

Laboratorinė medicina.
2022, t. 24, Nr. 1(91), p. 45–52.

Naujų eritrocitų parametrų klinikinis pritaikymas. Literatūros apžvalga

Rytė Damaševičiūtė¹
Rėda Matuzevičienė^{2,3}

Santrauka

Įvadas. Modernūs hematologiniai analizatoriai yra neatsiejama laboratorinės medicinos ir klinikinės gydytojų praktikos dalis, o bendras hematologinis tyrimas yra pigus, paprastas ir plačiai pritaikomas. Hematologinio tyrimo rezultatų interpretacija reikalinga diagnozuojant ir atliekant įvairių ligų patikrą, diferencinę diagnostiką, gydymo stebėseną bei prognozuojant ligų baigtis. Automatizuoti hematologiniai prietaisai dar labiau padidina tyrimų našumą ir tikslumą. Be įprastų kiekybinių hematologinių rodiklių, nusakančių absoliutų ir reliatyvų ląstelių skaičių, analizės rezultatai vis dažniau pateikia naujų duomenų apie eritrocitų pasiskirstymo plotį, retikulocitų/eritrocitų hemoglobina, branduolėtus ir fragmentuotus eritrocitus bei kitus rodiklius, kurie gali suteikti papildomos informacijos apie įvairias patologines būkles.

Tyrimo tikslas. Atlikti literatūros analizę ir pateikti šiuolaikinių hematologinių analizatorių naujų parametrų klinikinės reikšmės apžvalgą.

Tyrimo metodai. Literatūros apžvalgai atlikti pasitelkta Medline (PubMed) duomenų bazė ir EFML (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) prieiga prie indeksuojamų mokslinių žurnalų be paieškos laikotarpio apribojimų, naudojant šiuos reikšminius žodžius: automatizuoti hematologiniai analizatoriai, bendras hematologinis tyrimas, nauji parametrai, automatizuoti anemijos/leukemijos parametrai, klinikinė reikšmė. Straipsniai atrinkti pagal išsikelto darbo tikslą, nesivadovaujant iš anksto nustatytu protokolu.

Išvados. Pasirodo vis daugiau studijų, nagrinėjančių naujų parametrų naudą diferencijuojant įvairias infekcines, uždegimines ligas, atliekant atrankinius tyrimus, prognozuojant onkologines ar kitas lėtines ligas ar priimant įvairių intervencijų taikymo sprendimus. Naujos analitės papildė įprastus įvairių tyrimų rezultatus, suteikdamos daugiau tikslumo ir specifiškumo. Taigi, galima teigti, kad nauji pažangūs eritrocitų, leukocitų ir trombocitų rodikliai gali suteikti papildomos informacijos medicinos laboratorijoms ir gydytojams, o tolesni tyrimai, patvirtinantys jų naudą, palengvins įvairių patologinių būklių diagnostiką, gydymo planavimą ir pacientų būklės vertinimą.

Reikšminiai žodžiai: automatizuoti hematologiniai analizatoriai, nauji parametrai, bendras hematologinis tyrimas, klinikinė reikšmė.

ĮVADAS

Modernūs hematologiniai analizatoriai yra neatsiejama laboratorinės medicinos ir klinikinės gydytojų

praktikos dalis, o bendras hematologinis tyrimas yra pigus, paprastas ir plačiai pritaikomas klinikinėje praktikoje. Hematologinio tyrimo rezultatų interpretacija reikalinga diagno-

¹Vilniaus universiteto Medicinos fakultetas
Vilnius University, Faculty of Medicine
El. paštas: r.damaseviciute@gmail.com

²Vilniaus universiteto Medicinos fakulteto Biomedicinos mokslų instituto Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir laboratorinės medicinos katedra

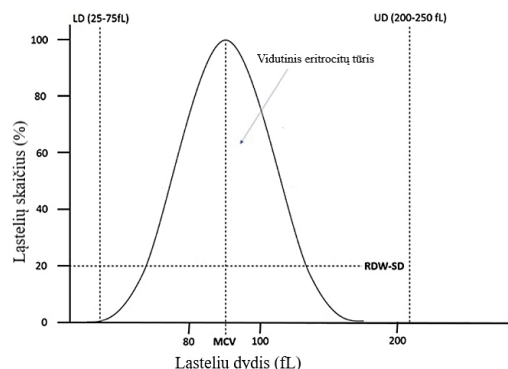
Department of Physiology, Biochemistry, Microbiology and Laboratory Medicine, Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, Vilnius University

³Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centras

Vilnius University Hospital Santaros clinics, Center of Laboratory Medicine

zuojant ir atliekant įvairių ligų patikrą, diferencinę diagnostiką, gydymo stebėseną, prognozuojant ligų baigtis [1]. Automatizuoti hematologiniai prietaisai dar labiau padidina tyrimų našumą ir tikslumą. Be įprastų kiekybinių hematologinių rodiklių, nusakančių absoliutų ir reliatyvų ląstelių skaičių, vis dažniau analizės rezultatai pateikia naujų duomenų apie nesubrendusius granulocitus, retikulocitų/eritrocitų hemoglobina, branduolėtus ir fragmentuotus eritrocitus, kraujodaros pirmtakus, nesubrendusių trombocitų frakciją ir kitus, kurie gali suteikti papildomos informacijos apie įvairias patologines būklės [2, 3]. Deja, nauji šiuolaikinių analizatorių parametrai klinikinėje praktikoje naudojami ribotai, dažnai tik mokslinių tyrimų tikslais ir nepasinaudojama visomis prietaisų galimybėmis. Nors ne visi nauji rodikliai gali būti patikimai įtraukti į kliniki-
nių sprendimų priėmimo procesą, svarbu aptarti jau esamas studijas ir galimas šių analizių taikymo situacijas.

Dauguma naujų parametrų išvesti naudojant jau esamas impedanso, optinės sugerties, šviesos sklaidos ir fluorescencijos technologijas. Modernių hematologinių prietaisų parametrai pasižymi didesniu tikslumu ir diegiami naudojant naujus algoritmus, fluorescencinius dažiklius, specifinius tam tikroms ląstelių struktūroms, ir patobulintą duomenų apdorojimo programinę įrangą. Tobulinant minėtas technologijas, leukogramą galima klasifikuoti į vis mažesnes ląstelių subpopuliacijas. Pavyzdžiui, *Horiba* hematologinis analizatorius pateikia 10 dalių leukogramos rezultatus [4].



