

## Hemoglobina reticulocitaria: un nuevo parámetro del hemograma de gran valor en el diagnóstico y manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro

Reticulocyte hemoglobin: a new complete blood count (CBC) parameter valuable in the diagnosis and management of iron-deficient erythropoiesis

Germán Campuzano-Maya MD<sup>1</sup>, Natalia M. Guevara-Arismendy MSc<sup>2</sup>

**Resumen:** la incorporación de los autoanalyzer de hematología al laboratorio clínico no solo mejoró la calidad de los resultados de los parámetros convencionales del hemograma sino que ha permitido, especialmente con aquellos de última generación, introducir nuevos parámetros de gran utilidad clínica. Uno de los nuevos parámetros es la hemoglobina reticulocitaria, la cual se vislumbra como una potente herramienta en el diagnóstico y el manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro en sus diferentes manifestaciones, en particular la deficiencia absoluta de hierro, la deficiencia funcional de hierro y el secuestro del hierro. La hemoglobina reticulocitaria en todos los casos en donde hay eritropoyesis deficiente en hierro es el primer parámetro detectable en el hemograma y, a su vez, es el primero que se normaliza cuando la terapia administrada ha sido la adecuada; además, ha demostrado ser costo eficiente, sobre todo por ser un parámetro del hemograma más que una prueba adicional. El único problema, hasta el momento, es que solo está disponible en algunos autoanalyzer de hematología como los de las compañías Siemens y Sysmex, en sus modelos de cuarta generación, también conocidos como hemograma tipo VI o hemograma ampliado o extendido. Con el presente módulo se pretende presentar este nuevo parámetro que la comunidad médica debe incorporar como propio y los laboratorios clínicos deberían estar preparados para incorporarlo a sus portafolios de servicios, como una nueva herramienta complementaria en la prevención, la detección y el manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro en sus diversas manifestaciones.

**Palabras clave:** hemoglobina reticulocitaria, hemograma tipo VI, eritropoyesis deficiente en hierro, deficiencia absoluta de hierro, deficiencia funcional de hierro, secuestro de hierro.

**Abstract:** The incorporation of hematology autoanalyzers in the clinical laboratory improved the quality of the results of conventional blood count (CBC) parameters. In addition, these machines, especially those of last generation, have allowed introducing new parameters of great clinical utility.

<sup>1</sup>Médico, especialista en Hematología y Patología Clínica. Docente Ad Honorem, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Coordinador Grupo de Investigación en Patología Clínica. Médico Director, Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia. Correo electrónico: gcm@ch.co

<sup>2</sup>Microbióloga y Bioanalista, MSc en Microbiología y Bioanálisis, énfasis Hematología. Bacterióloga, Hospital San Vicente Fundación. Medellín, Colombia.

Conflicto de intereses: los autores declaran que no tienen conflicto de intereses

Medicina & Laboratorio 2015; 21: 11-42

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 108. Editora Médica Colombiana S.A. 2015<sup>®</sup>

Recibido el 20 de enero de 2015; aceptado el 25 de febrero de 2015

One of these new parameters is the reticulocyte hemoglobin that is emerging as a powerful tool in the diagnosis and management of iron-deficient erythropoiesis. Also is useful in several of its forms, particularly in absolute iron deficiency, functional iron deficiency, and iron sequestration. The reticulocyte hemoglobin in all cases where there is iron-deficient erythropoiesis is the first parameter detectable in the CBC, in turn; it is the first that is normalized when the administered therapy has been adequate. It has also proven to be cost effective, especially for being a CBC parameter more than an additional test. The only problem so far is that it is only available in some hematology autoanalyzers as those of Siemens and Sysmex companies, in its fourth generation models, also known as type-VI CBC or expanded or extended CBC. With this module pretends to present a new parameter that the medical community should incorporate as own and the clinical laboratories should be prepared to include it into their service portfolios as a new complementary tool in the prevention, detection, and management of iron-deficient erythropoiesis in its various manifestations.

**Key words:** reticulocyte hemoglobin, type VI CBC, iron-deficient erythropoiesis, absolute iron deficiency, functional iron deficiency, iron sequestration.

**Campuzano-Maya G, Guevara-Arismendy NM.** Hemoglobina reticulocitaria: un nuevo parámetro del hemograma de gran valor en el diagnóstico y manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro. *Medicina & Laboratorio* 2015; 21: 11-42.

El hemograma, también conocido como hemoleucograma, cuadro hemático, biometría hemática, recuento de células sanguíneas, CBC (*Complete Blood Count*), o BCC (*Blood Cell Count*) por sus siglas en inglés, es una de las pruebas más solicitadas al laboratorio clínico y uno de los estudios que mayor información aporta al médico sobre la homeostasis de un individuo [1,2]. A través del tiempo, el hemograma ha sido objeto de múltiples modificaciones en cuanto a los parámetros que lo componen, la forma de obtenerlos, los grados de precisión y de exactitud, y la manera de su utilización en la clínica.

La incorporación de los autoanalizadores de hematología al laboratorio clínico no solo mejoró la calidad de los resultados de los parámetros convencionales del hemograma sino que ha permitido, especialmente con aquellos de última generación, conocidos con hemograma de cuarta generación o tipo VI según la codificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [3], desarrollar e introducir nuevos parámetros de gran utilidad clínica [4-11], como se analizarán en éste y en futuros módulos de Medicina & Laboratorio.

El objetivo de este módulo en especial es analizar la utilización de un nuevo parámetro del hemograma, la hemoglobina reticulocitaria, como una nueva herramienta complementaria en la prevención, la detección y el manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro en sus diversas manifestaciones. Además, previamente, se incluye una revisión sobre algunos aspectos básicos del metabolismo del hierro, las formas y fisiopatología de la eritropoyesis deficiente de hierro y las pruebas que soportan su diagnóstico.

## **Papel del hierro en la eritropoyesis**

Para una mejor utilización de la hemoglobina reticulocitaria en la práctica clínica es necesario e importante, como ya se mencionó, revisar algunos aspectos básicos sobre el metabolismo del

hierro y las diferentes formas de la eritropoyesis deficiente en este metal, como se analizará en los siguientes subtítulos.

## Importancia del hierro en el humano

El hierro es un nutriente esencial en el humano. Se estima que un adulto posee en su organismo alrededor de 3-5 g de hierro (aproximadamente 50 mg/Kg de peso) distribuido principalmente en la hemoglobina (65%, equivalente a 2.600 mg de hierro) para el transporte de oxígeno, la mioglobina (6%, equivalente a 130 mg de hierro) para el almacenamiento del oxígeno en el músculo, la ferritina (13%, equivalente a 520 mg de hierro) y la transferrina (0,1%, equivalente a 3 mg de hierro) para el hierro de depósito, y en la hemosiderina (12%, equivalente a 480 mg de hierro) para el almacenamiento intracelular del hierro [12,13]. Además, en pequeñísimas cantidades (3,9%, equivalente a 150 mg de hierro), pero igualmente importantes, el hierro hace parte de otras enzimas, como las catalasas, las peroxidasas, las ferroquelatasas, las aconitasas y los citocromos, entre otras, que participan en múltiples reacciones bioquímicas del organismo [12,14-18].

La cantidad de hierro en el humano varía con la edad y con el género. El recién nacido a término empieza su vida con un depósito de hierro equivalente a 75 mg/kg de peso, el cual recibe de la madre durante el tercer trimestre del embarazo. Este depósito, abundante al principio, rápidamente se reduce a partir de los primeros meses y en el transcurso de los primeros años de vida como resultado de las demandas del crecimiento. Los requerimientos de hierro decrecen luego de la adolescencia en los hombres y por el resto de sus vidas empiezan a acumular hierro hasta alcanzar un promedio de 50 mg/kg de peso de hierro. Entretanto, las mujeres desde la adolescencia continúan requiriendo hierro durante toda su vida para los procesos de menstruación, gestación y lactancia, lo que hace que las mujeres mantengan en promedio niveles de hierro de 35 mg/kg de peso. A partir de la menopausia las mujeres acumulan hierro linealmente como los hombres, llegando a tener un hierro de depósito alrededor de 45 mg/kg de peso [12].

## Homeostasis y metabolismo del hierro en el humano

El hierro del organismo se regula en un sistema cerrado, donde el individuo debe ingerir diariamente, usualmente por la dieta, la proporción de hierro necesaria para compensar los requerimientos del momento y las pérdidas ocultas a través de la descamación epitelial de la piel y el tracto gastrointestinal (alrededor de 1-2 mg de hierro por día). Además, las mujeres que menstrúan fisiológicamente pierden hierro de la sangre [19]. La demanda de hierro diaria para mantener la homeostasis del hierro en el organismo varía de acuerdo a los requerimientos propios de cada etapa de la vida, como se esquematiza en la [figura 1](#) [20].

Una dieta diaria promedio occidental contiene aproximadamente 15 mg de hierro, de los cuales se absorben solamente 1-2 mg a través de la membrana apical de los enterocitos duodenales. En el interior de los enterocitos el hierro se une a la ferritina para su almacenamiento o es liberado al plasma a través de la membrana basolateral por medio de la ferroportina, una proteína transmembrana que funciona como canal para la exportación del hierro. En el plasma el hierro se une a la transferrina y es transportado por todo el organismo. Este hierro puede ser captado por los macrófagos del sistema retículoendotelial a través de un receptor de la membrana celular específico de la transferrina (el TfR1) que conduce a un proceso de endocitosis, liberando al hierro de la transferrina e internalizando. Una vez en los macrófagos el hierro es

utilizado en procesos metabólicos y puede ser almacenado en la ferritina o ser liberado nuevamente al plasma vía ferroportina [19,21,22].

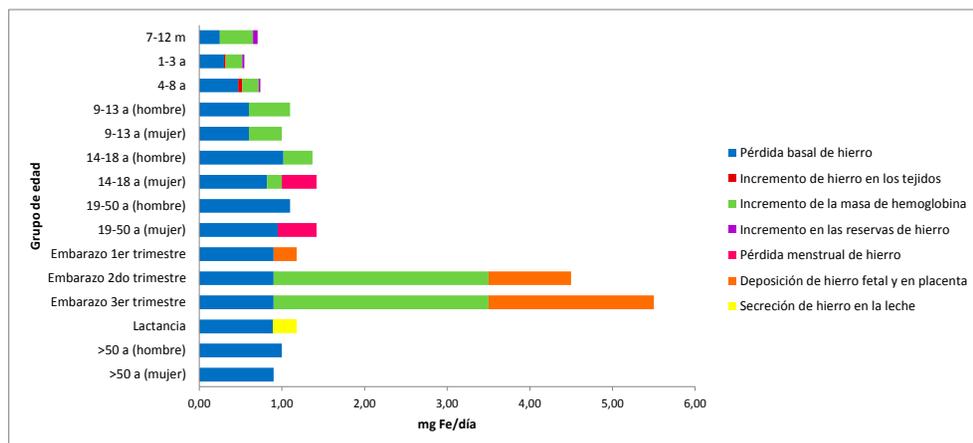


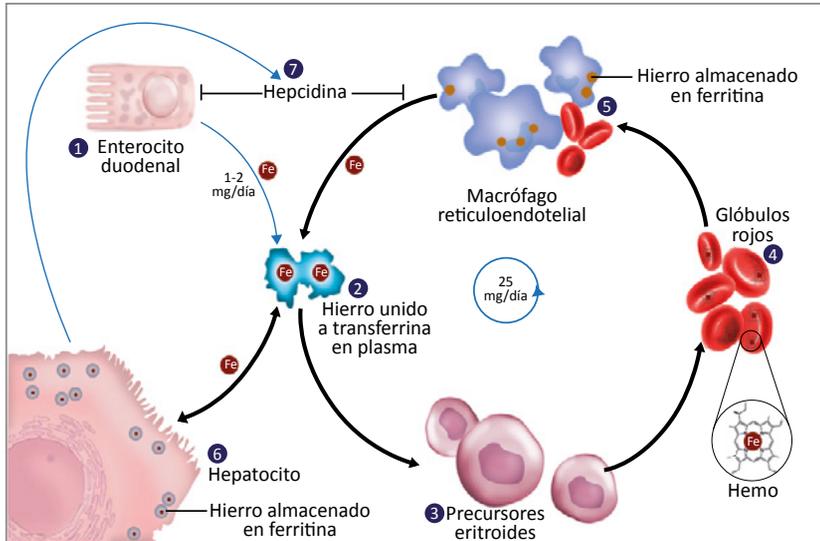
Figura 1. Demanda estimada de hierro por día durante diferentes etapas de la vida. Se incluye la estimación de la pérdida basal de hierro, el incremento de hierro para formar tejidos, la masa de hemoglobina y los depósitos de hierro, las pérdidas menstruales de hierro, el aporte de hierro de la madre para formar la placenta y el feto, y la secreción de hierro a través de la leche. Gráfica de datos obtenidos de *Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academy Press, 2002, p. 290-393* [20].

El hierro también es transportado por la transferrina desde el plasma hacia la médula ósea donde es captado por los eritroblastos a través del receptor de transferrina-I (TfR1) durante la eritropoyesis para la formación del grupo hemo, necesario para la producción de hemoglobina en los eritrocitos. Los eritrocitos transportan el hierro unido a la hemoglobina por toda la circulación y cuando entran en estado de senescencia o son dañados son fagocitados por los macrófagos del sistema retículoendotelial para reciclar el hierro del grupo hemo, siendo regresado al plasma a través de la ferroportina o almacenado en la ferritina. El hígado es otro de los órganos de mayor reserva del hierro a través de la ferritina. Los hepatocitos igualmente pueden captar el hierro unido a la transferrina a través de los receptores de transferrina-I y -II (TfR1 y TfR2), siendo este último considerado principalmente un sensor de la saturación de la transferrina, o exportarlo, en menores proporciones, vía ferroportina. Además, el hígado produce la hepcidina, una hormona peptídica que se une a la ferroportina para inhibir su función de movilización del hierro desde los sitios de reserva (hígado y bazo) y de absorción (duodeno) hacia el plasma [21,22].

Los principales pasos del metabolismo del hierro se representan en la [figura 2](#).

Los humanos, al igual que los demás mamíferos, no poseen ninguna vía fisiológica para la excreción de hierro, por lo que requieren de mecanismos reguladores que controlen su absorción y el reciclaje y la reutilización del hierro celular. Estos procesos de control del hierro se han descrito que son mediados por la hepcidina. Así, cuando los niveles de hierro son altos la producción de hepcidina se incrementa para limitar la absorción intestinal del hierro y evitar su liberación desde los sitios de almacenamiento mientras que en condiciones deficientes en hierro, la producción de hepcidina disminuye, lo que permite que el hierro ingrese al plasma y

alcance los niveles requeridos. De igual manera, el aumento en la actividad eritropoyética suprime la producción de hepcidina, asegurando un suministro suficiente de hierro desde el plasma hacia la médula ósea cuando la demanda de la síntesis de hemoglobina para la formación de los eritrocitos es alta [23,24].



**Figura 2. Ciclo del metabolismo del hierro.** 1. Los enterocitos duodenales absorben aproximadamente 1 mg a 2 mg del hierro de la dieta por día. 2. Una vez absorbido el hierro es liberado al plasma donde se une a la transferrina y es transportado hacia diferentes sitios donde será usado y almacenado. 3. El hierro que llega hasta la médula ósea es utilizado por los precursores eritroides para la síntesis del grupo hemo durante la formación de los eritrocitos. 4. Los eritrocitos transportan el hierro unido a la hemoglobina en la sangre y 5. Cuando entran en estado de senescencia son aclarados por los macrófagos reticuloendoteliales para liberar el hierro del grupo hemo y exportarlo a la circulación o almacenarlo en la ferritina. 6. Los hepatocitos también pueden captar el hierro y almacenarlo en la ferritina; además, son los principales productores de la hormona hepcidina. 7. La hepcidina bloquea la liberación del hierro de los enterocitos y los macrófagos reticuloendoteliales a la circulación mediante la degradación de la ferroportina, una proteína encargada de la exportación del hierro.

