
UTILIDAD CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA EQUIVALENTE EN PACIENTES EN HEMODIALISIS CRÓNICA .

CLINICAL USEFULNESS OF THE RETICULOCYTE HEMOGLOBIN EQUIVALENT IN CHRONIC HEMODIALYSIS PATIENTS

Eckhardt Aa, Freiberg Ma, de la Fuente Jbc, Douthat Wbc, Capra Ra.

Resumen

Antecedentes. La deficiencia de hierro es la principal causa de falla en la respuesta a la eritropoyetina (EPO) en pacientes en hemodiálisis. Existen diversas pruebas de laboratorio para detectar dicha deficiencia, la Ferritina y el índice de saturación de Transferrina (IST) son las de uso más común pero sus limitaciones en esta población de pacientes hacen necesaria la búsqueda de otros parámetros para mejorar la identificación del estado ferropénico. Objetivo. Evaluar la capacidad de la Hemoglobina Reticulocitaria Equivalente (Ret-He) de predecir deficiencia de hierro, teniendo como estándar de referencia al aumento de hemoglobina (Hb) en respuesta al aporte de hierro. Materiales y Métodos: 44 pacientes en hemodiálisis crónica y dosis fija de EPO recibieron 400 mg de hierro intravenoso. Se midieron Hb, Ret-He, Fracción de Reticulocitos Inmaduros (IRF), IST y Ferritina previa a la administración de hierro. Luego de 20 a 30 días de finalizada la carga los pacientes se clasificaron en respondedores si la Hb aumentaba en por lo menos 0,8 g/L y no respondedores si este incremento no ocurría. Resultados: 25 pacientes fueron respondedores; el análisis por curvas COR mostró al Ret-He con la mayor ABC de 0,862 similar a la ABC de 0,833 que mostró el IST, pero el primero con mayor sensibilidad (72% IC95%: 51-88% vs 52% IC95%: 31-72%) y especificidades similares (94.7% IC95%: 74-100% vs 100% IC95%: 82-100%). El ABC de Ferritina fue 0,772 y por último el ABC de IRF 0,7. El Ret-He, para un punto de corte de 29,5 pg mostró la mejor combinación de sensibilidad y especificidad (72 y 94,7 respectivamente), y la sensibilidad de la combinación Ret-He/IST se elevó a 80% con especificidad de 94,7%. Conclusiones. De acuerdo a estos resultados podría considerarse al Ret-He y la combinación Ret-He/IST de utilidad clínica para la identificación del déficit de hierro en pacientes en hemodiálisis crónica.

Palabras clave: deficiencia de hierro, hemoglobina reticulocitaria equivalente, hemodiálisis, eritropoyetina, saturación de transferrina.

Abstract

Background. Iron deficiency is the main cause of failure to respond to erythropoietin (EPO) in haemodialysis patients. Several laboratory tests to detect the deficiency, ferritin and transferrin saturation (TSat) are the most commonly used but its limitations in this patient population are necessary to find other parameters to improve the identification of iron-deficient state. Objective. To evaluate the ability of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (RET-He) to predict iron deficiency, taking as a reference standard to the increase of hemoglobin in response to iron intake. Materials and Methods. 44 patients on chronic hemodialysis and fixed-dose EPO received 400 mg of intravenous iron. Were measured Hb, Ret-He, IRF, and ferritin prior to iron administration. After 20 to 30 days of completion of loading the patients were classified as responders if hemoglobin increased by at least 0.8 g / L and non-responders if this increase did not occur. Result. 25 patients were responders, the ROC curves analysis showed the Ret-He with the largest AUC of 0.862 similar to

a-Laboratorio de Bioquímica Clínica del Hospital Privado de Córdoba, Córdoba, Argentina.

b-Servicio de Nefrología Hospital Privado Centro Médico de Córdoba, Córdoba, Argentina.

c-Fundación Nefrológica de Córdoba

Correspondencia: Andrea Eckhardt andrea.eckhardt@hospitalprivadosa.com.ar

the AUC of 0.833 that showed the IST, but the first is more sensitive (72% CI 95%: 51-88% vs 52% 95% CI 31-72%) and similar specificity (94.7% CI 95%: 74-100% vs 100% 95% CI 82-100%). Ferritin AUC was 0.772 and finally the IRF AUC was 0.7. The Ret-He, to a cutoff of 29.5 pg was the best combination of sensitivity and specificity (72 and 94.7 respectively), and the sensitivity of the combination Ret-He/IST rose to 80% specificity 94.7%. Conclusions. According to these results it could consider to Ret-He and the Ret-He/IST combination of clinical utility for the identification of the iron deficit in patients in chronic haemodialysis.

