

УДК 616.15-074:615.47

ПИЛОТНЫЙ РЕФЕРЕНТНЫЙ ИНТЕРВАЛ ПОЛЯРИЗУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ С УЧЕТОМ ГЕНДЕРНЫХ И ВОЗРАСТНЫХ РАЗЛИЧИЙ

¹Кручинина М.В., ²Генералов В.М., ¹Воевода М.И., ¹Рагино Ю.И.,
¹Денисова Д.В., ¹Курилович С.А., ¹Громов А.А., ²Генералов К.В.,
³Шувалов Г.В., ²Буряк Г.А., ²Сафатов А.С.

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины»,
 Новосибирск, e-mail: kruchmargo@yandex.ru;

²ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово;

³ФГУП Сибирский научно-исследовательский институт метрологии, Новосибирск

Предложены пилотные референтные интервалы поляризуемости эритроцитов с учетом половых и возрастных различий исследуемых. Экспериментально измеренные и полученные теоретически величины коэффициента объемной поляризуемости эритроцитов коррелируют с референтными интервалами объема эритроцитов. Референтный интервал весьма важен в клинической практике как для верификации диагноза, так и для оценки эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: диэлектрофорез, эритроцит, поляризуемость, референтный интервал

PILOT REFERENCE INTERVALS OF ERYTHROCYTE POLARIZABILITY DEPENDING UPON GENDER AND AGE DIFFERENCES

¹Kruchinina M.V., ²Generalov V.M., ¹Voevoda M.I., ¹Ragino Yu.I.,
¹Denisova D.V., ¹Kurilovich S.A., ¹Gromov A.A., ²Generalov K.V.,
³Shuvalov G.V., ²Buryak G.A., ²Safatov A.S.

¹Federal State Budgetary of Scientific Institution «Institution of Internal
 and Preventive Medicine, Novosibirsk, e-mail: kruchmargo@yandex.ru;

²Federal State Unitary Enterprise State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector»,
 Novosibirsk district, Novosibirsk region, Koltsovo, e-mail: general@vector.nsc.ru;

³Siberian Scientific Research Institute for Metrology, ROSSTANDART, Novosibirsk (SNIIM),
 Novosibirsk, e-mail: gvshuvalov@mail.ru

The pilot reference intervals of erythrocyte polarizability depending upon gender and age differences have been proposed. The experimentally measured and theoretically obtained value of the coefficient of erythrocyte volume polarizability correlated with the reference ranges of volume of red blood cells. The reference interval of polarizability is very important in clinical practice for verification of the diagnosis and to assess the effectiveness of the therapy.

Keywords: dielectrophoresis, erythrocyte, polarizability, reference interval

Одной из фундаментальных характеристик любой частицы и эритроцита, в частности, является коэффициент объемной поляризуемости (далее по тексту поляризуемость) ($\alpha_{кл}$).

$$\alpha_{кл}^* = 4 \cdot \pi \cdot r_{кл}^3 \cdot \epsilon_{cp} \frac{\epsilon_{cl}^* - \epsilon_{cp}^*}{\epsilon_{cl}^* + 2\epsilon_{cp}^*} \quad (1)$$

где $\frac{\epsilon_{кл}^* - \epsilon_{cp}^*}{\epsilon_{кл}^* + 2 \cdot \epsilon_{cp}^*} = \frac{\sigma_{кл}^* - \sigma_{cp}^*}{\sigma_{кл}^* + 2 \cdot \sigma_{cp}^*} = K(f)$ – фактор

Клаузиуса-Мосотти.

Он характеризует пространственное распределение электрических зарядов и энергию связей между ними в объеме клетки, способность атомов, ионов, молекул клетки формировать дипольный момент, а также ее химический состав. Поляризуемость не за-

висит от напряженности внешнего электрического поля [3, 10].

В неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) на поляризованный эритроцит действует сила, которая приводит его в поступательное движение. Фактор $K(\omega)$ может принимать как положительные значения, если $\epsilon_{кл} > \epsilon_{cp}$, так и отрицательные, если $\epsilon_{кл} < \epsilon_{cp}$. Величина реальной части $K(\omega)$ меньше нуля соответствуют отрицательному диэлектрофорезу (-ДЭФ). Здесь клетки выталкиваются в области с наименьшим градиентом напряженности электрического поля. Величина реальной части $K(\omega)$ больше нуля соответствуют положительному диэлектрофорезу (+ДЭФ). Для этого случая характерно поступательное движение клеток в область с максимальным градиентом напряженности электрического

поля. Частотные области отрицательного и положительного диэлектрофореза разделяет равновесная частота ω_p (*crossover frequency*), на которой клетка неподвижна или испытывает вращение вокруг своей оси. На равновесной частоте выполняются равенства

$$\tau_{кл} = \tau_{ср}; \quad \tau_{кл} = \frac{R_{кл} \cdot C_{кл}}{R_{кл} \cdot C_{кл}}; \quad \tau_{ср} = \frac{R_{ср} \cdot C_{ср}}{R_{ср} \cdot C_{ср}};$$

$$C_{кл} = \frac{1}{\omega_p \cdot R_{кл}} = C_{ср} = \frac{1}{\omega_p \cdot R_{ср}}$$

Известно, что множество факторов, pH среды, вирусы, токсины способны существенно изменять морфологию и функцию эритроцитов [3]. Реакция клетки, например, в ответ на взаимодействие с вирусом индивидуальна. Наблюдаются изменение вязкости мембраны и цитоплазмы; дисперсности коллоидов цитоплазмы, ядра; флюоресценции, изменение потенциала на мембране; увеличение ее электропроводности; выход ионов калия, метаболитов; увеличение объема (набухание) клеток; изменение внутриклеточной концентрации ионов кальция [2, 3]. Таким образом, *совокупность изложенных обстоятельств позволяет характеризовать* биологическую уникальность эритроцита по величине его объемного коэффициента поляризуемости и использовать данный параметр в диагностике целого ряда заболеваний [1, 6-9, 17, 25].

Цель исследования – определение плотных референсных интервалов величины коэффициента объемной поляризуемости эритроцитов условно здоровых обследуемых с учетом половых и возрастных различий.

Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие жители Октябрьского района г. Новосибирска (347 мужчин и 453 женщины в возрасте от 25 до 44 лет; 45 детей в возрасте от 4 месяцев до 15 лет; взрослые, обследуемые в возрасте от 15 до 24 лет, и более 44 лет (120 человек), обратившиеся по поводу исследования показателей красной крови, гемостаза в «НИИТПМ». Исследования выполнялись в рамках темы «Мониторинг состояния здоровья и распространенности факторов риска терапевтических заболеваний, их прогнозирование и профилактика в Сибири» (Рег. № 01201282292), в период с февраля 2014 по июль 2016 г.

Критериями включения в данное исследование являлись: 1) лица, проходящие профилактический медицинский осмотр или диспансеризацию; 2) данные исследования эритроцитов методом диэлектрофореза, полного анализа крови. Критериями исключения были: 1) лица, проходящие повторное обследование за указанный период; 2) беременные женщины; 3) лица с манифестной патологией внутренних органов, цереброваскулярной, онкологической, системной, неврологической патологией.

Стандартизация преаналитического этапа была обеспечена подробной инструкцией для пациента по подготовке к анализу и инструкцией для медицинского персонала по проведению процедуры взятия крови.

Обследование выполнено с одобрения Комитета Биомедицинской Этики «НИИТПМ» (протокол от 28.10.2013).