1 pav. Eritrocitų histograma
Fig. 1. Erythrocyte histogram

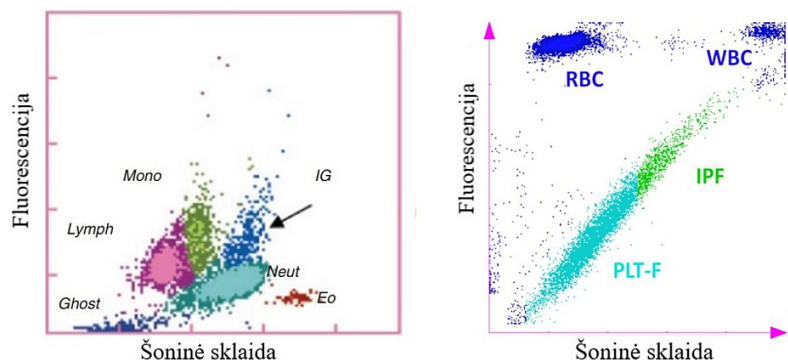
Lentelė. Nauji eritrocitų parametrai
Table. New erythrocyte parameters

Nauji parametrai	Žymėjimas	Išraiška
Eritrocitų pasiskirstymo plotis	RDW	%
Eritrocitų pasiskirstymo pločio indeksas	RDWI	M/ l
RDW apimties variacija	RDW-CV	%
RDW standartinis nuokrypis	RDW-SD	l
Branduolėti eritrocitai	NRBC	%, $\times 10^9/l$
Hipochrominiai eritrocitai	HYPO-He	%
Hiperchrominiai eritrocitai	HYPER-He	%
Mikrocitiniai eritrocitai (<60 fl)	MIC (MICRO)	%
Makrocitiniai eritrocitai (>120 fl)	MAC (MACRO)	%
Eritrocitų dydžio faktorius (kvadratinė šaknis iš MCV ir MRV sandaugos)	RSF	fl
Mikrocitinės anemijos faktorius	MAF	#
Hb pasiskirstymo plotis	HDW	%
Ląstelių hemoglobino pasiskirstymo plotis	CHDW	%
Mažo tankio hemoglobinas	LHD	%
Fragmentuoti eritrocitai	FRC	%, $\times 10^9/l$
Eritrocitų vaidukliai	RBC ghosts	1012/l
Lizei atsparios ląstelės	UGC	%
Retikulocitų Hb	RET-He (Sysmex) MCHr (Abbot) CHCr (Abbot) CHr (Siemens)	pg pg % pg
Vidutinis retikulocitų tūris	MRV	fl
Retikulocitų apimties variacija	RDWR-CV	%
Retikulocitų pasiskirstymo pločio standartinis nuokrypis	RDWR-SD	fl
Nebrandžių retikulocitų frakcija	IRF	%

fl – femtolitrai, % – procentinė vertė, # – skaitinė vertė

Hematologinių analizatorių surinkta ir apdorota informacija grafiškai pateikiama eritrocitų, histogramoje, kurios x ašis atspindi ląstelių dydį, o y ašis – jų santykinį skaičių (1 pav.). Naudojant fluorescencijos ir šoninės sklaidos metodus rezultatai gali būti

pateikiami įvairiomis sklaidos diagramomis, kurių pakitimai gali būti priskiriami tam tikroms patologinėms būklėms (pvz., neutrofilija, eozinofilija, leukemija, reakcinė limfocitozė, leukopenija) ar suteikti informacijos apie jas (2 pav.) [5].



2 pav. Sklaidos diagramos su nebrandžių granulocitų frakcija (IG) (kairėje) ir nebrandžių trombocitų frakcija (IPF)

Eo – eozinofilai, Ghost – vaidukliai, IG – nebrandūs granulocitai, IPF – nebrandžių trombocitų frakcija, Lymph – limfocitai, Mono – monocitai, Neut – neutrofilai, PLT-F – subrendę trombocitai, RBC – eritrocitai, WBC – leukocitai.

Fig. 2. Scatterplots with immature granulocyte fraction IG (left) and immature platelet fraction (IPF)

Eo – eosinophils, IG – immature granulocytes, IPF – immature platelet fraction, Lymph – lymphocytes, Mono – monocytes, Neut – neutrophils, PLT-F – mature platelets, RBC – red blood cells, WBC – white blood cells.

NAUJI ERITROCITŲ PARAMETRAI

Eritrocitų pasiskirstymo plotis

Eritrocitų pasiskirstymo pločio (RDW) rodiklis tradiciškai naudojamas anemijų diagnostikai, kaip objektyvi anizocitozės (nevienodo eritrocitų dydžio) įvertinimo priemonė. Normos reikšmės varijuoja nuo 10 % iki 19,5 % priklausomai nuo naudojamo prietaiso [6]. Taip pat pastebima, kad RDW didėja su amžiumi.

Eritrocitų pasiskirstymo pločio klinikinės reikšmės pavyzdžiai

Susidomėjimas šio rodiklio pritaikymu ne tik anemijų diferencinei diagnostikai ypač išaugo po 2007 metais atliktos G. M. Felker ir kolegų studijos, kurioje RDW analizuotas dviejose širdies nepakankamumu sergančių pacientų populiacijose. Padidėjęs RDW buvo stiprus nepriklausomas prognostinis žymuo, susijęs su didesniu sergamumu ir mirtingumu. Stebėtina, kad šis rodiklis buvo statistiškai labiau asocijuotas su pacientų baigtimis nei įprastai stratifikacijai naudojami rodikliai: kairiojo skilvelio išstūmimo frakcija, Niujorko širdies asociacijos (NYHA) funkcinė klasė, inkstų funkcija [7].

2018 metų metaanalizėje įrodyta, kad RDW yra prognostinis rodiklis vertinant ūminį koronarinių sindromu sergančių pacientų mirtingumą. Mažesnė rodiklio reikšmė buvo susijusi su mažesniu skaičiumi mirčių nuo kardiovaskulinių įvykių ir visų kitų mirties priežasčių (RR 0,35 (95 % CI 0,30–0,40), $p < 0,00001$, $I^2 = 53\%$) [8].

Didesnė RDW rodiklio reikšmė prieš onkohematologinių navikų gydymą prognozavo blogesnes išgyvenamumo baigtis S. Ay ir kolegų atliktoje sisteminėje apžvalgoje ir metaanalizėje, į kurią įtraukti 7 perspektyvieji tyrimai ir 1 031 pacientas. Rodiklio prognozė taip pat pasitvirtino suskirstius navikus į tam tikras grupes, pvz.: dauginė mieloma, difuzinė didelių b ląstelių limfoma. RDW ribinė reikšmė įvairiose studijose skyrėsi ir buvo nuo 14 iki 18. RDW nagrinėtas ir pavienėse ar bandomosiose kitų navikų studijose: plaučių, gaubtinės žarnos, krūties, prostatos [9–12].

Kitoje metaanalizėje nagrinėtos RDW sąsajos su lėtine inkstų liga sergančių pacientų mirtingumu. Išanalizavus 9 įtraukimo kriterijus atitikusias studijas (117 047 pacientai) nustatyta, kad RDW padidėjimas kas 1 % atitinkamai didina mirtingumą 47 %.

Siekiant suskirstyti pacientus pagal rizikos grupes, siūloma atlikti pakartotinį RDW tyrimą dinamiškai vertinti [13].

Eritrocitų pasiskirstymo pločio indeksas

Tai rodiklis, kuris gaunamas pagal formulę: $MCV \times RDW / \text{eritrocitų skaičius}$, kur MCV yra vidutinis eritrocito tūris, RDW – eritrocitų pasiskirstymo plotis. Pasitvirtino šio rodiklio klinikinė reikšmė diferencijuojant talasemiją ir geležies stokos anemiją. Dviejose studijose, kurios lygino RDW ir RDWI rezultatus, RDWI buvo tinkamesnis minėtų patologijų diferencinei diagnostikai (RDW Youdeno indeksas (RDW-YI) S. Plengsuree ir kt. studijoje buvo 70,86, o T. Jameel ir kt. – 83,0) [14, 15].