La desregulación en alguno de estos mecanismos de homeostasis del hierro conduce a la deficiencia o sobrecarga de sus niveles, lo que resulta perjudicial en ambos casos, dando lugar a una amplia gama de enfermedades. La acumulación patológica de hierro en diferentes órganos se encuentra en diferentes trastornos como la hemocromatosis hereditaria, la aceruloplasminemia, la hipo y atransferrinemia, y la anemia sideroblástica, y de forma secundaria a los síndromes de talasemia y las anemias diserythropoyéticas congénitas [19,25]. Por su parte, como resultado de una incorporación inadecuada de hierro al momento de la eritropoyesis en la médula ósea se presenta la eritropoyesis deficiente en hierro, cuya etiología y fisiopatología se revisará a continuación [26].

## Etiología de la eritropoyesis deficiente en hierro

Desde el punto de vista de la fisiopatología, la eritropoyesis deficiente en hierro se puede dar por uno o la combinación de varios de los siguientes síndromes: deficiencia absoluta de hierro (ausencia global del hierro de depósito) y deficiencia funcional de hierro (resultado de una

demanda de hierro en médula ósea superior a la oferta) [26,27], los cuales se analizarán en los siguientes subtítulos.

## Deficiencia absoluta de hierro

La deficiencia absoluta de hierro, más conocida como deficiencia de hierro, con o sin anemia (*anemia sine anemia*), es un grave problema de salud pública que afecta tanto países desarrollados como países en vía de desarrollo [28]. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud la deficiencia de hierro es el estado carencial más prevalente de la humanidad que afecta más de dos mil millones de individuos y, lo más grave, que compromete mayoritariamente las poblaciones más vulnerables, en particular los niños y las mujeres en edad gestacional, con mayor prevalencia en los países más pobres [29]. La deficiencia absoluta de hierro se asocia con una mayor morbilidad, expresada por el aumento en la susceptibilidad a las infecciones, la disminución en la productividad laboral y el retraso en el desarrollo pondoestatural y cognitivo en los niños, entre otras consecuencias de la deficiencia a largo plazo [30].

La deficiencia de hierro y la anemia por deficiencia de hierro en Colombia es un problema de salud pública moderado a grave, teniendo en cuenta los niveles de clasificación de la severidad de la anemia, según los valores de prevalencia, establecidos por la Organización Mundial de Salud (leve: 5,0% a 9,9%, moderado: 20,0% a 39,9% y grave  $\geq 40\%$ ) [31] y como lo mostró la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia 2010 [32], que se presenta en la [tabla 1](#).

De acuerdo a esta encuesta, la prevalencia de deficiencia de hierro en los niños de 1 a 4 años es del 10,6%, con una mayor frecuencia en los niños de un año o menos (23,7%), seguido de los niños entre uno y dos años (12,3%). En las mujeres en edad fértil (13 a 49 años) esta prevalencia fue del 17,1%, encontrando un mayor porcentaje a mayor edad. En las mujeres gestantes la prevalencia de deficiencia de hierro fue del 37,2%, con mayor deficiencia de hierro en las mujeres entre los 18 y 29 años (39,4%). En cuanto a la anemia, esta misma encuesta reveló que la prevalencia de anemia en niños y niñas menores de cinco años es del 27,5%, con los valores más altos en los niños y niñas entre los seis y 11 meses de edad con un 59,7%, seguida por los niños entre 12 y 23 meses con el 29,0%, y disminuyendo a medida que aumenta la edad. De los niños entre uno y cuatro años presentaron anemia por deficiencia de hierro el 15,9%. El 8,1% de

**Tabla 1. Prevalencia de la deficiencia de hierro y la anemia en la población colombiana según grupo de edad**

Grupo de edad	Prevalencia por deficiencia de hierro (%)	Prevalencia de anemia (%)	Prevalencia de anemia por deficiencia de hierro (%)
<b>Niños 1-4 años</b>			
Total	10,6	27,5	15,9
6-11 m	No determinado	59,7	No determinado
12-23 m	23,7	29,0	31,4%
24-35 m	12,3	18,1	16,8
36-47 m	6,0	13,2	8,5
48-59 m	5,5	11,1	2,2
<b>Niños 5-12 años</b>			
Total	3,5	8,1	7,4
5 a	3,5*	16,5	5,5
6 a	3,4*	10,7	2,1
7 a	5,0*	8,7	18,5
8 a	1,9*	6,9	5,3
9 a	2,3*	6,0	3,7
10 a	4,0*	6,0	5,1
11 a	2,9*	6,4	8,1
12 a	4,7	4,2	17,6

los niños entre cinco y 12 años tuvieron anemia, de los cuales 7,4% presentaron anemia por deficiencia de hierro. En los adolescentes, entre 13 y 17 años, la prevalencia de anemia fue del 10,6%, y de éstos en el 42,1% fue por deficiencia de hierro. Finalmente, en el grupo de mujeres en edad fértil la prevalencia de anemia fue de 7,6%, de las cuales el 52,5% presentaron anemia por deficiencia de hierro. En las mujeres gestantes la prevalencia de anemia fue del 17,9%, de las cuales el 57,3% fue por deficiencia de hierro (véase tabla 1) [32].

## Fisiopatología de la deficiencia absoluta de hierro

La deficiencia absoluta de hierro se desarrolla cuando se excede la capacidad de adquirir hierro por la dieta y la absorción intestinal para compensar los requerimientos o pérdidas de este metal [27]. Vale la pena aclarar que la deficiencia absoluta de hierro, hasta que no se demuestre lo contrario, no es una enfermedad como tal sino la manifestación de otra condición subyacente con la cual está íntimamente asociada y que, la conducta médica en todos los casos debe estar dirigida a identificar y corregir la enfermedad subyacente lo más pronto posible y no a recuperar o sustituir la deficiencia de hierro administrando tratamientos empíricos, perdiendo tiempo precioso para el paciente y oportunidades para los respectivos sistemas de salud, como frecuentemente se hace en todo el mundo.

Excepto cuando la deficiencia absoluta de hierro se da como resultado de una hemorragia aguda, es considerado un proceso característicamente crónico, representado por un balance de hierro negativo, que se desarrolla en tres estadios reconocidos [12,33], a saber:

→ Estadio I, también denominado estadio prelatente de la deficiencia de hierro: representa una reducción en las reservas de hierro sin que los niveles de hierro sérico se encuentren disminuidos en la sangre, siendo éstos suficientes para sostener una eritropoyesis al límite, pero adecuada [12,34]. Esta etapa generalmente cursa asintomática y no produce mayores efectos, aparte de una reducción en la capacidad de responder a demandas crecientes de hierro por causas fisiológicas (p. ej. el embarazo) o patológicas (p. ej. las hemorragias) [27]. Este estadio sólo es posible detectarlo mediante la medición de la ferritina sérica que, en ausencia de enfermedad inflamatoria subyacente, caso en el que no refleja el estado del hierro de depósito, muestra valores reducidos sin alcanzar los valores límite en los que las reservas de hierro se consideran agotadas ( $<12 \mu\text{g/L}$ ) [12,33]. En esta fase la ferritina varía

### Adolescentes 13-17 años

Total	No determinado	10,6	42,1
13 a	No determinado	17,7	31,3*
14 a	No determinado	11,4	45,5*
15 a	No determinado	8,7	44,8*
16 a	No determinado	7,3	44,0*
17 a	No determinado	7,2	43,2*

### Mujeres en edad fértil, no gestantes

Total	17,1	7,6	52,5
13-17 a	14,9	5,5	42,1
18-29 a	15,8	6,6	43,8
30-49 a	20,3	10,3	61,7

### Mujeres gestantes

Total	37,2	17,9	57,3
13-17 a	34,9	19,3	53,0*
18-29 a	39,4	18,3	59,3
30-49 a	32,0	16,0	53,4

\*Coeficiente de variación mayor al 20% y menor al 30% (precisión regular)

Tomado y modificado de «Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia 2010-ENSIN» por República de Colombia, Ministerio de la Protección Social, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, Instituto Nacional de Salud y Profamilia, 2009, Bogotá D.C., Colombia. Copyright © 2014 por ICBF Colombia [32].

usualmente entre 12  $\mu\text{g/L}$  y 30  $\mu\text{g/L}$  (valor de referencia mujeres: 30-200  $\mu\text{g/mL}$ ; hombres: 30-300  $\mu\text{g/mL}$ ) [27,35,36], mientras que la hemoglobina (valor de referencia mujeres: 12-16  $\text{g/dL}$ ; hombres: 13-18  $\text{g/dL}$ ) y el hierro (valor de referencia: 60-170  $\mu\text{g/dL}$ ) continúan siendo mayores que el límite inferior de normalidad [12,27,37].

→ Estadio II, también denominado estadio latente o de agotamiento (depleción) de los depósitos de hierro: se presenta a partir del momento en que además del agotamiento del hierro de depósito, aparecen otras alteraciones bioquímicas de la eritropoyesis deficiente en hierro [12], como la reducción por debajo de los valores críticos de la ferritina sérica ( $<12 \mu\text{g/L}$ ) [12,38], niveles de la saturación de la transferrina por debajo del 16%, considerado el valor mínimo necesario para mantener una eritropoyesis normal (valor de referencia: 20-50%) [12,27,36,37] y disminución en la concentración de hierro sérico ( $<60 \mu\text{g/dL}$ ) [37].

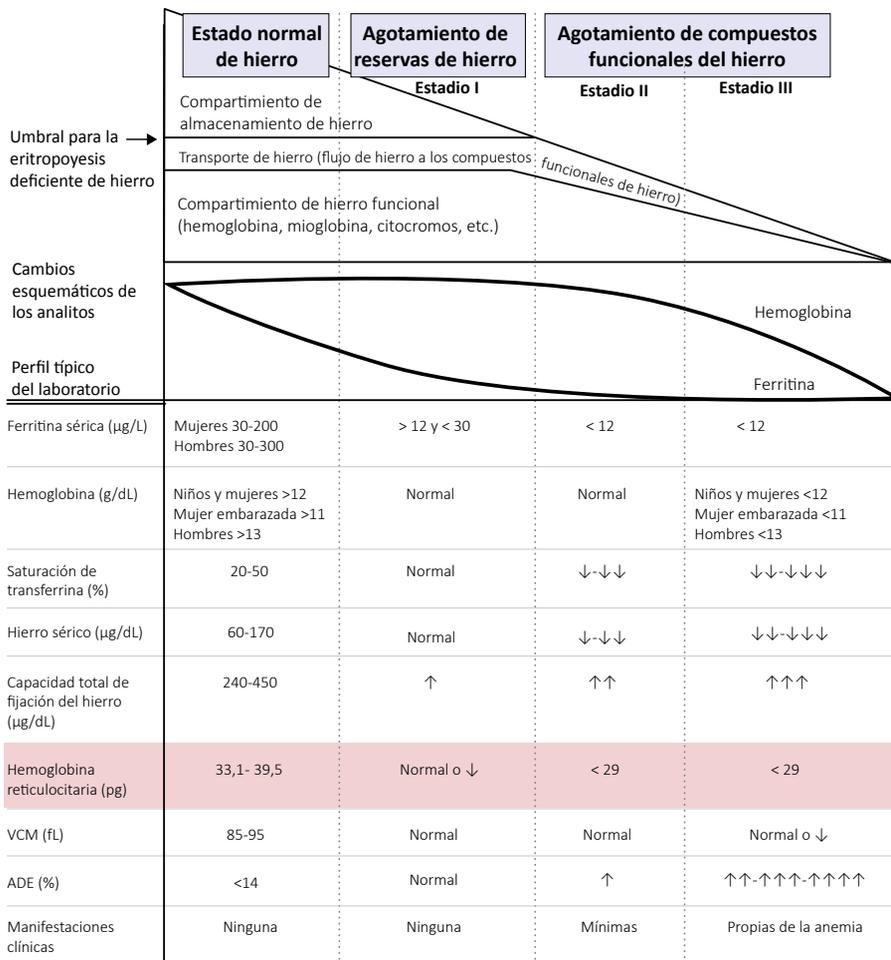
La reducción del suministro de hierro a los precursores eritroides en la médula ósea conduce a la regulación de los receptores de transferrina en los eritroblastos, lo que lleva al aumento en la concentración de los receptores solubles de transferrina (sTfR; del inglés, *soluble Transferrin Receptor*) [27] (valor de referencia: 2,8-8,5  $\text{mg/L}$ ) [27,39,40]. Igualmente, como reflejo del suministro deficiente en hierro se incrementa la capacidad total de fijación del hierro (TIBC; del inglés, *Total Iron-Binding Capacity*) (valor de referencia: 240-450  $\mu\text{g/dL}$ ) [33,37], la protoporfirina libre en los eritrocitos (valor de referencia  $<70 \mu\text{g/dL/eritrocitos}$ ) [27,41] y la protoporfirina eritrocitaria ligada al zinc (valor de referencia  $<800 \mu\text{mol/mol}$  de hemoglobina) [27,40,42].

Además de las modificaciones en los biomarcadores, en el hemograma, particularmente en los realizados con autoanalizadores de hematología de última generación, los parámetros como la hemoglobina reticulocitaria, el ancho de distribución de los eritrocitos y el volumen corpuscular medio se modifican antes de que se presenten alteraciones en la morfología de los eritrocitos como la anisocitosis, la poiquilocitosis y la hipocromía que característicamente se observan en los extendidos de sangre periférica. Los niveles de hemoglobina se pueden reducir, pero pueden no estar por debajo del punto de corte inferior del rango normal [37]. Los pacientes con deficiencia de hierro estadio II usualmente son asintomáticos, pero algunos pueden presentar síntomas y signos inespecíficos como fatiga generalizada o malestar, con deterioro del estado general, a pesar de que no se encuentra anémicos [12].

→ Estadio III, también conocido como anemia por deficiencia de hierro: se presenta cuando, tras el completo agotamiento de los depósitos de hierro, aparece la anemia [12,27]. Fuera de que las alteraciones bioquímicas propias del estadio II se magnifican en el estadio III, aparecen otras relacionadas con las enzimas dependientes del hierro, como los citocromos, las cuales llegan a alcanzar niveles anormalmente bajos [12]. La saturación de la transferrina en suero se encuentra en la mayoría de las ocasiones en niveles muy bajos, efecto que se ve agravado por el aumento de la concentración de la transferrina sérica producido en compensación de la ausencia del hierro. Además, se produce una reducción significativa en los niveles de hemoglobina por debajo del umbral definido para normalidad ( $<13,0 \text{g/dL}$  en hombres y  $<12,0 \text{g/dL}$  en mujeres) y del volumen corpuscular medio. En el extendido de sangre periférica los eritrocitos se observan hipocrómicos y de tamaño variable, algunos en forma de lápiz y otros como células diana, con presencia de reticulocitos [12,27].

Es característico que en esta etapa se presenten las manifestaciones epiteliales, como los cambios en la piel, la glositis, la queilitis angular y la coiloniquia. Además de las manifestaciones clínicas propias de la anemia, como la palidez mucocutánea, la astenia y la adinamia; incluso, gran número de pacientes desarrollan algún tipo de pica, como se analizará más adelante [37,43,44].

En la **figura 3** se esquematizan las fases de presentación de la deficiencia absoluta de hierro y la disminución gradual de los compartimientos de hierro y los cambios en los principales biomarcadores de hierro y el nuevo parámetro de evaluación, la hemoglobina reticulocitaria, en relación a cada fase.



**Figura 3.** Esquema de la disminución gradual de los compartimientos de hierro y los cambios en los biomarcadores de hierro más utilizados en la práctica del día a día, y el nuevo parámetro de evaluación, la hemoglobina reticulocitaria, en los diferentes estadios de avance de la deficiencia absoluta de hierro.

## Etiología de la deficiencia absoluta de hierro

Como se ha expresado en múltiples oportunidades, la deficiencia absoluta de hierro se da como resultado de un balance negativo de hierro que, hasta que no se demuestre lo contrario,

está relacionado con una enfermedad o un estado subyacente que se debe identificar antes que tratar empíricamente la deficiencia. En la [tabla 2](#) se relacionan las causas que con mayor frecuencia llevan a un balance negativo de hierro.

