

Eritrosit Membranının Yapısı ve Eritrosit Membran Bozuklukları

GÖNÜ ŞİMŞEK¹

ÖZET

Eritrosit membranı hücrenin değişik koşullarda varlığını sürdürebilmesi için çok önemli görevleri olan bir bölümdür. Eritrositin bikonkav şeklinden ve temel yapısal bütünlüğünden sorumludur. Eritrosit membranı çift tabakalı bir lipid ve membran iskeleti olarak adlandırılan bir protein şebekesinden oluşur. Membran iskeleti ve lipid protein etkileşimleri eritrosit morfolojisinin ve yaşamının sürdürülmesinde önemli bir rol oynar. Kalımsal olarak geçen eritrosit membran protein anomalilerinin neden olduğu bir grup hemolitik anemi vardır. Eritrosit morfolojisi anomalilerinin ve hemolitik durumların çoğu, hem bu yapıyı oluşturan elemanlardaki hem de bunların etkileşimindeki bozukluklarla ilişkili olabilir. Örneğin hereditör sferositoz ve hereditör pyropoikilositoz'da spektrin gibi proteinlerin eksikliği vardır. Hereditör elliptositoz'da band 4.1 eksikliği bulunmuştur. Bazı hereditör sferositoz çeşitlerinde band 2.1 (ankyrin) eksikliği ve diğer bazı bozukluklar saptanmıştır. Hereditör stomatositoz'deki eritrosit membran çalışmalarında band 7 eksikliği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Eritrosit membranı, Hereditör sferositoz, hereditör elliptositoz, hereditör propoikilositoz, hereditör stomatositoz

SUMMARY

THE STRUCTURE OF ERYTHROCYTE MEMBRANE AND ERYTHROCYTE MEMBRANE DISORDERS

Erythrocyte membrane, as an important portion of cell, plays a key role in maintenance of cell, plays a key role in maintenance of survival in various conditions. It is responsible for biconcave shape of erythrocyte and the essential building of cell structure. Erythrocyte membrane is composed of a lipid bilayer and an underlying protein network called as membrane skeleton. Membrane skeleton and lipid-protein interactions play a central role in the maintenance of erythrocyte morphology and survival. So there is a group of hemolytic anemia caused by genetically inherited erythrocyte membrane protein abnormalities. As might be expected, it now appears that a large number of erythrocyte morphologic abnormalities and hemolytic conditions may be associated with abnormalities in both the constituents of this structure and in their interactions. These abnormalities include deficiencies of proteins, such as spectrin in both hereditary spherocytosis and pyropoikilocytosis. Deficiency of band 4.1 has been found in hereditary elliptocytosis. Deficiency of band 2.1 (ankyrin) and some other disorders have been found in some variants of hereditary spherocytosis. Deficiency of band 7 has been shown in erythrocyte membrane protein studies in hereditary stomatocytosis.

Key Words: Erythrocyte membrane, hereditary spherocytosis, hereditary elliptocytosis, hereditary pyropoikilocytosis, hereditary stomatocytosis.

