



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

**CORRELACION ENTRE LOS NIVELES DE CONCENTRACION DE
HIERRO Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS EN POSTULANTES A
DONACION DE SANGRE EN UN HOSPITAL TIPO II DE LIMA, 2021**

**CORRELATION BETWEEN THE LEVELS OF IRON
CONCENTRATION AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN
APPLICANTS FOR BLOOD DONATION IN A TYPE II HOSPITAL IN
LIMA, 2021**

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE SEGUNDA
ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE
SANGRE**

AUTOR

ODAR ESGARDO CÁCERES CASTILLO

ASESORES

PEDRO ALBERTO ARO GUARDIA

LIMA – PERÚ

2021

ASESORES DEL TRABAJO ACADÉMICO

ASESOR:

Dr. PEDRO ALBERTO ARO GUARDIA

Departamento Académico del Servicio de Hemoterapia y Banco de sangre del

Hospital Cayetano Heredia

ORCID: [0000-0003-3343-7607](https://orcid.org/0000-0003-3343-7607)

DEDICATORIA

A mis amados padres; Estefanía y Segundo, por su esfuerzo y dedicación para hacernos hombres de bien. A mi esposa Giovanna por su comprensión y cariño. A mis queridos hijos Piero y Paolo por ser el motivo de mí inspiración para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Peruana Cayetano Heredia por brindarme la oportunidad de continuar mis estudios de especialización.

Al Dr. Aro Guardia Pedro Alberto por su apoyo, su acertado y eficiente asesoramiento y por dedicarme su valioso tiempo, lo cual hizo posible la elaboración de este proyecto.

A mis docentes, quienes con su profesionalismo y ética me brindaron los más amplios conocimientos y me impulsaron a seguir adelante y superarme cada día. Al personal del Hospital Cayetano Heredia - Lima, quienes me brindaron su apoyo.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Este proyecto será presentado a un fondo Concursable de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Yo, Odar Esgardo Cáceres Castillo, como autor declaro que el presente trabajo de investigación es original y ha seguido los lineamientos establecidos respetando la ética en investigación. Este trabajo de investigación se realiza para obtener el Título de Segunda Especialidad en Hemoterapia y Banco de Sangre que ofrece la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
RESUMEN	
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS	6
2.1. Objetivo general	6
2.2. Objetivos específicos.....	6
3. MATERIAL Y MÉTODO	7
3.1. Diseño del estudio	7
3.2. Población y lugar de estudio.....	7
3.2.1. Criterios de inclusión.....	7
3.2.2. Criterios de exclusión.....	7
3.3. Muestra y muestreo	7
3.4. Operacionalización de variables.....	8
3.5. Procedimientos y técnicas	10
3.6. Aspectos éticos	11
3.7. Plan de análisis de datos	12
4. PRESUPUESTO	13
5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	13
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14
ANEXO.....	18

RESUMEN

Antecedentes: La deficiencia de hierro y la anemia por deficiencia por hierro son patologías frecuentes a nivel poblacional y en postulantes o donantes de sangre. La valoración de la deficiencia de hierro para elegir un donante de sangre es frecuentemente realizada usando diversos parámetros hematológicos. El uso de los parámetros de Beckman Coulter como el porcentaje de hemoglobina de densidad baja (%LHD) y el factor de anemia microcítica (MAF) podrían ser usados como herramientas rápidas y accesibles para la evaluación de los niveles de hierro por basarse en parámetros del hemograma y ser calculados con fórmulas matemáticas. Los resultados de este estudio favorecerían la evaluación de postulantes de forma local. **Objetivo:** Estimar la correlación entre la concentración de hierro y parámetros hematológicos de Beckman Coulter en postulantes a donación de sangre en el servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre de un Hospital tipo II de Lima durante julio a septiembre del 2021. **Materiales y Métodos:** Estudio analítico transversal. Todos los resultados hematológicos de los postulantes a donación de sangre entre julio a septiembre del 2021 serán estudiados. De los registros del Banco de Sangre se recolectará las características de los postulantes y resultados de laboratorio. El %LDH y el MAF serán estimados de acuerdo a lo sugerido por Beckman Coulter. Se realizará un análisis descriptivo de acuerdo a la naturaleza de cada variable, luego, se realizará un análisis bivariado utilizando la R de Pearson o Rho de Sperman según evaluación de supuestos para evaluar la correlación entre los diversos parámetros hematológicos y %LDH y MAF.