**Tabla 2. Etiología de la deficiencia absoluta de hierro**

Causas	Ejemplo
<b>Fisiológicas</b>	
Aumento de la demanda	Infancia, rápido crecimiento (adolescencia), pérdida de sangre menstrual, embarazo (segundo y tercer trimestre), donación de sangre
Ambientales	Ingesta insuficiente, consecuencia de la pobreza, desnutrición, dieta (p. ej. vegetarianos, veganos, pobre en hierro)
<b>Patológicas</b>	
Disminución en la absorción	Gastreotomía, derivación duodenal, cirugía bariátrica, infección por <i>Helicobacter pylori</i> , enfermedad celíaca, gastritis atrófica, enfermedad inflamatoria intestinal (p. ej. colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn)*
Pérdida crónica de sangre	Tracto gastrointestinal, incluyendo esofagitis, gastritis erosiva, úlcera péptica, diverticulitis, tumores benignos, cáncer intestinal, enfermedad inflamatoria intestinal, angiodisplasia, hemorroides, infección por anquilostomas, causa desconocida  Sistema genitourinario, incluyendo menstruaciones abundantes, menorragia, hemólisis intravascular (p. ej. hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia hemolítica autoinmune con anticuerpos fríos, hemoglobinuria de la marcha o por esfuerzo, enfermedades de las válvulas cardíacas, hemólisis microangiopática)
Relacionado con medicamentos	Sangrado sistémico, incluye telangiectasia hemorrágica, esquistosomiasis crónica, síndrome de Munchausen (p. ej. hemorragias autoinducidas)  Glucocorticosteroides, salicatos, antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la bomba de protones
Genéticos	Anemia por deficiencia de hierro refractaria al hierro
Eritropoyesis restringida en hierro	Tratamiento con agentes estimulantes de la eritropoyesis, anemia por enfermedad crónica, enfermedad renal crónica*

\*Las condiciones inflamatorias pueden estar asociadas con la deficiencia de hierro

Tomado y modificado de «Iron-Deficiency Anemia» por C. Camaschella, 2015, *The New England Journal of Medicine*, 372, p. 1835. Copyright © 2015 por Massachusetts Medical Society [36].

## Manifestaciones clínicas de la deficiencia absoluta de hierro

No hay un cuadro clínico específico de la deficiencia de hierro. Las manifestaciones clínicas varían mucho de un paciente a otro, dependiendo, entre otros factores, del grado de la deficiencia y especialmente de la presencia y el grado de anemia y de la cronicidad de la misma. Desde el punto de vista de las manifestaciones clínicas de la deficiencia de hierro el estadio I usualmente cursa asintomático y sólo a partir del estadio II se inician los síntomas inespecíficos como alopecia (efluvio telogéno) [45-48], uñas quebradizas y manifestaciones mucocutánea, incluidas la glositis atrófica y la queilitis angular; síntomas que se hacen más manifiestos en el estadio III, con aumento de la citada sintomatología y la aparición de las manifestaciones propias de la anemia, que depende de la intensidad de ésta, como la palidez mucocutánea, la astenia, la adinamia, la disnea de medianos a pequeños esfuerzos, la somnolencia y la cefalea pulsátil (tipo tun-tun), entre otras muchas e inespecíficas manifestaciones [12].

Además de las manifestaciones clínicas antes citadas, en los pacientes con deficiencia de hierro, especialmente en los pacientes con estadios avanzados (estadios II y III), hasta el 50% de los casos pueden presentar pica, definida como un deseo incontrolable de consumir sustancias no comestibles, entre las que se incluyen el hielo (pagofagia) [49], el almidón (amilofagia) [50], la tierra (geofagia) [51], la materia fecal (coprofagia) [52] y el pelo (tricrofagia) [53], entre otras muchas formas [54]. En los niños, fuera de las manifestaciones descritas, la deficiencia de hierro se puede expresar por retardo en el crecimiento, irritabilidad y rendimiento escolar disminuido, asociado al síndrome de hiperactividad y el déficit de atención [55-60]. También se ha descrito que los pacientes con deficiencia de hierro tienen menor tolerancia al frío que los no deficientes [61] y, en algunos casos, pueden presentar neuralgias, trastornos vasomotores y manifestaciones neurológicas, sobre todo los niños [62,63], posiblemente por la trombocitosis que frecuentemente acompaña la deficiencia de hierro [64]. Incluso, la deficiencia de hierro se ha asociado con pérdida de la libido e impotencia [65].

Al examen físico, así como con las manifestaciones clínicas, no se presentan hallazgos específicos de la deficiencia de hierro. Como en todas las anemias en los estadios avanzados de la deficiencia de hierro lo más llamativo es la palidez mucocutánea generalizada con aumento de la frecuencia cardíaca y, usualmente, ausencia de organomegalias (adenopatías, hepatomegalia y esplenomegalia) [12]. En los pacientes con deficiencia de hierro avanzada, usualmente crónica, se puede evidenciar la caída fácil del cabello [45-48], la pérdida de la vitalidad de la piel, la glositis atrófica, la queilitis angular [66] y los cambios en las uñas, desde anormalmente delgadas y frágiles hasta francos cambios de coiloniquia con las características «uñas en cuchara» [12].

## Expresión de la deficiencia absoluta de hierro en el hemograma

El hemograma es la herramienta más importante en el diagnóstico de la deficiencia de hierro, de ahí la importancia de que se haga con la mejor tecnología posible, en correlación con el estudio del extendido de sangre periférica y bajo la supervisión de profesionales ampliamente conocedores de las posibles variaciones que se puedan presentar. Con los hemogramas básicos, como los del tipo I y II de acuerdo con la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [3] y la Comisión de Regulación en Salud (CRES) [67], en los que sólo se dispone de los valores de la hemoglobina y del hematocrito, en conjunto con el estudio del extendido de sangre periférica, es muy poco probable que la deficiencia de hierro se pueda detectar antes de que aparezca la anemia, como lo establece la Organización Mundial de la Salud [68], es decir, en los estadios iniciales I y II, y no en el estadio III, que corresponde al estadio más avanzado, cuando ya se ha desarrollado la anemia.

Como ya se ha expresado, con la incorporación de los autoanalizadores de hematología a los laboratorios clínicos, además de mejorar las condiciones analíticas de los parámetros convencionales, se han introducido nuevos parámetros de utilidad en el diagnóstico y manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro, en particular el ancho de distribución de los eritrocitos y los parámetros reticulocitarios, incluidos el recuento de reticulocitos, el índice de reticulocitos inmaduros y la hemoglobina reticulocitaria [69], esta última objeto de revisión en este módulo, los cuales permiten detectar la deficiencia de hierro en los estadios I y II, mucho antes de que aparezca la anemia (estadio III) o se presenten las manifestaciones clínicas ya descritas. El orden,

de más temprano a más tardío, en que se presentan los cambios derivados de la deficiencia de hierro en los diversos parámetros hematológicos son: la hemoglobina reticulocitaria, el ancho de distribución de los eritrocitos, el volumen corpuscular medio y las alteraciones en la morfología de los eritrocitos, como la anisocitosis, la poiquilocitosis y la hipocromía observadas en el extendido de sangre periférica [12]. En la práctica del día a día, un hemograma de última generación (tipo VI de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica) que presente estos parámetros dentro de los límites de los valores de referencia descarta la deficiencia de hierro y, en consecuencia, los estudios complementarios (biomarcadores) no estarían indicados.

## Deficiencia funcional de hierro

La deficiencia funcional de hierro corresponde al estado en el que las demandas de hierro de los precursores eritroides en la médula ósea superan la capacidad de movilización y entrega del hierro desde los sitios de reserva, lo que impide la hemoglobinización normal de los eritrocitos [27,36]. Esta deficiencia ocurre cuando la incorporación del hierro en la médula ósea es insuficiente a pesar de que las reservas de hierro en el cuerpo se encuentran en niveles aparentemente adecuados, tal como lo demuestra la tinción de hierro en la médula ósea y los niveles de la ferritina sérica en los límites normales [70,71].

En el sentido más amplio de esta definición, la deficiencia funcional de hierro comprende el bloqueo parcial en el transporte del hierro a la médula eritroide encontrado en las personas con enfermedades infecciosas, inflamatorias y malignas, y como un componente importante de la anemia por enfermedad crónica [71]. Además, se puede encontrar en pacientes con talasemia intermedia, en los que el suministro de sangre a la médula ósea puede ser insuficiente para satisfacer las demandas de los eritroblastos, aún en presencia del aumento de la saturación de transferrina sérica [27], y en los pacientes con enfermedad renal crónica en tratamiento con agentes estimuladores de la eritropoyesis, incluso cuando los niveles de hierro de depósito se encuentran normales o están bajo suplementación con hierro oral [26,27,36]. El mecanismo fisiopatológico de esta forma de deficiencia funcional de hierro, al igual que de la anemia por enfermedad crónica, se explicará a continuación.

## Deficiencia funcional de hierro asociada a agentes estimuladores de la eritropoyesis

El concepto de deficiencia funcional de hierro se ha utilizado principalmente en referencia a la condición inducida por el uso de agentes estimuladores de la eritropoyesis (p. ej. epoetina y darbepoetina) en los pacientes con enfermedad renal crónica sometidos a diálisis, en los que el estímulo intenso de la actividad eritropoyética inducido por el tratamiento, aumenta considerablemente la demanda de hierro, pero la movilización de este metal desde los sitios de reserva no se realiza con la suficiente rapidez para compensarla, lo que conduce finalmente a una eritropoyesis deficiente en hierro con anemia, incluso cuando los niveles de hierro de depósito permanecen normales o el paciente se encuentran bajo suplementación con hierro oral [26,27,36].

En este contexto los criterios diagnósticos son completamente diferentes a la anemia absoluta de hierro, pues, en este caso, los valores de ferritina se encuentran completamente normales, al igual que los parámetros del hemograma de hemoglobina y volumen corpuscular medio, los

cuales carecen de valor diagnóstico para esta condición [36,71]. En el transcurso de la terapia con los agentes estimuladores de la eritropoyesis se produce una disminución del hierro sérico y valores de la saturación de transferrina por debajo del 16%, punto de corte asociado con la eritropoyesis deficiente en hierro [36,72]. Entretanto, la hemoglobinización de los eritrocitos se utiliza para detectar la deficiencia de hierro funcional debido a que el contenido de hemoglobina de los reticulocitos y eritrocitos proporciona una evaluación de la actividad de la médula ósea que refleja el equilibrio entre el hierro y la eritropoyesis [73]. De esta manera, la reducción del contenido de hemoglobina reticulocitaria se consideran una señal temprana de la incorporación inadecuada de hierro en el eritrón, como sucede en la deficiencia funcional de hierro, encontrándose generalmente en niveles menores que 29 pg [36].

Es importante recalcar que en los pacientes con enfermedad renal crónica sometidos a diálisis la identificación de esta discrepancia transitoria entre la disponibilidad y las necesidades de hierro en médula ósea (deficiencia funcional de hierro) necesita hacerse rápidamente para establecer cambios en la dosis de los agentes estimuladores de la eritropoyesis empleados o implementar la administración de hierro por vía intravenosa para restaurar la respuesta óptima a la eritropoyetina [72].

## Anemia por enfermedad crónica

La anemia por enfermedad crónica, también conocida como anemia de la inflamación, comprende diversas condiciones clínicas con signos claros de la inflamación crónica y el aumento de las concentraciones plasmáticas de citoquinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-1 (IL-1) e interferón gamma (INF- $\gamma$ ) [72]. Este tipo de anemia representa la principal forma de la deficiencia funcional de hierro [71] y la segunda más prevalente después de la anemia por deficiencia de hierro [74].

La anemia por enfermedad crónica se produce como resultado de una respuesta inflamatoria aguda o crónica en pacientes con trastornos de base como las infecciones (agudas o crónicas), neoplasias, enfermedades autoinmunes (p. ej. artritis reumatoide) y enfermedad renal crónica [27,74]. La patogénesis de la anemia por enfermedad crónica es multifactorial e incluye la activación de la inmunidad celular y la consecuente producción de las citoquinas inflamatorias por los monocitos, los macrófagos, los linfocitos T y los hepatocitos, que llevan a: a) inhibición de la proliferación y diferenciación de los progenitores eritroides, b) inhibición de la producción renal de la eritropoyetina y deficiencia en la respuesta a eritropoyetina en los progenitores eritroides, y c) la alteración de la homeostasis del hierro, que lleva a la desviación y retención del hierro en los sitios de reserva y, por tanto, al suministro insuficiente del hierro a la médula eritroide; mecanismos que en conjunto terminan por provocar la anemia, es decir, la anemia por enfermedad crónica [27,74].

La desregulación en la homeostasis del hierro producida durante los procesos inflamatorios se conoce como «síndrome de secuestro de hierro» [26] y está mediado principalmente por la interleuquina-1 (IL-1), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la interleuquina-6 (IL-6). Estas citoquinas estimulan la síntesis de la ferritina en los macrófagos y hepatocitos, lo que conduce a un bloqueo del hierro dentro de estas células y, por tanto, a un aumento en el almacenamiento del hierro en el sistema retículoendotelial. Específicamente, la interleuquina-6 (IL-6) estimula la producción de la hepcidina en el hígado, la cual, como ya fue explicado, se

une a la ferroportina de las células del sistema retículoendotelial y del intestino, produciendo la inhibición de la absorción de hierro y su exportación desde los macrófagos, haciendo que la disponibilidad de éste para los precursores eritroides en desarrollo sea menor [74].

La anemia por enfermedad crónica es normocítica normocrómica con disminución leve a moderada de los niveles de hemoglobina y generalmente una reducción en el recuento de reticulocitos, que indica la no producción de eritrocitos y, por tanto, de la hemoglobina reticulocitaria. La determinación del estado del hierro es importante para descartar la anemia por deficiencia de hierro, la cual es microcítica hipocrómica; no obstante, en ambas entidades, la concentración sérica del hierro y la saturación de transferrina se encuentran reducidas. Entretanto, a diferencia de los pacientes con anemia por deficiencia de hierro, en los pacientes con anemia por enfermedad crónica los niveles séricos de ferritina se encuentran normales o aumentados ( $>100 \mu\text{g/L}$ ), reflejo del mayor almacenamiento y retención de hierro dentro del sistema retículoendotelial y del aumento de la síntesis de la ferritina, y los niveles del receptor de transferrina solubles (sTfR) no son significativamente diferentes de lo normal, debido a que la expresión del receptor de transferrina se ve afectada negativamente por las citoquinas proinflamatorias, lo que permite establecer el diagnóstico diferencial [36,74]. Es importante recalcar que en algunos pacientes es posible encontrar de forma concomitante la anemia por enfermedad crónica y la anemia por deficiencia de hierro, cuyos principales hallazgos se describirán más adelante.

## DetECCIÓN DIFERENCIAL DE LA DEFICIENCIA FUNCIONAL DE HIERRO

La detección de la deficiencia de hierro funcional asociada a los agentes estimuladores de la eritropoyesis y la anemia por enfermedad crónica incluye la determinación de los parámetros tradicionales del hemograma y el uso de biomarcadores utilizados en la evaluación de la deficiencia absoluta de hierro. No obstante, ninguno de estos hace una mayor diferenciación entre estas entidades, excepto la ferritina, la cual se encuentra en niveles normales en los pacientes con enfermedad renal crónica tratados con agentes estimuladores de la eritropoyesis y en niveles mayores que  $100 \mu\text{g/L}$  en aquellos con anemia por enfermedad crónica. De manera inversa, los pacientes con anemia por enfermedad crónica presentan niveles de hemoglobina disminuida y los pacientes con deficiencia funcional de hierro asociada al uso de agentes estimuladores de la eritropoyesis presentan valores dentro del rango normal [36].

Otros marcadores propuestos para la diferenciación incluyen el receptor soluble de la transferrina y la hepcidina, los cuales se encuentran, respectivamente, en niveles altos y bajos en la deficiencia de hierro funcional asociada a los agentes estimuladores de la eritropoyesis, y bajos/normales y altos en la anemia por enfermedad crónica. Por su parte, los niveles de la hemoglobina reticulocitaria por debajo de  $29 \text{ pg}$  se considera una señal temprana de la deficiencia de hierro funcional, aunque también se puede observar disminuida en la anemia por enfermedad crónica [36].

