

Esferocitosis hereditaria en neonatos y su fisiopatología: un enfoque molecular.

Hereditary spherocytosis in neonates and its pathophysiology: a molecular approach.

Maria Clara Vargas-Zuluaga^{1,a}

1. Estudiante de Medicina.

a. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana (Colombia)

CORRESPONDENCIA

Maria Clara Vargas Zuluaga

ORCID ID <https://orcid.org/0009-0001-4399-1153>

Universidad Pontificia Bolivariana (Colombia)

E-mail: mariaclara.vargaszu@upb.edu.co

CONFLICTO DE INTERESES

La autora del artículo hace constar que no existe, de manera directa o indirecta, ningún tipo de conflicto de intereses que pueda poner en peligro la validez de lo comunicado.

RECIBIDO: 22 de junio de 2023.

ACEPTADO: 29 de octubre de 2023.

RESUMEN

La esferocitosis hereditaria es una causa de anemia hemolítica que afecta comúnmente a neonatos e infantes; en donde por la forma esferoidal, rigidez y fragilidad de los eritrocitos en sangre periférica se produce la hemólisis. Estos cambios morfológicos son generados por alteraciones genéticas, proteicas y de factores externos a la membrana eritrocitaria, lo cual se traduce en la presencia de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, la cual si no recibe un diagnóstico oportuno y tratamiento precoz puede ser responsable de complicaciones leves a severas e incluso la muerte.

Palabras clave: Esferocitosis hereditaria, proteínas de la membrana, microARNs, ictericia neonatal, biología molecular, esplenectomía.

ABSTRACT

Hereditary spherocytosis is a cause of hemolytic anemia that commonly affects neonates and infants; where hemolysis occurs due to the spheroidal shape, rigidity and fragility of erythrocytes in peripheral blood. These morphological changes are generated by genetic, protein and external factors to the erythrocyte membrane, which translates into the presence of clinical manifestations of the disease, which if it does not receive a timely diagnosis and early treatment can be responsible for mild to severe complications and even death.

Key words: Spherocytosis, hereditary, Membrane proteins, microRNAs, neonatal jaundice, molecular biology, splenectomy.

Vargas-Zuluaga MC. Esferocitosis hereditaria en neonatos y su fisiopatología: un enfoque molecular. *Salutem Scientia Spiritus* 2023; 9(4):53-59.



La Revista *Salutem Scientia Spiritus* usa la licencia Creative Commons de Atribución – No comercial – Sin derivar:

Los textos de la revista son posibles de ser descargados en versión PDF siempre que sea reconocida la autoría y el texto no tenga modificaciones de ningún tipo.

INTRODUCCIÓN

La esferocitosis hereditaria (EH) es la anemia hemolítica no autoinmune más común, con una incidencia de 1 en 2000 nacidos vivos.¹ Presenta una herencia de patrón autosómico dominante principalmente, aunque se han descrito casos de herencia recesiva.² Es causada por una alteración en una o varias proteínas de membrana del eritrocito, siendo la principal la anquirina, que altera la deformabilidad y la estabilidad de la membrana de éste, causando altos niveles de hemólisis extravasculares al no tener la capacidad de pasar por los sinusoides esplénicos.³

Los criterios para realizar el diagnóstico son: historia familiar con diagnóstico de EH, cuadro clínico consistente en esplenomegalia e ictericia, resultados de laboratorio que demuestren esferocitos en extendido de sangre periférica, y concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) y reticulocitos con valores por encima de lo normal.⁴

Uno de los retos más grandes en su diagnóstico es la heterogeneidad de su presentación clínica, debido a que el cuadro clínico en infantes con un grado menor de EH puede ser asintomático, pero en casos severos pueden presentar complicaciones como esplenomegalia, cálculos, e incluso llegar a necesitar transfusiones.⁵ Esto no depende exclusivamente del componente genético, ya que individuos con mutaciones idénticas han presentado diferente sintomatología, lo que indica que otros factores asociados al glóbulo rojo pueden intervenir en la clínica de la patología.³

El tratamiento por excelencia de la EH moderada a severa actualmente es la esplenectomía, que mejora los síntomas y los parámetros de sangre en los pacientes pediátricos.^{5,6}