Eritrocitų pasiskirstymo pločio variacijos koeficientas ir standartinis nuokrypis

Kai kurie hematologiniai analizatoriai RDW reikšmės pateikia dviem rodikliais: variacijos koeficientu (RDW-CV, %) bei standartiniu nuokrypiu (RDW-SD, fl). RDW-CV apskaičiuojamas pagal formules (formulės priklauso nuo hematologinio analizatoriaus gamintojo), kuriose naudojamas ir MCV rodiklis, o RDW-SD yra tiesioginis parametras, gaunamas iš RDW histogramos. Anksčiau aptartos studijos naudojo procentinę RDW išraišką, tačiau reikia pabrėžti, kad RDW-CV yra santykinis rodiklis (pvz.: Beckman Coulter gamintojo naudojama formulė: $1SD/MCV \times 100$), o formulės sudėtinų dalių proporcingas kitimas gali duoti normalią reikšmę, neatspindint eritrocitų morfologijos pokyčių [16]. Jei analizatorius pateikia tiek RDW-SD, tiek RDW-CV reikšmes, svarbu įvertinti abu rodiklius, siekiant išvengti klaidingų eritrocitų anizocitozės interpretacijų [17]. Retikulocitų šie rodikliai ir jų analogai (RDWR-CV, RDWR-SD) dažniau naudojami moksliniams tyrimams.

Branduolėti eritrocitai

Branduolėti eritrocitai (BE) – tai raudonieji kraujo kūneliai, kurie turi branduolį. Šios ląstelės normos atveju aptinkamos tik vaisiaus, naujagimio tarpsniu ir retais atvejais – nėščiosioms, todėl jų buvimas suaugusiųjų kraujyje rodo padidėjusį hemopoezės aktyvumą, kurį lemia tam tikros patologinės būklės (pvz.: hemolizė, būklė po kaulų čiulpų supresijos) [18, 19].

Jau praeitame amžiuje įvairių ligų diagnostika ir prognozė buvo susieta su branduolėtų eritrocitų aptikimu [20–22]. Branduolėtų eritrocitų patekimo į kraują priežastis apibendrintai galėtume suskirstyti į šias grupes: a) hiposplenizmas, asplenija; b) anemijos; c) hipoksija d); kaulų čiulpų patologija; e) ekstramedulinė eritropoezė; f) kitos priežastys [23]. Susidomėjimas šiomis ląstelėmis buvo aktualus ir XX a. viduryje, kai S. O. Schwartz su kolegomis atliko 10 metų retrospektyviąją analizę, kurioje vertino pagal tam tikras ligas (vėžys, širdies ligos, infekcijos, leukemijos ir t. t.) sugrupuotus 1 500 pacientų, kuriems morfologiniame kraujo tepinėlyje aptikta branduolėtų eritrocitų. Šis hematologinis rodiklis koreliavo net su 50 % pacientų mirtingumu [22]. Įrodžius, kad kokybinė kraujo analizė ir branduolėtų eritrocitų aptikimas koreliuoja su įvairių ligų prognoze, parametras įtrauktas į automatizuotus analizatorius ir pradėtas naudoti plačiau. Modernūs analizatoriai, gebantys ne tik pateikti išpėjimą (vėliavos žymuo) apie galimą BE buvimą periferiniame kraujyje, bet ir tiksliai įvertinti jų skaičių, leido išvengti senesniems analizatoriams būdingų netikslumų, kurie iškreipdavo rezultatus priskirdami branduolėtus eritrocitus prie absoliutaus leukocitų skaičiaus (naudojant impedanso metodą ar esant tam tikriems tikslios analizės trikdžiams: dideliems trombocitams, jų agregatams ar eritrocitams, kurie likdavo mėginyje dėl nevisiškos eritrocitų lizės) [19, 24]. Anksčiau BE būdavo apskaičiuojami ir įtraukiami į bendrą leukocitų skaičių tik atliekant morfologinę analizę. Dėl šios priežasties branduolėtos ląstelės galėjo būti neidentifikuotos, jei jų branduoliai nesiekdavo leukocitų branduolių normos [25]. Šiuolaikiniai analizatoriai (pvz. Sysmex XN) geba apskaičiuoti BE net ir esant labai mažoms jų koncentracijoms, o tai ypač svarbu suaugusiems pacientams, kai šios ląstelės reiškia slypinčią patologiją [26].

Klinikinės reikšmės pavyzdžiai

Naujagimiai. A. A. Baschat ir kolegų nustatė, kad neišnešiotiems naujagimiams (<34 sav.) >4 dienas išliekantis padidėjęs branduolėtų eritrocitų skaičius lemia reikšmingą sergamumą (jautrumas 82 %, specifiskumas 96 %) [26]. Panaši sergamumo asociacija pastebėta ir tiriant išnešiotus, bet labai mažo svorio naujagimius [27]. Kitas M. Cremer ir kolegų tyrimas analizavo neišnešiotus, mažiau nei 1,5 kg sveriančius naujagimius. Antra–penktą dieną po gimimo nusta-

tytas padidėjęs BE skaičius buvo nepriklausomas didesnį mirtingumą lemiantis veiksnys [28]. Branduolėtų eritrocitų kiekis buvo tirtas ir virkštelės kraujyje. Pastebėta ląstelių skaičiaus koreliacija su gimdymo metu patirta asfiksija, lėtine hipoksija prieš gimdymą ir ankstyvomis naujagimių komplikacijomis. Branduolėti eritrocitai gali būti ir ankstyvas naujagimių sepsio rodiklis nepriklausomai nuo gestacinio amžiaus [29].

Vaikai. Perspektyvioji C. Schaera ir kolegų studija, analizavusi intensyviosios terapijos skyriuje gydomus vaikus, neparodė stiprios BE koreliacijos su nepalankiomis baigtimis, palyginti su naujagimių tyrimais. Taigi, ši kraujo parametras klinikinėje praktikoje rekomenduojama taikyti naujagimiams iki mėnesio amžiaus [30].

Nėščiosios. Kelios studijos tyrė virkštelės kraujyje randamus branduolėtų eritrocitus, kai moterims nėštumo metu buvo diagnozuota preklampsija. Kiekviename tyrime buvo pastebėtas padidėjęs BE skaičiaus ryšys su ankstyvomis naujagimių komplikacijomis [31–33].

Suaugusieji. Pacientams, kuriems buvo atlikta kamieninių ląstelių transplantacija (giminingų ar negiminingų donorų alogeninė, autologinė, virkštelės ląstelių), didėjantis BE rodiklis po transplantacijos koreliavo su didesniu mirtingumu (BE skaičius $>200 \times 10^6/l$). Taigi, šis parametras galėtų būti naudojamas būklės po transplantacijos progresavimui bei sunkumui stebėti ir vertinti [34]. Kaip blogos prognozės rodiklis, branduolėtų eritrocitų skaičius periferiniame kraujyje buvo perspektyviai vertintas ir intensyviosios terapijos skyriaus pacientams [35].

Prognostiniai modeliai. Kuriami prognostiniai modeliai (pvz.: ūminio pankreatito prognozei, kritinės būklės pacientų mirtingumui įvertinti) įtraukiant naujuosius hematologinius parametrus į įvairias dauginio ligotumo ir ligos sunkumo vertinimo sistemas (Charlson indeksas, APACHE II, SOFA) [36, 37].

Branduolėtų eritrocitų ir jų skaičiaus nustatymo automatizavimas kliniškai reikšmingas ne tik įtariant įvairias būkles ir ligas, bet ir todėl, kad vystantis technologijų tikslumui ir specifiškumui padeda išvengti netikslių diagnostinių interpretacijų, pvz. dėl branduolėtų eritrocitų klaidingai padidėjusio leukocitų skaičiaus įvertinimo maskuotos leukopeninio sepsio diagnozės [38].

