

УДК 612.111.32:616.155.13-056.7

<https://doi.org/10.23888/HMJ2022103243-250>

Оценка зависимости скорости лизиса эритроцитов от количества микросфероцитов при наследственном сфероцитозе

Т. Т. Асатрян[✉], М. Н. Зенина, Е. П. Филоненко, Л. Б. Гайковая

Северо-западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Асатрян Татевик Тиграновна, Tatevik.asatryan@szgmu.ru

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Наследственный сфероцитоз (НС) — заболевание, относящееся к группе врожденных мембранопатий, сопровождающееся развитием гемолитической анемии различной степени тяжести. У пациентов с НС в крови появляются морфологически измененные эритроциты — микросфероциты, количество которых варьирует. Известно, что скорость лизиса эритроцитов у пациентов с НС значительно выше, чем у лиц, не имеющих гематологических заболеваний в анамнезе, однако исследований, доказывающих связь между количеством микросфероцитов и скоростью лизиса эритроцитов, нет.

Цель. Установить наличие корреляции между скоростью лизиса эритроцитов и количеством микросфероцитов у пациентов с НС.

Материалы и методы. Материалом для исследования служила венозная кровь 15 пациентов с НС (основная группа) и 14 «здоровых» лиц (контрольная группа). Венозную кровь забирали в пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта K_3 ЭДТА для расчета морфометрических параметров эритроцитов; для определения скорости лизиса эритроцитов — в пробирки с Li-гепарином. Расчет морфометрических параметров эритроцитов осуществлялся с помощью аппаратно-программного комплекса (АПК) «ВидеоТесТ-Морфология». Для каждого эритроцита определяли среднюю площадь, средний диаметр, толщину и индекс сферичности. Определение скорости лизиса эритроцитов производили с использованием глицеринового реактива (глицериновый тест) на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Vitalon-400, которую оценивали по снижению оптической плотности инкубационной среды и выражали в виде разности начальной и конечной оптической плотности, умноженной на 1000 (у. е.). Статистическую обработку данных проводили с использованием параметрических и непараметрических методов статистики, корреляционный анализ — по методу Спирмена при помощи программы Sigma Plot 11.0.

Результаты. Лизис эритроцитов при выполнении глицеринового теста у пациентов с НС протекает быстрее, по сравнению со здоровыми лицами, что обусловлено нестабильностью мембраны микросфероцитов, которые составляют значительную долю эритроцитов в периферической крови пациентов с НС.

Выводы. Установлена прямо пропорциональная зависимость скорости лизиса эритроцитов от количества микросфероцитов, что свидетельствует об их нестойкости, характерной при НС. Данная закономерность позволяет использовать автоматизированный глицериновый тест с графической регистрацией скорости лизиса эритроцитов в качестве метода выявления микросфероцитов у пациентов с НС в крови при недоступности в клинико-диагностических лабораториях морфометрического аппаратно-программного комплекса.

Ключевые слова: наследственный сфероцитоз; глицериновый тест; морфометрия; гемолиз; анемия

Для цитирования:

Асатрян Т. Т., Зенина М. Н., Филоненко Е. П., Гайковая Л. Б. Оценка зависимости скорости лизиса эритроцитов от количества микросфероцитов при наследственном сфероцитозе // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2022. Т. 10, № 3. С. 243–250. <https://doi.org/10.23888/HMJ2022103243-250>.

<https://doi.org/10.23888/HMJ2022103243-250>

Assessment of Dependence of Erythrocyte Lysis Rates on Amount of Microspherocytes in Hereditary Spherocytosis

Tatevik T. Asatryan[✉], Marina N. Zenina, Ekaterina P. Filonenko, Larisa B. Gaykovaya

North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg, Russian Federation

Corresponding author: Tatevik T. Asatryan, Tatevik.asatryan@szgmu.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION: Hereditary spherocytosis (HS) is a disease, which belongs to congenital membranopathies and runs with hemolytic anemia of different severity. In patients with HS, morphologically transformed erythrocytes — microspherocytes — appear in blood in different quantities. Erythrocyte lysis rates in patients with HS are significantly higher than in individuals with no hematologic diseases in history, however, there are no studies demonstrating the relationship between the amount of microspherocytes and erythrocyte lysis rates.