Aunque se presenta en todas las etnias y razas, es especialmente prevalente en Europa del Norte y menos frecuente en países africanos y del sudeste asiático.⁷ Al tener una gran variabilidad clínica, se estima que la prevalencia sea mucho mayor de la que se tiene en cuenta, ya que, en casos leves puede ser subclínico. Por otra parte, el diagnóstico requiere pruebas muy sensibles. Estas dos condiciones limitan el diagnóstico y por ende, las estadísticas.^{8,9}

CAUSAS MOLECULARES

Los glóbulos rojos, son células capaces de adaptar diferentes formas gracias a su capacidad de amoldamiento, la cual permite pasar por lechos vasculares de diversos tamaños. A medida que ellos envejecen la composición molecular y bioquímica de su membrana cambia, generando que se vuelvan más densos y pierdan su elasticidad, lo cual conlleva a que sean destruidos en órganos hematopoyéticos como el bazo. La fisiopatología de la EH en pocas palabras se resume en que este proceso se presenta de manera más acelerado y frecuente.³

La EH es causada por mutaciones en los genes codificantes de proteínas de membrana eritrocitarias, tales como: ANK1, ELB42, SPTA1, SPTB y SLC4A1 que codifican para las proteínas: anquirina, proteína 4,2, α espectrina, β espectrina y banda 3, respectivamente.¹⁰⁻¹³ Los defectos en ANK1 y SPTB son los más comunes 5,14, los cuales principalmente se evidencia mediante electroforesis en gel de poliacrilamida de sodio dodecil sulfato.¹⁰ Las mutaciones pueden ser alteración en el orden, aumento o pérdida de material genético, ello conlleva a cambios estructurales de las proteínas lo cual ocasiona déficit y/o alteración de su funcionamiento, por lo tanto, afectan el citoesqueleto eritrocitario, alterando las uniones verticales, evitando así la correcta adhesión de éste a la bicapa lipídica del eritrocito, lo que resulta en células esféricas con poca elasticidad^{15,16} y disminución en la relación superficie/volumen,⁷ asociadas a incrementada fragilidad osmótica. Cuando se comprometen las uniones horizontales, se presenta como eliptocitosis hereditaria.¹⁰⁻¹³

Los microARN (miARN) son moléculas de ácido ribonucleico (ARN) no codificante con un tamaño de 19 a 25 nucleótidos que tienen como función regular la expresión génica,¹⁷⁻¹⁹ puede ser silenciando completamente los genes, disminuyendo o estimulando la expresión de proteínas.²⁰ Esto depende del miARN, el gen, la célula y en la fase de división celular en el que se encuentra.²¹ Éstos se unen a la semilla, que consiste en los nucleótidos 2-8 en dirección 5' - 3' del gen blanco, y cumple su función por medio de diferentes maneras, siendo algunas de estas: degradación del ARN mensajero, hidrólisis inducida de la caperuza del extremo 5' de éste, deadenilación inducida, y ocupación reducida de ribosomas, entre otras.²¹

La expresión de los miARN se puede detectar en biopsias y en fluidos corporales como el plasma, por medio de pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (PCRq), hibridación in situ, microarrays y secuenciación de ARN,¹⁷ por lo que pueden ser utilizados como biomarcadores. Actualmente, son un blanco importante de estudio, ya que se busca poder utilizarlos como tratamiento para enfermedades como el cáncer. Una alta cantidad de miARN específicos puede indicar que éstos silencian los genes y que son la causa de la enfermedad. No hay estudios sobre miARN específicos en la EH. Otra característica descrita asociada con la enfermedad es que a nivel bioquímico, la membrana de los eritrocitos en las personas con EH se vuelve más permeable a los iones sodio y potasio. Al haber tanto flujo de sodio dentro del glóbulo rojo, se activa la bomba Na⁺/K⁺ ATPasa para mantener el balance iónico. Por lo tanto, aumenta la demanda de ATP y por ende, la glucólisis como forma de compensar la necesidad.⁷

CUADRO CLÍNICO

Los principales hallazgos clínicos y de laboratorio en los pa-

cientes con EH son: la hemólisis, la ictericia, la presencia de reticulocitosis y esferocitos en el extendido de sangre periférica, la esplenomegalia y la formación de cálculos.^{10,22}

La EH tiene diferentes presentaciones clínicas según la proteína o proteínas afectadas: únicamente de espectrina, espectrina y anquirina, proteína banda 3, banda 4.2 o el complejo Rh 1 (Tabla 1).