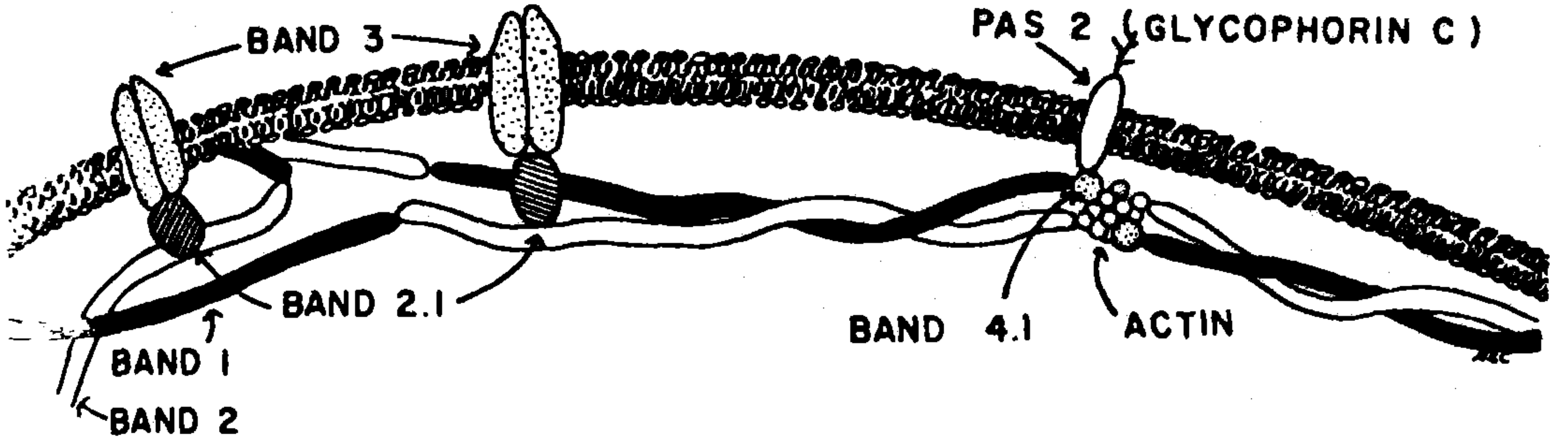
Eritrosit membranı hücrenin değişik koşullarda varlığını sürdürebilmesi için çok önemli görevleri olan bir bölümdür. Eritrositin içinde bulunduğu koşullara göre şeklini değiştirebilme (deformabilite) özelliği, eritrositin yaşam süresini belirleyen en önemli etmenlerin başında gelir. Eritrositin bu şekilsel esnekliği gösterebilmesinde eritrosit memb-

ranının özellikle eritrosit iskeletinin büyük bir rolü vardır.

Membranın yapısal özellikleri

Eritrosit membranları eritrositler hipotonik ve hafif alkali tampon çözeltilerde yıkandıktan sonra, elde edilen hayalet görünüm (ghost) lerde

¹ Uzm. Dr., I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL



ŞEKİL I. Eritrosit membranının şematik görünümü (10).

incelenmektedir (1). Eritrosit membranı singer SJ ve Nicholson GL (2)'nin 1972 yılında önerdiği "sıvı-mozaik" biyolojik membran modeline uygunluk gösterir. Membran yapısında protein, lipid ve karbonhidratlar yer alır. Oluşumda lipid / protein oranı 1:1.1, karbonhidrat molekülünün miktarı ise %7-15 kadardır (3).

Eritrosit membran lipidleri

Membran lipidleri kısmen birçok fiziksel özelliklerden sorumludur. Örneğin, hem pasif kation permeabilitesi hem de eritrositin fleksibilitesi membran lipid bileşiminin değiştirilmesiyle önemli şekilde etkilenebilir (4,5). Membrandaki total lipidin %95'inden çoğu fosfolipidler ve esterleşmemiş kolesteroldür. Az miktarda glikolipid, gliserid ve serbest yağ asitleri vardır. Fosfolipidler ve kolesterol hemen hemen eşit miktardadırlar. Fosfolipidler taşıdıkları elektrik yüklerine göre: nötral (fosfotidil kolin, sfingomiyelin) ve negatif yük taşıyanlar (fosfotidil etanolamin, fosfotidil serin, fosfotidil inozitol) olarak iki gruba ayrılır. Fosfolipidin yapısında bulunan yağ asitleri genellikle çift karbonludur. Zar akışkanlığına en önemli faktör yağ asitlerinin uzunluğu ve doymamışlık derecesidir (6).

Asimetrik iki katlı yapıda fosfotidil etanolamin sıtoplazmik yüzeyde, fosfotidil kolin ise dış yüzeyde daha yoğun olarak bulunurlar. Kolesterol fosfolipidler arasında dağılmış, glikolipidler ise tamamıyla dış yüzeyde bulunurlar. Glikolipidler A,B,H,M,N Le^a, Le^b... gibi bir çok eritrosit antijenini taşırlar (7, 8).