AIM: Was to establish correlation between erythrocyte lysis rates and the amount of microspherocytes in patients with HS.

MATERIALS AND METHODS: Study material was venous blood of 15 patients with HS (the main group) and of 14 “healthy” individuals (control group). Venous blood was taken into test tubes with K₃EDTA as an anticoagulant for calculation of morphometric parameters of erythrocytes, and into test tubes with Li-heparin for determination of erythrocyte lysis rates. Morphometric parameters of erythrocytes were calculated using VideoTesT-Morphologia hardware and software complex. For each erythrocyte, average surface area, average diameter, thickness and sphericity index were determined. Erythrocyte lysis rate was determined with use of glycerol reagent (glycerol test) on Vitalon-400 semi-automatic biochemical analyzer, and was assessed by reduction of optical density of the incubation medium and expressed as the difference between the initial and final optical densities multiplied by 1 000 (standard units). Statistic data processing was carried out using parametric and non-parametric statistical methods, and Spearman correlation analysis was performed by Spearman method using Sigma-Plot 11.0 software.

RESULTS: Erythrocyte lysis in glycerol test occurred faster in patients with HS than in “healthy” persons due to instability of membrane of microspherocytes which make a significant proportion of erythrocytes in peripheral blood of patients with HS.

CONCLUSIONS: A proportional dependence was established between the amount of microspherocytes and increase in the rate of erythrocyte lysis, which indicates their instability typical of HS. This dependence permits to use the automated glycerol test with graphic record of erythrocyte lysis rate for detection of microspherocytes in blood of patients with HS, when morphometric hardware and software complex is not available in clinical diagnostic laboratories.

Keywords: *hereditary spherocytosis; acidified glycerol test; morphometry; hemolysis; anemia*

For citation:

Asatryan T. T., Zenina M. N., Filonenko E. P., Gaykovaya L. B. Assessment of Dependence of Erythrocyte Lysis Rates on Amount of Microspherocytes in Hereditary Spherocytosis. *Science of the young (Eruditio Juvenium)*. 2022;10(3):243–250. <https://doi.org/10.23888/HMJ2022103243-250>.

Актуальность

Наследственный сфероцитоз (НС) — заболевание, относящееся к группе мембранопатий, сопровождающееся развитием гемолитической анемии (ГА) различной степени тяжести [1].

В северной части Европы НС встречается с частотой 1:2500, являясь наиболее распространенной причиной ГА, в США — 1:5000. Среди африканцев и жителей Юго-Восточной Азии частота встречаемости НС низкая; в других популяциях недостаточно изучена. НС наследуется по аутосомно-доминантному типу в 75% случаев (мутации в генах, кодирующих анкирин, спектрин и белок полосы 3). 25% случаев включают в себя аутосомно-рецессивно наследуемые мутации в гене, кодирующем альфа-спектрин, либо белок полосы 4.2 и мутации, возникшие *de Novo* [2].

Клиническая картина НС варьирует от бессимптомных форм до развития тяжелой гемолитической анемии [3].

Как правило, первой находкой в анализе крови пациентов с НС являются морфологически измененные формы эритроцитов — микросфероциты. Количество микросфероцитов в мазке варьирует. При доминантных формах может обнаруживаться большое количество микросфероцитов, а при рецессивных — единичные или вовсе отсутствуют [4]. В этом случае многое зависит от опыта врача клинической лабораторной диагностики и качества приготовления мазка.