Palabras claves: deficiencia de hierro, donantes de sangre, factor de anemia microcítica, densidad de hemoglobina baja, hemograma.

1. INTRODUCCIÓN

Los bancos de sangre a nivel global tienen dos pilares de acción; dar seguridad a los productos sanguíneos con la finalidad de disminuir los riesgos de transmisión enfermedades infecciosas, y asegurar un adecuado suministro de productos sanguíneos que satisfaga necesidades hospitalarias. (1, 2)

La deficiencia de hierro y la anemia por deficiencia por hierro son problemas de salud pública. Ambas condiciones afectan en mayor escala a niños en edad pre escolar y mujeres jóvenes, de forma específica, la prevalencia de deficiencia de hierro en ausencia de dietas fortificadas es 40% en prescolares, 30% en mujeres que menstrúan y 38% en gestantes (3-5).

La falta de hierro afecta múltiples funciones biológicas relacionadas a la respiración celular, la producción de energía, la síntesis de ADN, la proliferación celular, síntesis de la hemoglobina, formación de los eritrocitos, y otros. Del mismo modo, la homeostasis del hierro a nivel biológico es finamente controlado dado que existe un bajo consumo de hierro por parte de la dieta, así como reutilización del mismo a través de procesos fagocíticos de glóbulos rojos senescentes. (7-9)

La donación de sangre afecta las reservas biológicas de hierro, dado que estos pueden reducirse incluso a niveles patológicos. Cabe mencionar que 1 ml de sangre contiene 0.5mg de hierro elemental, y dado que en una donación en promedio se obtienen 450 ml de sangre, el contenido aproximado de hierro es de 250 mg. Dicha concentración de hierro podría representar incluso hasta el 30% del hierro almacenado en hombres y el 80 % del hierro en mujeres. (10,

11) Por tanto, es frecuente observar donantes de sangre con deficiencia de hierro. (10)

El nivel disminuido de hierro es un problema frecuente en mujeres en edad fértil que donan sangre de forma frecuente. Del mismo modo, en varones se observó que, a mayor frecuencia de donación, la frecuencia de donantes varones con niveles reducidos de hierro fue más prevalente dado los niveles reducidos de ferritina. (11) En tal sentido, la cuantificación de hemoglobina es un método frecuentemente utilizado para seleccionar donantes de sangre, no obstante, la diversidad de marcadores disponibles, entre ellos; ferritina, saturación de transferrina, receptor soluble de transferrina, hierro sérico, índices hematológicos como reticulocitos, el volumen corpuscular medio para valorar hipocromía y microcitosis, entre otros, hacen que la selección no sea una fácil decisión. (12)

Algunos marcadores son sensibles a trastornos crónicos o procesos inflamatorios. (12-14). No obstante, algunos otros como la Hepcidina y la hemoglobina reticulocitaria no son afectados por los mismos y reflejan con mayor fidelidad los niveles de reserva de hierro. (15-18) Recientemente, Beckman y Coulter incluyeron dos parámetros nuevos en sus equipos; el factor de anemia microcítica (Maf) y la densidad de hemoglobina baja (%LHD), los cuales son estimados usando las constantes corpusculares obtenidas del hemograma. Ambos parámetros permiten valorar la reserva de hierro y son accesibles y económicos (19-21). El uso de estos dos últimos marcadores ha sido evaluado en diversos estudios, sugiriendo que tienen una sensibilidad

superior al 72,6% y especificidad mayor al 57,3% para la detección de niveles escasos de hierro. (22-24) Del mismo modo, ambos parámetros han demostrado tener una adecuada correlación con otros parámetros como hemoglobina reticulocitaria para el diagnóstico temprano de alteraciones en el metabolismo del hierro. (25, 26)

Dopsaj y colaboradores en el año 2012, evaluaron parámetros hematológicos de Beckman Coulter en presencia de depleción de hierro y eritropoyesis deficiente de hierro como estados que preceden a la anemia por deficiencia de hierro en adultos con enfermedad cardíaca congénita. Se realizaron mediciones relacionadas al hemograma completo, reticulocitos, ferritina, receptor soluble de transferrina, haptoglobina, lactado deshidrogenasa, y además se estimó densidad hemoglobina baja (%LHD), factor de anemia microcítica (Maf) y factor de tamaño glóbulo rojo (RSF). Los investigadores sugirieron que el % LHD junto con el receptor soluble de transferrina son marcadores útiles y adecuados para la valoración del hierro en adultos con cardiopatías congénitas (22). Posteriormente, se determinó que el Maf posee una sensibilidad de 72.6% y especificidad 57.3% para la valoración de eritropoyesis deficiente de hierro en personas sanas y atletas. (23)