Lipidler fonksiyonlarına göre, lipid çift tabakada asimetrik olarak dağılırlar. Lipidlerin, çift tabakanın bir kısmından diğerine doğru "flip-flop"

olarak adlandırılan oldukça yavaş bir hareketi vardır. Lipidlerin asimetrik dağılımı ve "flip-flop" hareketi, lipid-protein etkileşimleri ve eritrosit membranın iyon-su taşınması için gereklidir (9,10).

Eritrosit membran proteinleri

Membran protein analiz yöntemleri, proteinlerin hücre şeklinin ve deformabilitesinin düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğunu göstermiştir. Bu proteinler genellikle hayalet görünümü (ghost) elde edildikten sonra, moleküler ağırlıklarına göre "Sodyum Dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi" (SDS-PAGE) yöntemi ile incelenmektedir.

Eritrosit membran proteinleri, periferik ve integral proteinler olarak sınıflandırılabilir. Periferik proteinler lipid çift tabakada hareket edemezler. Lipid çift tabaka altındaki membran iskeletini oluştururlar. Periferik proteinlerin aksine, integral proteinler lipid çift tabakadan geçerler ve eritrosit membran yüzeyinde bulunurlar. Periferik proteinler; spektrin, ankyrin (band 2.1), aktin, protein 4.1, protein 4.2, protein 4.9, band 6, (gliseraldehit 3 fosfat dehidrogenaz), adducin ve tropomyozin (band 7)'dir. Integral proteinler ise protein 3 (band 3) ve glikoforinlerden (GpA, GpB, GpC GpD) oluşur (10,11,12).

Periferik proteinler

Spektrin membran iskeletinin önemli komponentlerinden biridir. Spektrin α ve β spektrin olmak üzere iki polipeptid zincirinden oluşur. α spektrin molekül ağırlığı 240 kilodalton, β spektrin ise 220 kilodaltondur. α ve β spektrin alt birimleri çift sıralı bir polipeptid zinciri olarak birbirine bağlanır ve bir spektrin dimeri

oluştururlar. Spekrin dimerleri, spekrin tetramerlerini oluşturmak üzere baş kısımlarından bağlanırlar. Bu bağlantıya spekrinin "kendi kendine birleşmesi" denir. Bu birleşimdeki bir bozukluk (spekrin α_1 ve β_1 mutasyonları nedeniyle) spekrin fonksiyon bozukluğuna yol açar (11,13, 14,15,16). Spekrin tetramerleri distal uçlarında aktinle bağlanırlar. Protein 4.1 spekrin aktin etkileşimini güçlendirir (Şekil I). Bu bağlanma bölgesine "junctional kompleks" denir. Protein 4.9, adducin ve tropomiyozinde bu komplekstedir. Spekrinin bir diğer bağlanma bölgesi ankyrin bağlanma bölgesidir. Membran iskeletini lipid çift tabakaya bağlayan iki önemli integral-periferik protein etkileşim yeri vardır (Band 3-ankyrin- β spekrin etkileşimi ve GpC-protein 4.1 etkileşimi (Şekil I) (10,11,12,17). Fosfolipid asimetrisinin korunmasında, aminofosfolipidlerle membran iskeleti (özellikle spekrin arasındaki etkileşimlerden söz edilmektedir. Kuypers FA ve arkadaşları (18), eritrosit membranında fosfolipid difüzyonu ve asimetrisinde spekrinin rolünü araştırdıkları bir çalışmada, spekrinin eritrosit membran fosfolipid asimetrisinin korunmasında az da olsa bir etkisi olabileceğini belirtmektedirler. Normal eritrosit membranında spekrin dört bölgede fosforilasyona uğramış durumdadır. Fosfatların görevi iyi bilinmemekle beraber, eritrosit iskeletinin bütünlüğünün korunmasında, şekil değişiminde ve biçimsel özelliklerin devamında etkili olduğu ileri sürülmektedir (19).