Taigi, nors branduolėti eritrocitai nėra patys naujausi rodikliai, įtraukti į automatizuotus analizatorius, jų kli-

nikinis pritaikomumas yra labai platus. Gydytojai, žinodami šio rodiklio reikšmę, galėtų sėkmingai diferencijuoti patologines būkles ir laiku paskirti tinkamą gydymą.

Hipochrominiai ir hiperchrominiai eritrocitai

Eritrocitai pagal Hb kiekį gali būti skirstomi į hiperchrominius ($>140 g/l$) ir hipochrominius. Šie rodikliai išreiškiami procentine dalimi iš eritrocitų hemoglobino koncentracijos histogramos.

Klinikinės reikšmės pavyzdžiai

Hematologinių analizatorių hiperchrominių eritrocitų rodiklis gali būti naudojamas paveldimos sferocitozės (PS) patikrai. Ši liga šiaurės europiečių populiacijoje aptinkama vienam iš 2000 gyventojų ir yra viena dažniausiai diagnozuojamų paveldimų eritrocitų membranopatijų. Įgytos sferocitozės priežastys, pvz. autoimuninė hemolizinė anemija, transfuzijos pasekmės, gyvačių įkandimai, hiposplenizmas, identifikuojamos kliniškai. Tačiau jei PS įtariama iš anamnezės ir klinikinių radinių, hiperchrominių eritrocitų rodiklis galėtų būti patikros priemone siekiant identifiкуoti sferocitinę eritrocitų populiaciją ir būtų indikacija skirti tolesnį ištyrimą diagnozei patvirtinti. N. Sugandha ir kolegų tyrime simptominės (blyškumas, gelta, organomegalija, akmenligė) paveldimos sferocitozės tiriamiesiems 6,3 % ribinė vertė buvo 100 % jautri ir 99 % specifika PS diagnozei [39]. Maža minėto tyrimo imtis (21 pacientas) galbūt lėmė didelį jautrumą ir specifiškumą, tačiau S. Rooney ir kolegų tyrime, kuriame analizuota 740 vaikų, sergančių paveldima sferocitoze, 4,9 % ribinė reikšmė buvo panašaus jautrumo ir specifiškumo (atitinkamai 96,4 % ir 99,1 %) [40]. Aptikti padidėjusį šį rodiklį ypač svarbu esant lengvai ar vidutinei PS formai, kai nėra ryškios hemolizės ir klinikinių simptomų, palengvinančių diagnostiką. J. W. Deuel ir kt. tyrime, retrospektyviai išanalizavus 162 pacientus, turinčius $>10 \%$ hiperchrominių eritrocitų, net trečdaliui iš jų nustatyta PS. Todėl naudinga šį rodiklį taikyti paveldimų membranopatijų patikrai, kai nėra ryškių ligos simptomų, ir sprendžiant dėl tolesnio ištyrimo, kad būtų galima diferencijuoti nuo įgytos hemolizės priežasčių [41, 42].

Patologinių būklių patikrai gali būti naudojamas ir hipochrominių eritrocitų rodiklis. M. Rehu ir kolegų tyrė, ar naudojant hipochrominių eritrocitų ir retikulocitų Hb parametrus

galima pakankamai specifiškai diferencijuoti geležies stokos anemiją nuo lėtinių ligų anemijos. Retrospektyviai išanalizavus šiuos rodiklius 58 pacientams, sergantiems geležies stokos anemija, ir 129 pacientams, kuriems nustatyta lėtinių ligų anemija, buvo gautas net 92,3 % specifiškumas diferencijuojant minėtas patologijas ($AUC 0,88 \pm 0,03$). Šie rodikliai taip pat pranašesni už tradicinius (pvz.: MCH – vidutinis eritrocitų hemoglobinas, MCV – vidutinis eritrocito tūris), nes pastarieji ligos fone kinta lėčiau už naujuosius [43]. Taip pat jų derinys padeda tiksliau identifiкуoti ir nėščiųjų geležies stokos anemiją, kai įprasti rodikliai, pvz. Hb, nėra patikimi dėl hemodilucijos ar aktyvesnės eritropoezės [44].

2015 metais atlikta metaanalizė, kurioje ieškota diskriminanto, padedančio atskirti talasemiją nuo geležies stokos anemijos. Galutinę analizę sudarė 99 studijos, o pacientų skaičius siekė beveik 135,5 tūkst. Ši analizė reikšminga, nes tiek geležies stokos, tiek talasemija yra mikrocitinės hipochrominės anemijos, kurių neįmanoma atskirti naudojant įprastus hematologinius rodiklius. Mikrocitinių ir hipochrominių eritrocitų santykis įvertintas kaip tinkamiausias identifiкуoti pacientus, kuriems turėtų būti atliekamas papildomas ištyrimas talasemijai nustatyti, bet ne šiai ligai diagnozuoti [45].

Mikrocitiniai ir makrocitiniai eritrocitai

Tai procentinės išraiškos matmenys, parodantys kraujo mėginyje esanti mikrocitinių (MIC%) ir makrocitinių (MAC%) eritrocitų kieki. Mikrocitų ir makrocitų kiekis taip pat gali būti vertinamas vizualiai, tačiau hematologinių analizatorių pateikiami rezultatai yra daug tikslesni.

Klinikinės reikšmės pavyzdžiai

I. H. Yasak vadovaujama tyrėjų grupė iškėlė hipotezę, kad MIC% ir MAC% rodikliai kartu su hiper- ir hipochrominiais eritrocitais gali būti naudojami ūminio išeminio sindromo sunkumui vertinti. Nustatyta, kad MAC% yra nepriklausomas sudėtinės SYNTAX skalės predikcinis rodiklis. Ši skalė parodo suminę vertę, kuri skaičiuojama skiriant balus už daugiau nei 50 % susiaurėjusias vainikines kraujagysles, kurių spindis $>1,5 cm$. Nors minėta studija pagrindė rodiklių efektyvumą, tirta imtis yra per maža (103 tiriamųjų), kad juos būtų galima patikimai taikyti klinikinėje praktikoje [46].

MIC% kartu su kitais rodikliais gali būti naudojamas geležies stokos anemijos ir talasemijos diferencinei diagnostikai [47].

Padidėjusi MAC% reikšmė gali reikšti vitamino B12, folatų trūkumą arba būti ankstyvas mielodisplazijos sindromo žymuo [48].

Eritrocitų dydžio faktorius, mikrocitinės anemijos faktorius, mažas hemoglobino tankis

Eritrocitų dydžio faktorius (RSF) – tai sudėtinis rodiklis (*Beckman Coulter* HA), kuris apskaičiuojamas ištraukus kvadratinę šaknį iš subrendusių eritrocitų ir retikulocitų tūrio sandaugos ir gali būti CHR rodiklio atitiktumuo [49].