## MARCADORES BIOQUÍMICOS PARA EL DIAGNÓSTICO Y MANEJO DE LA ERITROPOYESIS DEFICIENTE EN HIERRO

Como se ha expresado insistentemente, la eritropoyesis deficiente en hierro se sospecha por la clínica, los factores epidemiológicos y los hallazgos del hemograma; no obstante, en todos

los casos se debe confirmar a través de las pruebas de laboratorio conocidas como biomarcadores. En el curso de los años se han incorporado al laboratorio clínico múltiples biomarcadores para el diagnóstico y seguimiento de la eritropoyesis deficiente en hierro, algunos de ellos utilizados plenamente en la práctica clínica y otros aún restringidos a la investigación de las enfermedades relacionadas con la homeostasis del hierro. Al primer grupo corresponden el hierro medular, la ferritina sérica, la saturación de la transferrina y, en un futuro próximo, la hepcidina; en tanto que al segundo grupo corresponden otros biomarcadores como el receptor soluble de la transferrina (sTfR) [75], el receptor de la transferrina-2, el transportador de los metales divalentes-1, la proteína ferroportina-1 [76], la hefaestina [76,77], el dicromo beta duodenal (CITB-D) [78-80], la proteína HFE, íntimamente relacionada con la hemocromatosis hereditaria [81-83], la hemojuvelina [84,85], la mitoferina [86], la ferroportina [87,88] y el transportador de metales divalentes-1 (DMT1) [89-91], entre otros biomarcadores relacionados con la homeostasis del hierro, que no serán abordados debido a que no hacen parte del objetivo de revisión del presente módulo. Por otra parte, durante los últimos años la hemoglobina reticulocitaria se ha perfilado como un parámetro de gran utilidad clínica [92,93], aunque sigue restringida a la disponibilidad de autoanalizadores de hematología de última generación.

A continuación, en los siguientes subtítulos, se hará referencia al uso de los biomarcadores involucrados en el metabolismo del hierro que han demostrado utilidad en el estudio y manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro, que a manera de resumen se presentan en la [tabla 3](#).

**Tabla 3. Comportamiento de los principales biomarcadores del metabolismo del hierro en las diferentes formas de eritropoyesis deficiente de hierro**

Biomarcador	Resultado según la forma de eritropoyesis deficiente de hierro				Ventajas	Desventajas
	Deficiencia absoluta de hierro (estadio III: anemia por deficiencia de hierro)	Deficiencia funcional de hierro (asociada a agentes estimuladores de la eritropoyesis)	Anemia por enfermedad crónica	Deficiencia absoluta de hierro más anemia por enfermedad crónica		
Hierro medular	Ausente o en baja cantidad	Variable	Presente	Presente	Indicador de depósitos de hierro	Procedimiento invasivo
Ferritina	Disminuida	Normal	Normal o aumentada	Normal o disminuida	Refleja los depósitos de hierro	Reactante de fase aguda Se afecta por procesos infecciosos o inflamatorios
Hierro sérico	Disminuido	Normal o disminuido	Disminuido	Disminuido	Indica el hierro disponible para su uso en médula ósea y otros tejidos	Reactante de fase aguda Se afecta por la dieta

Capacidad total de fijación del hierro	Aumentada	Normal	Disminuida	Variable	Refleja la cantidad total de hierro circulante en el plasma	En ocasiones los valores se solapan entre pacientes normales y con deficiencia de hierro
Saturación de la transferrina	Disminuida	Normal o disminuida	Normal o disminuida	Normal o disminuida	Corresponde a la proporción de transferrina unida al hierro	Depende del hierro sérico
Receptor soluble de la transferrina	Aumentado	Aumentado	Normal o disminuido	Variable	Permite detectar deficiencia de hierro independiente del estado inflamatorio	Dependiente de la tasa de eritropoyesis Poca disponibilidad del examen
Hemoglobina reticulocitaria	Disminuida	Disminuida	Variable	Disminuida	Refleja rápidamente la deficiencia de hierro	Disponible en pocos autoanalizadores de hematología
Volumen corpuscular medio	Disminuido	Normal	Inicialmente normal, disminuye cuando hay progresión	Disminuido	Permite la clasificación de las anemias Disponible en todos los autoanalizadores de hematología	También se encuentra disminuido en talasemias
Amplitud de distribución eritroide	Aumentado	Normal	Variable	Aumentado	Permite la clasificación de las anemias Disponible en todos los autoanalizadores de hematología	En la mayoría de las enfermedades se encuentra aumentada
Hepcidina	Disminuida	Disminuida	Aumentada	Normal o aumentada	Marcador confiable de la disminución de reservas de hierro	Poca estandarización del examen

## Hierro medular

Si bien el estándar de oro para definir la deficiencia absoluta de hierro es la búsqueda de depósitos en medula ósea mediante la coloración de azul de Prusia, en la actualidad esta prueba ha perdido vigencia y ha sido remplazada por el uso de biomarcadores. Lo anterior, debido a que la tinción de hierro medular requiere un aspirado de medula ósea [94], procedimiento que sólo se puede realizar en centros especializados en hematología; además, la coloración como tal del hierro medular es un procedimiento engorroso, que requiere la obtención de mínimo siete

fragmentos óseos, no se encuentra debidamente estandarizado y es altamente dependiente del observador [95].

## Ferritina sérica

La ferritina sérica es la prueba más requerida en el estudio del metabolismo de hierro y una de las más solicitadas al laboratorio clínico [96]. La ferritina es una proteína soluble que se almacena hierro en los tejidos, especialmente del sistema retículo endotelial, y corresponde al excedente del hierro que no fue utilizado en el metabolismo normal. Los niveles séricos de la ferritina son directamente proporcionales a la cantidad de hierro de las reservas tisulares. Fundamentado en algunos estudios de flebotomía, se ha determinado que en un rango de 20 µg/L a 300 µg/L de suero cada microgramo de ferritina sérica equivale a 10 mg de hierro de reserva [97,98].

En la práctica clínica, los niveles de ferritina sérica reflejan el estado de las reservas de hierro, también conocidas como hierro de depósito [99,100]. Cuando las reservas de hierro están normales se espera que los niveles de la ferritina sérica sean superiores a 30 µg/mL, alcanzando en las mujeres valores hasta 200 µg/mL y en los hombres hasta 300 µg/mL [35]. En el caso de la deficiencia absoluta de hierro los niveles de ferritina sérica usualmente se encuentran según el estadio por debajo de 12 µg/L (estadio II y III) [101] o entre 12 µg/L y 30 µg/L (estadio I) [27,35,36].

La determinación de la ferritina sérica es una excelente herramienta para el diagnóstico y el manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro, en particular de la deficiencia absoluta de hierro, siempre que el paciente no presente alguna comorbilidad, ya que la ferritina sérica es también un reactante de fase aguda [102-104]. En este sentido, a pesar de que un paciente presente deficiencia de hierro, la ferritina podría estar normal o elevada si simultáneamente presenta una enfermedad inflamatoria, infecciosa, metabólica, endocrina, hepática o neoplásica [105-108], tales como la diabetes mellitus [109-113], el síndrome metabólico [111,114-116], la hepatopatía crónica [117-119], el alcoholismo crónico [120-122], e insuficiencia renal crónica bajo diálisis [123-127] entre otras [114], lo cual representa la principal limitante para el uso de la ferritina sérica como único biomarcador en el diagnóstico de deficiencia absoluta o funcional de hierro. Además, es importante recordar que los niveles de la ferritina sérica pueden estar afectados por variaciones circadianas [128] y presenta una amplia variabilidad biológica [101].

## Hierro sérico

El hierro sérico corresponde a la forma que viaja unida a la transferrina, por lo que para su medición analítica se induce la liberación de la transferrina y posteriormente se determina por métodos colorimétricos. El valor de referencia para el hierro sérico es de 60 µg/dL a 170 µg/dL [101]. La hipofefermia se presenta tanto en la deficiencia de hierro como en la anemia asociada con inflamación cuando el hierro de depósito puede ser normal o estar elevado por acción de la hepcidina, la cual regula estos eventos [129-133]; es por ello, que el hierro sérico no se puede usar como único biomarcador para el diagnóstico de la deficiencia de hierro, en especial cuando el paciente presenta comorbilidades asociadas a anemia por enfermedad crónica.

Similar a lo que sucede con la ferritina sérica, los niveles de hierro están sujetos a las variaciones circadianas y al tipo de alimentación del paciente el día anterior a la toma de la muestra, así como a la amplia variabilidad biológica del analito. El hierro sérico siempre debe extraerse

después de una noche de ayuno, debido a que los niveles de hierro pueden variar según el tipo y el contenido de hierro en la comida previa. El hierro absorbido de una comida típicamente permanece en el suero durante seis a ocho horas después de la absorción. Con respecto al ciclo circadiano, aunque no se presenta en todos los casos, los niveles de hierro de la mañana tienden a ser más altos que los niveles de la tarde [128].

## Capacidad total de fijación del hierro

La capacidad total de fijación del hierro, también conocido como siderofilina o capacidad total del transporte del hierro, es una medida indirecta de la transferrina sérica, proteína a la cual se une el hierro para su transporte en plasma hacia los tejidos. Este marcador se considera un reflejo de la cantidad total de hierro circulante en el plasma, incluyendo el hierro que se puede unir a la transferrina [40]. En condiciones normales, la capacidad total de fijación del hierro oscila entre 240  $\mu\text{g/dL}$  a 450  $\mu\text{g/dL}$  [33,37]. En la anemia por deficiencia de hierro la capacidad total de fijación del hierro se encuentra elevada, incluso antes de que se presenten cambios en la morfología de los eritrocitos. La capacidad total de fijación del hierro también incrementa durante el embarazo y en los pacientes que reciben estrógenos, mientras que disminuye en respuesta a la inflamación [101]. En la [tabla 4](#) se resume el comportamiento de la ferritina, el hierro sérico y la transferrina en diferentes enfermedades.

**Tabla 4. Comportamiento de algunos marcadores del metabolismo del hierro en diferentes enfermedades**

Biomarcador	Valores disminuidos	Valores aumentados
Ferritina	Anemia ferropénica	Talasemia con sobrecarga de hierro, anemia por desórdenes crónicos, infecciones y estados inflamatorios, anemia sideroblástica, daño hepático, hipertiroidismo
Hierro sérico	Deficiencia dietaria, pérdida de sangre aguda, neoplasia, artritis reumatoide, inflamación crónica	Anemia hemolítica, anemia pernicioso, intoxicación con plomo, necrosis hepatocelular aguda, quimioterapia
Capacidad total de fijación del hierro	Infecciones, neoplasias, uremia, nefrosis	Anemia ferropénica, pos hemorragia aguda, daño hepatocelular

## Saturación de la transferrina

La saturación de la transferrina, también denominada índice o porcentaje de saturación de la transferrina, corresponde a la relación entre el hierro sérico y la capacidad total de fijación del hierro, expresada en porcentaje [134]. La interpretación del resultado de saturación de la transferrina debe tener en cuenta las variaciones relacionadas con las mediciones de estos dos analitos que intervienen en su cálculo. Bajo condiciones normales, los valores de la saturación de la transferrina oscilan entre 20% y 50% [27,37].

En la deficiencia absoluta de hierro los niveles de hierro sérico están disminuidos y la capacidad total de fijación del hierro aumentada, lo que usualmente da como resultado una saturación de la transferrina baja, por debajo del 20% [134,135]. En la eritropoyesis deficiente en hierro por inflamación o neoplasia los niveles de hierro sérico pueden estar normales o disminuidos, y la capacidad total de fijación del hierro normal o disminuida, lo que da lugar a una saturación de transferrina normal o elevada. En caso de una sobrecarga de hierro, como sucede en una

hemocromatosis hereditaria, la ferritina sérica usualmente está elevada y la capacidad total de fijación del hierro normal o baja, de manera que la saturación de la transferrina se encuentra aumentada, usualmente por encima del 50% [101].

## Receptor soluble de la transferrina

El receptor soluble de la transferrina (sTfR) es uno de los biomarcadores que mayor interés ha cobrado en los últimos años. La transferrina tiene un receptor específico de membrana, el receptor de la transferrina tipo 1 y el tipo 2, el cual permite la entrega del hierro en el plasma a la célula. Este receptor, en especial el tipo 1, es esencial para la entrega del hierro a los tejidos y, por lo tanto, a los eritroblastos. Cuando el pH intracelular es el adecuado se libera el hierro de la transferrina, la cual permanece unida a su receptor y luego es liberada a circulación [40].

La síntesis del receptor de transferrina se ha observado que depende directamente de los niveles de hierro en el organismo. De esta forma, si los niveles de hierro bajan se induce la síntesis del receptor y cuando los niveles de hierro son los adecuados se previene su producción. Este mecanismo de regulación en conjunto con el conocimiento de que el receptor soluble de la transferrina refleja la entrega de hierro a los eritroblastos, es decir, la tasa de eritropoyesis, ha hecho que su medición cobre especial interés en los últimos años [27,40,136,137]; además de que permite la diferenciación entre la anemia por deficiencia de hierro (niveles elevados del receptor) y la anemia por enfermedad crónica (niveles normales o disminuidos) [138].

Dado su rol fisiológico, el receptor soluble de la transferrina se eleva en otras condiciones donde hay una alta tasa de eritropoyesis, tal y como sucede en las talasemias y las anemias sideroblásticas, por lo que su interpretación debe estar ligada al resultado de la ferritina sérica [139]. En individuos con malaria, se ha observado que, debido a la hemólisis y la consecuente estimulación de la eritropoyesis, hay un aumento del receptor soluble de la transferrina, lo que limita su uso en el diagnóstico de deficiencia de hierro en estos pacientes [30,140,141]. El uso del receptor soluble de la transferrina como prueba rutinaria de laboratorio se ha visto limitado principalmente por el alto costo de la prueba, así como la falta de estandarización internacional para su medición [30,142].

## Hepcidina

La hepcidina (del inglés *hepcidin*, *hepatic bactericidal protein*) es un péptido de origen hepático con propiedades antimicrobianas, que actúa como regulador de la absorción y cinética del hierro en el organismo. En el 2000 se describió la hepcidina por primera vez como un péptido antimicrobiano expresado en hígado-1 (LEAP-1; del inglés *liver-expressed antimicrobial peptide 1*) [143] y un año más tarde se relacionó con el metabolismo del hierro, junto a otros genes y proteínas, bajo su nombre actual [144,145]. Aunque inicialmente se le reconoció a la hepcidina únicamente una actividad *in vitro* antimicrobiana [146], recientemente se le ha dado un valor de primer orden en la homeostasis del hierro, ya que la hepcidina por medio de la internalización y degradación de la proteína exportadora de hierro (ferroportina-1) inhibe la absorción de hierro en el ámbito intestinal, bloquea el transporte de hierro a través de la placenta e induce el secuestro del hierro en macrófagos y hepatocitos [147].

La síntesis de la hepcidina está modulada tanto por los requerimientos del hierro del organismo como por los estados inflamatorios o infecciosos y es así como sus niveles séricos aumentan en la inflamación y la sobrecarga de hierro de origen no genético, como en la politransfusión en los pacientes con  $\beta$ -talasemia, y disminuyen en la anemia ferropénica, la hipoxia y el estrés oxidativo, e incluso, su deficiencia es característica de algunas formas de hemocromatosis hereditarias [148].

En la actualidad, la hepcidina no se emplea de rutina en los laboratorios clínicos, en especial por las diferencias existentes entre los métodos disponibles y la baja disponibilidad de pruebas comerciales. La hepcidina se puede medir por espectrometría, en la que se determina la forma activa, pero es un método costoso y dispendioso [149], o a través de inmunoensayos, pese a que presentan algunas discrepancias que afectan la interpretación y comparación de los resultados. El inmunoensayo más aplicado para la medición de la hepcidina es la ELISA, aunque también se cuenta con el radioinmunoanálisis [149,150], mediante la cual se mide la prohepcidina (prohormona de la hepcidina, previa a su paso por el hepatocito, donde se sintetiza la forma activa) y la forma circulante o «madura»; no obstante, la medición de la prohepcidina no refleja adecuadamente los cambios fisiopatológicos. Además, existen diferencias en el tipo de muestra empleadas para el análisis, por ejemplo, si se mide en la orina se debe realizar una corrección con base en la creatinina. Respecto a aspectos técnicos, no se cuenta con un estándar internacional, sin contar que se han evidenciado algunas dificultades relacionadas con la el tratamiento de la muestra debido a que la hepcidina tiende a agregarse, lo que puede llevar a subestimar su concentración [149-151], entre otras dificultades que se irán resolviendo a medida que se estandarice y automatice su medición.