Molekül ağırlığı 210 kilodalton olan Ankyrin, β spekrini integral bir protein olan band 3'e bağlayarak membran iskeletinin lipid çift tabakaya tutunmasını sağlar. Protein 4.2, ankyrin- band 3 bağlanmasını düzenler (10,20).

İskelet kasındaki aktin molekülüne benzerlik gösteren aktinin moleküler ağırlığı 43 kilodaltondur. Spekrin tetramerlerinin sitoplazmik yüzeyde, aktin molekülünün yaklaşık 10 farklı alt grubu ile bağlantı kurduğu ve bu şekilde bir ağ oluşturduğu gözlenmiştir (21,22).

İntegral proteinler

Band 3, integral membran proteinlerinin %25'ini oluşturur. Moleküler ağırlığı 95 kilodaltondur. Cl^- ve HCO_3^- gibi anyon kanalları band 3'te bulunur. Membran iyon-su alışveriş kanalı olarak fonksiyon gördüğü belirtilmektedir (23)

Glikoforin, moleküler ağırlığı 36 kilodalton olan glikoprotein yapıda bir moleküldür. Hücre yüzeyinde bulunan sialik asidin yaklaşık %75'ini taşırlar. Molekülün fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber kan grubu determinantlarını

içerdiği saptanmıştır (24). Örneğin MN kan gruplarında M antijenini GpA, N antijenini GpB taşımaktadır. (25,26).Glikoforinlere karşı oluşan bazı antikorların sialik asid yokluğunda molekülle birleşmediği saptanmıştır. Bu nedenle bazı araştırmacılar M ve N antijenik özelliklerinin sialik aside bağlı olduğunu ileri sürerler (27,28). GpC ve GpD'nin eritrosit deformabilitesinde rol oynadığı belirtilmektedir (29,30).

ERİTROSİT MEMBRAN BOZUKLUKLARI

Hereditör Sferositozis

Hereditör sferositozis (HS) eritrosit membran proteinlerindeki bozukluklara bağlı olan en yaygın konjenital hemolitik anemidir. Kan yaymasında sferositoz eritrositlerde osmotik fragilite artışı ve splenektomiye iyi bir klinik cevapla karakterize olan yaygın otosomal dominant bir hastalıktır (12,31,32).

Kadın ve erkeklerde eşit sıklıkla görülür. Her ırkta görülmekle birlikte Kuzey Avrupa ülkelerinde ve İngiltere'de daha sıklıkla rastlanır. Güney Afrika zencilerinde ve Japonlarda da vardır ancak prevalans bilinmemektedir (31,33,34). Zerhouni F ve arkadaşları Cezayir'de bir hematoloji kliniğine başvuran 12000'dan fazla kişide HS insidansının 1/1000 olduğunu saptamışlardır (35)

HS fizyopatolojisinde iki büyük faktör yer alır. Birincisi, intrakorpüsküler bir eritrosit kusuru, diğeri ise HS hücreleri selektif olarak tutan sağlam bir dalaktır (36).

HS'daki membran bozuklukları

1. Spekrin eksikliği: HS'lu hastaların çoğunda kısmi bir spekrin eksikliği bulunmuştur. Eksikliğin derecesinin, osmotik fragilitedeki artış ve hastalığın şiddeti ile orantılı olduğu belirlenmiştir (37,38)
2. Ankyrin eksikliği: Ankyrin eksikliğinin spekrin yetersizliğine neden olabileceği bildirilmiştir (37,39). Ankyrin eksikliği olan bazı hastalarda 8. Kromozomda bazı anomalilerin olduğu (8.kromozomun kısa kolunda kırılma, 8. Kromozom ile 12. kromozom veya 3. Kromozom arasında translokasyonlar) belirtilmektedir (39,40,41)
3. β Spekrin-aktin bağlanma kusuru (42,43)
4. β spekrin-protein 4.1 bağlanma kusuru: HS'lu kişilerin %10'unda, spekrinin protein 4.1 ve aktinle bağlanmasını azaltan, dominant olarak geçen bir β spekrin kusuru tanımlanmıştır. (44,45)
5. Protein 4.2 eksikliği: Bir çok HS'lu hastada protein 4.2'nin yokluğu veya belirgin azalması