Al solo necesitar un alelo mutado, la deficiencia de β espectrina es más común que la forma recesiva. Aquellos que presentan déficit de α espectrina muchas veces son dependientes de transfusiones para el tratamiento.¹

La deficiencia combinada de anquirina y espectrina es la más común. La anquirina es especialmente importante para el mantenimiento de la membrana al unir la β espectrina con la banda 3, por lo que una deficiencia o mal funcionamiento de esta proteína causa una ineficaz adhesión de la bicapa de lípidos al citoesqueleto, aun habiendo una síntesis normal de espectrina.²³ Las mutaciones de novo constituyen una gran parte de las alteraciones del gen ANK1.^{24,25} Una delección de este gen causa un síndrome caracterizado por rasgos dismórficos, hipogonadismo, retraso en el desarrollo y esferocitosis.²⁶

Generalmente, quienes tienen deficiencia de la proteína banda 3 también presentan deficiencia de proteína 4.2.²⁷ Al funcionar como intercambiador de cloruro y bicarbonato, mantienen el pH sanguíneo, por lo que un cambio en ésta puede llegar a causar acidosis tubular renal distal, que no necesariamente se presenta junto la esferocitosis.¹

La deficiencia en la expresión de antígeno Rh presenta anemia hemolítica de leve a moderada, y se asocia a presencia de esferocitos y estomatocitos.^{28,29} La unión entre la anquirina y el Rh es importante para la expresión del antígeno.³⁰

Las manifestación clínica principal y signo de alerta en neonatos es la ictericia, que por la acelerada hemólisis que está sucediendo de forma anormal en el bazo, se libera hemoglobina que se metaboliza en bilirrubina no conjugada, lo cual se manifiesta como coloración amarilla en piel, mucosas y ojos, y aunque muchas veces es fisiológica, se debe hacer seguimiento, especialmente si no desaparece después de tres a cinco días de nacido.³¹ Normalmente se trata con fototerapia, que isomeriza la bilirrubina a fotobilirrubina, que es mucho más hidrosoluble y permite la excreción renal de ésta.³² Si no se trata a tiempo, la hiperbilirrubinemia puede afectar el sistema nervioso central de una manera irreversible.³³

La esplenomegalia es causada por el atrapamiento de los esferocitos en el bazo. Su grado varía según la cantidad de hemólisis que ocurra en el cuerpo del paciente.³⁴

Tabla 1. Mutaciones genéticas conocidas en EH

Gen	Proteína	Patrón de herencia	Gravedad
SPTA1	α espectrina	Autosómica recesiva	Severa
SPTB	β espectrina	Autosómica dominante	Leve a moderado
ANK1	Anquirina	Autosómica dominante y recesiva	Leve a severa
ELB42 y SLC4A1	Proteína 4.2 y Banda 3	Autosómica dominante	Leve a moderada

Una de las complicaciones más frecuentes de la EH es la formación de cálculos biliares. Éstos se producen como consecuencia del aumento de bilirrubina indirecta³⁵ y pueden causar obstrucción biliar, que puede evolucionar y afectar el hígado, entre otros órganos.

Pacientes con EH presentan más riesgo de crisis hemolíticas, aplásicas y megaloblásticas que las demás personas, como se presentan a continuación.^{36,37}

- Las crisis hemolíticas generalmente son causadas por infecciones virales que agrandan el bazo y activan el sistema retículo endotelial; generalmente son leves, con poca ictericia, anemia, reticulocitosis y esplenomegalia; pocas veces es necesaria intervención. Las crisis severas se caracterizan por mayor evidencia de ictericia, esplenomegalia, anemia, letargia, dolor abdominal y vómito; para la mayoría de pacientes es suficiente con tratamiento de soporte y de síntomas. Las transfusiones son necesarias solo cuando los niveles de hemoglobina bajan considerablemente.¹
- Las crisis aplásicas son menos frecuentes, pero más graves, también causadas por una infección viral, siendo el agente más común el parvovirus B19³⁸ por su capacidad de inhibir el crecimiento de las células madre eritropoyéticas. En este contexto, es necesario realizar transfusiones de glóbulos rojos y observación en el servicio de hospitalización, ya que si no se trata a tiempo puede causar falla cardíaca o incluso la muerte. Hay bajo número de reticulocitos aun existiendo anemia severa y hay menores niveles de bilirrubina indirecta al haber menos eritrocitos para hemolizar. Usualmente duran de 10 a 14 días.¹
- Las crisis megaloblásticas por deficiencia de folatos son aún más raras, y se presentan más en pacientes con EH y altas demandas de folatos como lo son las mujeres en embarazo, los niños en crecimiento y lo pacientes en recuperación por

crisis aplásica. Para evitarlas se recomienda dieta con 2-3 mg de ácido fólico al día hasta los cinco años, y, posteriormente, 5 mg al día.¹

IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO EN NEONATOS

Como se mencionó previamente, la EH puede cursar con una severidad leve, en donde generalmente no afecta significativamente la vida del paciente, o tener una severidad grave en donde puede traer consecuencias importantes e incluso ocasionar la muerte del paciente. Es por esta razón que a los pacientes con EH se les debe realizar un diagnóstico precoz para darle un tratamiento oportuno.

La presencia de ictericia en los neonatos es bastante frecuente. En ocasiones puede ser secundaria a causas fisiológicas o patológicas (como ocurre en el contexto de hemólisis, sepsis, trauma, prematuridad). Es importante que el clínico sepa diferenciar correctamente la una de la otra. En la literatura se ha descrito que aquella que ocurre de manera fisiológica suele desaparecer a los 3 a 5 días de nacido.³⁹

La hiperbilirrubinemia es una importante causa de deterioro en el neurodesarrollo de por vida,^{40,41} y también, una muy prevenible. El paso libre por la barrera hematoencefálica del exceso de bilirrubina no conjugada permite que ésta se almacene en los ganglios basales, cerebelo y el sistema auditivo de forma irreversible, dañando las células.³³ A esto se le llama *Kernicterus*, que se caracteriza por letargo, llanto agudo, fiebre, convulsiones y puede llegar a causar la muerte.⁴² Esta condición evoluciona a una encefalopatía crónica por bilirrubina en casi el 84% de los infantes, y presenta alteraciones motoras permanentes, discapacidad cognitiva y pérdida de la audición,⁴³ por lo cual representa una importante causa de morbimortalidad. Se ha visto que es más común en países en vía de desarrollo. Las consecuencias secundarias a esta complicación pueden llegar a representar altos costos al sistema de salud.⁴⁴

El temprano egreso de los hospitales y la falta de un adecuado monitoreo en casa pueden limitar el diagnóstico oportuno y por ende el paciente puede llegar a presentar *Kernicterus*, por lo que, al mejorar la vigilancia sobre el neonato en sus primeros días de vida, que facilite el diagnóstico oportuno de la etiología de la hemólisis, su gravedad y tratamiento acorde son medidas costoefectivas.^{42,44}

La formación de cálculos biliares son consecuencia del aumento de la bilirrubina indirecta. Un estudio realizado en Canadá en el 2010 sugiere que los cálculos asintomáticos en infantes están asociados a bajas tasas de complicaciones y son más manejables, pero niños con anemia falciforme, esferocitosis o eliptocitosis tienden a tener más complicaciones y generalmente requieren cirugía.⁴⁶ Las consecuencias más comunes son la colecistitis,

que tiene la colecistectomía laparoscópica temprana como tratamiento de elección,⁴⁷ en el que se extirpa la vesícula de una manera poco invasiva; y la pancreatitis, causada por la activación descontrolada de enzimas digestivas que generalmente no causan más que la inflamación local, requiriendo tratamiento sintomático y de soporte.⁴⁷ Si la obstrucción es prolongada puede ocasionar una enfermedad hepática crónica.⁴⁸ La cual, en fases iniciales es asintomática y cuando empieza a aparecer manifestaciones clínicas, el hígado ya está afectado en una gran parte, por lo que es importante que sea diagnosticado tempranamente. Puede tratarse con cirugía y medicamentos, pero en casos de enfermedad avanzada el paciente puede requerir trasplante para sobrevivir.⁴⁹

TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO

La expectativa de vida de estos pacientes depende del grado de severidad EH que padezcan y el tiempo de inicio de tratamiento. Generalmente, el tratamiento estándar de la EH moderada y severa es la esplenectomía. En casos moderados, generalmente es necesaria en edad prepuberal; y en casos severos, es necesaria la cirugía en lo posible después los seis años.^{4,6,50} Está indicada a pacientes que presenten de forma recurrente crisis hemolíticas, crisis aplásicas graves, esplenomegalia significativa, colelitiasis y retraso en el desarrollo; y está contraindicada en menores de tres años.^{6,51} Se recomienda hacerse por vía laparoscópica, ya que es un procedimiento menos invasivo por lo que tiene menor tasa de morbilidad y representa menor costo.^{52,53} Este procedimiento no cura la EH, los glóbulos rojos conservan sus mutaciones y su forma esferoidal, pero disminuye la hemólisis y los signos que son consecuencia de ésta.