Posteriormente, diversos investigadores evaluaron la utilidad del %LHD para la valoración de deficiencia de hierro, encontrando que este marcador es significativamente mayor en casos con verdadera deficiencia, por lo cual su uso para el diagnóstico oportuno y temprano de desórdenes relacionados con la eritropoyesis deficiente de hierro es recomendado. (25, 26) Recientemente, el

uso de %LHD y Maf en donantes de sangre ha sido estudiado. (27) En dicho estudio, se sugiere que el uso de %LHD y Maf permiten diferenciar estados de deficiencia de hierro y normales, con lo cual la selección de donantes aptos se ve favorecida.

El uso de %LHD como marcador de disponibilidad de hierro es útil y consistentemente valioso independientemente de condiciones patológicas subyacentes. (28) No obstante, su uso es poco frecuente en la práctica clínica, así como en la valoración de donantes de sangre. Un potencial problema potencial para los donantes y postulantes a donar sangre es la inadecuada valoración de los depósitos de hierro y la falta de una forma estándar de valoración a nivel organizacional. Las pruebas de laboratorio habituales para estimar las reservas de hierro como; ferritina, saturación de transferrina, o hierro sérico, frecuentemente no son factibles ni están disponibles para cada donante de sangre.

Los parámetros propuestos por Beckman Coulter; %LDH, Maf y factor de tamaño de glóbulo rojos (RSF) han demostrado utilidad en la detección temprana de deficiencia de hierro. Si bien es cierto estos parámetros se encuentran en los diferentes analizadores de Beckman Coulter estos pueden ser calculados mediante fórmulas matemáticas y solo son necesarios los valores del hemograma como hemoglobina, hematocrito, VCM, CHCM, CHM para el cálculo. Además, dichos parámetros no se ven afectados por procesos inflamatorios o patológicos subyacentes.

Este estudio es importante por el conocimiento que brindará y como el alcance que puede generar en la selección de donantes de sangre, siendo novedoso ya que nuestro estudio será el primero en el país que evaluará el uso de los parámetros de Beckman Coulter. Además, el estudio propuesto es factible dado que los Bancos de Sangre locales utilizan el hemograma como parte de la valoración del perfil hematológico inicial para el postulante a donación de sangre. A futuro, los parámetros de Beckman Coulter podrían ser usados de forma local como herramienta de evaluación de los niveles de hierro a pesar de ser realizado mediante cálculos matemáticos por su rapidez y bajo costo por lo que el objetivo de nuestro estudio es determinar la relación entre los niveles de concentración de hierro y los parámetros hematológicos de Beckman Coulter en donantes de sangre.

Finalmente, la pregunta de investigación que guía este estudio es la siguiente; ¿Cuál es la correlación entre la concentración de hierro y parámetros hematológicos de Beckman Coulter en postulantes a donación de sangre en el servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre de un Hospital tipo II de Lima durante julio a septiembre del 2021?

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Estimar la correlación entre la concentración de hierro y parámetros hematológicos de Beckman Coulter en postulantes a donación de sangre en el servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre de un Hospital tipo II de Lima durante julio a septiembre del 2021

2.2. Objetivos específicos

- Estimar la densidad hemoglobina baja (%LHD) y el grado de correlación con la concentración de hierro en postulantes a donación de sangre
- Estimar el factor de anemia microcítica (Maf) y el grado de correlación con la concentración de hierro en postulantes a donación de sangre
- Describir las características de los postulantes a donación de sangre y estratificar las correlaciones de acuerdo a dichas características

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1. Diseño del estudio

Estudio transversal analítico

3.2. Población y lugar de estudio

Todos los postulantes de sangre que acudan al servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre de un Hospital tipo II de Lima durante julio a septiembre del 2021. El trabajo será desarrollado en el Hospital Cayetano Heredia.

3.2.1. Criterios de inclusión

Varones o mujeres entre 18 a 65 años de edad con intención de donar sangre que acudan al servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre entre julio a septiembre del 2021.

3.2.2. Criterios de exclusión

Los postulantes a donación que reporten enfermedades hematológicas, consumo de medicamentos en los últimos 15 días, que tengan una muestra lipémica, que reporten diabetes, hipertensión, hipotiroidismo o anemia o desordenes sanguíneos serán excluidos del estudio.