Ключевую роль в выявлении НС играет оценка морфологических параметров, позволяющих количественно описать степень анизоцитоза эритроцитов: средний диаметр эритроцитов (Дэр, мкм), толщину эритроцитов (Тэр, мкм) и индекс сферичности (Рэр). Оценка этих параметров эритроцитов при помощи светового микроскопа с помощью окуляра-микрометра является крайне трудоемкой процедурой. Использование аппаратно-программных комплексов (АПК) для морфометрического анализа эритроидных клеток позволяет перевести традиционный описательный и полуколичественный метод оценки клеток

в количественный [5]. Однако данное исследование не имеет широкого распространения, поскольку требует специального оборудования, а также дополнительной подготовки врача для работы на АПК. Эти факты делают его малоприменимым для использования в практической работе клинико-диагностических лабораторий [6].

В перечень рекомендованных «классических» методов для диагностики НС включен метод определения осмотической резистентности эритроцитов (ОРЭ) в условиях воздействия на эритроциты гипотоническими растворами различной концентрации. Данный метод обладает низкой чувствительностью и специфичностью и не может быть использован в рутинной лабораторной практике из-за высокой трудоемкости [7]. В 1974 году E. Gottfried и N. Robertson предложили альтернативный метод количественной оценки ОРЭ с использованием глицеринового буфера. В 1980 году Zanella A., и др., изменив условия инкубации эритроцитов путем снижения pH среды до 6,85 и включения в нее глицерина в концентрации 300 ммоль/л, регистрировали время гемолиза в секундах, что позволило стандартизировать условия регистрации лизиса [8].

Известно, что скорость лизиса эритроцитов у пациентов с НС значительно выше, чем у «здоровых» лиц, что может быть следствием наличия микросфероцитов в крови [9], однако исследований, доказывающих или опровергающих связь между количеством микросфероцитов и скоростью лизиса эритроцитов, нет.

Цель. Установить наличие корреляции между скоростью лизиса эритроцитов и количеством микросфероцитов у пациентов с НС.

Материалы и методы

Материалом для исследования служила венозная кровь 15 пациентов с диагнозом НС (основная группа) и 14 «здоровых» лиц (контрольная группа). Венозную кровь забирали в пробирки, содержащие в качестве антикоагулянта К₃ЭДТА (Vacuette, GreinerBio-One, Австрия) для расчета мор-

фометрических параметров эритроцитов; для определения скорости лизиса эритроцитов — в пробирки с Li-гепарином (Vacuette, GreinerBio-One, Австрия).

Расчет морфометрических параметров эритроцитов производился с использованием аппаратно-программного комплек-

са (АПК) «ВидеоТест-Морфология». Метод проводился в 3 этапа: приготовление и окраска мазка периферической крови, загрузка изображения мазка периферической крови в АПК с автоматической маркировкой эритроцитов по диаметру, анализ полученных результатов (рис. 1 а, б, в).

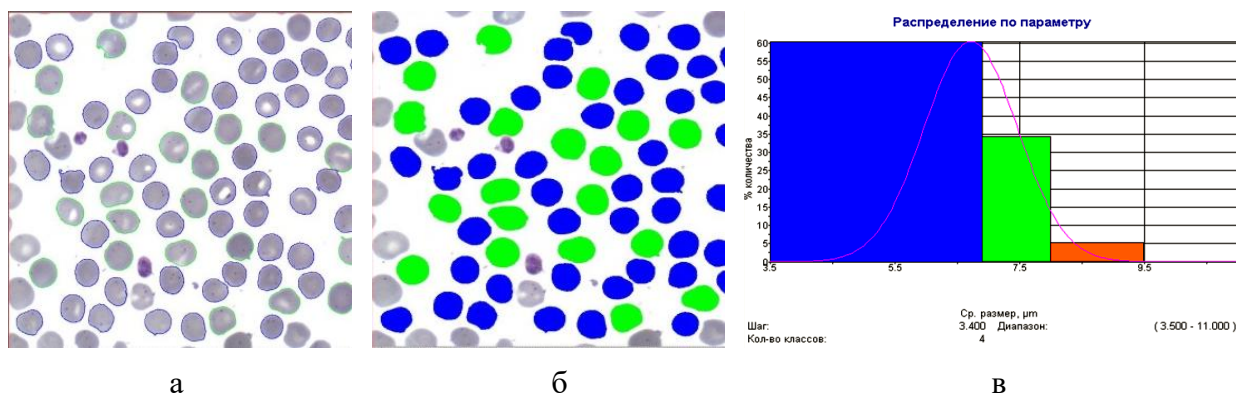


Рис. 1. Этапы анализа изображений мазков периферической крови с использованием АПК: а — загрузка изображения в программу, выделение эритроцитов, б — распределение эритроцитов на классы в зависимости от диаметра, в — анализ результатов.