En consecuencia, las situaciones mencionadas no sólo dificultan la estandarización de las pruebas sino la interpretación y comparabilidad de los resultados, que van a depender del método empleado y de la isoforma de la hepcidina analizada [151]. Aun así, la medición de hepcidina se visualiza como una potente herramienta en el diagnóstico y manejo de las alteraciones de la homeostasis del hierro que pronto estará disponible en el medio. Estudios han demostrado que los niveles de hepcidina se encuentran disminuidos en la anemia por deficiencia de hierro, la hipoxia y el estrés oxidativo, y se encuentran elevados en la inflamación, la sobrecarga de hierro de origen no genético (p. ej. en la politransfusión), algunas neoplasias hematológicas y no hematológicas, e infecciones [148-150]. Para la interpretación de los resultados se debe tener presente que la concentración de la hepcidina es más baja en la mañana y más alta en la tarde, y que se encuentra más elevada en los hombres respecto a las mujeres [149].

## Marcadores del hemograma en la eritropoyesis deficiente en hierro

Cuando solo se disponía de hemogramas manuales la única manera de diagnosticar una eritropoyesis deficiente en hierro era esperar a que la hemoglobina disminuyera hasta el límite predefinido como anemia, hoy conocidos como los criterios de la Organización Mundial de la Salud [29]. Adicional a la reducción de la hemoglobina, se recurría a los índices de Wintrobe, en particular el volumen corpuscular medio, la concentración de hemoglobina corpuscular media y la concentración de hemoglobina corpuscular para sospechar la deficiencia de hierro, en la que

se encuentran disminuidos (niveles por debajo de 85 fL, 32% y 27 pg, respectivamente) [152]. De esta forma, la anemia microcítica hipocrómica según Wintrobe [152] o la anemia microcítica heterogénea según Bessman [153] no son otra cosa que las manifestaciones extremas de una eritropoyesis deficiente en hierro.

A partir de la introducción de los autoanalizadores de hematología a los laboratorios clínicos no solo se mejoró la precisión y exactitud de los resultados sino que se implementaron nuevos parámetros al hemograma, entre ellos el ancho de distribución de los eritrocitos [154], un índice electrónico de anisocitosis (diferentes tamaños de los eritrocitos). La inclusión del ancho de distribución de los eritrocitos en los hemogramas automatizados dio origen a una nueva clasificación de las anemias, basada en el volumen corpuscular medio y este nuevo parámetro [153], el cual, a su vez, se utiliza como índice precoz de la eritropoyesis deficiente de hierro, vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico, mucho antes de que se manifieste la anemia [155]. Si bien los parámetros mencionados permiten un acercamiento a la identificación de la etiología de la anemia y, en el caso de las anemias ferropénicas, permite su clasificación hasta anemia microcítica hipocrómica, no fue hasta la introducción de la hemoglobina reticulocitaria que el hemograma se convirtió en una herramienta eficaz para el diagnóstico de la anemia por deficiencia de hierro, cuyos aspectos más importantes relacionados con el uso e interpretación se abarcarán a continuación.

## Hemoglobina reticulocitaria

### Definición de la hemoglobina reticulocitaria

La hemoglobina reticulocitaria, también conocida por sus siglas originales como CHr (del inglés *Reticulocyte Hemoglobin Content*), Ret-He (del inglés, *Reticulocyte Hemoglobin Equivalent*) y HCMr (del inglés, *Reticulocyte Hemoglobin Concentration*), es un nuevo parámetro incluido en algunos de los hemogramas de cuarta generación [3], exclusivo de los autoanalizadores de hematología Advia® 120 y Advia® 2120 de la compañía Siemens (Erlangen, Alemania) y de los modelos XE y XN de los equipos de Sysmex Corporation (Kobe, Japón), que determinan la cantidad de hemoglobina presente en los reticulocitos en picogramos como unidad de peso. De forma similar, el autoanalizador CELL-DYN Sapphire de Abbott Laboratories (Chicago, Illinois, Estados Unidos) ofrece dos parámetros: promedio celular de contenido de hemoglobina en reticulocitos y promedio celular de la concentración de hemoglobina en reticulocitos, los cuales, en la mayoría de los casos, se correlacionan con los resultados obtenidos en el Advia® 120 [92].

En el contexto del hemograma tradicional, la hemoglobina reticulocitaria es a los reticulocitos lo que a los eritrocitos es la concentración de hemoglobina corpuscular [69,93]. En el caso de la hemoglobina reticulocitaria hace referencia al índice de eritropoyesis de los últimos dos a tres días [35,156], en tanto que la concentración de hemoglobina corpuscular de 120 días, lo que representa la vida media de los reticulocitos y de los eritrocitos, respectivamente. Con base en lo anterior, la hemoglobina reticulocitaria provee información en tiempo real sobre la eritropoyesis en médula ósea [156].

### Determinación de la hemoglobina reticulocitaria

La hemoglobina reticulocitaria es el producto de la medición de la concentración de la hemoglobina celular y el volumen celular de los reticulocitos. Para ello, es importante establecer un

volumen celular de referencia en los eritrocitos y en los reticulocitos. Mediante la medición de la dispersión de la luz frontal se establece una señal proporcional al tamaño de los eritrocitos (RBC-Y) y una proporcional al tamaño de los reticulocitos (RET-Y). Para calcular el tamaño de los reticulocitos, en términos generales, se induce a que las células adopten una forma esférica y luego se lee la dispersión de la luz en dos ángulos diferentes, uno alto ( $5^\circ$  a  $20^\circ$ ), que ofrece información sobre la refracción celular, y otro bajo ( $2^\circ$  a  $3^\circ$ ), proporcional al volumen celular [92,93,157], y, a partir de estas dos mediciones, se calcula el volumen celular de los reticulocitos en femtolitros (fL). A partir de este punto de referencia y de la tinción del ácido el ribonucleico (ARN), presente en los reticulocitos y ausente en los eritrocitos, se pueden diferenciar ambas poblaciones y calcular el promedio de hemoglobina reticulocitaria en picogramos (pg), con base en el volumen celular de los reticulocitos y el contenido de hemoglobina al interior de cada uno de ellos [92,93,157].

Si bien este es el principio general para la obtención de la hemoglobina reticulocitaria, el método para su determinación varía según el autoanizador de hematología y los principios específicos de medición que aplique cada uno de ellos. Dadas estas diferencias, uno de los principales interrogantes que surgieron fue si los valores de hemoglobina reticulocitaria son comparables entre las diferentes metodologías; hoy en día se ha determinado una buena correlación entre los valores obtenidos en los equipos Advia® y los de Sysmex [134,135].

### *Aspectos pre-analíticos*

La hemoglobina reticulocitaria, al ser un parámetro derivado del volumen celular, se puede ver afectada, especialmente, por la concentración de la muestra. Cuando se calcula este parámetro tanto en autoanalizadores de hematología de Advia® como en los de Sysmex, se ha observado una estabilidad de la hemoglobina reticulocitaria cuando la muestra se conserva refrigerada (alrededor de  $4^\circ\text{C}$ ) incluso por 48 horas [135].

## Valores de referencia de la hemoglobina reticulocitaria

De acuerdo al análisis de 9.604 hemogramas tipo VI realizados a personas normales en el Laboratorio Clínico Hematológico en Medellín, Colombia, utilizando un autoanizador de hematología XN-3000 de Sysmex Corporation (Kobe, Japón), el valor de referencia (media más o menos dos desviaciones estándar) de la hemoglobina reticulocitaria oscila entre 31,9 pg y 41,6 pg; valor que coincide, sin ser idéntico, con el valor de referencia para este parámetro informado por otros autores, en otras poblaciones y con diferentes instrumentos, tanto de la compañía Siemens [158,159] como de la compañía Sysmex [158-160].

Es importante resaltar que para definir el valor de referencia de la hemoglobina reticulocitaria en el Laboratorio Clínico Hematológico (Medellín, Colombia), se establecieron como normales los hemogramas que cumplieran con los siguientes criterios: hemoglobina normal de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud [68], ancho de distribución de los eritrocitos menor del 14%, volumen corpuscular medio entre 85 fL y 95 fL, recuento de leucocitos entre  $4.000/\mu\text{L}$  y  $10.500/\mu\text{L}$ , recuento de plaquetas entre  $150.000/\mu\text{L}$  y  $450.000/\mu\text{L}$  y el extendido de sangre periférica normal.

## Utilidad clínica de la hemoglobina reticulocitaria

Con varios centenares de artículos científicos que lo corroboran, la hemoglobina reticulocitaria se constituye como una valiosa herramienta para el diagnóstico y manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro en sus diferentes manifestaciones. Es así como la hemoglobina reticulocitaria ha demostrado ser de utilidad clínica en algunos grupos de anemias caracterizados por la eritropoyesis deficiente en hierro, tales como deficiencia absoluta y funcional de hierro.

### *Deficiencia absoluta de hierro*

Sin duda alguna en donde mejor se expresa la utilidad clínica de la hemoglobina reticulocitaria es en el diagnóstico y manejo de la deficiencia de hierro como se ha demostrado en los últimos años, en la población general [93,135,160-167], en los niños [168-174], en los adolescentes [175], en las mujeres en edad gestante [176,177] y en edad posmenopáusica [178], y en los adultos mayores [179,180]. Además de las indicaciones de diagnóstico, la hemoglobina reticulocitaria ha demostrado ser particularmente útil en el seguimiento de la terapia con hierro parenteral [181] cuando este tratamiento está indicado.

Una de las razones por las cuales la hemoglobina reticulocitaria es de gran utilidad para el diagnóstico de la deficiencia de hierro es que sus niveles disminuyen rápidamente en cuanto se instaura la deficiencia de hierro, pues, como bien se sabe, los reticulocitos duran aproximadamente dos días en circulación [35,73,182,183]. Aunque el punto de corte cambia, se ha observado que cuando se usa un valor de 27,2 pg como punto de corte, la hemoglobina reticulocitaria tiene una sensibilidad del 93,3% y una especificidad del 83,2% para el diagnóstico de la deficiencia de hierro [135]. Otros puntos de corte evaluados, entre ellos 26 pg, también han mostrado buenos resultados [184], incluso en población pediátrica [168,169]. La hemoglobina reticulocitaria también se ha usado para la tamización de los pacientes sanos y la identificación de aquellos con deficiencia de hierro, encontrando que niveles inferiores a 28 pg contribuyen a la identificación de pacientes con deficiencia subyacente [185].

Durante los últimos años, uno de los principales intereses en el área es encontrar un biomarcador que permita una correcta diferenciación entre la anemia por deficiencia de hierro, la anemia por enfermedad crónica y la anemia por enfermedad crónica con deficiencia de hierro. En el caso de la hemoglobina reticulocitaria se ha observado que es más baja en la deficiencia de hierro que en la anemia por enfermedad crónica, como también es más baja cuando se presenta anemia por enfermedad crónica más deficiencia de hierro que cuando sólo se presenta anemia por enfermedad crónica [156].

### *Deficiencia funcional de hierro*

La hemoglobina reticulocitaria ha resultado de gran utilidad para el diagnóstico de deficiencia funcional de hierro en pacientes con procesos inflamatorios [186-190] y en pacientes con cáncer [191,192]. Lo anterior se debe a que, al no ser un reactante de fase aguda, continúa disminuida en los pacientes con inflamación crónica y deficiencia de hierro, y presenta mayor sensibilidad y especificidad que los marcadores bioquímicos como el receptor soluble de la transferrina [186].

Además, la hemoglobina reticulocitaria tiene un excelente desempeño diagnóstico en los pacientes con insuficiencia renal crónica que requieren diálisis [135,193] que deben recibir como parte integral de su manejo eritropoyetina, ya que en este grupo de pacientes, los biomarcadores comúnmente empleados para el diagnóstico de eficiencia de hierro no son aplicables debido a que la mayoría de ellos se comportan como reactantes de fase aguda en estas circunstancias y no reflejan adecuadamente la homeostasis del hierro [134,158,182,184,194-212].

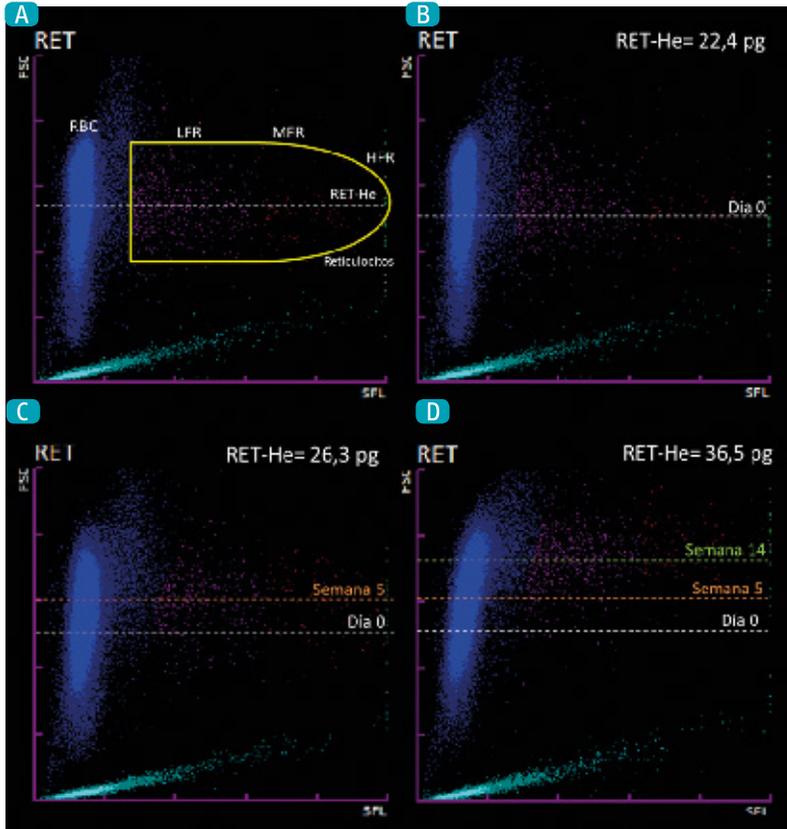
Es de resaltar que la Iniciativa para la Calidad de la Evolución de la Enfermedad Renal, de la Fundación Nacional del Riñón de Estados Unidos (NFK-KDOQI; del inglés *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, National Kidney Foundation*) ha establecido que la hemoglobina reticulocitaria se debería medir, cuando sea posible, antes de que un paciente ingrese a hemodiálisis, con el propósito de definir el estado de hierro inicial y poder comparar los resultados durante la terapia de remplazo férrico [213]. En este sentido, se recomienda que durante la monitorización, los valores de hemoglobina reticulocitaria sirvan para definir si se debe suministrar hierro al paciente hemodializado, incluso algunas investigaciones señalan que la meta es conservar niveles por encima de 28 pg o 32 pg [123,198,213,214]. Además, algunos autores sugieren que en este grupo de pacientes se monitoricen cada dos semanas los niveles de hemoglobina reticulocitaria [134].

### *Seguimiento de pacientes en terapia suplementaria con hierro*

Además de las indicaciones de diagnóstico, la hemoglobina reticulocitaria ha demostrado ser particularmente útil en el seguimiento de la terapia con hierro parenteral [181] cuando este tratamiento está indicado. Debido a que la hemoglobina reticulada aumenta rápidamente durante la administración de hierro, este parámetro ha resultado de gran importancia para el seguimiento de pacientes en terapia de reposición férrica, tanto en aquellos con enfermedad renal crónica que reciben eritropoyetina recombinante, como en aquellos que tienen deficiencia de hierro por causas nutricionales [181,194].

En los pacientes que se encuentran en diálisis y que reciben eritropoyetina recombinante se ha evidenciado a las 48 h luego de la administración de hierro intravenoso un aumento de la hemoglobina reticulocitaria, que alcanza un pico máximo a las 96 h y luego se estabiliza [184]. En este grupo de pacientes, la hemoglobina reticulocitaria resulta de gran interés, pues su uso para el seguimiento ha permitido disminuir el uso de la eritropoyetina a la dosis mínima necesaria [72,166].