3.3. Muestra y muestreo

Estudios previos sugieren un coeficiente correlación comprendido entre 0.690 y 0.906. (26) Dado estos niveles de correlación, y considerando una significancia de

0.05, poder estadístico de 0.8 el tamaño de muestra estimado resulta en un mínimo de 22 sujetos. No obstante, dada la naturaleza del estudio y la intención de realizar análisis estratificados de acuerdo a características de los postulantes, este estudio propone trabajar con el total de postulantes atendidos durante el periodo de estudio. De esta forma, se asegura potencia estadística para las evaluaciones propuestas en este proyecto.

3.4. Operacionalización de variables:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable y escala de medición	Indicador
Sexo	Característica biológica y genética que divide a los seres humanos en hombre o mujer	Característica del paciente registrada como masculino o femenino obtenida en los registros del Banco de Sangre	Categórica, dicotómica, nominal	Masculino Femenino
Edad	Tiempo cronológico de vida que ha vivido una persona	Edad reportada y registrada en el Banco de Sangre al momento en que se presenta como postulante a donación	Numérica, continua, de razón	Años cumplidos
Índice de masa corporal	Índice calculado con base al peso y la estatura de la persona	Peso dividido entre la talla al cuadrado. Medida estimada al registro en el Banco de Sangre	Numérica, continua, de razón	Kg/m ²
Tiempo de ultima donación	Tiempo cronológico después que se realizó la última donación	Tiempo en meses después que se realizó la última donación según autoreporte	Numérica, continua, de razón	Meses
Glóbulos rojos	Parámetro que mide la cantidad de glóbulos rojos en la sangre	Número de glóbulos rojos en la sangre determinado por un analizador hematológico	Numérica, continua, de razón	mill/mcL

Hemoglobina	Proteína de la sangre cuya función es el transporte de oxígeno	Concentración de hemoglobina determinada por un analizador hematológico	Numérica, continua, de razón	gr/dl
Hematocrito	Volumen de glóbulos con relación al total de la sangre; se expresa de manera porcentual.	Porcentaje estimado por un analizador hematológico	Numérica, continua, de razón	%
Volumen corpuscular medio	Tamaño promedio de los glóbulos rojos	Parámetro calculado por siguiente fórmula: $VCM = (Hcto/RBC) \times 10$ y estimado por un analizador hematológico	Numérica, continua, de razón	fL
Hemoglobina corpuscular media	Masa de la hemoglobina contenida en un glóbulo rojo	Parámetro calculado por siguiente fórmula: $HCM = (Hg/RBC) \times 10$ y estimado por un analizador hematológico	Numérica, continua, de razón	pg
Concentración de hemoglobina corpuscular media	Concentración de hemoglobina en un volumen determinado de glóbulos rojos	Parámetro calculado por la fórmula: $CHCM = Hb/Hcto) \times 100$ y estimado por un analizador hematológico	Numérica, continua, de razón	g/dL
Concentración de hierro	Concentración sérica de hierro en una persona	Definido por los valores de ferritina y medido por quimioluminiscencia	Numérica, continua, de razón	ng/ml
Densidad hemoglobina baja	Parámetros hematológicos para identificar alteraciones en el metabolismo del hierro	Parámetro calculado mediante la siguiente fórmula: $LHD = 100 \times \sqrt{1 - 1/(1 + e^{(1.8(30 - CHCM))})}$	Numérica, continua, de razón	%
Factor de anemia microcítica	Parámetros hematológicos para identificar alteraciones en el metabolismo del hierro	Parámetro calculado mediante la siguiente fórmula: $MAF = ((Hb \times VCM) / 100)$	Numérica, continua, de razón	Número

3.5. Procedimientos y técnicas

Dada la naturaleza de un análisis secundario, los datos serán recolectados a partir de los registros del Banco de Sangre. A continuación, se describen los pasos que serán ejecutados por el grupo de investigación;

- Este estudio será realizado por un licenciado en tecnología médica bajo la supervisión de un médico del servicio de Banco de Sangre y Hemoterapia.
- Los postulantes a donación de sangre serán seleccionados de acuerdo a los criterios de inclusión y considerando los de exclusión. Además, completarán un consentimiento informado (Anexo 1)
- A todos los postulantes de forma rutinaria se les toma una muestra venosa de sangre para realizar un hemograma.
- La muestra recolectada con el anticoagulante Ácido Etilendiaminotetraacético dipotásico (EDTA K2) es procesado de acuerdo a los lineamientos del Banco de Sangre. Los resultados son registrados en un sistema digital y físico para futura referencia.
- El hemograma es realizado de forma rutinaria utilizando el analizador hematológico CELL-DYN Emerald/Abbott, el cual es de 3 diferenciales. El número de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) son estimados a partir de los resultados del analizador. Toda la información es registrada de forma digital y física de forma regular.