El bazo es un importante órgano linfóide, por lo que al removerlo, el paciente queda inmunocomprometido, por lo que está siendo evaluada la posibilidad de hacer esplenectomías parciales para mantener la función inmunológica y disminuir la tasa de hemólisis.⁶ Estudios han determinado que basta conservar el 15% del parénquima esplénico como lo mínimo para que mantenga una función fagocítica adecuada.⁵⁴⁻⁵⁶

La principal complicación después de realizar una esplenectomía es el riesgo de sepsis fulminante postesplenectomía (SFPE) causado especialmente por bacterias encapsuladas.^{51,57-59} Los agentes causantes principales son el *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* y *Haemophilus influenzae*.^{51,60} Dentro de los factores de riesgo descritos para este desenlace se encuentran mayor severidad de la enfermedad y menor edad del paciente.^{57,59,60} Los pacientes que llegaron a tener cálculos biliares, pueden no tener cambios en los niveles de bilirrubina, por lo que también es recomendada la colecistectomía en estos casos. La hemólisis residual puede aumentar el riesgo de formación de estos cálculos, y con esto, el riesgo de colecistitis y pancreatitis como se mencionó previamente.⁶

Otros tratamientos descritos son:

- Uso de hemoderivados, específicamente unidades de glóbulos rojos para mantener la hemoglobina sobre 7 - 8 g/dL.⁵¹
- Suplementación de folatos para mantener la función eritropoyética. Usada comúnmente en casos moderados y severos.⁵¹
- Aplicación de factores estimulantes de la eritropoyesis para neonatos, ya que sus niveles de eritropoyetina sérica son bajos y ésta se necesita compensar la hemólisis.^{61,62} Sin embargo, su uso es controversial ya que no es muy recomendado ya que es costoso y hay poca evidencia para sobre su costo/efectividad.⁶³

Los microARN están actualmente siendo estudiados como blanco de tratamiento de enfermedades como el cáncer y el trastorno depresivo mayor.⁶⁴ Aún están en experimentación⁶⁵ por lo que aún no se sabe con certeza el efecto en pacientes reales, pero en teoría, la regulación de los miRNA asociados a la EH podrían revertir la mala adhesión de las proteínas en caso de que éstos sean los responsables de la presencia de esferocitos en sangre. Los tratamientos mencionados no cambian la morfología de los eritrocitos ni sus características moleculares, pero evitan la aparición de más complicaciones; en cambio, una supresión del causante de las anomalías en los hematíes podría evitar el cambio molecular y bioquímico de éstos, así, los eritrocitos tendrían su forma bicóncava y fragilidad normales.

CONCLUSIONES

La heterogeneidad de la esferocitosis hereditaria representa un reto diagnóstico para el clínico ya que se puede presentar en un adulto que jamás ha presentado manifestaciones clínicas o en un neonato con daño neurológico permanente. Un adecuado monitoreo del recién nacido con ictericia y búsqueda activa de su etiología, impacta positivamente en la morbimortalidad de la población. Actualmente, el principal tratamiento es la esplenectomía, la cual requiere seguimiento estricto por el riesgo de complicaciones, principalmente infecciosas, se encuentra en campo de investigación la realización de esplenectomía parcial con la finalidad de controlar la enfermedad y disminuir el riesgo de complicaciones. El estudio de los microARN cada vez va tomando más fuerza, en enfermedades como la esferocitosis hereditaria, que son causadas principalmente por defectos en genes y proteínas, y representan un blanco terapéutico, ya que pueden evitar que los cambios morfológicos de los eritrocitos.

