkarılması sonrasında ilk günlerden itibaren, normalde dalakta biriken trombositlerin periferik kana dökülmesi ve hipersplenizme ikincil olarak gelişen kemik iliğinde megakaryositer serinin artması sonucunda saptanan trombositoz çoğunlukla geçicidir. Trombosit sayısı >800 000-1 milyon/mm³ olduğunda genellikle asetil salisilik asit tedavide kullanılır. Dalağın çıkarılması sonrasında trombositoya bağlı tromboz sadece miyeloproliferatif hastalık, β talasemi intermedia ve stomatositoza dalağı ikincil çıkarılan olgularda saptanmıştır.

Son yıllarda KS'de dalağın çıkarılması sorgulanmaya başlanmıştır. Dalağı çıkarılan hastalarda daha sık kardiyovasküler hastalıklar, tromboz ve pulmoner hipertansiyon saptanması buna neden olmaktadır (50).

Ayrıca hastalara megaloblastik krizleri önlemek amacıyla koruyucu olarak günlük 1 mg folik asit önerilir (5). Hafif olgularda yerine koyma tedavisinin gerekliliği tartışmalı iken, ağır ve orta gidışli olgularda beş yaş altında 1-5 mg/gün ve beş yaş üzerinde 5 mg/gün önerilmektedir.

İzlem

Eğer klinik olarak şikayet yoksa, orta ve hafif olgularda yılda bir kez kontrol yeterlidir. Bu olgularda gelişim ve büyüme yeterli ise dalak büyüklüğünde değişim yoksa ve egzersiz toleransı saptanmıyorsa kan sayımı bile alınmayabilir.

Olgulara aplastik kriz açısından bilgi verilmeli ve ilk tanı sırasında parvovirüs serolojisi (IgG +/-) bakılmalı ve pozitif olana dek yılda bir kez araştırılmalıdır.

Folik asit yerine koyma tedavisi almayan olgularda yılda bir kez folik asit düzeyi mutlaka bakılmalıdır. Genel olarak beş yaş üzerindeki olgularda, klinik yakınma olmasa da 3-5 yılda bir karın ultrasonografisi önerilmektedir. Yıllık olarak demir durumu incelenmelidir, çünkü kronik hemolizde bağırsaktan demir emilimi artar ve birlikte toplumda taşıyıcılığı sık olan hemakromatoz hastalığı da varsa buna bağlı demir birikimi olabilir (5).

Taş saptanmayan olgularda, safra kesesinin çıkarılması konusu netlik kazanmamıştır. Çoğu hekim taş olmayan ağır olgularda sadece dalağın çıkarılmasının yeterli olacağını, koruyucu olarak safra kesesinin çıkarılmasının gereksiz olduğunu düşünmektedir. Çünkü dalağın çıkarılması sonrasında şimdiye dek yeni taş gelişen olgu yoktur. Hafif ve orta kliniği olup taş gelişen olgularda ise safra kesesinin çıkarılması, dalağın çıkarılması ile beraber yapılması gereklidir. Diğer tartışmalı konulardan biri ise sarılık olup, taş saptanmayan ve "kompanse" durumda anemisi olan olgulardır, bu olgularda da ileri yaşlarda taş oluşacağı düşünüülerek safra kesesi ve dalağın beraber çıkarılması önerilir.

Yenidoğan döneminde tanı alan olgularda en önemli dönem fizyolojik anemi ile çakıştığı ikinci aya rastlar. Yenidoğan döneminde sarılık ve anemi olan KS olgularında ilk altı ay ayda bir Hb ve retikülosit bakılmalıdır. Hafif ve orta olgularda altı aydan sonra 6-8 haftada, iki yaşından sonra 3-4 ayda, 2-5 yaşında 6-12 ayda ve beş yaş üzerinde yılda bir kez Hb, retikülosit ve bilirubin bakılması önerilmektedir (5).

Dalağın çıkarılması öncesinde bütün çocuklara yapılan pnömokok, meningokok, hemofilus influenza B aşılarnın rapellerinin yapılma gerekçesi ve zamanlaması konusunda ve yine operasyon sonrasında hastaların ne süre ile

antibiyotik koruması alması konusunda bir netlik yoktur (48). Genel olarak dalağın çıkarılması sonrası sepsis gelişimi en fazla ilk yıllarda saptandığından antibiyotik profilaksisini ilk 2-3 yıl önerenler çoğunluktadır. Ancak giderek artan penisilin dirençli pnömokokların varlığı ve yaşla sepsis riskinin azalmadığını öne sürerek yaşam boyu antibiyotik koruması öneren yazarlar da vardır. Antibiyotik kullanılması ve aşı yapılmasına rağmen sepsis gelişen olgular vardır. Pnömomok menenjit ve sepsis sıklığının dalağın çıkarılmasında 284 kat, genel sepsis sıklığının ise 60-100 kat fazla olduğu bilinmektedir. Dalağı çıkarılmış kalıtsal sferositozlu çocuk ve süt çocuklarını kapsayan 850 kişilik bir grupta sepsis 30 hastada (%3,5) saptanmış, bunların 19'u (%2,2) si kaybedilmiştir (51).