saptanmıştır. Bu protein hem ankyrin, hem de band 3'e bağlanır ve tahminen bu iki proteinin etkileşimini stabilize eder. HS'da bu protein eksikliğinin, rolü belirli değildir (34,37,46).

6. Band 3 eksikliği (37).

HS'da spektrin eksikliğinin, çift tabakadaki fosfolipidlerin asimetrik dağılımındaki değişikliklere yol açtığı belirtilmektedir. Sağlam eritrositte direkt protein-protein ve protein-lipid etkileşimleri lipid çift tabakayı stabilize eden tek katlı bir tabaka oluştururlar. HS'lu eritrositlerde bu organizasyon spektrin eksikliğine orantılı olarak bozulur ve iskelet tabakasının protein yoğunluğu azalır. Bu yoğunluk değişimi muhtemelen lipid çift tabakanın destabilizasyonundan sorumlu olabilir. Böylece lipidler eritrosit yüzeyinden kaybolur. Azalmış yüzey/hacim oranının sonucu olarak eritrositler sferositik hale gelirler. Sferositler dalağın dar sinuzoidlerinden geçişleri sırasında dalakta yakalanırlar. Diğer taraftan sferositlerde aşırı bir sodyum kazancı vardır. (Membran kusuruna bağlı olduğu ileri sürülüyor). Na^+K^+ ATPaz ile sodyumun atılması ATP tüketimine yol açar. Bu şartlar altında eritrosit yıkımı gözlenir. (18,31,32,42)

Klinik ve laboratuvar bulguları

HS'un kliniği oldukça değişkendir ve asemptomatik durumdan hayatı tehdit eden hemolitik anemiye kadar değişik özellikler gösterir. Başlıca klinik belirtiler; anemi, sarılık ve splenomegalidir. Hemolitik krizler, viral enfeksiyonlar sırasında bacak ülserleri ve geçici aplastik krizler gibi bazı hemolitik anemi komplikasyonları ortaya çıkabilir. HS'lu hastalarda belirgin bir yeni doğan hiperbilirubinemisi ve safra taşları sıklıkla gelişir (31, 32,42).

Hemoglobin düzeyi normal olabildiği gibi %7 g veya daha aşağılarda olabilir. Periferik kanda çeşitli sayıda küçük, yuvarlak santral solukluğu olmayan sferositlerin varlığı göze çarpar. Serumda indirekt bilirubin yükselmiştir. Retikülositoz vardır. HS da, kanda sferositlerin artmasına bağlı olarak osmotik fragilite artmıştır (24 saat 37 °C'de inkübe edilen eritrositlerde daha belirgindir).

Splenektomi, bir çok HS vakasında tam bir düzelme sağlar, ancak bazı resesif durumlarda sadece kısmi bir devap elde edilebilir (12,31,32).

Herediter Eliptositozis

Herediter eliptositozis (HE) kanda fazla miktarda elliptositlerin bulunması ile karakterize otosomol dominant olarak geçen bir hastalıktır. Başlıca üç formu tarif edilmiştir (31,32).

1. Hemolitik anemi ile beraber bulunan HE: Olguların yaklaşık %15'inde bu tip mevcuttur.

Hafif ila orta derecede anemi mevcut olup, retikülositoz (%4-10) ve bilirubinemi vardır. Bazı vakalarda osmotik fragilite artmıştır. Splenektomiden sonra genellikle hemolitik anemi düzelir.

2. Kompanse hemolitik hastalık ile beraber bulunan HE: Burada kompanse bir hemolitik hastalık söz konusudur.
3. Asemptomatik (HE): Burada ne hemoliz ne de anemi vardır. Ancak periferik kanda elliptositler bulunur.