REFERENCIAS

1. Perrotta S, Gallagher P, Mohandas N. Hereditary spherocytosis. *Lancet*. 2008; 372(9647): 1411-26. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61588-3.
2. Agre P, Asimos A, Casella J, McMillan C. Inheritance pattern and clinical response to splenectomy as a reflection of erythrocyte spectrin deficiency in hereditary spherocytosis. *N Engl J Med*. 1986; 315(25): 1579-83. DOI: 10.1056/NEJM198612183152504.
3. Huisjes R, Makhro A, Llaudet-Planas E, Hertz L, Petkova-Kirova P, Verhagen L, *et al*. Density, heterogeneity and deformability of red cells as markers of clinical severity in hereditary spherocytosis. *Haematologica*. 2020; 105(2): 338-47. DOI: 10.3324/haematol.2018.188151.
4. Bolton-Maggs P, Langer J, Iolascon A, Tittensor P, King M; General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. 2011. *Br J Haematol*. 2012; 156(1): 37-49. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2011.08921.x.
5. Xie F, Lei L, Cai B, Gan L, Gao Y, Liu X, *et al*. Clinical manifestation and phenotypic analysis of novel gene mutation in 28 Chinese children with hereditary spherocytosis. *Mol Genet Genomic Med*. 2021; 9(4): e1577. DOI: 10.1002/mgg3.1577.
6. Manciu S, Matei E, Trandafir B. Hereditary Spherocytosis - Diagnosis, Surgical Treatment and Outcomes. A Literature Review. *Chirurgia (Bucur)*. 2017; 112(2): 110-6. DOI: 10.21614/chirurgia.112.2.110.
7. Donato H, Crisp R, Rapetti M, García E, Attie M. Esferocitosis hereditaria. Revisión. Parte I. Historia, demografía, etiopatogenia y Diagnóstico. *Arch Argent Pediatr*. 2015; 113(1): 69-80
8. Godal H, Heistø H. High prevalence of increased osmotic fragility of red blood cells among Norwegian blood donors. *Scand J Haematol*. 1981; 27(1): 30-4. DOI: 10.1111/j.1600-0609.1981.tb00448.x.
9. Eber S, Pekrun A, Neufeldt A, Schröter W. Prevalence of increased osmotic fragility of erythrocytes in German blood donors: screening using a modified glycerol lysis test. *Ann Hematol*. 1992; 64(2): 88-92. DOI: 10.1007/BF01715351.
10. Iolascon A, Avvisati R. Genotype/phenotype correlation in hereditary spherocytosis. *Haematologica*. 2008; 93(9): 1283-8. DOI: 10.3324/haematol.13344.
11. Iolascon A, Perrotta S, Stewart G. Red blood cell membrane defects. *Rev Clin Exp Hematol*. 2003; 7(1): 22-56.
12. Delaunay J. The molecular basis of hereditary red cell membrane disorders. *Blood Rev*. 2007; 21(1): 1-20. DOI: 10.1016/j.blre.2006.03.005.
13. An X, Mohandas N. Disorders of red cell membrane. *Br J Haematol*. 2008; 141(3): 367-75. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07091.x.
14. He BJ, Liao L, Deng Z, Tao Y, Xu Y, Lin F. Molecular Genetic Mechanisms of Hereditary Spherocytosis: Current Perspectives. *Acta Haematol*. 2018; 139(1): 60-6. DOI: 10.1159/000486229.
15. Mohandas N. Inherited hemolytic anemia: a possessive beginner's guide. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2018; 2018(1): 377-81. DOI: 10.1182/asheducation-2018.1.377.
16. Tomaiuolo G. Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics. *Biomicrofluidics*. 2014; 8(5): 051501. DOI: 10.1063/1.4895755.