Мазки периферической крови фиксировали в течение 2–3 минут в фиксаторе Май–Грюнвальд, затем красили методом погружения в 10%-ный раствор красителя Романовского–Гимзе в течение 10 минут.

Расчет морфометрических параметров эритроцитов проводился методом микроскопии при помощи АПК ВидеоТест-Морфология. АПК был откалиброван объект-микрометром ОМО (ТУЗ-3.2038-87). Микроскопия проводилась методом масляной иммерсии с использованием объектива $\times 100$. Эритроциты, имеющие диаметр 4,0–6,9 мкм определялись в группу «микросфероциты», 6,9–8,0 мкм — «нормоциты», 8,0–9,5 мкм и 9,5–11,0 мкм — в «макроциты» и «мегалоциты», соответственно.

Метод дает возможность количественной оценки морфометрических параметров эритроцитов: среднего диаметра эритроцитов ($D_{эр}$, мкм), толщины эритроцитов ($T_{эр}$, мкм), индекса сферичности ($R_{сф}$) эритроцитов и процентного соотношения микроцитов (%), нормоцитов (%) и макроцитов (%).

Для каждого эритроцита определялись параметры: средняя площадь ($S_{эр}$), средний диаметр ($D_{эр}$, средний размер — полусумма максимальной длины и шири-

ны, измеренной в направлении, перпендикулярном максимальной длине, соответствует по смыслу среднему диаметру при неавтоматизированном микроскопическом измерении), толщина ($T_{эр}$) и индекс сферичности эритроцитов ($R_{эр}$) (табл. 1).

Впервые методику определения скорости лизиса эритроцитов в глицериновом буфере предложил А. Zanella в 1980 году [8]. Однако метод не получил широкого распространения из-за его трудоемкости выполнения. В нашем исследовании мы использовали усовершенствованную, полностью автоматизированную методику определения скорости лизиса эритроцитов, предложенную нами в 2019 г. [9].

Статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрических методов статистики, корреляционный анализ — по методу Спирмена при помощи программы Sigma Plot 11.0 (Германия).

Результаты

Значения морфометрических параметров эритроцитов, полученных с использованием АПК, у пациентов основной и контрольной группы приведены в таблице 2.

Таблица 1. Параметры и формулы, используемые для расчета эритроцитарных параметров аппаратно-программным комплексом

Показатель	Формулы для расчета	Размерность	Референтные значения
Измеряемые параметры			
Средняя площадь эритроцитов	$S_{эп.} = \pi \tau^2$	мкм ²	–
Средний диаметр эритроцитов	$D_{эп.} = 2\tau$	мкм	7,2–7,5
Расчетные параметры			
Толщина эритроцитов	$T_{эп.} = \frac{MCV}{S}$	мкм	1,7–2,3
Индекс сферичности	$R_{сф} = \frac{D}{T}$	–	3,4–3,9

Таблица 2. Значения эритроцитарных параметров, полученных с помощью аппаратно-программного комплекса

Исследуемые параметры		Основная группа	Контрольная группа	Значения р
		(n = 15)	(n = 14)	
Толщина эритроцитов (T _{эп.} , мкм)	M	2,8	1,9	0,005
	St. Dev.	0,3	0,2	
Индекс сферичности эритроцитов (R _{эп.})	M	3,3	4,1	0,005
	St. Dev.	0,1	0,2	
Средний диаметр эритроцитов (D _{эп.} , мкм)	M	5,6	7,4	0,005
	St. Dev.	0,2	0,2	
Содержание микроцитов (%)	M	70,3	10	< 0,001
	St. Dev.	16,9	6,7	
Содержание нормоцитов (%)	M	24,4	71,5	< 0,001
	St. Dev.	16,5	7,3	
Содержание макроцитов (%)	M	3,2	16,8	< 0,001
	St. Dev.	1,2	11,8	

Примечание: Приведены среднее значение M и стандартное отклонение (St. Dev.)