Homozigot vakalar nadir olup, heterozigot vakalarda ise değişik derecede hemolitik anemi görülür (31).

HE'daki membran bozuklukları

1. Spektrin disfonksiyonu: Bu duruma β spektrin veya β spektrin baş kısmındaki bir mutasyon neden olur. Böylece spektrin, dimerleri kendi kendilerine birleşip, tetramerleri oluşturamazlar (15,38). Eber SW (38), HS ve HE da eritrosit membran iskelet bozukluklarını araştırdığı bir çalışmada, HE'lu hastaların %30'unda tetramerik spektrin konsantrasyonunun azaldığını saptamıştır. Bir hastada kısalmış β spektrin zinciri tanımlanmıştır. β spektrin zincirinin kısalması C-terminal fosforillenmiş peptidin kaybına bağlıdır. Moleküler sebep ise β spektrin geninin 3' ucundaki bir defektir.
2. Protein 4.1 eksikliği: Protein 4.1'in bir çok fonksiyonu vardır. Spektrin tetramerlerinin aktinle etkileşimlerini güçlendirir ve iskeleti bir çok integral membran proteinlerine bağlar (Şekil 1). Protein 4.1'in tamamen yokluğu nadirdir. Kısmi protein 4.1 eksikliği ise HE'luların % 40'ından fazlasında mevcuttur (39,47,48).
3. GpC eksikliği: Protein 4.1 eksikliği olan hastalarda GpC'nin de azaldığı bildirilmektedir. Protein 4.1'in tahminen membranda GpC'nin stabilizasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir (49).

Herediter piropoikilositozis

Herediter piropoikilositozis (HPP), HE'un aksine resesif kalımsallık ve ağır hemolitik anemi ile karakterizedir. HPP'da kısmi bir spektrin eksikliği vardır ve spektrin heterodimerlerinin kendi kendisiyle birleşmesi kusurludur. Periferik kan yaymasında poikilositler, fragmente mikrosferositler ve bazen elliptositler görülür. Eritrositlerin osmotik fragilitesi artmıştır. Splenektomi, HPP'da gözlenen hemolitik anemide kısmi bir düzelme sağlar (12).

Hereditör Stomatositosis

Hereditör stomatositosis nadir bir hastalık olup, otosomal dominant olarak geçer. Klinik görünüm bakımından heterojen bir hastalıktır. Hereditör stomatositosis'de kation permeabilitesi ve kation pompası (ATPaz'a bağımlı Na^+ - K^+ pompası) kusurludur (31,39).

Yawata Y ve arkadaşları (39) Japonya'da yaptıkları bir çalışmada hereditör stomatositosisi, olan 7 hastada band 7 eksiklikleri saptamışlardır.

Stomatositler az sayıda normal kişilerin kanlarında bulunabildiği gibi alkoliklerde stomatosit oranı yüksektir. Hafif hemolitik anemi, sarılık ve splenomegali hastalığın klinik bulgularıdır. Splenektomi kısmi bir düzelme sağlar (31,32).