Kaynaklar

1. Becker PS, Luk SE. Disorders of the red cell membrane. In: Hematology of Infancy and Childhood, edited by Nathan D, Oski F (eds). Philadelphia: WB Saunders, 1993: 529-605.
2. Gallagher PG, Forget BG. Hereditary spherocytosis, elliptocytosis, and related disorders. In: Williams Hematology, Beutler, E. (ed). Sixth ed McGraw-Hill, 2001: 503-18.
3. Perrotta S, Gallanger PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis. Lancet 2008; 372: 1411-26.
4. An X, Mohandas N. Disorders of red cell membrane. Br J Haematol 2004; 126: 455-74.
5. Bolton-Maggs PHB, Stevens RF, Dodd NJ, et al. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. Br J Haematol 2008;141: 367-75.
6. Tse WT, Lux SE. Red blood cell membrane disorders. Br J Haematol 1999; 104:2.
7. Dacie J. The life span of the red blood cell and circumstances of its premature death. In: Blood, Pure and Eloquent, M Wintrobe: New York (ed). McGraw-Hill: 1980: 211.
8. Palek J, Jarolim P. Clinical expression and laboratory detection of red blood cell membrane protein mutation. Seminars in Hematology 1993; 30: 249-83.
9. Stenson PD, Ball EV, Mort M, et al. Human Gene Mutation Database (HGMD): 2003 update. Human mutation 2003; 21: 577-81.
10. Miraglia del Giudice E, Francese M, Nobili B, et al. High frequency of de novo mutations in ankyrin gene (ANK1) in children with hereditary spherocytosis. J Pediatr 1998; 132: 117-20.
11. Miraglia del Giudice E, Lombardi C, Francese M, et al. S. Frequent de novo monoallelic expression of β -spectrin gene (SPTB) in children with hereditary spherocytosis and isolated spectrin deficiency. Br J Haematol 1998; 101: 251-4.
12. Iolascon A, Miraglia del Giudice E, Perrotta S, Alloison N, Morle L, Delunay J. Hereditary spherocytosis: from clinical to molecular defects. Haematologia 1998; 83: 240-57.
13. Palek J, Lux S. Red cell membrane skeletal defects in hereditary and acquired hemolytic anemias. Seminars in Hematology 1983; 20: 189-224.
14. Hassoun H, Palek J. Hereditary spherocytosis: a review of the clinical and molecular aspects of disease. Blood Reviews 1996; 10: 129-47.
15. Eber SW, Armbrust R, Schröter W. Variable clinical severity of hereditary spherocytosis: relation to erythrocyte spectrin concentration, osmotic fragility and autohemolysis. J Pediatr 1990;117: 409-16.
16. Friedman EW, Williams JC, Van Hook L. Hereditary spherocytosis in elderly. Am J Med 1988; 84: 513-6.
17. Gallagher PG, Forget BG, Lux SE. Disorders of the erythrocyte membrane. In: Hematology of Infancy and Childhood. Nathan D, Oski F (eds). 5th edit. Philadelphia Saunders 1998: 544-664.
18. Delaunay J. Genetic disorders of the red cell membrane. Crit Rev Oncol Hematol 1995; 19: 79-110.
19. Delaunay J, Alloison N, Morle L, et al. Molecular genetics of hereditary elliptocytosis and hereditary spherocytosis. Annals of Genetics 1996; 39: 209-21.
20. Lux SE, Palek J. Disorders of the red cell membrane. In: Blood Principles and Practice of Hematology. Handin RL, Lux SE, Stossel TP (eds). Philadelphia: Lippincott 1995: 1701-818.
21. Agre P, Casella JF, Zinkham WH, McMillan C, Bennett V. Partial deficiency of erythrocyte spectrin in hereditary spherocytosis. Nature 1985: 314-80.
22. Inoue T, Kanzaki A, Yawata A, et al. Uniquely higher incidence of isolated or combined deficiency of band 3 and/or band 4.2 as the pathogenesis of autosomal dominantly inherited hereditary spherocytosis in the Japanese population. Int J Hematol 1994; 60: 227-38.
23. Jarolim P, Murray JL, Rubin H, et al. Characterization of 13 novel band 3 gene defects in hereditary spherocytosis with band 3 deficiency. Blood 1996; 88: 4266-374.
24. De Franceschi L, Olivieri O, Miraglia del Giudice E, et al. Membrane cation and anion transport activities in erythrocyte of hereditary spherocytosis: Effects of different membrane protein defects. Am J Hematol 1997; 55: 121.
25. Weiss L, Tavssoli M. Anatomical hazards to the passage of erythrocytes through the spleen. Semin Hematol 1970;7:372.
26. Delhommeau F, Cynober T, Schitchmanoff PO, et al. Natural history of hereditary spherocytosis during the first year of life. Blood 2000; 95: 393-7.
27. Schröter W, Kahsnitz E. Diagnosis of hereditary spherocytosis in newborn infants. J Pediatr 1983; 103: 460.
28. Burman D. Congenital spherocytosis in infancy. Arch Dis Child 1958, 33: 335.
29. Trucco JI, Brown AK. Neonatal manifestations of hereditary spherocytosis. Am J Dis Child 1967; 113: 263
30. Agre P, Asimos A, Casella JF, McMillan C. Inheritance pattern and clinical response to splenectomy as a reflection of erythrocyte spectrin deficiency in hereditary spherocytosis. N Eng J Med 1986; 315: 1579-83.
31. Gehlbach SH, Cooper BA. Haemolytic anaemia in infectious mononucleosis due to inapparent congenital spherocytosis. Scand J Haematol 1970; 7: 141-4.
32. Tchermia G, Delhommeau F, Perrotta S, et al. Recombinant erythropoietin therapy as an alternative to blood transfusions in infants with hereditary spherocytosis. Hematol J 2000; 1: 146-52
33. Celkan T, Karaman S, Apak H, Özkan A, Yüksel Soykan L, Yıldız İ. Hereditör sferositozlu süt çocuklarında rekombinan eritropoetin tedavisi. Türk Pediatri Arşivi 2004; 39: 125-8.
34. Diamond LK. Indications for splenectomy in childhood: Results in fifty-two operated cases. Am J Surg 1938; 39: 400.
35. Brown KE. Haematological consequences of parvovirus B19 infection. Baillieres Best Pract Res Clin Haematol 2000; 13: 245-59.
36. Murphy PT, O'Donnell JR. B 19 parvovirus infection causing aplastic crisis in 3 out of 5 family members with hereditary spherocytosis. Ir J Med Sci 1990, 159: 182-4.
37. Brown KE, Young NS. Parvovirus B19 in human disease. Annu Rev Med 1997; 48: 59.
38. Rosenblatt DS, Hoffbrand AV. Megaloblastic anemia and disorders of cobalamin and folate metabolism. In: Pediatric Hematology (ed. By Lilleyman J, S, Hann I, M, Blanchette, V, S. London: Churchill Livingstone 1999: 167-84.
39. Bates G, Brown C. Incidence of gallbladder disease in chronic hemolytic anemia (spherocytosis). Gastroenterology 1952; 21: 104.