Результаты глицеринового теста на определение скорости лизиса эритроцитов с инкубированной кровью (сразу после

взятия) в группах приведены в таблице 3. Приведены медиана (Me), нижний (25) и верхний (75) квартили.

Таблица 3. Разность начальной и конечной ОП при проведении глицеринового теста с инкубированной кровью в группах

Показатель		Группы		Значение р
		Основная группа	Контрольная группа	
ГТ (у. е.)	квартили	589;5;999,25	557;983	< 0,001
	Me	865	682,5	

Помимо количественной оценки скорости лизиса эритроцитов (в у. е.), выполняли визуальную оценку графиков кинетики лизиса эритроцитов (рис. 2 а, б).

Корреляционный анализ по методу Спирмена выявил сильную прямую связь между скоростью лизиса эритроцитов и количеством микросфероцитов (Rsqr = 0,912, p ≤ 0,001). Построена диа-

грамма рассеивания, демонстрирующая положительную корреляцию между скоростью лизиса эритроцитов и количеством микросфероцитов (рис. 3).

Как следует из представленных в таблице 2 данных, анализ морфометрических параметров эритроцитов позволяет выявить статистически значимые различия в группах по всем изученным показателям.

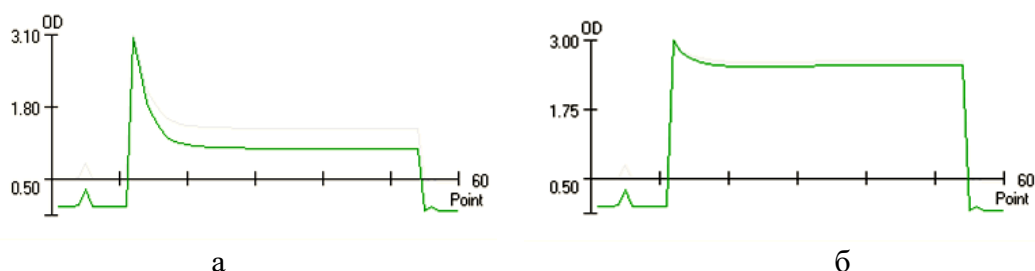


Рис. 2. Графическое представление изменения ОП, отражающего скорость лизиса эритроцитов: а — основная группа (НС, $n = 14$), б — контрольная группа («здоровые» лица, $n = 15$).

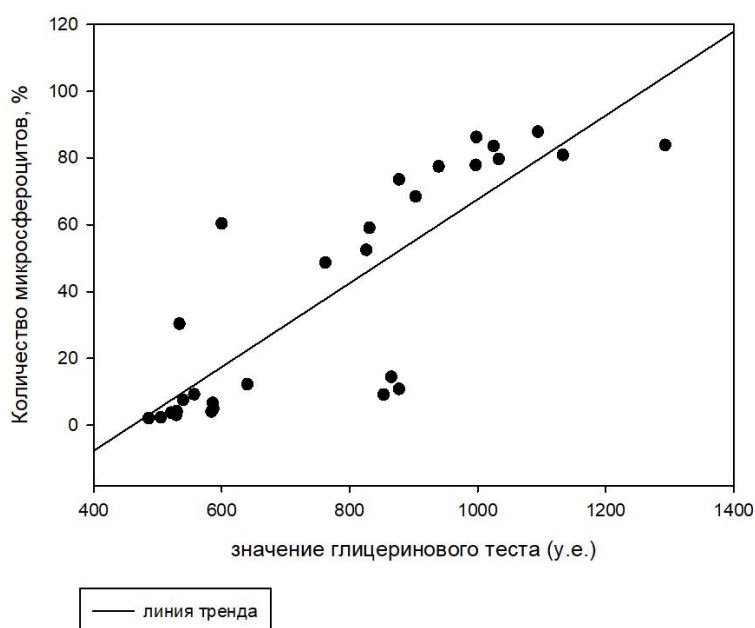


Рис. 3. Диаграмма рассеивания, демонстрирующая положительную корреляцию между скоростью лизиса эритроцитов и количеством микросфероцитов.