Keywords: iron deficiency, reticulocyte hemoglobin equivalent, haemodialysis, erythropoietin, transferrin saturation.

Introducción.

La mayoría de los pacientes con Insuficiencia Renal Crónica (IRC) avanzada presentan anemia normocítica y normocrómica. Si bien su génesis es multifactorial, algunos factores están presentes siempre, por ejemplo el déficit de producción de hematíes por una menor síntesis de eritropoyetina y el aumento de la eritrocateresis por las alteraciones tóxico-metabólicas del medio interno. En determinadas ocasiones pueden intervenir otros factores, como son: fenómenos inflamatorios, déficit de ácido fólico; presencia de inhibidores de la eritropoyetina y déficit de hierro. El tratamiento con eritropoyetina humana recombinante (rhEPO) puede corregir o aliviar la anemia. Antes de iniciar el tratamiento con eritropoyetina (EPO), los niveles de los depósitos de hierro (ferritina) deben ser adecuados para alcanzar el nivel de hemoglobina (Hb) propuesto(1). Si este criterio no se cumple, se debe administrar hierro por vía oral (v.o.) o intravenosa(1) (i.v.) y ácido fólico de ser necesario.

Los pacientes hemodializados bajo tratamiento con EPO frecuentemente desarrollan una eritropoyesis deficiente de hierro (Fe). La deficiencia absoluta de Fe, definida por un índice de saturación de transferrina (IST) <20% o ferritina <100 ng/ml, se debe, entre otras causas, a las pérdidas relacionadas a la propia hemodiálisis, sangrado intestinal, mala absorción, etc. La deficiencia funcional o relativa ocurre en los casos de inflamación crónica o infección. Esto a menudo correlaciona con altos niveles de proteína C reactiva (PCR) y de velocidad de sedimentación globular (VSG). La hepcidina, proteína hepática involucrada en el control de la absorción intestinal del hierro y en su utilización por los macrófagos, aumenta en el estado

inflamatorio bloqueando el hierro almacenado en el sistema retículo-endotelial, de modo que éste no es cedido a la transferrina(2). Como resultado, el IST es bajo con ferritina normal o elevada, ya que ésta es un reactante de fase aguda(3).

El recuento de reticulocitos, la hemoglobina reticulocitaria (Ret-He, Roche Diagnostic), equivalente al contenido de hemoglobina reticulocitaria (CHr, Bayer)(4,10,11), ambos reflejan la disponibilidad de hierro para la síntesis de Hb, y la fracción de reticulocitos inmaduros (IRF) (reticulocitos jóvenes liberados prematuramente), pueden utilizarse como predictores tempranos de eritropoyesis activa y valorar el hierro funcional en una población de pacientes en hemodiálisis(5,6,7). Tanto el Ret-He como la IRF se obtienen del hemograma con recuento de reticulocitos, con un costo muy bajo.

Objetivo

El objetivo de este trabajo fue evaluar en una población de pacientes en hemodiálisis el valor diagnóstico de Ret He con respecto a otros parámetros que se utilizan corrientemente para identificar pacientes con anemia ferropénica.

Materiales y Métodos

Población: se consideraron para el presente estudio una cohorte de pacientes prevalentes pertenecientes al programa de hemodiálisis crónica del Hospital Privado de Córdoba, durante el período comprendido entre diciembre de 2009 y junio de 2010.