Klinikinės reikšmės pavyzdžiai

E. Urrechaga ir kolegų atliktoje studijoje, nustačius šio rodiklio normos reikšmes (91,1–114,4 fl), taip pat tirta RSF klinikinė nauda. Tyrimas parodė, kad ribinė 87,7 fl reikšmė buvo 99,4 % jautri ir 90,6 % specifika diferencijuojant pacientus, sergančius anemija dėl eritropoezės nepakankamumo (geležies stokos anemija, talasemija). Taip pat šis rodiklis pasižymėjo didesniu efektyvumu nei CHR minėtoje pacientų grupėje. Nepaisant palankių rezultatų, RSF rodiklis dažniau naudojamas moksliniais tikslais [50]. Mikrocitinės anemijos faktorius apskaičiuojamas Hb ir MCV sandaugą padalinus iš 100, o normos reikšmių intervalas yra 96–166. Šio rodiklio klininis pritaikymas tirtas nedidelėse pavienėse studijose, siekiant palengvinti lėtinių inkstų bei paveldimų širdies ligų, geležies stokos anemijų diagnostiką [51, 52]. Mikrocitinės anemijos faktorius (MAF) ir mažo tankio hemoglobinas (LHD) gali būti naudojami vertinant lėtinių inkstų ligą sergančių ir dializuojamų pacientų organizmo geležies atsargas ir gydymo eritropoetinu atsaką. Esant ribinėms tradicinių klinikose naudojamų biožymenų reikšmėms (transferino saturacija, feritinas), naujieji parametrai leistų patikslinti diagnozę ir užtikrinti tinkamą gydymą [53]. LHD ir MAF buvo tirti kaip geležies trūkumą turinčių pacientų atrankos rodikliai atleto ir kraujo donorų populiacijose [54, 55].

Hemoglobino pasiskirstymo plotis

Hemoglobino pasiskirstymo plotis (HDW) – tai matmuo, parodantis eritrocitų hemoglobino koncentracijos he-

terogeniškumą (*Technicon H1* analizatorius) ir dažniau yra naudojamas tyrimų tikslais.

Klinikinės reikšmės pavyzdžiai

H. H. Billett atliktoje tyrime buvo įrodytas HDW kaip objektyvaus parametro naudingumas vertinant pjautuvinės anemijos skausminę krizę. Stabilios būsenos pjautuvinės anemijos pacientams išmatuotas HDW viršijo normą ir siekė 3,89 gm/dl ($\pm 0,82$ gm/dl), o esant skausminei krizei HDW krito iki 3,12 gm/dl ($\pm 0,40$ gm/dl) [56]. Rodiklis tirtas ir siekiant patikslinti diferencinę hipochrominių mikrocitinių anemijų diagnostiką dėl geležies trūkumo ir talasemijos, tačiau diskriminantinė analizė, pridėjus HDW, MCV ir MCH rodiklius, nepagerino minėtų patologinių būklių klasifikacijos [57]. Aptartos studijos atliktos XX a. pabaigoje, o naujesnių publikacijų, nagrinėjančių šio ir ląstelių HDW (CHDW) rodiklio galimą pritaikymą, nėra.

Fragmentuoti eritrocitai

Fragmentuoti eritrocitai, arba šistocitai, (norma 0,03–0,58 %) yra ląstelinės, neįprastos formos atplaišos, kurios susidaro dėl mechaninio pažeidimo (dirbtiniai širdies vožtuvai), esant endokarditui, aortos aneurizmai, ir yra būdingos mikroangiopatijoms: hemoliziniam ureminiam sindromui (HUS), trombozinei trombocitopeninei purpurai (TTP), diseminuotai karcinomai, su transplantatu asocijuotai trombozinei mikroangiopatijai, citotoksinei chemoterapijai, DIK (angl. *disseminated intravascular coagulation*), infekcijoms. *Sysmex* ir *Siemens Advia* prietaisai pateikia šio rodiklio kiekybinę reikšmę, kuri nustatoma fiksuojant fragmentų dydį, nepaisant morfologijos. Prietaisų jautrumas yra 100 %, tačiau specifiskumas siekia vos 20 % dėl nespecifinių fragmentų ar anizopoikilocitozės (įvairi ląstelių forma ir dydis), todėl, hematologiniame analizatoriui aptikus fragmentuotus eritrocitus, indikuojamas morfologinis tepinėlio tyrimas [25]. Jei analizatorius šistocitų neaptinka, galima patikimai atmesti trombozinę mikroangiopatiją [58]. 2021 metais atnaujintos šistocitų identifikacijos, diagnostikos ir kvantifikacijos rekomendacijos, kuriose, įtarus trombozinę mikroangiopatiją ir hematologiniams analizatoriams aptikus šistocitų, siūloma toliau tirti mėginius atliekant morfologinius testus [59].

Lizei atsparios ląstelės

Šis rodiklis (UGC) indikuoja pakitusius eritrocitus, pvz.: kodocitus (angl. *target cells*), eritrocitus, turinčius in-

kliuzų ar vaisiaus hemoglobina. 2014 m. atliktame tyrime UGC rodiklis buvo padidėjęs tik tuose mėginiuose, kuriuose buvo aptinkama ir kodocitų. *Beckman Coulter* analizatoriaus automatinis lizei atsparių ląstelių identifikavimas puikiai koreliavo su morfologine ląstelių analize ($r = 0,944$, $p = 0,001$). Šis rodiklis nėra plačiai naudojamas laboratorijose, tačiau tai nereiškia, kad jis negali būti naudingas. Reikalingos tolesnės studijos, kad būtų galima ištirti šio rodiklio taikymą siekiant diferencijuoti ligas, kurioms būdingas kodocitų padaugėjimas, įvertinti tų ligų sunkumą ir atsaką į gydymą [60].

Mentznerio indeksas

Šis indeksas (MCV/eritrocitų skaičius) pirmą kartą aprašytas 1973 metais siekiant diferencijuoti jau minėtas dažniausias mikrocitinių anemijų priežastis – talasemiją ir geležies stokos anemiją. Indeksas apskaičiuojamas iš įprastai atliekamo kraujo tyrimo rodiklių – MCV padalijus iš eritrocitų skaičiaus [61]. Studijoje, kuri analizavo įvairių hematologinių indeksų taikymą vaikų populiacijoje, Mentznerio indeksas buvo patikimiausias diferencijuojant minėtas anemijos priežastis [62].

Retikulocitų hemoglobinas

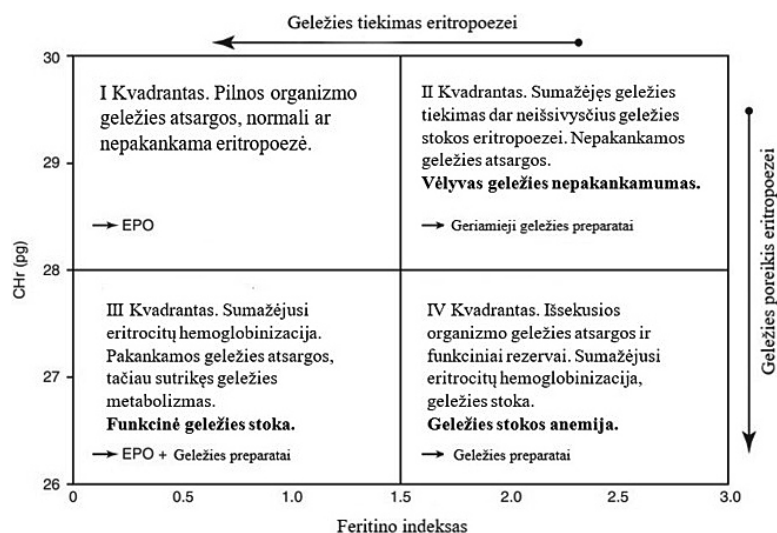
Hematologiniai analizatoriai leidžia nustatyti ir retikulocitų tūrį bei hemoglobino kiekį. CHR rodiklis matuojamas dažytuose retikulocituose, pasitelkiant dviejų krypčių šviesos sklaidą, o RET-He dažytuose retikulocituose yra priekinės šviesos sklaidos matmuo. Vidutinė abiejų parametrų normos reikšmė yra 30,8 pg. Dėl skirtingos rodiklių matavimo metodologijos kai kurių studijų, vertinusių rodiklių reikšmę esant toms pačioms patologinėms būklėms, rezultatai yra prieštarą [49].