Обсуждение

Морфометрическими параметрами, описывающими анизоцитоз эритроцитов, являются индекс сферичности эритроцитов, средний диаметр эритроцитов и толщина эритроцитов [5]. В нашем исследовании выявлены статистически значимые различия по всем исследуемым параметрам. У пациентов с НС индекс сферичности, средний диаметр — ниже соответствующих параметров у «здоровых» пациентов; толщина эритроцитов и количество микросфероцитов в мазках периферической крови у пациентов с установленным диагнозом НС выше по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о наличии популяции микросфероцитов в пробе. Таким образом, анализ морфомет-

рических параметров эритроцитов позволяет судить о количестве микросфероцитов в мазках периферической крови больных НС [10], однако данный метод требует специального оборудования, а также подготовки врача лабораторной диагностики.

Из данных, представленных в таблице 3, следует, что у пациентов с НС скорость лизиса эритроцитов достоверно выше по сравнению с контрольной группой.

Изучение графиков, отражающих кинетику гемолиза эритроцитов, у пациентов основной группы (НС) отчетливо показало наличие двух фаз (рис. 2 а): начальный период, который у всех пациентов, в среднем, составлял от 50 до 100 с — характеризуется более быстрым снижением оптической плотности, чем во второй

период — характеризуется выходом скорости лизиса эритроцитов на «плато». В то же время, кинетика лизиса эритроцитов у «здоровых» лиц характеризуется более плавным и медленным снижением оптической плотности, и выделить какие-либо фазы, отличные друг от друга по скорости снижения последней, не представляется возможным. Лизис эритроцитов при выполнении глицеринового теста протекает быстрее у пациентов с НС (особенно в первую фазу гемолиза — см. выше), в сравнении с таковым у «здоровых» лиц. Данный феномен объясняется нестойкостью мембраны (то есть, снижением осмотической резистентности) микросфероцитов, которые составляют значительную долю эритроцитов в периферической крови больных НС. Нестойкость мембраны эритроцитов при НС может быть обусловлена различными дефектами мембранных белков, в том числе анкирина, альфа-спектрина, бета-спектрина, белка полосы 3 и протеина 4.2 [11, 12].

Корреляционный анализ по методу Спирмена показал прямую связь исследуемых параметров, а именно — количества микросфероцитов в мазке периферической крови и скорости лизиса эритроцитов в глицериновом тесте.

Заключение

В результате исследования выявлена прямо пропорциональная корреляция увеличения скорости лизиса эритроцитов и количества микросфероцитов. Это свидетельствует об увеличении скорости гемолиза при наличии в крови эритроцитов с нестабильной мембраной — микросфероцитов, характерных для наследственного сфероцитоза. Автоматический глицериновый тест с графической регистрацией скорости лизиса эритроцитов можно использовать в клинико-диагностических лабораториях, как тест для выявления микросфероцитов в крови у пациентов с наследственным сфероцитозом при условии недоступности аппаратно-программного комплекса.