En cuanto al tratamiento de pacientes con anemia por deficiencia de hierro se ha observado que luego de iniciar la terapia oral, la hemoglobina reticulocitaria aumenta gradualmente hasta alcanzar los niveles normales mucho antes de que se evidencien los cambios en el recuento de los eritrocitos, el volumen corpuscular medio, y los parámetros del metabolismo del hierro como la ferritina. De igual forma, permite detectar aquellos que no responden a la administración de hierro oral y que requieren tratamiento parenteral [215]. En la [figura 4](#) se esquematizan los cambios en los índices reticulocitarios relacionados con los niveles de hemoglobina reticulocitaria, utilizada como indicador temprano de la deficiencia de hierro y la respuesta a la terapia suplementaria, en un paciente con deficiencia de hierro al que se le suministró tratamiento oral.



**Figura 4.** Índices reticulocitarios, relacionados con la hemoglobina reticulocitaria, en un paciente con deficiencia de hierro antes y después de iniciar la terapia suplementaria con hierro oral. **A.** Dispersograma de reticulocitos normal. El área delimitada en amarillo corresponde a la población de reticulocitos clasificados según su nivel de fluorescencia en: reticulocitos de baja fluorescencia (LFR; del inglés, *Low Fluorescence Reticulocytes*), equivalentes a los puntos fucsia, y los reticulocitos de media y alta fluorescencia (MFR y HFR; del inglés, *medium and high fluorescence reticulocytes*, respectivamente) a los puntos rojos. La línea punteada esquematiza la zona de cálculo de la hemoglobina reticulocitaria y RET-Y. **B-D.** Dispersogramas de reticulocitos de un paciente previo a ser sometido a tratamiento para suplir la deficiencia de hierro (**B**) y luego de cinco (**C**) y 14 (**D**) semanas. Al día 0, anterior al inicio de la terapia férrica, los valores fueron: hemoglobina 10,9 g/dL, hemoglobina reticulocitaria 22,4 pg y ferritina 4,7  $\mu$ g/dL. A la semana 5, posterior al inicio de terapia férrica, los valores fueron: hemoglobina 11,4g/dL, hemoglobina reticulocitaria 26,3 pg y ferritina 10,8  $\mu$ g/dL. A la semana 14 los valores fueron: hemoglobina 12,2 g/dL, hemoglobina reticulocitaria 36,5 pg, ferritina 24,4  $\mu$ g/dL. Imágenes cortesía del Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

## Limitaciones de la hemoglobina reticulocitaria en el diagnóstico y seguimiento de la deficiencia de hierro

Quizá en nuestro país, lo que más dificulta el uso masivo como prueba diagnóstica en la deficiencia de hierro, es que, como se discutió previamente, la hemoglobina reticulocitaria está disponible en pocos autoanalizadores de hematología y, por lo tanto, solo se encuentra disponible en laboratorios de tercer nivel que cuentan con hemogramas tipo IV que se realizan en los autoanalizadores de hematología equipados para el recuento de reticulocitos y el cálculo de sus constantes [93,156].

Además, existen limitaciones inherentes a la hemoglobina reticulocitaria. Este parámetro presenta algunos inconvenientes para la detección y el diagnóstico diferencial de la ferropenia en pacientes con alteraciones de la síntesis de la cadena beta de la globina, como sucede en los síndromes talasémicos y las hemoglobinopatías, algunas de ellas característicamente microcíticas [166,216,217]. Por ejemplo, los pacientes con  $\beta^0$  y  $\beta^+$ -talasemia presentan niveles disminuidos de hemoglobina reticulocitaria, incluso sin que se presente la deficiencia de hierro [216]. De hecho, en pacientes con  $\beta$ -talasemia se ha observado que para una adecuada determinación del estado de hierro se debe recurrir a parámetros bioquímicos como la ferritina, pues la hemoglobina reticulocitaria no permite establecer el diagnóstico de deficiencia de hierro [217].

Además, puede estar falsamente normal en los pacientes que tienen anemia megaloblástica por deficiencia de vitamina B<sub>12</sub> o ácido fólico, o que reciben medicamentos que tienden a inducir, transitoria o permanentemente, macrocitosis, entre los que se destaca la hidroxiurea, la cual es empleada durante largos períodos en pacientes con anemia falciforme o en algunos casos de enfermedades mieloproliferativas [218]. Si bien la hemoglobina reticulocitaria no es una herramienta para el diagnóstico de la anemia deficiente de vitamina B<sub>12</sub> o ácido fólico, sí puede presentar limitantes para definir si se encuentra concomitantemente o no a una deficiencia de hierro, pues puede estar falsamente elevada cuando hay macrocitosis, tal como lo describieron Mast y colaboradores (2002) [219], indicando que la hemoglobina reticulocitaria presenta una excelente correlación con los depósitos de hierro, excepto en los pacientes con un volumen corpuscular medio mayor que 100 fL.

## Conclusión

Los avances en el hemograma automatizado han permitido no solo el mejoramiento en el desempeño analítico de esta prueba sino la inclusión de nuevos parámetros con importancia clínica, entre ellos, los parámetros reticulocitarios. De esta forma, los hemogramas tipo VI se posicionan cada vez más como el hemograma ideal para un adecuado análisis del estado de salud de los pacientes.

La hemoglobina reticulocitaria, al no presentar un costo adicional para aquellos laboratorios que cuentan con equipos como el Advia® 120 o el Sysmex XE 2100 o Sysmex modelos XN, se convierte en un factor diferenciador dentro del portafolio de servicios, pues los estudios mencionados y el análisis realizado en este artículo, evidencian su utilidad para identificar los pacientes con deficiencia de hierro, incluso en aquellos con procesos inflamatorios o crónicos de base. De igual forma, múltiples estudios han respaldado su aplicación en el diagnóstico y seguimiento en pacientes de difícil manejo tales como los pacientes en hemodiálisis que requieren tratamiento con eritropoyetina recombinante.

Con la incorporación de la hemoglobina reticulocitaria a la práctica médica del día a día, y en un futuro cercano de la determinación de la hepcidina, sumada a las herramientas vigentes, en particular la ferritina sérica y la saturación de la transferrina, será más fácil la detección temprana de la eritropoyesis deficiente en hierro en sus diferentes manifestaciones fisiopatológicas con un tratamiento y manejo más oportuno de los pacientes afectados por esta situación clínica. Para lograr el objetivo es necesario que la comunidad médica y los sistemas de salud incorporen estos avances a la infraestructura de la salud, de tal manera que el manejo de la deficiencia de hierro se maneje de una manera costo-efectiva como es posible con estos simples cambios.

## Bibliografía

1. **Gulati GL, Hyun BH.** The automated CBC. A current perspective. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994; 8: 593-603.
2. **Perkins SL.** Examination of the blood and bone marrow (actualizar con nueva versión). En: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds. *Wintrobe's clinical hematology* (ed 11th Edition). Philadelphia, PA, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2004: 1-25.
3. **Sociedad Colombiana de Patología Clínica.** Manual de Codificación, Nomenclatura, Nivelación y Valores de Exámenes de laboratorio Clínico. Medellín, Colombia: Edimeco S.A.; 2015.
4. **Davis BH, Bigelow NC.** Automated reticulocyte analysis. Clinical practice and associated new parameters. *Hematol Oncol Clin North Am* 1994; 8: 617-630.
5. **Briggs C, Harrison P, Grant D, Staves J, MacHin SJ.** New quantitative parameters on a recently introduced automated blood cell counter—the XE 2100. *Clin Lab Haematol* 2000; 22: 345-350.
6. **Briggs C.** Quality counts: new parameters in blood cell counting. *Int J Lab Hematol* 2009; 31: 277-297.
7. **Urrechaga E, Borque L, Escanero JF.** Potential utility of the new Sysmex XE 5000 red blood cell extended parameters in the study of disorders of iron metabolism. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47: 1411-1416.
8. **Sehgal KK, Tina D, Choksey U, Dalal RJ, Shanaz KJ.** Reference range evaluation of complete blood count parameters with emphasis on newer research parameters on the complete blood count analyzer Sysmex XE-2100. *Indian J Pathol Microbiol* 2013; 56: 120-124.
9. **Arneth BM, Menschikowki M.** Technology and New Fluorescence Flow Cytometry Parameters in Hematological Analyzers. *J Clin Lab Anal* 2014.
10. **Voss SC, Varamenti E, Elzain Elgigo M, Bourdon PC.** New parameters and reference values for monitoring iron status in Middle Eastern adolescent male athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 2014; 54: 179-185.
11. **Brisou G, Manzoni D, Dalle S, Felman P, Morel D, Boubaya M, et al.** Alams and parameters generated by hematology analyzer: new tools to predict and quantify circulating Sezary cells. *J Clin Lab Anal* 2015; 29: 153-161.
12. **Goodnough LT, Nemeth E.** Iron deficiency and related disorders. En: Greer JP, Arber DA, Glader B, List AF, Means RT, Paraskevas F, et al., eds. *Wintrobe's clinical hematology* (ed 13th Edition). Philadelphia, PA, USA: Wolters Kluwer. Lippincott Williams & Wilkins; 2014: 617-642.
13. **Geissler C, Singh M.** Iron, meat and health. *Nutrients* 2011; 3: 283-316.
14. **Theil E, Raymond K.** Transition-metal storage, transport, and biomineralization. En: Bertini I, Gray HB, Lippard SJ, Valentine JS, eds. *Bioinorganic chemistry* Mill Valley, CA: University Science Books; 1994: 611.
15. **Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC.** Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 2004; 117: 285-297.
16. **Darshan D, Frazer DM, Anderson GJ.** Molecular basis of iron-loading disorders. *Expert Rev Mol Med* 2010; 12: e36.
17. **Ganz T.** Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011; 117: 4425-4433.
18. **Rouault TA.** Iron metabolism in the CNS: implications for neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2013; 14: 551-564.
19. **Papanikolaou G, Pantopoulos K.** Iron metabolism and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 202: 199-211.
20. **Food and Nutrition Board, Institute of Medicine.** Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Washington, DC: National Academy Press; 2002: 290-393.
21. **Ganz T.** Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 394-400.
22. **Fleming RE, Bacon BR.** Orchestration of iron homeostasis. *N Engl J Med* 2005; 352: 1741-1744.
23. **Arezes J, Nemeth E.** Hepcidin and iron disorders: new biology and clinical approaches. *Int J Lab Hematol* 2015; 37 Suppl 1: 92-98.
24. **Camaschella C.** Iron and hepcidin: a story of recycling and balance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2013; 2013: 1-8.
25. **Chifman J, Laubenbacher R, Torti SV.** A systems biology approach to iron metabolism. *Adv Exp Med Biol* 2014; 844: 201-225.
26. **Goodnough LT.** Iron deficiency syndromes and iron-restricted erythropoiesis (CME). *Transfusion* 2012; 52: 1584-1592.
27. **Pippard MJ.** Iron deficiency anemia, anemia of chronic disorders and iron overload. En: Porwit A, McCullough J, Erber WN, eds. *Blood and Bone Marrow Pathology* (ed 2da). Edimburgo, Escocia: Churchill Livingstone; 2011: 173-195.
28. **Milman N.** Anemia—still a major health problem in many parts of the world! *Ann Hematol* 2011; 90: 369-377.
29. **WHO/UNICEF/UNU.** Iron deficiency anemia assessment, prevention, and control. Geneva: World Health Organization; 2001.
30. **Zimmermann MB, Hurrell RF.** Nutritional iron deficiency. *Lancet* 2007; 370: 511-520.
31. **Organización Mundial de la Salud, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC).** Worldwide prevalence of anaemia 1993–2005: WHO Global Database on Anaemia. In: de Benoist B, McLean E, Egli I, Cogswell M eds. Ginebra, Suiza: WHO Press; 2009.
32. **República de Colombia, Ministerio de la Protección Social, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, Instituto Nacional de Salud, Profamilia.** Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia 2010-ENSIN. Bogotá D.C., Colombia. 2011. Disponible: <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/PortalICBF/Bienestar/ENSIN1/ENSIN2010/LibroENSIN2010.pdf>. Consultado: feb 2015.
33. **Adamson JW.** Ferropeña y otras anemias hipoproliferativas. En: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, eds. *Harmon Principios de Medicina Interna* (ed 18a). México, D. F.: McGraw-Hill Interamericana Editores; 2012: 844-851.
34. **Heinrich HC.** Iron deficiency without anemia. *Lancet* 1968; 2: 460.
35. **Beutler E, Hoffbrand AV, Cook JD.** Iron deficiency and overload. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003: 40-61.
36. **Camaschella C.** Iron-deficiency anemia. *N Engl J Med* 2015; 372: 1832-1843.
37. **Brittenham GM.** Disorders of iron homeostasis: iron deficiency and overload. En: Hoffman R, Furie B, Benz EJ, Mc-

- Glave P, Silberstein LE, Shattil SJ, eds. Hematology: Basic Principles and Practice (ed 5ta). Filadelfia, Estados Unidos: Churchill Livingstone; 2009: 453-468.
38. **Worwood M.** Indicators of the iron status of populations: ferritin. In: Organización Mundial de la Salud, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) eds. Assessing the iron status of populations (ed 2da). Ginebra, Suiza: WHO Press; 2007.
  39. **Cook JD.** The measurement of serum transferrin receptor. *Am J Med Sci* 1999; 318: 269-276.
  40. **Worwood M, May A.** Iron deficiency anaemia and iron overload. En: Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM, eds. Dacie and Lewis Practical Haematology (ed 11a). Filadelfia, Estados Unidos: Churchill Livingstone; 2011: 175-200.
  41. **Koller ME, Romslo I, Finne PH, Brockmeier F, Tyssebotn I.** The diagnosis of iron deficiency by erythrocyte protoporphyrin and serum ferritin analyses. *Acta Paediatr Scand* 1978; 67: 361-366.
  42. **Labbe RF, Vreman HJ, Stevenson DK.** Zinc protoporphyrin: A metabolite with a mission. *Clin Chem* 1999; 45: 2060-2072.
  43. **Uchida T, Kawati Y.** Pagophagia in iron deficiency anemia. *Rinsho Ketsueki* 2014; 55: 436-439.
  44. **Osman YM, Wali YA, Osman OM.** Craving for ice and iron-deficiency anemia: a case series from Oman. *Pediatr Hematol Oncol* 2005; 22: 127-131.
  45. **Van Neste DJ, Rushton DH.** Hair problems in women. *Clin Dermatol* 1997; 15: 113-125.
  46. **Rushton DH.** Decreased serum ferritin and alopecia in women. *J Invest Dermatol* 2003; 121: xvii-xviii.
  47. **Kantor J, Kessler LJ, Brooks DG, Cotsarelis G.** Decreased serum ferritin is associated with alopecia in women. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 985-988.
  48. **Trost LB, Bergfeld WF, Calogeras E.** The diagnosis and treatment of iron deficiency and its potential relationship to hair loss. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: 824-844.
  49. **Reynolds RD, Binder HJ, Miller MB, Chang WW, Horan S.** Pagophagia and iron deficiency anemia. *Ann Intern Med* 1968; 69: 435-440.
  50. **Ephros HD, Lee HY.** Amylophagia and iron deficiency anemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 66: 448-449.
  51. **Reimann F, Koptagel G.** Geophagia in iron deficiency disease. *New Istanbul Contrib Clin Sci* 1980; 13: 63-79.
  52. **Sharma TR, Kavuru B, Aly M.** Coprophagia and pica in individuals with mild to moderate dementia and mixed (iron deficiency and macrocytic) anemia. *J Am Geriatr Soc* 2011; 59: 2375-2377.
  53. **McGehee FT, Jr., Buchanan GR.** Trichophagia and trichobezoar: etiologic role of iron deficiency. *J Pediatr* 1980; 97: 946-948.
  54. **Campuzano-Maya G.** Pica: el síntoma olvidado. *Medicina & Laboratorio* 2011; 17: 533-552.
  55. **Oski FA.** The nonhematologic manifestations of iron deficiency. *Am J Dis Child* 1979; 133: 315-322.
  56. **Oski FA, Honig AS, Helu B, Howanitz P.** Effect of iron therapy on behavior performance in nonanemic, iron-deficient infants. *Pediatrics* 1983; 71: 877-880.
  57. **Lozoff B, Brittenham GM.** Behavioral alterations in iron deficiency. *Hematol Oncol Clin North Am* 1987; 1: 449-464.
  58. **Lozoff B.** Behavioral alterations in iron deficiency. *Adv Pediatr* 1988; 35: 331-359.
  59. **Lozoff B.** Iron deficiency and infant development. *J Pediatr* 1994; 125: 577-578.
  60. **Lozoff B, Klein NK, Nelson EC, McClish DK, Manuel M, Chacon ME.** Behavior of infants with iron-deficiency anemia. *Child Dev* 1998; 69: 24-36.
  61. **Martinez-Torres C, Cubeddu L, Dillmann E, Brengelmann GL, Leets I, Layrisse M, et al.** Effect of exposure to low temperature on normal and iron-deficient subjects. *Am J Physiol* 1984; 246: R380-383.
  62. **Grantham-McGregor S, Ani C.** A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *J Nutr* 2001; 131: 649S-666S; discussion 666S-668S.
  63. **Yager JY, Hartfield DS.** Neurologic manifestations of iron deficiency in childhood. *Pediatr Neurol* 2002; 27: 85-92.
  64. **Sandoval C.** Thrombocytosis in children with iron deficiency anemia: series of 42 children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002; 24: 593.
  65. **Fisher NC, Dagggett PR.** Haemochromatosis presenting with loss of libido and impotence. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 705-707.
  66. **Makila E.** Prevalence of angular stomatitis. Correlation with composition of food and metabolism of vitamins and iron. *Acta Odontol Scand* 1969; 27: 655-680.
  67. **República de Colombia, Comisión de Regulación en Salud (CRES).** Por el cual se sustituye el Acuerdo 028 de 2011 que define, aclara y actualiza integralmente el Plan Obligatorio de Salud; 2011.
  68. **WHO.** WHO. Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. Geneva, World Health Organization, 2011 (WHO/NMH/NHD/MNMI/1.1.1) (<http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>, Consultado en junio de 2015).
  69. **Campuzano-Maya G.** Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *Medicina & Laboratorio* 2007; 133: 511-550.
  70. **Macdougall IC, Hutton RD, Cavill I, Coles GA, Williams JD.** Poor response to treatment of renal anaemia with erythropoietin corrected by iron given intravenously. *BMJ* 1989; 299: 157-158.
  71. **Thomas DW, Hinchliffe RF, Briggs C, Macdougall IC, Littlewood T, Cavill I, et al.** Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *Br J Haematol* 2013; 161: 639-648.
  72. **Brugnara C.** Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem* 2003; 49: 1573-1578.
  73. **Thomas C, Thomas L.** Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem* 2002; 48: 1066-1076.
  74. **Weiss G, Goodnough LT.** Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1011-1023.
  75. **Baillie FJ, Morrison AE, Fergus I.** Soluble transferrin receptor: a discriminating assay for iron deficiency. *Clin Lab Haematol* 2003; 25: 353-357.
  76. **Li YQ, Bai B, Cao XX, Yan H, Zhuang GH.** Ferroportin 1 and hephaestin expression in BeWo cell line with different iron treatment. *Cell Biochem Funct* 2012; 30: 249-255.
  77. **Hudson DM, Krisinger MJ, Griffiths TA, Macgillivray RT.** Neither human hephaestin nor ceruloplasmin forms a stable complex with transferrin. *J Cell Biochem* 2008; 103: 1849-1855.
  78. **Latunde-Dada GO, Van der Westhuizen J, Vulpe CD, Anderson GJ, Simpson RJ, McKie AT.** Molecular and functional roles of duodenal cytochrome B (Dcytb) in iron metabolism. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29: 356-360.