Criterios de exclusión: pacientes que presentaron signos o síntomas clínicos sugestivos de hemorragias digestivas altas o bajas, otros sangrados activos, infecciones activas o enfermedades hematológicas. En casos de trombo-

sis de filtros o tubuladuras durante la sesión de hemodiálisis, estas fueron registradas y se solicitó un control de citológico en la diálisis posterior además de los requeridos según el cuadro clínico.

Como parte del protocolo habitual de manejo de la anemia en esta población se determinaron ferritina y saturación de transferrina a los que se sumaron para el presente estudio IRF y el Ret-He. Los valores de ferrocínica para una óptima eritropoyesis, según criterio de nuestro centro, están definidos como niveles de ferritina de al menos de 400 ng/ml y la saturación de transferrina de al menos 40 %. En caso de pacientes con saturación de transferrina y/o ferritina por debajo de los niveles deseados se administró una dosis de hierro de al menos 400 mg en dosis individuales endovenosas de 100 mg cada una, en sesiones consecutivas de hemodiálisis (trisemanal) como dosis de carga. En el caso de pacientes con anemia y marcadores ferrocínicos en rango deseado se administró una dosis similar de hierro; excluyéndose aquellos pacientes con ferritina superior a 800 ng/ml y/o IST superior al 55%. Para los casos de resultados discordantes entre los marcadores se decidió por el menor de ellos, siempre y cuando no se haya superado el límite máximo del otro. Durante el estudio no se modificó el protocolo para el empleo de EPO ni su dosis.

Se consideró como patrón de referencia para anemia ferropénica al aumento de la concentración de Hb de al menos 0.8 g/dl en respuesta a la administración del hierro i.v. en control realizado entre los 20 y 30 días posteriores a terminada la administración de Fe i.v. A los pacientes que no cumplieron con este criterio se los consideró como no ferropénicos funcionales si la ferritina y IST se incrementaba en el control posterior con relación al basal. Se midió

proteína C reactiva como marcador de inflamación.

Determinaciones: la ferritina, transferrina y PCR se midieron por inmunoturbidimetría en autoanalizador Hitachi Modular P. El hierro se cuantificó por método complejimétrico (Ferro-Zinc) en el mismo analizador. En tanto para hemoglobina se empleó un ensayo colorimétrico (SLS-Hemoglobina), el recuento de reticulocitos, el IRF y Ret-He se realizaron por citometría de flujo con marcación fluorescente en contador hematológico Sysmex XE 2100.

Análisis estadístico: Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico MedCalc. Las variables continuas se expresan como media \pm desviación estándar ($M \pm SD$) y las discretas (%) con IC 95%. La comparación de las medias para cada uno de los parámetros analizados entre los grupos de respondedores y no respondedores fue realizada utilizando t de student luego de haber evaluado normalidad con test Kolmogorov-Smirnov, se consideró significación estadística cuando $p < 0,05$. El desempeño global de cada uno de los parámetros estudiados se evaluó a través de las diferencias de Area Bajo la Curva (ABC) por análisis comparativo de Curvas de Operaciones Características (COR), de donde se obtienen para los distintos valores de corte la Sensibilidad (S), Especificidad (E), Valor Predictivo Positivo (VPP) y Valor Predictivo Negativo (VPN) con sus respectivos Intervalos de Confianza a un nivel del 95%.

Resultados

Se incluyeron un total de 44 pacientes, 25 hombres y 19 mujeres, con una edad media de $57,1 \pm 16,8$ y $60,6 \pm 14,7$ años respectivamente. Los pacientes se clasificaron en respondedores y no respondedores de acuerdo al estándar de respuesta a la terapia con Fe i.v. Veinticinco

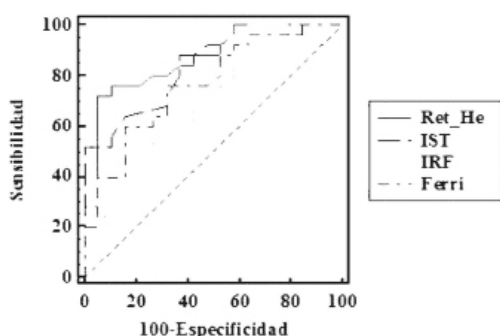
Tabla 1. Valores medios de los parámetros hematológicos y ferrocínicos en los grupos respondedores y no respondedores y los valores de p resultantes de la comparación de medias entre ambos grupos para cada uno de los parámetros utilizando test t.