Список источников

1. Zamora E.A., Schaefer C.A. Hereditary Spherocytosis. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Доступно по: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539797/>. Ссылка активна на 12.03.2022.
2. Papp Z.E., Chincesan M., Horváth A.M., et al. Herediter spherocytosis a marosvásárhelyi gyermekhematológia osztály tapasztalatában // Orvosi Hetilap. 2019. Vol. 160, № 45. P. 1798–1803. doi: [10.1556/650.2019.31345](https://doi.org/10.1556/650.2019.31345)
3. Manciu S., Matei E., Trandafir B. Hereditary Spherocytosis — Diagnosis, Surgical Treatment and Outcomes. A Literature Review // Chirurgia (Bucur). 2017. Vol. 112, № 2. P. 110–116. doi: [10.21614/chirurgia.112.2.110](https://doi.org/10.21614/chirurgia.112.2.110)
4. Farias M.G. Advances in laboratory diagnosis of hereditary spherocytosis // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 2017. Vol. 55, № 7. P. 944–948. doi: [10.1515/cclm-2016-0738](https://doi.org/10.1515/cclm-2016-0738)
5. Зенина М.Н., Козлов А.В., Бессмельцев С.С., и др. Морфометрический анализ в диагностике врожденных микросфероцитозов // MEDLINE.RU. Российский биомедицинский журнал. 2011. Т. 12. С. 448–457.
6. Zheng L.-P., Bai L.-H., Huang H., et al. Progress on Laboratory Diagnosis of Hereditary Spherocytosis — Review // Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Shi. 2020. Vol. 28, № 2. P. 704–707. (In Chin). doi: [10.19746/j.cnki.issn.1009-2137.2020.02.059](https://doi.org/10.19746/j.cnki.issn.1009-2137.2020.02.059)
7. Bolton-Maggs P.H.B., Langer J.C., Iolascon A., et al. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis — 2011 update // British Journal of Haematology. 2011. Vol. 156, № 1. P. 37–49. doi: [10.1111/j.1365-2141.2011.08921-x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08921-x)
8. Zanella A., Izzo C., Rebulla P., et al. Acidified Glycerol lysis test: a screening test for spherocytosis // British Journal of Haematology. 1980. Vol. 45, № 3. P. 481–486. doi: [10.1111/j.1365-2141.1980.tb07167.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1980.tb07167.x)
9. Асатрян Т.Т., Гайковая Л.Б., Слепышева В.В. Значимость глицеринового теста с графическим определением скорости лизиса эритроцитов для скрининга наследственного сфероцитоза // Трансляционная медицина. 2019. Т. 6, № 6. С. 51–59.
10. Liao L., Xu Y., Wei H., et al. Blood cell parameters for screening and diagnosis of hereditary spherocytosis // Journal of Clinical Laboratory Analysis. 2019. Vol. 33, № 4. P. e22844. doi: [10.1002/jcla.22844](https://doi.org/10.1002/jcla.22844)
11. Wu Y., Liao L., Lin F. The diagnostic protocol for hereditary spherocytosis — 2021 update // Journal of Clinical Laboratory Analysis. 2021. Vol. 35, № 12. P. e24034. doi: [10.1002/jcla.24034](https://doi.org/10.1002/jcla.24034)
12. Agarwal A.M. Ankyrin Mutations in Hereditary Spherocytosis // Acta Haematologica. 2019. Vol. 141, № 2. P. 63–64. doi: [10.1159/000495339](https://doi.org/10.1159/000495339)