79. McKie AT. The role of Dcytb in iron metabolism: an update. *Biochem Soc Trans* 2008; 36: 1239-1241.
80. Lane DJ, Bae DH, Merlot AM, Sahni S, Richardson DR. Duodenal cytochrome b (DCYTB) in iron metabolism: an update on function and regulation. *Nutrients* 2015; 7: 2274-2296.
81. Chorney MJ, Yoshida Y, Meyer PN, Yoshida M, Gerhard GS. The enigmatic role of the hemochromatosis protein (HFE) in iron absorption. *Trends Mol Med* 2003; 9: 118-125.
82. Pantopoulos K. Function of the hemochromatosis protein HFE: Lessons from animal models. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6893-6901.
83. Canavesi E, Alfieri C, Pelusi S, Valenti L. Hfe and HFE protein: Iron metabolism as a target for the anemia of chronic kidney disease. *World J Nephrol* 2012; 1: 166-176.
84. Niederkofler V, Salie R, Arber S. Hemojuvelin is essential for dietary iron sensing, and its mutation leads to severe iron overload. *J Clin Invest* 2005; 115: 2180-2186.
85. Young GH, Huang TM, Wu CH, Lai CF, Hou CC, Peng KY, et al. Hemojuvelin modulates iron stress during acute kidney injury: improved by furin inhibitor. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20: 1181-1194.
86. Shaw GC, Cope JJ, Li L, Corson K, Hersey C, Ackermann GE, et al. Mitoferrin is essential for erythroid iron assimilation. *Nature* 2006; 440: 96-100.
87. Musci G, Polticelli F, Bonaccorsi di Patti MC. Ceruloplasmin-ferroportin system of iron traffic in vertebrates. *World J Biol Chem* 2014; 5: 204-215.
88. Lesjak M, Hoque R, Balesaria S, Skinner V, Debnam ES, Srai SK, et al. Quercetin inhibits intestinal iron absorption and ferroportin transporter expression in vivo and in vitro. *PLoS One* 2014; 9: e102900.
89. Andrews NC. The iron transporter DMT1. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31: 991-994.
90. Mims MP, Guan Y, Pospisilova D, Priwitzerova M, Indrak K, Ponka P, et al. Identification of a human mutation of DMT1 in a patient with microcytic anemia and iron overload. *Blood* 2005; 105: 1337-1342.
91. Przybyszewska J, Zekanowska E. The role of hepcidin, ferroportin, HCP1, and DMT1 protein in iron absorption in the human digestive tract. *Prz Gastroenterol* 2014; 9: 208-213.
92. Piva E, Brugnara C, Spolaore F, Plebani M. Clinical utility of reticulocyte parameters. *Clin Lab Med* 2015; 35: 133-163.
93. Buttarello M, Temporin V, Ceravolo R, Farina G, Bulian P. The new reticulocyte parameter (RET-Y) of the Sysmex XE 2100: its use in the diagnosis and monitoring of post-treatment sideropenic anemia. *Am J Clin Pathol* 2004; 121: 489-495.
94. Brugnara C. A hematologic «gold standard» for iron-deficient states? *Clin Chem* 2002; 48: 981-982.
95. Bain BJ, Clark DM, Wilkins BS. Special Techniques Applicable to Bone Marrow Diagnosis. En: Bain BJ, Clark DM, Wilkins BS, eds. *Bone Marrow Pathology* (ed 4ta). Oxford, Reino Unido: Wiley-Blackwell; 2010: 54-99.
96. Ogilvie C, Fitzsimons K, Fitzsimons EJ. Serum ferritin values in primary care: are high values overlooked? *J Clin Pathol* 2010; 63: 1124-1126.
97. Cook JD. Clinical evaluation of iron deficiency. *Semin Hematol* 1982; 19: 6-18.
98. Siimes MA, Addiego JE, Jr., Dallman PR. Ferritin in serum: diagnosis of iron deficiency and iron overload in infants and children. *Blood* 1974; 43: 581-590.
99. Cook JD, Lipschitz DA, Miles LE, Finch CA. Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects. *Am J Clin Nutr* 1974; 27: 681-687.
100. Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA. A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. *N Engl J Med* 1974; 290: 1213-1216.
101. Skikne B, Hershho C. Iron deficiency. En: Anderson GJ, McLaren GD, eds. *Iron physiology and pathophysiology in humans*. New York, Dordrecht, Heidelberg, London: Humana Press; 2012: 251-282.
102. Witte DL. Can serum ferritin be effectively interpreted in the presence of the acute-phase response? *Clin Chem* 1991; 37: 484-485.
103. Feelders RA, Vreugdenhil G, Eggermont AM, Kuiper-Kramer PA, van Eijk HG, Swaak AJ. Regulation of iron metabolism in the acute-phase response: interferon gamma and tumour necrosis factor alpha induce hypoferraemia, ferritin production and a decrease in circulating transferrin receptors in cancer patients. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 520-527.
104. Beard JL, Murray-Kolb LE, Rosales FJ, Solomons NW, Angelilli ML. Interpretation of serum ferritin concentrations as indicators of total-body iron stores in survey populations: the role of biomarkers for the acute phase response. *Am J Clin Nutr* 2006; 84: 1498-1505.
105. Baharvand M, Manifar S, Akkafan R, Mortazavi H, Sabour S. Serum levels of ferritin, copper, and zinc in patients with oral cancer. *Biomed J* 2014; 37: 331-336.
106. Shi HB, Li XD, Jiang JT, Zhao WQ, Ji M, Wu CP. Serum ferritin is elevated in advanced non-small cell lung cancer patients and is associated with efficacy of platinum-based chemotherapy. *J Cancer Res Ther* 2014; 10: 681-685.
107. Orlandi R, De Bortoli M, Ciniselli CM, Vaghi E, Caccia D, Garrisi V, et al. Hepcidin and ferritin blood level as noninvasive tools for predicting breast cancer. *Ann Oncol* 2014; 25: 352-357.
108. Wang SL, Cao S, Wu R, Chi F, Tang MY, Jin XY, et al. Serum ferritin predicted prognosis in patients with locally advanced pancreatic cancer. *Future Oncol* 2015; 11: 2905-2910.
109. Andrews M, Soto N, Arredondo-Olguin M. Association between ferritin and hepcidin levels and inflammatory status in patients with type 2 diabetes mellitus and obesity. *Nutrition* 2015; 31: 51-57.
110. Yeap BB, Divitini ML, Gunton JE, Olynyk JK, Beilby JP, McQuillan B, et al. Higher ferritin levels, but not serum iron or transferrin saturation, are associated with Type 2 diabetes mellitus in adult men and women free of genetic haemochromatosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2015; 82: 525-532.
111. Acton RT, Barton JC, Barton JC. Serum ferritin, insulin resistance, and metabolic syndrome: clinical and laboratory associations in 769 non-hispanic whites without diabetes mellitus in the HEIRS study. *Metab Syndr Relat Disord* 2015; 13: 57-63.
112. Aregbesola A, Virtanen JK, Voutilainen S, Mursu J, Laugundoye A, Kauhaneen J, et al. Serum ferritin and glucose homeostasis: change in the association by glycaemic state. *Diabetes Metab Res Rev* 2015; 31: 507-514.
113. Momeni A, Behrmanesh MS, Kheiri S, Abasi F. Serum ferritin has correlation with HbA1c in type 2 diabetic patients. *Adv Biomed Res* 2015; 4: 74.
114. Abril-Ulloa V, Flores-Mateo G, Sola-Alberich R, Manuel-Keenoy B, Arija V. Ferritin levels and risk of metabolic syndrome: meta-analysis of observational studies. *BMC Public Health* 2014; 14: 483.
115. Padwal MK, Murshid M, Nirmale P, Melinkeri RR. Association of serum ferritin levels with metabolic syndrome and

- insulin resistance. *J Clin Diagn Res* 2015; 9: BC11-13.
116. Jin Y, He L, Chen Y, Fang Y, Yao Y. Association between serum ferritin levels and metabolic syndrome: an updated meta-analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 13317-13322.
  117. Sumida Y, Kanemasa K, Fukumoto K, Yoshida N, Sakai K. Correlation of hepatic steatosis with body mass index, serum ferritin level and hepatic fibrosis in Japanese patients with chronic hepatitis C. *Hepatal Res* 2007; 37: 263-269.
  118. Won JE, Jeong SH, Chung JI, Lee JH, Hwang SH, Kim JW, et al. Hepatic iron, serum ferritin, HFE mutation, and hepatic fibrosis in chronic hepatitis C. *Intervirolgy* 2009; 52: 239-246.
  119. Naz N, Moriconi F, Ahmad S, Amanzada A, Khan S, Mihm S, et al. Ferritin L is the sole serum ferritin constituent and a positive hepatic acute-phase protein. *Shock* 2013; 39: 520-526.
  120. Chick J, Pikkarainen J, Plant M. Serum ferritin as a marker of alcohol consumption in working men. *Alcohol Alcohol* 1987; 22: 75-77.
  121. Milman N, Kirchoff M. Relationship between serum ferritin, alcohol intake, and social status in 2235 Danish men and women. *Ann Hematol* 1996; 72: 145-151.
  122. Fletcher LM, Halliday JW, Powell LW. Interrelationships of alcohol and iron in liver disease with particular reference to the iron-binding proteins, ferritin and transferrin. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 202-214.
  123. Kopelman RC, Smith L, Peoples L, Biesecker R, Rizkala AR. Functional iron deficiency in hemodialysis patients with high ferritin. *Hemodial Int* 2007; 11: 238-246.
  124. Kuragano T, Matsumura O, Matsuda A, Hara T, Kiyomoto H, Murata T, et al. Association between hemoglobin variability, serum ferritin levels, and adverse events/mortality in maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 2014.
  125. Takasawa K, Takaeda C, Maeda T, Ueda N. Hepcidin-25, mean corpuscular volume, and ferritin as predictors of response to oral iron supplementation in hemodialysis patients. *Nutrients* 2015; 7: 103-118.
  126. Lien CT, Lin KC, Tsai YF, Yu LK, Huang LH, Chen CA. Serum ferritin is associated with progression of peripheral arterial disease in hemodialysis patients. *Clin Exp Nephrol* 2015; 19: 947-952.
  127. Beciragic A, Resic H, Prohic N, Karamehic J, Smajlovic A, Masnic F, et al. Correlation Between C-reactive Protein and Non-enzymatic Antioxidants (Albumin, Ferritin, Uric Acid and Bilirubin) in Hemodialysis Patients. *Mater Sociomed* 2015; 27: 87-90.
  128. Dale JC, Burritt MF, Zinsmeister AR. Diurnal variation of serum iron, iron-binding capacity, transferrin saturation, and ferritin levels. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 802-808.
  129. Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolford JI, Andrews NC. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 2002; 100: 3776-3781.
  130. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003; 101: 2461-2463.
  131. Detvaud L, Nemeth E, Boudjema K, Turlin B, Troadec MB, Leroyer P, et al. Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function. *Blood* 2005; 106: 746-748.
  132. Kemna E, Tjalsma H, Laarakkers C, Nemeth E, Willems H, Swinkels D. Novel urine hepcidin assay by mass spectrometry. *Blood* 2005; 106: 3268-3270.
  133. Pak M, Lopez MA, Gabayan V, Ganz T, Rivera S. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006; 108: 3730-3735.
  134. Miwa N, Akiba T, Kimata N, Hamaguchi Y, Arakawa Y, Tamura T, et al. Usefulness of measuring reticulocyte hemoglobin equivalent in the management of haemodialysis patients with iron deficiency. *Int J Lab Hematol* 2010; 32: 248-255.
  135. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol* 2006; 28: 303-308.
  136. Feelders RA, Kuiper-Kramer EP, van Eijk HG. Structure, function and clinical significance of transferrin receptors. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 1-10.
  137. Trinder D, Baker E. Transferrin receptor 2: a new molecule in iron metabolism. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 292-296.
  138. Pettersson T, Kivivuori SM, Siimes MA. Is serum transferrin receptor useful for detecting iron-deficiency in anaemic patients with chronic inflammatory diseases? *Br J Rheumatol* 1994; 33: 740-744.
  139. Skikne BS. Circulating transferrin receptor assay--coming of age. *Clin Chem* 1998; 44: 7-9.
  140. Verhoef H, West CE, Ndeto P, Burema J, Beguin Y, Kok FJ. Serum transferrin receptor concentration indicates increased erythropoiesis in Kenyan children with asymptomatic malaria. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 767-775.
  141. Menendez C, Quinto LL, Kahigwa E, Alvarez L, Fernandez R, Gimenez N, et al. Effect of malaria on soluble transferrin receptor levels in Tanzanian infants. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 138-142.
  142. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. Serum transferrin receptor levels for the assessment of iron status and iron deficiency in populations. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud. 2014. Disponible: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/1337071/WHO\\_NMH\\_NHD\\_EPG\\_14.6\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/1337071/WHO_NMH_NHD_EPG_14.6_eng.pdf). Consultado: feb 2015.
  143. Krause A, Neitz S, Magert HJ, Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000; 480: 147-150.
  144. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001; 276: 7811-7819.
  145. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7806-7810.
  146. Sow FB, Nandakumar S, Velu V, Kellar KL, Schlesinger LS, Amara RR, et al. Mycobacterium tuberculosis components stimulate production of the antimicrobial peptide hepcidin. *Tuberculosis (Edinb)* 2011; 91: 314-321.
  147. Atanasiu V, Manolescu B, Stoian I. Hepcidin--central regulator of iron metabolism. *Eur J Haematol* 2007; 78: 1-10.
  148. Hugman A. Hepcidin: an important new regulator of iron homeostasis. *Clin Lab Haematol* 2006; 28: 75-83.
  149. Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1823: 1434-1443.
  150. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008; 112: 4292-4297.
  151. Kroot JJ, Kemna EH, Bansal SS, Busbridge M, Campostriani N, Girelli D, et al. Results of the first international round

- robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. *Haematologica* 2009; 94: 1748-1752.
152. **Wintrobe MM.** Anemia: Classification and treatment on the basis of differences in the average volume and hemoglobin content of the red corpuscles. *Arch Intern Med* 1934; 54: 256-261.
  153. **Bessman JD, Gilmer PR, Jr., Gardner FH.** Improved classification of anemias by MCV and RDW. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 322-326.
  154. **Bessman D.** What's an RDW? *Am J Clin Pathol* 1981; 76: 242-243.
  155. **Bessman JD, Johnson RK.** Erythrocyte volume distribution in normal and abnormal subjects. *Blood* 1975; 46: 369-379.
  156. **Torino AB, Gilberti Mde F, da Costa E, de Lima GA, Grotto HZ.** Evaluation of red cell and reticulocyte parameters as indicative of iron deficiency in patients with anemia of chronic disease. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2014; 36: 424-429.
  157. **Mohandas N, Kim YR, Tycko DH, Orlik J, Wyatt J, Groner W.** Accurate and independent measurement of volume and hemoglobin concentration of individual red cells by laser light scattering. *Blood* 1986; 68: 506-513.
  158. **Garzia M, Di Mario A, Ferraro E, Tazza L, Rossi E, Luciani G, et al.** Reticulocyte Hemoglobin Equivalent: An Indicator of Reduced Iron Availability in Chronic Kidney Diseases during Erythropoietin Therapy. *Lab Hematol* 2007; 13: 6-11.
  159. **Nunes LA, Grotto HZ, Brenzikofer R, Macedo DV.** Hematological and biochemical markers of iron status in a male, young, physically active population. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 349182.
  160. **Canals C, Remacha AF, Sarda MP, Piazuolo JM, Royo MT, Romero MA.** Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter - reticulocyte hemoglobin equivalent - in the diagnosis of anemia. *Haematologica* 2005; 90: 1133-1134.
  161. **Kickler TS, Borowitz MJ, Thompson RE, Charintranont N, Law R.** Ret-Y a measure of reticulocyte size: a sensitive indicator of iron deficiency anemia. *Clin Lab Haematol* 2004; 26: 423-427.
  162. **Franck S, Linssen J, Messinger M, Thomas L.** Potential utility of Ret-Y in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clin Chem* 2004; 50: 1240-1242.
  163. **Markovic M, Majkic-Singh N, Subota V, Mijuskovic Z.** Reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency anemia. *Clin Lab* 2004; 50: 431-436.
  164. **Thomas L, Franck S, Messinger M, Linssen J, Thome M, Thomas C.** Reticulocyte hemoglobin measurement--comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 1193-1202.
  165. **Ullrich C, Wu A, Armsby C, Rieber S, Wingerter S, Brugnara C, et al.** Screening healthy infants for iron deficiency using reticulocyte hemoglobin content. *JAMA* 2005; 294: 924-930.
  166. **Mast AE, Blinder MA, Dietzen DJ.** Reticulocyte hemoglobin content. *Am J Hematol* 2008; 83: 307-310.
  167. **Karagulle M, Gunduz E, Sahin Mutlu F, Olga Akay M.** Clinical significance of reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency anemia. *Turk J Haematol* 2013; 30: 153-156.
  168. **Brugnara C, Zurakowski D, DiCanzio J, Boyd T, Platt O.** Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *Jama* 1999; 281: 2225-2230.
  169. **Bakr AF, Sarette G.** Measurement of reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in Saudi children. *Eur J Pediatr* 2006; 165: 442-445.
  170. **Kiudeliene R, Griniute R, Labanauskas L.** Prognostic value of reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in 6-24-month-old children. *Medicina (Kaunas)* 2008; 44: 673-677.
  171. **Mateos ME, De-la-Cruz J, Lopez-Laso E, Valdes MD, Nogales A.** Reticulocyte hemoglobin content for the diagnosis of iron deficiency. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008; 30: 539-542.
  172. **Kuehn D, Roberts SS, Olsen CH, Harvey DN, Charnock KM, Brewer BD, et al.** Reticulocyte hemoglobin content testing for iron deficiency in healthy toddlers. *Mil Med* 2012; 177: 91-95.
  173. **Osta V, Caldirola MS, Fernandez M, Marcone MI, Tissera G, Pennesi S, et al.** Utility of new mature erythrocyte and reticulocyte indices in screening for iron-deficiency anemia in a pediatric population. *Int J Lab Hematol* 2013; 35: 400-405.
  174. **Al-Ghananim RT, Nalbant D, Schmidt RL, Cress GA, Zimmerman MB, Widness JA.** Reticulocyte Hemoglobin Content During the First Month of Life in Critically Ill Very Low Birth Weight Neonates Differs From Term Infants, Children, and Adults. *J Clin Lab Anal* 2015.
  175. **Stoffman N, Brugnara C, Woods ER.** An algorithm using reticulocyte hemoglobin content (ChR) measurement in screening adolescents for iron deficiency. *J Adolesc Health* 2005; 36: 529.
  176. **Schoorl M, Schoorl M, van der Gaag D, Bartels PC.** Effects of iron supplementation on red blood cell hemoglobin content in pregnancy. *Hematol Rep* 2012; 4: e24.
  177. **Ageeli AA, Algahtani FH, Alsaeed AH.** Reticulocyte hemoglobin content and iron deficiency: a retrospective study in adults. *Genet Test Mol Biomarkers* 2013; 17: 278-283.
  178. **Luo D, Chen Y, Wu W, Zhang F, Xu J, Cui W, et al.** Reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency in Chinese pre-menopausal women. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 1010-1012.
  179. **Karlsson T.** Comparative evaluation of the reticulocyte hemoglobin content assay when screening for iron deficiency in elderly anemic patients. *Anemia* 2011; 2011: 925907.
  180. **Joosten E, Lioen P, Brusselms C, Indevuyst C, Boeckx N.** Is analysis of the reticulocyte haemoglobin equivalent a useful test for the diagnosis of iron deficiency anaemia in geriatric patients? *Eur J Intern Med* 2013; 24: 63-66.
  181. **Bhandari S, Norfolk D, Brownjohn A, Turney J.** Evaluation of RBC ferritin and reticulocyte measurements in monitoring response to intravenous iron therapy. *Am J Kidney Dis* 1997; 30: 814-821.
  182. **Brugnara C, Colella GM, Cremins J, Langley RC, Jr., Schneider TJ, Rutherford CJ, et al.** Effects of subcutaneous recombinant human erythropoietin in normal subjects: development of decreased reticulocyte hemoglobin content and iron-deficient erythropoiesis. *J Lab Clin Med* 1994; 123: 660-667.
  183. **Brugnara C.** Reticulocyte cellular indices: a new approach in the diagnosis of anemias and monitoring of erythropoietic function. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000; 37: 93-130.
  184. **Mittman N, Sreedhara R, Mushnick R, Chattopadhyay J, Zelmanovic D, Vaseghi M, et al.** Reticulocyte hemoglobin content predicts functional iron deficiency in hemodialysis patients receiving rHuEPO. *Am J Kidney Dis* 1997; 30: 912-922.
  185. **Semmelrock MJ, Raggam RB, Amrein K, Avian A, Schallmoser K, Lanzer G, et al.** Reticulocyte hemoglobin content allows early and reliable detection of functional iron deficiency in blood donors. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 678-682.
  186. **Markovic M, Majkic-Singh N, Ignjatovic S, Singh S.** Reticulocyte haemoglobin content vs. soluble transferrin receptor

- and ferritin index in iron deficiency anaemia accompanied with inflammation. *Int J Lab Hematol* 2007; 29: 341-346.
187. **Jolobe O.** Reticulocyte haemoglobin content vs. soluble transferrin receptor and ferritin index in iron deficiency anaemia accompanied with inflammation. *Int J Lab Hematol* 2008; 30: 175-176.
  188. **Jayarane S, Sthaneshwar P.** RET-Y and RBC-Y in the diagnosis of iron deficiency associated with anaemia of inflammation. *Int J Lab Hematol* 2010; 32: 512-518.
  189. **Darveau M, Lachance P.** Reticulocyte hemoglobin content in critically ill patients. *Anesthesiology* 2010; 113: 1479.
  190. **Schoorl M, Snijders D, Schoorl M, Boersma WG, Bartels PC.** Transient impairment of reticulocyte hemoglobin content and hepcidin-25 induction in patients with community-acquired pneumonia. *Scand J Clin Lab Invest* 2013; 73: 54-60.
  191. **Thomas C, Thomas L.** Anemia of chronic disease: pathophysiology and laboratory diagnosis. *Lab Hematol* 2005; 11: 14-23.
  192. **Peerschke EI, Pessin MS, Maslak P.** Using the hemoglobin content of reticulocytes (RET-He) to evaluate anemia in patients with cancer. *Am J Clin Pathol* 2014; 142: 506-512.
  193. **Cullen P, Soffker J, Hopfl M, Bremer C, Schlaghecken R, Mehrens T, et al.** Hypochromic red cells and reticulocyte haemoglobin content as markers of iron-deficient erythropoiesis in patients undergoing chronic haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 659-665.
  194. **Fishbane S, Galgano C, Langley RC, Jr., Canfield W, Maesaka JK.** Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1997; 52: 217-222.
  195. **Bhandari S, Turney JH, Brownjohn AM, Norfolk D.** Reticulocyte indices in patients with end stage renal disease on hemodialysis. *J Nephrol* 1998; 11: 78-82.
  196. **Bhandari S, Brownjohn AM, Turney JH.** Response of mean reticulocyte haemoglobin content to intravenous iron therapy in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 3276-3277.
  197. **Chuang CL, Liu RS, Wei YH, Huang TP, Tarng DC.** Early prediction of response to intravenous iron supplementation by reticulocyte haemoglobin content and high-fluorescence reticulocyte count in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 370-377.
  198. **Mitsuiki K, Harada A, Miyata Y.** Assessment of iron deficiency in chronic hemodialysis patients: investigation of cutoff values for reticulocyte hemoglobin content. *Clin Exp Nephrol* 2003; 7: 52-57.
  199. **Hackeng CM, Beerenhout CM, Hermans M, Van der Kuy PH, Van der Dussen H, Van Dieijen-Visser MP, et al.** The relationship between reticulocyte hemoglobin content with C-reactive protein and conventional iron parameters in dialysis patients. *J Nephrol* 2004; 17: 107-111.
  200. **Mitsuiki K, Harada A, Miyata Y.** Reticulocyte hemoglobin content in hemodialysis patients with acute infection. *Clin Exp Nephrol* 2004; 8: 257-262.
  201. **Tsuchiya K, Saito M, Okano-Sugiyama H, Nihei H, Ando M, Teramura M, et al.** Monitoring the content of reticulocyte hemoglobin (CHr) as the progression of anemia in nondialysis chronic renal failure (CRF) patients. *Ren Fail* 2005; 27: 59-65.
  202. **Fusaro M, Munaretto G, Spinello M, Rebeschini M, Amici G, Gallieni M, et al.** Soluble transferrin receptors and reticulocyte hemoglobin concentration in the assessment of iron deficiency in hemodialysis patients. *J Nephrol* 2005; 18: 72-79.
  203. **David O, Grillo A, Ceoloni B, Cavallo F, Podda G, Bianco-tti PP, et al.** Analysis of red cell parameters on the Sysmex XE 2100 and ADVIA 120 in iron deficiency and in uraemic chronic disease. *Scand J Clin Lab Invest* 2006; 66: 113-120.
  204. **El-Khatib M, Duncan HJ, Kant KS.** Role of C-reactive protein, reticulocyte haemoglobin content and inflammatory markers in iron and erythropoietin administration in dialysis patients. *Nephrology (Carlton)* 2006; 11: 400-404.
  205. **Schoorl M, Schoorl M, Nube MJ, Bartels PC.** Erythropoiesis activity, iron availability and reticulocyte hemoglobinization during treatment with hemodialysis and in subjects with uremia. *Clin Lab* 2006; 52: 621-629.
  206. **Kim JM, Ihm CH, Kim HJ.** Evaluation of reticulocyte hemoglobin content as marker of iron deficiency and predictor of response to intravenous iron in haemodialysis patients. *Int J Lab Hematol* 2008; 30: 46-52.
  207. **Ng HY, Chen HC, Pan LL, Tsai YC, Hsu KT, Liao SC, et al.** Clinical interpretation of reticulocyte hemoglobin content, RET-Y, in chronic hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 2009; 111: c247-252.
  208. **Buttarello M, Pajola R, Novello E, Rebeschini M, Cantaro S, Oliosi F, et al.** Diagnosis of iron deficiency in patients undergoing hemodialysis. *Am J Clin Pathol* 2010; 133: 949-954.
  209. **Eguchi A, Mochizuki T, Tsukada M, Kataoka K, Hamaguchi Y, Oguni S, et al.** Serum hepcidin levels and reticulocyte hemoglobin concentrations as indicators of the iron status of peritoneal dialysis patients. *Int J Nephrol* 2012; 2012: 239476.
  210. **Forni V, Bianchi G, Ogna A, Salvade I, Vuistiner P, Burnier M, et al.** Reticulocyte dynamic and hemoglobin variability in hemodialysis patients treated with Darbepoetin alfa and C.ERA: a randomized controlled trial. *BMC Nephrol* 2013; 14: 157.
  211. **Kakimoto-Shino M, Toya Y, Kuji T, Fujikawa T, Umemura S.** Changes in Hepcidin and Reticulocyte Hemoglobin Equivalent Levels in Response to Continuous Erythropoietin Receptor Activator Administration in Hemodialysis Patients: A Randomized Study. *Ther Apher Dial* 2014.
  212. **Kuji T, Toya Y, Fujikawa T, Kakimoto-Shino M, Nishihara M, Shibata K, et al.** Acceleration of Iron Utilization After Intravenous Iron Administration During Activated Erythropoiesis in Hemodialysis Patients: A Randomized Study. *Ther Apher Dial* 2014.
  213. **National Kidney Foundation.** KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 2006; 47: S1-S146.
  214. **Fishbane S, Shapiro W, Dutka P, Valenzuela OF, Faubert J.** A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001; 60: 2406-2411.
  215. **Brugnara C, Lauffer MR, Friedman AJ, Bridges K, Platt O.** Reticulocyte hemoglobin content (CHr): early indicator of iron deficiency and response to therapy. *Blood* 1994; 83: 3100-3101.
  216. **Skarmoutsou C, Papassotiropou I, Traeger-Synodinos J, Stamou H, Ladis V, Metaxotou-Mavrommati A, et al.** Erythroid bone marrow activity and red cell hemoglobinization in iron sufficient beta-thalassemia heterozygotes as reflected by soluble transferrin receptor and reticulocyte hemoglobin in content. Correlation with genotypes and Hb A(2) levels. *Haematologica* 2003; 88: 631-636.
  217. **Sudmann AA, Piehler A, Urdal P.** Reticulocyte hemoglobin equivalent to detect thalassemia and thalassemic hemoglobin variants. *Int J Lab Hematol* 2012.
  218. **Bridges KR, Barabino GD, Brugnara C, Cho MR, Christoph GW, Dover G, et al.** A multiparameter analysis of sickle erythrocytes in patients undergoing hydroxyurea therapy. *Blood* 1996; 88: 4701-4710.
  219. **Mast AE, Blinder MA, Lu Q, Flax S, Dietzen DJ.** Clinical utility of the reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 2002; 99: 1489-1491.