Для проведения исследования эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) клетки красной крови получали из цельной крови пациентов, взятой из вены. Подробно методика описана в монографии [3]. В каждом образце крови определяли показатели поляризуемости на 4-х частотах исследуемого диапазона с помощью электрооптической системы детекции клеток – на низких (5×10^4 Гц, 10^5 Гц) и высоких (10^6 Гц, 5×10^5 Гц) частотах. Для компьютерной обработки данных использовался пакет оригинальных программ CELLFIND. Относительная погрешность измерения поляризуемости составляла не более – 17,4%.

Величина поляризуемости сопоставлялась со средним объемом эритроцитов, определенным с помощью гематологического анализатора Hemolux 19 (ЛОТЕП/Mindray, КНР).

Статистическая обработка данных. Проведен статистический анализ оригинальных экспериментальных данных величины поляризуемости эритроцитов, полученных методом диэлектрофореза. Анализ выполнен с использованием программы SPSS, ver. 17. Тип распределения определялся по критерию Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk's W-test). Этот критерий предпочтителен, так как является наиболее мощным, универсальным и наиболее «строгим» по сравнению с критериями Колмогорова–Смирнова и Лиллиефорса [12]. Для уменьшения или даже устранения маскирующего влияния аномальных значений выбросы определяли по методу Тьюки: из расчетов исключены данные, не входящие в интервал ($Q1 - 1,5 \cdot IQR$) – ($Q3 + 1,5 \cdot IQR$), рассчитанный для каждого параметра, где $Q1$ и $Q3$ – границы 1-го и 3-го квартилей, $IQR = Q3 - Q1$ – межквартильный размах [21]. Результаты представлялись как минимальные и максимальные значения показателя для данной группы.

Результаты исследования и их обсуждение

На основании анализа оригинальных данных величины поляризуемости эритроцитов, полученных методом диэлектрофореза и сопоставления со средним корпускулярным объемом эритроцитов, предложены пилотный референтный интервал поляризуемости эритроцитов в частотном диапазоне $0,05 - 1 \times 10^6$ Гц для условно здорового населения г. Новосибирска с учетом половых и возрастных различий (таблица).

Анализ данных, приведенных в таблице, показал, что величины поляризуемости нарастают с увеличением частоты во всех возрастных группах. Поляризуемость эритроцитов для детей и подростков на низких и высоких частотах ниже, чем для взрослых, что, вероятно, отражает особенности красного ростка крови. В данном пилотном исследовании гендерных различий параметра поляризуемости не выявлено.

Пилотные референтные значения поляризуемости эритроцитов для условно здорового населения Октябрьского района г. Новосибирска с учетом половых и возрастных различий

Возраст	Средний корпускулярный объем Эр – MCV (fL)	Поляризуемость $0,05 \times 10^6$ Гц [м³] min-max	Поляризуемость $0,1 \times 10^6$ Гц [м³] min-max	Поляризуемость $0,5 \times 10^6$ Гц [м³] min-max	Поляризуемость 1×10^6 Гц [м³] min-max
Дети – 4-12 месяцев	72-87	-4,6E-16 -1,2E-15	-4,5E-16 -9,5E-16	7,7E-15 9,3E-15	8,1E-15 9,8E-15
10-13 лет	77-93	-9,4E-16 -1,1E-15	-8,6E-16 -1,0E-15	8,2E-15 9,8E-15	8,7E-15 1,0E-14
13-15 лет	80-94	-9,8E-16 -1,1E-15	-9,1E-16 -1,0E-15	8,5E-15 1,0E-14	9,0E-15 1,0E-14
Мужчины > 15 лет	84-98	-1,0E-15 -1,2E-15	-9,4E-16 -1,1E-15	9,0E-15 1,0E-14	9,4E-15 1,1E-14
Женщины 15- 50 лет	82-99	-9,9E-16 -1,3E-15	-9,2E-16 -1,1E-15	8,7E-15 1,1E-14	9,3E-15 1,2E-14
Женщины > 50 лет	85-97	-1,1E-15 -1,2E-15	-9,5E-16 -1,1E-15	9,1E-15 1,0E-14	9,6E-15 1,1E-14

Полученные экспериментальные данные хорошо согласуются с расчетными величинами поляризуемости согласно (1). Степень отклонения экспериментальных данных от расчетных не превышала ожидаемых 17,4%.