40. Rutkow IM. Twenty years of splenectomy for hereditary spherocytosis. *Archives of Surgery* 1981; 116: 306-8.
41. Pinto L, Iolascon A, Miraglia del Giudice E, Materese MR, Nobili B, Perrotta S. The Italian survey on hereditary spherocytosis. *International Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 1995; 2: 43-7.
42. Roper D, Layton M, Lewis SM. Investigation of hereditary hemolytic anemias: Membrane and enzyme abnormalities. In Dacie and Lewis practical Hematology. 9th ed. Lewis SM, Bain BJ, Bates I (ed) Churchill Livingstone 2001: 167-95.
43. King MJ, Behrens J, Rogers C, et al. Rapid flow cytometric test for the diagnosis of membrane cytoskeleton-associated haemolytic anaemia. *Br J Haematol* 2000; 111: 924-33.
44. Canbolat Aylin. Kalıtsal sferositozlu hastalarımızın değerlendirilmesi ve eritrosit zar protein eksikliğinin araştırılması. Tez araştırmaları, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi. İstanbul 2006.
45. Miraglia del Giudice E, Iolascon A, Pinto L, Nobili B, Perrotta S. Erythrocyte membrane protein alterations underlying clinical heterogeneity in hereditary spherocytosis. *Br J Haematol* 1994; 88: 52-5.
46. Saad ST, Costa FF, Vicentim DL, Salles Ts, Dilmara L. Vicentim, Pranke. PH. Red cell membrane abnormalities in hereditary spherocytosis in Brazil. *Br J Haematol* 1994; 88: 295-9.
47. Tshilolo L, Kagambega F, Sztern B, Vertongen F, Gulbis B. Hereditary spherocytosis. one year study of erythrocyte membrane proteins. *Rev Med Brux* 1998; 19: 417-23.
48. Davies JM, Barnes R, Milligan D. Update of guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen. *Clinical Medicine: Journal of the Royal College of Physicians of London* 2002; 2: 440-3.
49. Chapman RG, McDonald LL. Red cell life span after splenectomy in hereditary spherocytosis. *J Clin Inves* 1968; 47: 2263-7.
50. Tracy ET, Rice HE. Partial splenectomy for hereditary spherocytosis. In *Pediatric Clinics North America*. Coppes MJ, Ware RE (eds). WB Philadelphia Saunders company 2008; 55: 503-19
51. Singer DB. Postsplenectomy sepsis. *Perspect Pediatr Pathol* 1973; 1: 285-311.