Klinikinės reikšmės pavyzdžiai

Šis rodiklis yra plačiai taikomas lėtinių ligų ir geležies stokos anemijų diferencinei diagnostikai, kartu vertinant retikulocitų hemoglobino kiekį ir feritino indeksą. Diagnostikos principas paremtas *Thomas plot* diagrama (3 pav.) [26].

Taip pat šis rodiklis anksti parodo atsaką į gydymą geležies preparatais – didėja jau po 2–4 dienų nuo intraveninės geležies skyrimo [63].

RET-He yra ankstyvas nepakankamos eritropoezės dėl geležies trūkumo rodiklis eritropoetinu gydomiems pacientams, taip pat padeda identifikuoti geležies trūkumą dar prieš ane-



3 pav. Thomas plot diagrama

Fig. 3. Thomas Plot diagram

mijos išsivystymą vaikų populiacijoje [64, 65].

Kiti hematologiniai analizatoriai pateikia ekvivalentinius retikulocitų Hb rodiklius: MCHr, CHCr.

Vidutinis retikulocitų tūris

Yra kelios studijos, kurios nagrinėjo vidutinio retikulocitų tūrio (MRV) klinikinę reikšmę – šis rodiklis didėja gydant geležies stokos anemiją geležies preparatais ir mažėja esant neefektyviai eritropoezei. Jis galėtų būti pritaikomas panašiai kaip ir retikulocitų hemoglobinas, tačiau šio rodiklio standartizacijos trūkumas trukdo atlikti lyginamąsias analizes ir kokybės kontrolės vertinimą [25].

Nebrandžių retikulocitų frakcija

Tai procentinė nebrandžių retikulocitų dalis, kuri apskaičiuojama iš vidutinės ir didelės fluorescencijos retikulocitų sumos [26]. Retikulocitų brandumas priklauso nuo ribonukleorūgšties kiekio ir yra nustatomas naudojant nuo hematologinio analizatoriaus priklausomą metodą – fluorescenciją, šviesos sklaidą ar sugertį, impedansą ir t. t. [49].

Klinikinis nebrandžių retikulocitų frakcijos pritaikymas

Nebrandžių retikulocitų frakcijos (IRF) vertė $>10\%$, anot daugelio tyrėjų, pirmiau už kitus rodiklius (absoliutų neutrofilų skaičių, retikulinius trombocitus ar retikulocitus) parodo kaulų čiulpių funkcijos atsinaujinimą po chemoterapijos ir kaulų čiulpių ar hematopoetinių ląstelių transplantacijos [66–68].

Taip pat L. Persijn ir kolegės optimizavo F. Mullier pasiūlytą paveldimos sferocitozės (PS) patikros algoritmą. Retikulocitų ir IRF santykio reikšmei esant $>7,7$, toliau pacientai tiriami matuojant mikrocitinius eritrocitus (PS atveju $>2,6\%$) ir retikulocitų skaičių ($100 \times 10^9/l$). Testo jautrumas PS pacientams be splenektomijos – 100% ($95\% \text{ CI} = 83,0\text{--}100\%$), o visais PS atvejais – 84% ($63,9\text{--}95,4\%$) [69, 70].

Nepaisant rodiklio klinikinio pritaikymo galimybių, laboratorijos retai pateikia šį rodiklį interpretuoti gydytojams. Tai lemia automatizuotų metodų standartizavimo trūkumas, o normų reikšmės įvairuoja, nes priklauso nuo gamintojo ir prietaisų matavimo metodų [25].

IŠVADOS

Publikuojama vis daugiau studijų, nagrinėjančių naujų parametrų naudą diferencijuojant įvairias infekcines, uždegimines ligas, atliekant atrankinius tyrimus, prognozuojant onkologines ar kitas lėtines ligas ar priimant įvairių intervencijų taikymo sprendimus. Naujos analizės papildo įvairių įprastų tyrimų rezultatus, suteikdamos daugiau tikslumo ir specifiškumo. Taigi, remiantis aptartais tyrimais galima teigti, kad nauji eritrocitų rodikliai gali suteikti papildomos informacijos medicinos laboratorijoms ir gydytojams, o jų naudą patvirtinantys tolesni tyrimai leis įtraukti vis daugiau naujų parametrų ir palengvins įvairių patologinių būklių diagnostiką, gydymo planavimą ir pacientų būklės vertinimą. ♦

Gauta: 2022 02 28
Priimta spaudai: 2022 03 30

Summary

CLINICAL SIGNIFICANCE OF NEW ERYTHROCYTE PARAMETERS. LITERATURE REVIEW

Rytė Damaševičiūtė,
Rėda Matuzevičienė

Introduction. Modern haematology analyzers are an integral part of laboratory medicine and clinical practice. Additionally, complete blood count is an inexpensive, simple and widely used globally. Interpretation of haematological test results is required for the diagnosis and screening of various diseases, differential diagnosis, treatment follow-up, and prognosis of patients. Automated hematology devices further increase the efficiency and accuracy of complete blood count. In addition to traditional tests, new erythrocyte parameters, namely, red cell distribution width, reticulocyte/erythrocyte hemoglobin, nucleated and fragmented erythrocytes, are increasingly integrated in the analysis results.

Aim of the study. To perform literature analysis and provide examples of clinical significance of new parameters of modern hematological analyzers.

Methods. Literature search was done in Medline (PubMed) data base and through EFML (European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) access of accredited journals. The time period of the search was not limited. Keywords included: automated hematology analyzers, complete blood count (CBC), automated anemia parameters, new parameters, clinical significance. Articles were chosen without a predetermined protocol of inclusion and were based on the aim of the study.

Conclusions. There is an increasing number of studies examining the benefits of new parameters in the differential diagnosis and screening of various infectious and inflammatory diseases, in the prognosis of oncological or other chronic diseases or in decision-making of various therapeutic interventions. The new parameters of haematology analyzers also complement the traditional test results, providing more accuracy and specificity. Thus, the studies discussed suggest that new advanced indices of erythrocytes may provide additional information to medical laboratories and physicians, and further studies confirming their benefits will facilitate the diagnosis, treatment planning, and assessment of patients.

Keywords: automated haematology analyzers, new parameters, complete blood count, clinical significance.