Поскольку показатель поляризуемости отражает степень адаптации клеток к окружающим условиям, регенераторные возможности красного роста крови, полученные данные по пилотным референтным значениям могут быть полезными в клинической практике для оценки состояния эритроцитов у пациентов с целым перечнем патологии внутренних органов, в том числе при диффузной патологии печени, cerebro-vascularной патологии, анемиях, онкологических заболеваниях и др.

Исследование крови является самым частым видом лабораторного исследования, используемым для оценки общего состояния здоровья человека. Практическая медицина основана на сравнении, т.е. результат исследования всегда сравнивается с нормальными величинами, поэтому очень важно определить, что такое «норма» [11].

Наличие понятия «норма» дает возможность клиническим врачам разделять пациентов на «здоровых» и «больных». Однако в группе здоровых эти показатели варьируют, что может быть обусловлено меж- и внутри-индивидуальными особенностями. Термин «нормальные значения» в настоящее время заменен более корректным – «референтные значения» (или референтный интервал – *referencerange* – РИ), так как понятие «нормальный» зачастую имеет много противоречивых значений. Кроме того, термин «нормальное распределение вероятностей» подразумевает нормальное

(гауссовское) распределение данных, что в действительности встречается редко [18]. Термин «референтный интервал» учитывает разные популяции обследуемых, т.е. РИ – это интервал значений, в который включены данные большинства пациентов с характеристиками, аналогичными таковым у референтной группы (группа лиц, при обследовании которой был рассчитан РИ), и исключены другие (с минимальным количеством ложноположительных и ложноотрицательных результатов [14]).

Расчет РИ для здоровых людей во многом зависит от определения понятия «здоровье», которое используется при отборе «референтной группы» для установления РИ. В 1981 г. R. Gräsbeck дал такое определение: «Здоровье характеризуется минимумом субъективных ощущений и объективных признаков заболевания, оценивается в связи с социальной ситуацией человека и является предметом и целью медицинской деятельности». Таким образом, здоровье – состояние относительное, человек может быть признан как больным, так и здоровым. Такой подход дает значительную свободу в выборе референтной группы, так как при установлении РИ определение здоровья зависит от предполагаемого использования полученных эталонных значений [18].

Обычно РИ устанавливаются по результатам обследования «практически здоровых лиц». При этом лаборатории часто сталкиваются с данными, имеющими мультимодальное или асимметричное распределение, что может быть связано с высокой распространенностью субклинического проявления заболевания у выбранной группы лиц. Согласно концепции «практически здорового человека», обнаруженные отклонения от

нормы, характерные для донозологических состояний, не влияют существенно на самочувствие и работоспособность человека, но одновременно являются одним из основных и распространенных факторов риска развития различных форм заболеваний [15]. В группу, по которой рассчитывается РИ, всегда входит часть «не нормальных» лиц, т.е. существует вероятность того, что пациент с результатами, не выходящими за РИ, может быть нездоров [19]. С другой стороны, важно учитывать, что РИ являются статистическими данными 95% популяции, при этом у 5% здоровых лиц обнаруживаются «ненормальные» лабораторные показатели, поэтому не все значения, выходящие за область нормальных значений, являются патологическими [5]. В середине 1990-х годов Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS) опубликовал рекомендации по самостоятельному определению РИ в каждой клинической лаборатории для каждого теста, применяемого для обследования населения, которое она обслуживает. Использование полученных «локальных» РИ должно уменьшить частоту ложноположительных результатов и повысить раннее обнаружение патологии в обследуемой популяции [13, 23]. При установлении РИ для каждой индивидуальной категории (пол, возраст) с применением непараметрических методов статистики требуется минимум 120 наблюдений [15, 22].