References

1. Zamora EA, Schaefer CA. Hereditary Spherocytosis. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539797/>. Accessed: 2022 March 12. (In Russ).
2. Papp ZE, Chincesan M, Horváth AM, et al. Herediter spherocytosis a marosvásárhelyi gyermekhematológia osztály tapasztalatában. *Orvosi Hetilap*. 2019;160(45):1798–803. doi: [10.1556/650.2019.31345](https://doi.org/10.1556/650.2019.31345)
3. 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](https://doi.org/10.21614/chirurgia.112.2.110)
4. Farias MG. Advances in laboratory diagnosis of hereditary spherocytosis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2017;55(7):944–8. doi: [10.1515/ccm-2016-0738](https://doi.org/10.1515/ccm-2016-0738)
5. Zenina MN, Kozlov AV, Bessmeltsev SS, et al. Morphometric analysis in the diagnosis of congenital microspherocytosis. *MEDLINE.RU*. 2011;12:448–57. (In Russ).
6. Zheng L–P, Bai L–H, Huang H, et al. Progress on Laboratory Diagnosis of Hereditary Spherocytosis — Review. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Shi*. 2020;28(2):704–07. (In Chin). doi: [10.19746/](https://doi.org/10.19746/j.cnki.issn.1009-2137.2020.02.059)
7. Bolton–Maggs PHB, Langer JC, Iolascon A, et al. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis — 2011 update. *British Journal of Haematology*. 2011;156(1):37–49. doi: [10.1111/j.1365-2141.2011.08921-x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08921-x)
8. Zanella A, Izzo C, Rebutta P, et al. Acidified Glycerol lysis test: a screening test for spherocytosis. *British Journal of Haematology*. 1980;45(3):481–6. doi: [10.1111/j.1365-2141.1980.tb07167.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1980.tb07167.x)
9. Asatryan TT, Gaikovaya LB, Slepishcheva VV. The value of the acidified glycerol lysis test with a graphical determination for screening of hereditary spherocytosis. *Translational Medicine*. 2019;6(6): 51–9. (In Russ).
10. Liao L, Xu Y, Wei H, et al. Blood cell parameters for screening and diagnosis of hereditary spherocytosis. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2019;33(4):e22844. doi: [10.1002/jcla.22844](https://doi.org/10.1002/jcla.22844)
11. Wu Y, Liao L, Lin F. The diagnostic protocol for hereditary spherocytosis — 2021 update. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2021;35(12): e24034. doi: [10.1002/jcla.24034](https://doi.org/10.1002/jcla.24034)
12. Agarwal AM. Ankyrin Mutations in Hereditary Spherocytosis. *Acta Haematologica*. 2019;141(2): 63–4. doi: [10.1159/000495339](https://doi.org/10.1159/000495339)

Дополнительная информация

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Информация об авторах:

✉ *Асатрян Татевик Тиграновна* — ассистент кафедры биологической и общей химии им. В. В. Соколовского, SPIN: 5587-1360, <https://orcid.org/0000-0002-9146-3080>, e-mail: Tatevik.asatryan@szgmu.ru

Зенина Марина Николаевна — ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, SPIN: 3580-9167, <https://orcid.org/0000-0002-2919-1459>.

Филоненко Екатерина Павловна — студент лечебного факультета, SPIN: 9895-9119, <https://orcid.org/0000-0002-3561-4745>.

Гайковая Лариса Борисовна — д.м.н., доцент, зав. кафедрой биологической и общей химии им. В. В. Соколовского, SPIN: 9424-1076, <https://orcid.org/0000-0003-1000-1114>.

Вклад авторов:

Асатрян Т. Т. — концепция и дизайн исследования, сбор материала.

Зенина М. Н. — написание текста, редактирование.

Филоненко Е. П. — статистическая обработка.

Гайковая Л. Б. — концепция и дизайн исследования, сбор материала, статистическая обработка, написание текста.

Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все соавторы.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Funding. The authors declare no funding for the study.

Information about the authors:

✉ *Tatevik T. Asatryan* — Assistant of the Department of Biological and General Chemistry named after V. V. Sokolovsky, SPIN: 5587-1360, <https://orcid.org/0000-0002-9146-3080>, e-mail: Tatevik.asatryan@szgmu.ru

Marina N. Zenina — Assistant of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, SPIN: 3580-9167, <https://orcid.org/0000-0002-2919-1459>.

Ekaterina P. Filonenko — Student of the Faculty of Medicine, SPIN: 9895-9119, <https://orcid.org/0000-0002-3561-4745>.

Larisa B. Gaykovaya — MD, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Biological and General Chemistry named after VV Sokolovsky, SPIN: 9424-1076, <https://orcid.org/0000-0003-1000-1114>.

Contribution of the authors:

Asatryan T. T. — research concept and design, material collection, statistical processing.

Zenina M. N. — text writing, editing.

Filonenko E. P. — statistical processing.

Gaykovaya L. B. — research concept and design, material collection, statistical processing, text writing.

Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article all authors.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.