	Respondedores (media=ds)	No respondedores (media=ds)	p
IST (%)	20,52 \pm 8,78	33,84 \pm 12,02	0,0001
Ferritina (ng/mL)	379 \pm 263	715 \pm 347	0,0007
Ret-He (pg)	27,67 \pm 4,26	32,12 \pm 2,48	0,0001
IRF (%)	22,77 \pm 8,22	16,82 \pm 9,03	0,0278

pacientes (57%, IC 95%: 42-72) respondieron y 19 (43%, IC 95%: 7-31) no lo hicieron, no se observaron valores de PCR elevados en ningún grupo. La tabla 1 muestra los parámetros hematológicos y ferrocinéticos al inicio del estudio de ambos grupos.

Los resultados del análisis de las curvas COR se muestran en la Fig 1 y en la tabla 2. Todos los tests mostraron un área bajo la curva (ABC) significativamente distinta de 0,5. El Ret He fue, el de mayor ABC (0,862, EE=0,058, $p<0,0001$) seguido por IST (0,833, EE=0,060, $p<0,0001$), Ferritina (0,772, EE=0,083, $p=0,0001$) y finalmente IRF (0,700, EE=0,071, $p=0,0172$).

Fig. 1. Curvas ROC para cada uno de los parámetros evaluados en este estudio.



Para evaluar la utilización combinada del Ret-He con aquellos que presentaron valores de

AUC mayores a 0,7 se los analizó en forma conjunta considerando como positivo que al menos uno de los dos parámetros fuera positivo, de acuerdo a esto se obtuvieron nuevos resultados de sensibilidad y especificidad de las combinaciones como se muestra en la tabla 3.

Discusión

El Ret-He fue el parámetro que mostró el mejor rendimiento global, con AUC=0,862, similar a lo encontrado por Brugnara y col(8) Garzia y col(9) y Miwa y col(10) con una especificidad de 94,7 (IC95%: 74,0-99,9) sensibilidad de 72,0 (IC95%: 50,6-87,9) obtenidas para un punto de corte de 29 pg.

En la práctica clínica habitual es común combinar test diagnósticos con la finalidad de mejorar la sensibilidad y especificidad de estos, permitiendo categorizar con mayor precisión la situación de cada paciente. En el presente trabajo la combinación de los test Ret-He e IST incrementó la sensibilidad a 80,0% (IC95%: 59,3-93,1) manteniendo la especificidad en 94,7% (IC95%:74,0-99,9); sugiriendo que esta combinación podría ser la mas adecuada en la práctica clínica. El par Ret-He/IRF mostró máxima sensibilidad pero especificidad muy pobre, mientras que la combinación de Ret-He/Ferri no presenta ninguna ventaja sobre el primer par ensayado y menos aún sobre la utilización de un único parámetro (Ret-He).

Una ventaja adicional del Ret-He es su fácil de-

Tabla 2. Puntos de corte para Ret He, IST, IRF, Reti y Ferritina y valores de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN con sus respectivos IC 95% resultantes.

	Valor de Corte	% S (IC 95%)	% E (IC 95%)	%VPP (IC 95%)	%VPN (IC 95%)
Ret He	≤29,5 pg	72,0 (50,6-87,9)	94,7 (74,0-99,9)	94,8 (74,0-99,9)	71,9 (50,0-88,1)
IST	≤19%	52,0 (31,3-72,2)	100,0 (82,4-100,0)	100,0 (75,3-100,0)	61,1 (41,7-78,3)
IRF	>12,6%	96,0 (79,6-99,9)	42,1 (20,3-66,5)	68,7 (50,9-83,3)	88,8 (48,8-99,8)
Ferritina	≤504 ng/mL	76,0 (54,9-90,6)	68,4 (43,4-87,4)	76,1 (55,0-90,7)	68,3 (42,5-87,7)