В ряде публикаций отмечается, что в действительности даже в крупных лабораториях разработка собственных РИ для каждого вида анализа является очень трудоемким и дорогостоящим процессом [13, 14, 24, 26].

В зарубежной литературе описаны следующие способы установления РИ: 1) локальное установление РИ: а) классический (рекомендованный) подход – набор референсной группы с применением строгих критериев включения и исключения, обследование и расчет РИ, б) «апостериорный»/косвенный подход – использование для расчета РИ результатов ранее обследованных в данной лаборатории пациентов, хранящихся в базе данных лаборатории за определенный период времени; 2) установление РИ по результатам проведенного мультицентрового исследования (в исследовании принимают участие одновременно несколько лабораторий); 3) перенос данных (из справочной литературы, инструкций производителей реагентов и оборудования).

Большинство лабораторий во всем мире используют РИ, опубликованные в инструкциях к реагентам, анализаторам, в справочной литературе или полученные в другой лаборатории [22, 26]. При этом каждая ла-

боратория обязана проверить эти данные и убедиться в том, что характеристики референсной популяции и уровень выполнения аналитических процедур в лаборатории и в используемом источнике сопоставимы.

Процедура проверки РИ описана в ГОСТ Р 53022-3-2008 [4]. В реальности лаборатории часто используют опубликованные РИ, установленные на других измерительных системах и для другой популяции, что может привести к значительным ошибкам при интерпретации результатов исследования [22]. В инструкциях к гематологическим анализаторам, используемым в нашей стране, приведены РИ, полученные при обследовании населения тех стран (с его расовыми, этническими, географическими и другими особенностями), в которых они произведены, что обязывает нас в любом случае проводить проверку этих данных. Кроме того, полученные результаты могут различаться при использовании гематологических анализаторов, основанных на разных методиках подсчета и дифференцировки клеток крови. При продолжающемся совершенствовании измерительных приборов и внедрении новых методов необходимо обновление создания новых РИ, о чем говорится в стандарте ISO 15189 от 2003 г. [26]. Важно отметить, что Директива Евросоюза и Европарламента от 1998 г. (98/79 подраздел 8.7) гласит: «там, где это уместно, инструкции к эксплуатации должны содержать референсные значения для определяемых параметров для соответствующей популяции». Это подчеркивает необходимость совместной работы производителей и лаборатории для установления РИ [14, 16, 26].

Значение РИ зависит от: а) характеристик референсной группы; б) преаналитического этапа диагностики (условия подготовки пациента к обследованию, процедура взятия крови, хранение и транспортировка образца); в) аналитического этапа (используемый метод, аналитические возможности и корректная работа анализатора, статистические методы при обработке результатов).

Основные проблемы связаны с формированием референсной группы. Наиболее распространенный подход – получение РИ в популяции здоровых людей, но в данном случае определение «здоровья», действительно, проблематично не только из-за самого определения, которое является главным критерием включения в референсную группу, но также из-за вполне реальной возможности, что некоторые заболевания могут, по сути, иметь субклиническое, бессимптомное течение [15]. Состав референсной группы должен отражать состав попу-

ляции, для которой создается РИ [27]. При исследовании в естественной популяции может быть получено большое количество аномальных значений от нездоровых участников, что приводит к расширению референсного диапазона [29].