17. Lu T, Rothenberg M. MicroRNA. *J Allergy Clin Immunol*. 2018; 141(4): 1202-7. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.08.034.
18. Bartel D. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004; 116(2): 281-97. DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5.
19. Bushati N, Cohen S. microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2007; 23: 175-205. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123406.
20. Vasudevan S, Tong Y, Steitz J. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*. 2007; 318(5858): 1931-4. DOI: 10.1126/science.1149460.
21. Mohr A, Mott J. Overview of microRNA biology. *Semin Liver Dis*. 2015; 35(1): 3-11. DOI: 10.1055/s-0034-1397344.
22. Dhaliwal G, Cornett P, Tierney L Jr. Hemolytic anemia. *Am Fam Physician*. 2004; 69(11): 2599-606.
23. Hanspal M, Yoon S, Yu H, *et al*. Molecular basis of spectrin and ankyrin deficiencies in severe hereditary spherocytosis: evidence implicating a primary defect of ankyrin. *Blood*. 1991; 77: 165-73.
24. Miraglia del Giudice E, Nobili B, *et al*. Clinical and molecular evaluation of non-dominant hereditary spherocytosis. *Br J Haematol*. 2001; 112: 42-7.
25. Eber S, Gonzalez J, Lux M, *et al*. Ankyrin-1 mutations are a major cause of dominant and recessive hereditary spherocytosis. *Genet* 1996; 13: 214-8.
26. Vermeulen S, Messiaen L, Scheir P, De Bie S, Speleman F, De Paepe A. Kallmann syndrome in a patient with congenital spherocytosis and an interstitial 8p11.2 deletion. *Am J Med Genet*. 2002; 108(4): 315-8. DOI: 10.1002/ajmg.10295.
27. Tanner M. Band 3 anion exchanger and its involvement in erythrocyte and kidney disorders. *Curr Opin Hematol* 2002; 9: 133-9.
28. Cartron J. RH blood group system and molecular basis of Rh-deficiency. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*. 1999; 12(4): 655-89. DOI: 10.1053/beha.1999.0047.
29. Cartron J. Rh-deficiency syndrome. *Lancet* 2001; 358: S57. DOI: 10.1016/S0140-6736(01)07069-6.
30. Chagula D, Rechciński T, Rudnicka K, Chmiela M. Ankyrins in human health and disease - an update of recent experimental findings. *Arch Med Sci*. 2019; 16(4): 715-26. DOI: 10.5114/aoms.2019.89836.
31. Montealegre A, Charpak N, Parra A, Devia C, Coca I, Bertolotto A. Efectividad y seguridad de 2 dispositivos de fototerapia para el manejo humanizado de la ictericia. *An Pediatr*. 2020; 92(2): 79-87. DOI: 10.1016/j.anpedi.2019.02.008.
32. Meisel P, Biebler K, Gens A, Jaehrig K. Albumin binding of photobilirubin II. *Biochem J*. 1983; 213(1): 25-9. DOI: 10.1042/bj2130025.
33. Kasirer Y, Kaplan M, Hammerman C. Kernicterus on the Spectrum. *Neoreviews*. 2023; 24(6): e329-e42. DOI: 10.1542/neo.24-6-e329.
34. Vargas Viveros P, Hurtado Monroy R, Villalobos Alva J. Esplenomegalia. *Rev Fac Med*. 2013; 56 (2): 37-45
35. Njeze G. Gallstones. *Niger J Surg*. 2013; 19(2): 49-55.
36. Gallagher P. Red cell membrane disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005; 13-8. DOI: 10.1182/asheducation-2005.1.13.
37. Eber S, Lux S. Hereditary spherocytosis. Defects in proteins that connect the membrane skeleton to the lipid bilayer. *Semin Hematol*. 2004; 41(2):118-41. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2004.01.002.
38. Brown K. Haematological consequences of parvovirus B19 infection. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*. 2000; 13(2): 245-59. DOI: 10.1053/beha.1999.0071.
39. Slusher T, Zamora T, Appiah D, Stanke J, Strand M, Lee B, *et al*. Burden of severe neonatal jaundice: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Paediatr Open* 2017; 1: e000105. doi:10.1136/bmjpo-2017-000105
40. Alkén J, Håkansson S, Ekéus C, Gustafson P, Norman M. Rates of Extreme Neonatal Hyperbilirubinemia and Kernicterus in Children and Adherence to National Guidelines for Screening, Diagnosis, and Treatment in Sweden. *JAMA Netw Open*. 2019; 2(3): e190858. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.0858.
41. Mwaniki M, Atieno M, Lawn J, Newton C. Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review. *Lancet*. 2012; 379(9814). DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61577-8
42. Cunningham A, Hwang S, Mochly-Rosen D. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and the Need for a Novel Treatment to Prevent Kernicterus. *Clin Perinatol*. 2016; 43(2): 341-54. DOI: 10.1016/j.clp.2016.01.010.
43. Kaplan M, Hammerman C. Understanding severe hyperbilirubinemia and preventing kernicterus: adjuncts in the interpretation of neonatal serum bilirubin. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2005; 356(1-2): 9-21. DOI: 10.1016/j.cccn.2005.01.008
44. Bhutani V, Johnson L. Newborn jaundice and kernicterus--health and societal perspectives. *Indian J Pediatr*. 2003; 70(5): 407-16. DOI: 10.1007/BF02723615.
45. Bhutani V, Johnson L. Kernicterus in the 21st century: frequently asked questions. *J Perinatol*. 2009; 29(S1): S20-S24. DOI: 10.1038/jp.2008.212
46. Bogue C, Murphy A, Gerstle J, Moineddin R, Daneman A. Risk factors, complications, and outcomes of gallstones in children: a single-center review. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010; 50(3): 303-8. DOI: 10.1097/MPG.0b013e3181b99c72.
47. Besinger B, Stehman C. Pancreatitis y colecistitis. En: Tintinalli JE, Stapczynski J, Ma O, Yealy DM, Meckler GD, Cline DM. Tintinalli. Medicina de urgencias, 8e. McGraw Hill; 2018.
48. Alliant Health Plans. Diabetes type 2. Atlanta: Alliant Health Plans; [actualizado el 5 de abril de 2022; acceso el 15 de junio de 2023]. Página web; [aproximadamente 2 pantallas]. Disponible en: <https://ssl.adam.com/content.aspx?productid=83&pid=5&gid=000263&site=alliantplans.adam.com&login=ALLI5730>
49. Smith S, Miloh T. Pediatric Liver Transplantation. *Clin Liver Dis*. 2022; 26(3): 521-35. DOI: 10.1016/j.cld.2022.03.010.
50. Eber S, Armbrust R, Schröter W. Variable clinical severity of hereditary spherocytosis: relation to erythrocytic spectrin