- La ferritina es frecuentemente procesada en el analizador automatizado MAGLUMI 600 mediante la técnica de quimioluminiscencia. Los resultados digitalizados y registrados también de forma física
- Los parámetros hematológicos de Beckman Coulter serán estimados utilizando las siguientes formulas; $MAF = ((Hb \times VCM)/100)$ y $\%LHD = 100 \times \sqrt{1 - 1/(1 + e^{(1.8(30 - CHCM))})}$. El cálculo será realizado utilizando una hoja de Excel para facilitar la estimación
- Todos los datos recolectados serán digitalizados e ingresados en una base de datos utilizando una hoja de Excel. Posteriormente, la información será exportada a Stata v15 para el respectivo análisis estadístico.

3.6. Aspectos éticos

Este protocolo se registrará en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y será evaluado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) previamente a su ejecución. Durante la implementación del estudio se respetarán los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se seguirán estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

Es importante mencionar que, al ser este un análisis secundario de datos, no se propone trabajar directamente con humanos ni con muestras. Asimismo, es necesario mencionar que todos los procesos relacionados al laboratorio son rutinarios y ejecutados de forma regular como parte del proceso de selección de donantes. En tal sentido, este estudio no propone reclutar participantes, sino trabajar con sus datos recolectados de forma consentida y rutinaria.

Toda la información será anonimizada y se utilizarán códigos que no permitan la identificación futura de los postulantes.

3.7. Plan de análisis de datos

Para el análisis univariado, las variables categóricas serán resumidas usando frecuencias y proporciones. Las variables numéricas serán resumidas calculando los promedios y desviaciones estándar de cada una de ellas. Si las variables no siguen una distribución normal entonces serán resumidas con medianas y rangos. Para determinar la fuerza y dirección de la correlación la ferritina con respecto los parámetros de Beckman Coulter (Maf y %LHD) se realizará pruebas independientes usando la R de Pearson luego de evaluar el cumplimiento de los supuestos. En caso los supuestos estadísticos no sean cumplidos, se optará por el uso de una prueba no paramétrica como la Rho de Spearman. Del mismo modo, se procederá a realizar evaluaciones de forma estratificada de acuerdo a las características de los postulantes. Se construirá modelos de regresión lineal simple para la ferritina considerando el Maf y %LHD como predictores independientes. Se evaluará posibles transformaciones en caso no se cumpla el supuesto de linealidad. Se reportarán los coeficientes beta con sus respectivos intervalos de confianza al 95%. Se explorará el efecto de la edad, sexo e IMC para ferritina en cada modelo de regresión. Todos los análisis mencionados se realizarán con el software estadístico Stata v15 (StataCorp, TX, US), considerando un valor de $p \leq 0.05$ como estadísticamente significativo.

4. PRESUPUESTO

MATERIAL DIDACTICO			
Concepto	Cantidad	Precio/U	Subtotal
Papel Bond 80 gr	2 cientos	25	S/.50.00
Copias	200	0.1	S/.30.00
Plumón indeleble	2	4	S/.8.00
Lapiceros de tinta líquida	3	6	S/.18.00
Asesoramiento estadístico	30 h	10	S/.300.00
Movilidad	30 h	60	S/.60.00
Total			S/.466.00

5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Tiempo (meses)	Meses						
		1	2	3	4	5	6	7
Búsqueda de bibliografía y elaboración del proyecto	2	x	x					
Presentación del proyecto a la FMAH de la UPCH	1		x					
Evaluación por el Comité de Ética	1			x				
Recolección de datos y digitalización del mismo	2				x	x		
Análisis de datos	1.5					X	x	
Redacción de informe final	1.5						x	x