В настоящей работе для установления РИ был использован другой метод набора референсной группы – «косвенный» (апостериорный, ретроспективный). Достоинствами этого подхода, заключающегося в обработке результатов, уже собранных и сохраненных в базе данных лаборатории, являются доступность и значительное количество данных, экономия времени и средств. Кроме того, при использовании ретроспективного анализа данных для установления РИ устраняется основная проблема набора референсной группы для пожилых пациентов, для детей, беременных женщин и других относительно малочисленных групп. В ряде публикаций обсуждается этот подход, при использовании которого удалось получить клинически значимые РИ [13, 23, 24]. При этом полученные РИ являются, так же как при прямом наборе группы, «локальными» и имеют перечисленные выше недостатки (зависят от индивидуальных характеристик обследуемой популяции, от используемых при анализе методик и др.). Настороженность в использовании косвенного метода установления РИ связана с тем, что полученные РИ могут быть слишком «широкими» из-за включения результатов от нездоровых обследованных [15, 20]. В нашей стране в последнее время в связи с расширением практики диспансеризации работающего населения и регулярного проведения периодических профилактических осмотров стало возможным обследование больших контингентов условно здорового взрослого населения [11]. Центры профилактической медицины (с возможностью оценки данных повторной диспансеризации пациентов для уточнения состояния их здоровья) весьма привлекательны для создания РИ ретроспективным путем [28]. Данная информация весьма важна как для верификации диагноза, так и для оценки эффективности проводимой терапии.

Заключение

Проведенное пилотное исследование позволило получить референтные интервалы поляризуемости эритроцитов, измеренной методом диэлектрофореза, с учетом возрастных и половых различий на примере населения Октябрьского района г. Новосибирска. Полученные экспериментально данные коэффициента объемной поляризуемости согласуются с величинами данного

показателя, вычисленными теоретически. Необходимо продолжение исследований в данном направлении в связи с перспективностью данного параметра эритроцитов для клинической практики.

Список литературы

1. Бакиров Т.С., Генералов В.М., Чепурнов А.А., Тюников Г.И., Порываев В.Д. Анализ механизма деполаризации клеток на начальных стадиях вирус-клеточного взаимодействия // Доклады академии наук. – 1998. – Т. 363, № 2. – С. 258–259.
2. Букринская А.Г. Вирусология. – М.: Медицина, 1986. – 336 с.
3. Генералов В.М., Кручинина М.В., Дурыманов А.Г., Медведев А.А., Сафатов А.С., Сергеев А.Н., Бурак Г.А., Курилович С.А., Громов А.А. Диэлектрофорез в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний. – Новосибирск: Изд-во «ЦЭРИС», 2011. – 172 с.
4. ГОСТ Р 53022-3 – 2008. Технологии лабораторные и клинические. Требования к качеству лабораторных исследований. Правила оценки клинической эффективности лабораторных тестов. – М.: Стандартинформ, 2009. – 22 с.
5. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 822 с.
6. Кручинина М.В., Громов А.А., Рабко А.В., Курилович С.А., Генералов В.М., Бакиров Т.С., Шакиров М.М. Патогенетические варианты реологических нарушений у пациентов, перенесших инсульт // Сибирский медицинский журнал. Томск. – 2010. – Т. 25, № 2, Вып. 1. – С. 177–179.
7. Кручинина М.В., Курилович С.А., Громов А.А., Генералов В.М., Бакиров Т.С., Рихтер В.А., Семенов Д.В., Морозов С.В. Алкогольное поражение печени. Взаимосвязь электрических, вязкоупругих характеристик эритроцитов и структуры их мембран // Вестник НГУ. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 96–103.
8. Кручинина М.В., Курилович С.А., Громов А.А., Рабко А.В., Бакиров Т.С., Генералов В.М., Пак А.В. Отличия электрических и вязкоупругих свойств эритроцитов при аритмиях алкогольного и неалкогольного генеза // Омский научный вестник. – 2005. – Т. 1, № 13. – С. 169–173.
9. Кручинина М.В., Курилович С.А., Паруликова М.В., Бакиров Т.С., Генералов В.М., Пак А.В., Звольский И.И. Электрические и вязкоупругие свойства эритроцитов у пациентов с диффузной патологией печени // Доклады академии наук. – 2005. – Т. 401, № 5. – С. 701–704.
10. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Теоретическая физика. Т. 8. Электродинамика сплошных сред. – М.: Наука, 1982. – 620 с.
11. Маянский Н.А., Боровков Н.Н., Егорова Т.В., Волкова С.А., Балабанов А.С., Подсосова Е.В., Торшакова Г.А. Показатели гемогаммы у взрослого работающего населения // Гематол. и трансфузиол. – 2008. – Т. 53, № 1. – С. 21–27.
12. Реброва О.В. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2000. – 312 с.
13. Block B.J., Dolan C.T., Miller G.C., Fitter W.F., Hartsell B.D., Crowson A.N., Sheehan W.W., Williams J.D. The data warehouse as a foundation for population-based reference intervals // Am. J. Clin. Pathol. – 2003. – Vol. 120, № 5. – P. 662–670.
14. Ceriotti F. Prerequisites for use of common reference intervals // Clin. Biochem. Rev. – 2007. – Vol. 28, № 3. – P. 115–121.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. – Wayne, PA, 2010. – 60 p.
16. Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council of 27 October 1998 on in vitro diagnostic medical devices // Official J. Eur. Commun. – 1998. – L331/1–L331/37.