KAYNAKLAR

1. Robertson JD: The structure of biological membranes. *Arch Intern Med* 129:202-215,1972
2. Singer SJ, Nicholson GL: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* 175:720,1972.
3. Smith EL, Hill RL, Lehman IR, et al: Principal of Biochemistry-Mammalian Biochemistry. Mc Graw - Hill International Editions. Seventh Editions. 1983
4. Kroes J Ostwald R: Erythrocyte membranes: Effect of increased cholesterol content on permeability. *Biochim. Biophys. Acta* 249: 647, 1971.
5. Corrocher R, Ferrari S, Bassi A, et al: Membrane polyunsaturated fatty acids and lithium-sodium countertransport in human erythrocytes. *Life Sci* 41:1171, 1987.
6. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW: Harper's Biochemistry. Appleton and Lange. Twenty first edition, 1988.
7. Ganong WF: Review of Medical Physiology Sixteenth edition, 1993.
8. Jansson SE, Gripenberg J, Hekali R, Gahnberg AG: Organization of membrane lipids and proteins in human erythrocytes that lack the major sialoglycoprotein, glycophorin A. *Biochem J* 195:123-128,1981.
9. Cooper RA: Lipids of human erythrocyte membrane: normal composition, variability in disease. *Semin Hematol* 7: 269-285
10. Shohet SB, Beutler E: The Red Cell membrane In: Hematology, Edited by Williams WJ, Beutler E Erslew AJ, Lichtman MA, Mc Graw -Hill Book Company, 368-377,1990.
11. Marchesi VT: Red cell membrane skeleton: Recent progress. *Blood* 61: 1-10, 1983.
12. Palek J, Lux S: Red cell membrane defects in hereditary and acquired hemolytic anemias. *Semin Hematol* 20: 189-223,1983.
13. Delaunary J, Dharmy D: Mutations involving spectrin heterodimer contact site: Clinical expression and alterations in specific function. *Semin Hematol* 30:21-33-1993.
14. Knowles W, Marchesi, SL, Marchesi UT: Spectrin: Structure and abnormalities *Semin Hematol* 20: 159-164,1983.
15. Ungewickell E, Gratzer W: Self association of human spectrin. *Eur J Biochem* 88: 379-385,1978.
16. Juliano RL: The protein of the erythrocyte membrane *Biochim. Biophys Acta* 300:341-378, 1973.
17. Gilligan DM, Bennett V: The Junctional complex of the membrane skeleton. *Semin Hematol* 30: 74-83, 1993.
18. Kuypers FA, Lubin BH, Yee M et al: The distribution of erythrocyte phospholipids in hereditary spherocytosis demonstrates a minimal role for erythrocyte spectrin on phospholipid diffusion and asymmetry. *Blood* 81 (4): 1051-7, 1993.
19. Goodman SR, Weidner SA: Binding of spectrin α_2 - β_2 tetramers to human erythrocyte membranes. *J Biol Chem* 255: 8082-8086, 1980.
20. Bennett V, Steinbeck PJ: Human erythrocyte ankyrin. *J Biol* 225:2540-2547, 1980.
21. Ohnishi T: Isolation and characterization of an Actin-like protein from membranes of human red cells. *Br J Haemat.* 35:453-457, 1977.
22. Pinder JC, Gratzer WB: Structural and dynamic states of Actin in the erythrocyte *J. Cell Biol* 96: 768-775, 1983.
23. Soong CJ, Lu PW, Tao M: Analysis of band 3 cytoplasmic domain phosphorylation and association with Ankyrin. *Arch Biochem Biophys.* 254 (2): 509-517, 1987.
24. Gahnberg CG, Jokinen M, Andersson LC: Expression of the major sialoglycoprotein (glycophorin) on erythroid cell in human bone marrow *Blood* 52 (2): 379-387, 1978.
25. Anderson RA, Lourien RE: Glycophorin is linked by band 4.1 protein to the human erythrocyte membrane skeleton. *Nature* 307: 655-658, 1984.
26. Loomes LM, Uemura KI, Feizi T: Interaction of mycoplasma pneumoniae with erythrocyte glycolipids of I and i antigen types. *Infection and Immunity.* 47 (1): 15-20, 1985.
27. Owens, JW, Mueller TJ, Morrison M: A minor sialoglycoprotein of the human erythrocyte membrane. *Arch Biochem. Biophys.* 204 (1): 247-254, 1980.
28. Schweitzer E, Angst W, Lutz HU: Glycoprotein topology on intact human red blood cells reevaluated by cross-linking following amino group supplementation. *Biochem.* 21: 6807-6818, 1982.
29. Becker PS, Lux SE: Hereditary spherocytosis and related disorders. *Semin Hematol* 14: 15-41, 1985.
30. Nash GB, Parmars J, Reid MD: Effect of deficiencies of glycophorin C and D on the physical properties of red cell. *Br J Haematol* 76: 282-287, 1990