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Popovsky MA. Anemia, iron depletion, and the blood donor: it's time to work on the donor's behalf. *Transfusión*. 2012;52(4):688-92
2. Delfini R, Langhi D. Blood donation, blood supply, iron deficiency and anemia – It is time to shift attention back to donor health. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2012;34(5):323-33
3. Longo D. Iron-Deficiency Anemia. *N Engl J Med* 2015; 372:1832-43.
4. Stevens GA, Finucane MM, De-Regil LM, et al. Global, regional, and national trends in haemoglobin concentration and prevalence of total and severe anaemia in children and pregnant and non-pregnant women for 1995-2011: a systematic analysis of population-representative data. *Lancet Glob Health* 2013; 1(1): e16-e25
5. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood* 2014; 123: 615-24.
6. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism. *Cell* 2010; 142: 24-38
7. Waldvogel-Abramowski, S, Waeber G, Gassner C, Buser A, Frey B, Favrat B, and Tissot J. Physiology of Iron Metabolism. *Transfus Med Hemoter*. 2014; 41(3): 213–221.

8. Dev S, Babitt J. Overview of Iron Metabolism in Health and Disease. *Hemodial Int.* 2017; 21(1): S6–S20.
9. Zhao N, Zhang A, Enns C. Iron regulation by hepcidin. *J Clin Invest.* 2013; 123:2337–2343.
10. Rigas S, Pedersen O, Erikstrup C, Hjalgrim H & Ullum H. Blood donation and iron deficiency. *ISBT Science Series* 2017; 12:142–147
11. Kiss J, Birch R, Steele W, Wright D, Cable RG. Quantification of body iron and iron absorption in the REDS-II Donor Iron Status Evaluation (RISE) study. *Transfusion.* 2017; 57(7): 1656–64.
12. Brugnara A. Hematologic “Gold Standard” for Iron-deficient States?. *Clinical Chemistry* 2002;48(7) :981-2
13. Thomas C, Thomas L. Biochemical and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem* 2002; 48:1066-1076.
14. Hernández L, Fundora T, Andrade M. El conteo automático de reticulocitos: una herramienta de uso diagnóstico, clínico e investigativo. *Rev Cuba Hematol Inmunol Hemoter.* 2015;31(4):362-
15. Hugman A. Hepcidin: an important new regulator of iron homeostasis. *Clin Lab Haematol.* 2006;28(2):75-83
16. D'Angelo G. Role of hepcidin in the pathophysiology and diagnosis of anemia. *Blood research.* 2013;48(1):10-5.

17. Márquez Y, Cruz S, Vargas D. Hemoglobina de reticulocito y su importancia en el diagnóstico temprano de anemia ferropénica. Univ Salud. 2018;20(3):292-303.
18. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. Clin Lab Haematol. 2006;28(5):303-8.
19. Urrechaga E. The new mature red cell parameter, low hemoglobin density of the Beckman-Coulter LH750:clinical utility in the diagnosis of iron deficiency. Int J Lab Hematol.2010;32 (1) :44-50
20. Dopsaj V, Martinovic J, Dopsaj m. Early detection of iron deficiency in elite athletes: could microcytic anemia factor (Maf) be useful?. Int. Jnl. Lab. Hem. 2014, 36, 37–44
21. Urechaga E, Borque L, Escanero JF. Erythrocyte and Reticulocyte Indices on the LH 750 as Potential Markers of Functional Iron Deficiency. Anemia. 2010; 2010:1-6.
22. 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 Jnl. Lab. Hem 2012. 34(5):461-72

23. Dopsaj V, Martinovic J, Dopsaj m. Early detection of iron deficiency in elite athletes: could microcytic anemia factor (Maf) be useful?. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2014, 36, 37–44
24. Gezgin D, Kaya Z, Bakkaloglu S. Utility of new red cell parameters for distinguishing functional iron deficiency from absolute iron deficiency in children with familial Mediterranean fever. *Int J Lab Hematol.* 2019;41(2):293-7
25. Ng E, Leung J, Lau Y, Ma E. Evaluation of the new red cell parameters on Beckman Coulter DxH800 in distinguishing iron deficiency anaemia from thalassaemia trait. *Int J Lab Hematol.* 2015;37(2):199-207
26. Ambayya A, Sasmita A. and Sathar J. Utilizing Extended Red Blood Cell Parameters to Distinguish Iron-Deficient Erythropoiesis - Related Disorders in Malaysian Female Population. *Int J Blood Res Disord* 2019; 6(1):1-9
27. 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
28. Urrechaga E, Unceta M, Borque L, Escaner J. Low hemoglobin density potential marker of iron availability. *Int Jnl. Lab. Hem.* 2012, 34, 47–51