Tabla 3. Sensibilidad y Especificidad diagnóstica de las combinaciones de a pares de Ret He con IST, IRF y Ferritina

	Valor de Corte	% S (IC 94%)	% E (IC 95%)	%VPP (IC 95%)	%VPN (IC 95%)
Ret He/IST	≤29,5pg≤19%	80,0 (59,3-93,1)	94,7 (74,0-99,9)	95,2 (76,2-99,9)	78,3 (56,3-92,5)
Ret He/IRF	≤29,5pg>12,6%	100,0 (86,2-100,0)	36,8 (16,3- 61,6)	67,6 (50,2-82,0)	100,0 (59,0-100,0)
Ret He/Ferri	≤29,5pg≤504ng/ml	88,0 (68,8-97,5)	47,4 (24,5-71,1)	68,8 (50,0- 83,8)	75,0 (42,8-94,5)

terminación y bajo costo frente al clásico panel de pruebas bioquímicas utilizadas normalmente para diagnosticar déficit de hierro (hierro sérico, transferrina, ferritina, IST, TIBC, hemograma). El Ret-He se obtiene del hemograma con recuento de reticulocitos y significa un ahorro económico importante por cada determinación frente al costo del panel bioquímico completo del metabolismo del hierro.

Dados los numerosos factores e influencias que determinan la aparición de anemia en esta particular población, se hace necesario recalcar la limitante que constituye entonces el reducido tamaño muestral. No obstante, de acuerdo a estos resultados y considerando que estos coinciden con las guías y recomendaciones de la KDOQI(1), podríamos concluir que Ret-He y la combinación Ret-He/IST tendrían utilidad clínica para la identificación del déficit de hierro en pacientes en hemodiálisis crónica.

Bibliografía

1. National Kidney Foundation. KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for anemia in chronic kidney disease. *American Journal of Kidney Diseases*. 2006; 47 (Suppl 3), S28-S32, S58-S70.
2. Del Castillo Rueda A, De Portugal Álvarez J. Hepcidina, una nueva proteína en la homeostasis del hierro. *An Med Interna (Madrid)* 2003;20: 605-606
3. Wish JB: Assessing Iron Status: Beyond Serum Ferritin and Transferrin Saturation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006 Sep;1 Suppl 1:S4-8. Review.
4. Thomas L., Franck S., Messinger M., Linsen J., Marcus Thomé M., Thomas C. Reticulocyte hemoglobin measurement-comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2005; 43: 1193-1202.
5. Tessitore N, solero GP, Lippi G, Bassi A, Faccini GB, Bedogna V, maschio G: The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1416-1423.
6. Christophe B., Andre´G., Pierre D., Xavier W., Jean-Marie K., Yves B.: Mature erythrocyte parameters as new markers of functional iron deficiency in haemodialysis: sensitivity and specificity. *Nephrol Dial Transplant* 2007 Jan; 22: 1156–1162.
7. Mast A, Blinder M, Dietzen D: Reticulocyte hemoglobin content. *Am. J. Hematol*. 83:307–310, 2008.
8. Brugnara C., Schiller B., Moran J.: Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin. Lab. Haem*. 2006, 28, 303–308
9. Garzia M, Di Mario A, Ferraro E, Tazza L, Rossi E, Luciani G, Zini G. Reticulocyte hemoglobin equivalent: an indicator of reduced iron availability in chronic kidney diseases during erythropoietin therapy. *Lab. Hematol*. 2007; 13(1): 6-11.
10. Miwa N, Akiba T, Kimata N, Hamaguchi Y, Arakawa Y, Tamura T, Nitta K, Tsuchiya K Usefulness of measuring reticulocyte hemoglobin equivalent in the management of haemodialysis patients with iron deficiency. *Int J Lab Hematol*. 2010 Apr;32(2):248-55
11. Maconi M, Cavalca L, Danise P, Cardarelli F, Brini M. Erythrocyte and reticulocyte indices in iron deficiency in chronic kidney disease: comparison of two methods. *Scand J Clin Lab Invest*. 2009; 69(3):365-70.