31. Muftuoğlu Ekrem: Klinik Hematoloji Dicle Üniversitesi Basımevi, Diyarbakır, 127:132,1986.
32. Schrier SL: The red cell membrane and its abnormalities. In *Recent Advances in Haematology*. First ed, Edinburgh, 69-93, 1982.
33. Nozawa Y, Hoguchi T, Fukushima H, et al: Erythrocyte membrane of hereditary spherocytosis: Alterations in surface ultrastructure and membrane proteins as inferred by scanning electron microscopy and SDS disc gel electrophoresis -*Clin Chim Acta*: 55:81, 1974.
34. Hayashi S, Koomoto R, Yano A, et al: Abnormality in a specific protein of the erythrocyte membrane in hereditary spherocytosis. *Biochem Biophys. Res Commun* 57: 1038, 1974.
35. Zerhouni F, Guetarni D, Henni T, Occurrence and characteristics of hereditary spherocytosis in Algeria. *Eur J Haematol*, 47 (1): 42-7, 1991.
36. De Matteis MC, De Angelis V, Sorrentino F, et al: Role of spleen in hereditary spherocytosis: evidence for increased in vitro proteolysis of red cell membrane *Br J Haematol* 79 (1): 108-12, 1991.
37. Miraglia del GE, Lolascon A, Pinto L, et al: Erythrocyte membrane protein alterations underlying clinical heterogeneity in hereditary spherocytosis *Br J Haematol* 88 (1): 52-5, 1994.
38. Eber SW: Disorders of the membrane skeleton of erythrocytes in hereditary spherocytosis and elliptocytosis: significance of the molecular defect for pathogenesis and clinical severity. *Clin Pediatr* 203 (4): 284-95, 1991.
39. Yawata Y, Kanzaki A, Inoue T, et al.: Red cell membrane disorders in the Japanese population: Clinical, biochemical, electron microscopic, and genetic studies. *Interpreted J Hematolo* 60 (1): 23-38, 1994.
40. Bass EB, Smith SW, Roger E, et al: Further evidence for location of the spherocytosis gene on chromosome 8. *Ann Int Med* 99: 192-194, 1993.
41. Coetzer TL, Lowler J, Liu SC: Partial ankyrin and spectrin deficiency in severe typical hereditary spherocytosis *N Eng J Med* 318: 230-234, 1986.
42. Pekrun A, Gratzer W: Disorders of the red cell membrane: *Current Opinion Pediatr* 2: 116-120, 1990
43. Thyler JM, Reinhardt BN, Branton D: Association of erythrocyte membrane proteins binding of purified 2.1 and 4.1 to spectrin. *J Biol Chem* 255: 7034-7041, 1980.
44. Wolfe LC, John KM, Falcone JC, et al: A genetic defect in the binding of protein 4.1 to spectrin in a kindred with hereditary spherocytosis *N Engl J Med* 307: 1367, 1982.
45. Goodman SR, Shiffer KA, Casoria LA, et al: Identification of the molecular defect in the erythrocyte membrane skeleton of some kindreds with hereditary spherocytosis. *Blood* 60: 772, 1982.
46. Korsgren C, Cohen CM: Associations of human erythrocyte band 4.2: Binding to ankyrin and to the cytoplasmic domain of band 3. *J Biol Chem* 263: 10212, 1988.
47. Cohen C: The molecular organization of the red cell membrane skeleton. *Semin Haematol* 20: 141, 1983.
48. Lutz HU, Liu S, Palek J: Release of spectrin-free vesicles from human erythrocytes during ATP depletion *J Cell Biol* 73:548, 1977.
49. Chasis JA, Agre P, Mohandas M: Decreased membrane mechanical stability and in vivo loss of surface area reflect spectrin deficiencies in hereditary spherocytosis. *J Clin Invest* 82: 617, 1988.