- concentration, osmotic fragility, and autohemolysis. *J Pediatr*. 1990; 117(3): 409-16. DOI: 10.1016/s0022-3476(05)81081-9.
51. Donato H, Crisp R, Rapetti M, García E, Attie M. Esferocitosis hereditaria. Revisión. Parte II. Manifestaciones clínicas, evolución, complicaciones y tratamiento. *Arch Argent Pediatr*. 2015; 113(2): 168-76. DOI: 10.5546/aap.2015.168.
 52. Wood J, Partrick D, Hays T, Sauaia A, *et al*. Contemporary pediatric splenectomy: continuing controversies. *Pediatr Surg Int* 2011;27(11):1165-71
 53. Rescorla F, Engum S, West K, Tres Cherer L, *et al*. Laparoscopic splenectomy has become the gold standard in children. *Am Surg* 2002; 68(3): 297-301
 54. Bader-Meunier B, Gauthier F, Archambaud F, Cynober T, Miélot F, Dommergues JP, *et al*. Long-term evaluation of the beneficial effect of subtotal splenectomy for management of hereditary spherocytosis. *Blood*. 2001; 97(2): 399-403.
 55. Rice H, Oldham K, Hillery C, Skinner M, O'Hara S, Ware R. Clinical and hematologic benefits of partial splenectomy for congenital hemolytic anemias in children. *Ann Surg*. 2003; 237(2): 281-8.
 56. Seshadri P, Poulin E, Mamazza J, Schlachta C. Technique for laparoscopic partial splenectomy. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2000;10(2):106-9
 57. Krivit W, Giebink G, Leonard A. Overwhelming postsplenectomy infection. *Surg Clin North Am*. 1979; 59(2): 223-33
 58. Posey D, Marks C. Overwhelming postsplenectomy sepsis in childhood. *Am J Surg*. 1983;145(3):318-21.
 59. Schilling R. Estimating the risk for sepsis after splenectomy in hereditary spherocytosis. *Ann Intern Med*. 1995;122(3):187-8
 60. Singer D. Postsplenectomy sepsis. *Perspect Pediatr Pathol*. 1973; 1: 285-311
 61. Yamashita H, Kukita J, Ohga S, Nakayama H, *et al*. Serum erythropoietin levels in term and preterm infants during the first year of life. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1994; 16(3): 213-8
 62. Kling P, Schmidt R, Roberts R, Widness J. Serum erythropoietin levels during infancy: associations with erythropoiesis. *J Pediatr*. 1996; 128(6): 791-6
 63. Morrison J, Neufeld E, Grace R. The use of erythropoietin stimulating agents versus supportive care in newborns with hereditary spherocytosis: a single center's experience. *Eur J Haematol*. 2014; 93(2): 161-4.
 64. Wu Z, Cai Z, Shi H, Huang X, Cai M, Yuan K, *et al*. Effective biomarkers and therapeutic targets of nerve-immunity interaction in the treatment of depression: an integrated investigation of the miRNA-mRNA regulatory networks. *Aging (Albany NY)*. 2022; 14(8):3569-3596. DOI: 10.18632/aging.204030.
 65. He B, Zhao Z, Cai Q, Zhang Y, Zhang P, Shi S, *et al*. miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in Cancer. *Int J Biol Sci*. 2020; 16(14):2628-2647. DOI: 10.7150/ijbs.47203.