LITERATŪRA

1. Leach M. Interpretation of the full blood count in systemic disease – a guide for the physician. *J R Coll Physicians Edinb* 2014; 44(1): 36–41.
2. Doig K, Zhang B. A methodical approach to interpreting the red blood cell parameters of the complete blood count. *Am Soc Clin Lab Sci* 2017; 30(3): 173–85.
3. Buttarello M, Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol* 2008; 130(1): 104–16.
4. 10 Part Diff – HORIBA. Internetinė prieiga: <https://www.horiba.com/int/medical/academy/technology/10-part-diff/> [žiūrėta 2022-02-28].
5. Gupta T, Basu D. Utility of scatterplot patterns of automated hematology analysers in white blood cell disorders – a comparative study with peripheral blood smears. *Asian J Med Sci* 2020; 11(5): 29–34.
6. Hoffmann JJML. Red cell distribution width and mortality risk. *Clin Chim Acta* 2012; 413(7–8): 824–5.
7. Felker GM, Allen LA, Pocock SJ, Shaw LK, McMurray JJ, Pfeffer MA, et al. Red cell distribution width as a novel prognostic marker in heart failure: data from the CHARM Program and the Duke Databank. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50(1): 40–7.
8. Abraham LL, Daniel J, Ramos A, Cunanen EL, Denver M, Tiongson A, et al. Red cell distribution width and mortality in patients with acute coronary syndrome: a meta-analysis on prognosis. *Cardiol Res* 2018; 9(3): 144–52.
9. Koma Y, Onishi A, Matsuoka H, Oda N, Yokota N, Matsumoto Y, et al. Increased red blood cell distribution width associates with cancer stage and prognosis in patients with lung cancer. *PLoS One* 2013; 8(11): e80240.
10. Ay S, Eryilmaz MA, Aksoy N, Okus A, Unlu Y, Sevinc B. Is early detection of colon cancer possible with red blood cell distribution width? *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16(2): 753–6.
11. Seretis C, Seretis F, Lagoudianakis E, Gemenetis G, Salemis NS. Is red cell distribution width a novel biomarker of breast cancer activity? Data from a pilot study. *J Clin Med Res* 2013; 5(2): 121–6.
12. Albayrak S, Zengin K, Tanik S, Bakirtas H, Imamoglu A, Gurdal M. Red cell distribution width as a predictor of prostate cancer progression. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(18): 7781–4.
13. Zhang T, Li J, Lin Y, Yang H, Cao S. Association between red blood cell distribution width and all-cause mortality in chronic kidney disease patients: a systematic review and meta-analysis. *Arch Med Res* 2017; 48(4): 378–85.
14. Plengsuee S, Punyamung M, Yanola J, Nanta S, Jaiping K, Maneewong K, et al. Red cell indices and formulas used in differentiation of -thalassemia trait from iron deficiency in Thai adults. *Hemoglobin* 2015; 39(4): 235–9.
15. Jameel T, Baig M, Ahmed I, Hussain MB, Alkhamaly MBD. Differentiation of beta thalassemia trait from iron deficiency anemia by hematological indices. *Pak J Med Sci* 2017; 33(3): 665–9.
16. Constantino BT. Red cell distribution width, revisited. *Lab Med* 2013; 44(2): e2–9.
17. Caporal FA, Comar SR. Evaluation of RDW-CV, RDW-SD, and MATH-1SD for the detection of erythrocyte anisocytosis observed by optical microscopy. *J Bras Patol Med Lab* 2013; 49(5): 324–31.
18. Bain BJ, Bates I, Laffan MA. Dacie and Lewis practical haematology E-Book – Google knygos. Internetinė prieiga: https://books.google.lt/books?hl=lt&lr=&id=rEPUDAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=dacie+jv+lewis+practical+haematology&ots=DzrmDTgoid&sig=aIO27LDJpMQk1p7_T-LCN3qHTq8&redir_esc=y#v=onepage&q=dacie%20jv%20lewis%20practical%20haematology&f=false [žiūrėta 2022-02-13].
19. Fernandes BJ. Identification and enumeration of nucleated red blood cells in peripheral blood. *Sysmex J Int* 2002; 12(2): 56–62.
20. Tavassoli M. Erythroblastemia. *West J Med* 1975; 122(3): 194–8.
21. Groen J, Godfried EG. The occurrence of normoblasts in the peripheral blood in congestive heart failure: an indication of unfavorable prognosis. *Blood* 1948; 3(12): 1445–52.
22. Schwartz SO, Stansbury F. Significance of nucleated red blood cells in peripheral blood analysis of 1,496 cases. *J Am Med Assoc* 1954; 154(16): 1339–40.
23. Constantino BT, Cogionis B. Nucleated RBCs – significance in the peripheral blood film. *Lab Med* 2000; 31(4): 223–9.
24. Kim YR, Yee M, Metha S, Chupp V, Kendall R, Scott CS. Simultaneous differentiation and quantitation of erythroblasts and white blood cells on a high throughput clinical haematology analyser. *Clin Lab Haematol* 1998; 20(1): 21–9.
25. Briggs C, Mellors I, Roderick A, Ward A, O'Malley C, Barker J, et al. Quality counts: new parameters in blood cell counting. *Int J Lab Hematol* 2009; 31(3): 277–97.
26. Baschat AA, Gungor S, Kush ML, Berg C, Gembruch U, Harman CR. Nucleated red blood cell counts in the first week of life: a critical appraisal of relationships with perinatal outcome in preterm growth-restricted neonates. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197(3): 286.e1–e8.
27. Kil TH, Han JY, Kim JB, Ko GO, Lee YH, Kim KY, et al. A study on the measurement of the nucleated red blood cell (nRBC) count based on birth weight and its correlation with perinatal prognosis in infants with very low birth weights. *Korean J Pediatr* 2011; 54(2): 69–78.
28. Cremer M, Roll S, Gräf C, Weimann A, Bühner C, Dame C. Nucleated red blood cells as marker for an increased risk of unfavorable outcome and mortality in very low birth weight infants. *Early Hum Dev* 2015; 91(10): 559–63.
29. Dulay AT, Buhimschi IA, Zhao G, Luo G, Abdel-Razeq S, Cackovic M, et al. Basic science: obstetrics nucleated red blood cells are a direct response to mediators of inflammation in newborns with early onset neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 198(4): 426.e1–9.
30. Schaer C, Schmutz M, Frey B. Prognostic value of nucleated red blood cells in critically ill children. *Swiss Med Wkly* 2014; 144: w13944.
31. Aali BS, Malekpour R, Sedig F, Safa A. Comparison of maternal and cord blood nucleated red blood cell count between pre-eclamptic and healthy women. *J Obstet Gynaecol Res* 2007; 33(3): 274–8.
32. Mouna K, Doddagowda SM, Junjagowda K, Krishnamurthy L. Changes in haematological parameters in newborns born to preeclamptic mothers – a case control study in a rural hospital. *J Clin Diagn Res* 2017; 11(7): EC26–9.
33. Hebbar S, Mishra M, Rai L. Significance of maternal and cord blood nucleated red blood cell count in pregnancies complicated by preeclampsia. *J Pregnancy* 2014; 2014: 496416.
34. Otsubo H, Kaito K, Asai O, Usui N, Kobayashi M, Hoshi Y. Persistent nucleated red blood cells in peripheral blood is a poor prognostic factor in patients undergoing stem cell transplantation. *Clin Lab Haematol* 2005; 27(4): 242–6.
35. Stachon A, Segbers E, Holland-Letz T, Kempf R, Hering S, Krieg M. Nucleated red blood cells in the blood of medical intensive care patients indicate increased mortality risk: a prospective cohort study. *Crit Care* 2007; 11(3): R62.
36. Xu C, Wang J, Jin X, Yuan Y, Lu G. Establishment of a predictive model for outcomes in patients with severe acute pancreatitis by nucleated red blood cells combined with Charlson complication index and APACHE II score. *Turk J Gastroenterol* 2020; 31(12): 936–41.
37. Macichová M, Grochová M, Rácz O, Firment J, Mitníková M, Rosenberger J, et al. Improvement of mortality prediction accuracy in critically ill patients through combination of SOFA and APACHE II score with markers of stress haematopoiesis. *Int J Lab Hematol* 2020; 42(6): 796–800.
38. de Keijzer MH, van der Meer W. Automated counting of nucleated red blood cells in blood samples of newborns. *Clin Lab Haematol* 2002; 24(6): 343–5.