17. Generalov K., Generalov V., Safatov A., Durymanov A., Buryak G., Kruchinina M., Voevoda M., Gromov A. Nonlinear polarizability of erythrocytes in non-uniform alternating electric field // *Open Journal of Biophysics*. – 2014. – № 4. – P. 97–103.
18. Gräsbeck R. The evolution of the reference value concept // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2004. – Vol. 42, № 7. – P. 692–697.
19. Herklotz R., Lüthi U., Ottiger C., Huber A.R. Referenzbereiche in der Hämatologie // *Therapeutische Umschau*. – 2006. – Bd 63, № 1. – P. 5–24.
20. Hoffman R.G. Statistics in the practice of medicine // *JAMA*. – 1963. – Vol. 185. – P. 864–873.
21. Horn P.S., Feng L., Li Y., Pesce A.J. Effect of outliers and nonhealthy individuals on reference interval estimation // *Clin. Chem.* – 2001. – Vol. 47, № 12. – P. 2137–2145.
22. Horowitz G. L. Reference intervals: Practical aspects // *J. IFCC*. – 2008. – Vol. 19, № 2. – P. 1–11.
23. Jones G.R.D., Barker A., Tate J., Lim C.-F., Robertson K. The case for common reference intervals // *Clin. Biochem. Rev.* – 2004. – Vol. 25, № 2. – P. 99–104.
24. Katayev A., Balciza C., Seccombe M.D. Establishing Reference Intervals for Clinical Laboratory Test Results. Is There a Better Way? // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2010. – Vol. 133, № 2. – P. 180–186.
25. Kruchinina M., Voevoda M., Peltek S., Kurilovich S., Gromov A., Kruchinin V., Rykhlytsky S., Volodin V., Generalov V., Shuvalov G. Comment on optical methods in blood studies upon evaluation of severity rate of diffuse liver pathology // *Int. J. New Technol. and Res.* – 2016. – Vol. 2, № 4. P. 7–12.
26. Malati T. Whether western normative laboratory values used for clinical diagnosis are applicable to Indian population? An overview on reference interval // *Indian J. Clin. Biochem.* – 2009. – Vol. 24, № 2. – P. 111–122.
27. Pfaeffli J. Reference limits for the automated haematology analyser sysmex XE-2100 // *Sysmex J. Int.* – 2002. – Vol. 12. – P. 18–23.
28. Siest G. Study of reference values and biological variation: A necessity and a model for Preventive Medicine Centers // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2004. – Vol. 42, № 7. – P. 810–816.
29. Tsang C. W., Lazarus R., Smith W., Mitchell P., Koutts J., Burnett L. Hematological indices in an older population sample: derivation of healthy reference values // *Clin. Chem.* – 1998. – Vol. 44, № 1. – P. 96–101.