39. Sugandha, Kakkar N, John MJ. Utility of hyperchromic cell percentage, flags, and red cell cytograms generated by Advia-120 hematology analyzer as a potential screening tool in hereditary spherocytosis. *J Hematop* 2021; 14(2): 137–43.
40. Rooney S, Hoffmann JJML, Cormack OM, McMahon C. Screening and confirmation of hereditary spherocytosis in children using a CELL-DYN Sapphire haematology analyser. *Int J Lab Hematol* 2015; 37(1): 98–104.
41. Deuel JW. Asymptomatic hyperchromasia of red blood cells is associated with decreased red cell deformability. <https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/51597/>
42. Kutter D, Coulon N, Stirn F, Thoma M, Janecki J. Demonstration and quantification of “hyperchromic” erythrocytes by haematological analysers. Application to screening for hereditary and acquired spherocytosis. *Clin Lab* 2002; 48(3–4): 163–70.
43. Rehu M, Ahonen S, Punnonen K. The diagnostic accuracy of the percentage of hypochromic red blood cells (%HYPOm) and cellular hemoglobin in reticulocytes (CHr) in differentiating iron deficiency anemia and anemia of chronic diseases. *Clin Chim Acta* 2011; 412(19–20): 1809–13.
44. Ervasti M, Kotisaari S, Heinonen S, Punnonen K. Use of advanced red blood cell and reticulocyte indices improves the accuracy in diagnosing iron deficiency in pregnant women at term. *Eur J Haematol* 2007; 79(6): 539–45.
45. Hoffmann JJML, Urrechaga E, Aguirre U. Discriminant indices for distinguishing thalassemia and iron deficiency in patients with microcytic anemia: a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53(12): 1883–94.
46. Yasak IH, Tascanov MB, Gönel A, Seyhanli ES. The relationship between the severity of coronary artery disease and erythrocyte morphology parameters measured by new-generation hematology analyzer. *Comb Chem High Throughput Screen* 2021; 24.
47. Sam C, Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. The role of automated measurement of RBC subpopulations in differential diagnosis of microcytic anemia and -thalassemia screening. *Am J Clin Pathol* 2011; 135: 374–9.
48. The microcytic (MicroR) and macrocytic (MacroR) red blood cell populations. Internetinė prieiga: <https://www.sysmex.nl/academy/knowledge-centre/sysmex-parameters/micror/macror.html> [žiūrėta 2022-02-28].
49. Piva E, Brugnara C, Spolaore F, Plebani M. Clinical utility of reticulocyte parameters. *Clin Lab Med* 2015; 35(1): 133–63.
50. Urrechaga E. Clinical utility of the new Beckman-Coulter parameter red blood cell size factor in the study of erythropoiesis. *Int J Lab Hematol* 2009; 31(6): 623–9.
51. Urrechaga E, Unceta M, Borque L, Escanero JF. Low hemoglobin density potential marker of iron availability. *Int J Lab Hematol* 2012; 34(1): 47–51.
52. Dopsaj V, Mikovic-Golubovic G, Martinovic J, Kalimanovska-Ostic D. Evaluation of derived Coulter red blood cell parameters for the assessment of iron deficiency in adults with congenital heart disease. *Int J Lab Hematol* 2012; 34(5): 461–72.
53. Wang J, Fan Q, Shi H, Zhu P, Qu B. Identification of different iron status and prediction of the response to therapy with rHuEpo in patients with chronic renal failure under hemodialysis treatment. *Blood* 2007; 110(11): 2681.
54. Dopsaj V, Martinovic J, Dopsaj M. Early detection of iron deficiency in elite athletes: could microcytic anemia factor (Maf) be useful? *Int J Lab Hematol* 2014; 36(1): 37–44.
55. Singh A, Chaudhary R, Pandey HC, Sonker A. Identification of iron status of blood donors by using low hemoglobin density and microcytic anemia factor. *Asian J Transfus Sci* 2018; 12(1): 46–50.
56. Billett HH, Fabry ME, Nagel RL. Hemoglobin distribution width: a rapid assessment of dense red cells in the steady state and during painful crisis in sickle cell anemia. *J Lab Clin Med* 1988; 112(3): 339–44.
57. Han P, Fung KP. Discriminant analysis of iron deficiency anaemia and heterozygous thalassaemia traits: a 3-dimensional selection of red cell indices. *Clin Lab Haematol* 1991; 13(4): 351–62.
58. Lesesve JF, Asnafi V, Braun F, Zini G. Fragmented red blood cells automated measurement is a useful parameter to exclude schistocytes on the blood film. *Int J Lab Hematol* 2012; 34(6): 566–76.
59. Zini G, d’Onofrio G, Erber WN, Lee SH, Nagai Y, Basak GW, et al. 2021 update of the 2012 ICSH Recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes: impact and revisions. *Int J Lab Hematol* 2021; 43(6): 1264–71.
60. Lee W, Kim JH, Sung IK, Park SK, Oh ST, Park HH, et al. Quantitative detection of target cells using unghosted cells (UGCs) of DxH 800 (Beckman Coulter). *Clin Chem Lab Med* 2014; 52(5): 693–9.
61. Mentzer WC Jr. Differentiation of iron deficiency from thalassaemia trait. *Lancet* 1973; 1(7808): 882.
62. Vehapoglu A, Ozgurhan G, Demir AD, Uzuner S, Nursoy MA, Turkmen S, et al. Hematological indices for differential diagnosis of Beta thalassemia trait and iron deficiency anemia. *Anemia* 2014; 2014: 576738.
63. Mast AE, Blinder MA, Dietzen DJ. Reticulocyte hemoglobin content. *Am J Hematol* 2008; 83(4): 307–10.
64. Garzia M, di Mario A, Ferraro E, Tazza L, Rossi E, Luciani G, et al. Reticulocyte hemoglobin equivalent: an indicator of reduced iron availability in chronic kidney diseases during erythropoietin therapy. *Lab Hematol* 2007; 13(1): 6–11.
65. Shaker M, Jenkins P, Ullrich C, Brugnara C, Nghiem BT, Bernstein H. An economic analysis of anemia prevention during infancy. *J Pediatr* 2009; 154(1): 44–9.
66. Testa U, Rutella S, Martucci R, Scambia G, D’Onofrio G, Pierelli L, et al. Autologous stem cell transplantation: evaluation of erythropoietic reconstitution by highly fluorescent reticulocyte counts, erythropoietin, soluble transferrin receptors, ferritin, TIBC and iron dosages. *Br J Haematol* 1997; 96(4): 762–75.
67. Takami A, Shibayama M, Orito M, Omote M, Okumura H, Yamashita T, et al. Immature platelet fraction for prediction of platelet engraftment after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39(8): 501–7.
68. Graziutti ML, Dong L, Miceli MH, Cottler-Fox M, Krishna SG, Fassas A, et al. Recovery from neutropenia can be predicted by the immature reticulocyte fraction several days before neutrophil recovery in autologous stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37(4): 403–9.
69. Mullier F, Lainey E, Fenneteau O, da Costa L, Schillinger F, Bailly N, et al. Additional erythrocytic and reticulocytic parameters helpful for diagnosis of hereditary spherocytosis: results of a multicentre study. *Ann Hematol* 2011; 90(7): 759–68.
70. Persijn L, Bonroy C, Mondelaers V, Vantilborgh A, Philippé J, Stove V. Screening for hereditary spherocytosis in routine practice: evaluation of a diagnostic algorithm with focus on non-splenectomised patients. *Ann Hematol* 2012; 91(2): 301–2.