

# Primerjava eritrocitnih in retikulocitnih parametrov pri ugotavljanju pomanjkanja železa

## Comparison of erythrocyte and reticulocyte indices for the diagnosis of iron deficiency

Eva Jarc,<sup>1</sup> Irena Preložnik Zupan,<sup>2</sup> Jadranka Buturović Ponikvar,<sup>3</sup> Nada Snoj,<sup>4</sup> Helena Podgornik<sup>2</sup>

### Izvleček

**Izhodišča:** Naraščajoča pojavnost anemije zaradi pomanjkanja železa je globalni javnozdravstveni problem, ki ga lahko zmanjšamo z zgodnjim odkrivanjem pomanjkanja železa. Uporaba biokemijskih parametrov za oceno pomanjkanja železa se omejuje na stanja, ko vnetje ni prisotno. Eritrocitni in retikulocitni parametri, količina hemoglobina v retikulocitih ter delež hipokromnih eritrocitov izkazuje široko uporabnost v različnih bolezenskih stanjih. Namen naše raziskave je primerjati uporabnost eritrocitnih in retikulocitnih parametrov dveh različnih hematoloških analizatorjev pri ugotavljanju pomanjkanja železa.

**Metode:** V raziskavo smo vključili skupno 186 oseb, med katerimi je bilo 25 bolnikov z anemijo zaradi pomanjkanja železa, 103 bolniki s kronično ledvično boleznijo ter 58 zdravih oseb. Njihove vzorce polne krvi smo analizirali na dveh hematoloških analizatorjih, XN-1000, Sysmex in Advia 120, Siemens Bayer Diagnostics, da bi primerjali vrednosti eritrocitnih in retikulocitnih parametrov.

**Rezultati:** Potrdili smo dobro linearno ujemanje parametrov za oceno količine hemoglobina v retikulocitih (Ret-He in CHr) in povezavo, ki ustreza polinomu drugega reda parametrov za oceno deleža hipokromnih eritrocitov (Hypo-He in %HYPO). Določili smo mejne vrednosti za oceno pomanjkanja železa, Ret-He < 28,2 pg in Hypo-He > 1,6 %, z visoko diagnostično občutljivostjo (Ret-He = 76 %; Hypo-He = 72 %) in specifičnostjo (100 %). Značilne razlike med povprečnimi vrednostmi eritrocitnih in retikulocitnih parametrov potrjujejo njihovo uporabnost pri diagnosticiranju anemije zaradi pomanjkanja železa in anemije zaradi kronične ledvične bolezni.

**Zaključki:** Retikulocitna parametra Ret-He in CHr sta povsem primerljiva in lahko enakovredno služita za oceno latentnega pomanjkanja železa. Zaradi drugačnega načina določanja eritrocitna parametra Hypo-He in %HYPO nista primerljiva neposredno, čeprav lahko oba z ustreznim preračunom primerljivo služita za oceno dolgotrajnejšega pomanjkanja železa. Določili smo tudi okvirni referenčni interval za Hypo-He in Ret-He.

### Abstract

**Background:** The increased prevalence of iron deficiency anemia represents a global public health issue which can be reduced by early diagnosis of pre-iron deficient states. Clinical utility of biochemical indices for iron deficiency diagnosis is limited due to the influence of inflammation. Erythrocyte and reticulocyte indices, reticulocyte hemoglobin content, and percentage of hypochromic red cells have been extensively used in diagnosing different iron-deficient conditions. The aim of our study was to compare the utility of erythrocyte and reticulocyte indices provided by different hematology analyzers for the diagnosis of iron deficiency.

<sup>1</sup> Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani

<sup>2</sup> Klinični oddelek za hematologijo, UKC Ljubljana

<sup>3</sup> Klinični oddelek za nefrologijo, UKC Ljubljana

<sup>4</sup> KIKKB, UKC Ljubljana

### Korespondenca/ Correspondence:

Helena Podgornik,  
e: helena.podgornik@kclj.si

### Ključne besede:

anemija zaradi pomanjkanja železa; eritrocitni in retikulocitni parametri; anemija ob kronični ledvični bolezni

### Key words:

iron deficiency anemia; erythrocyte and reticulocyte indices; anemia in chronic kidney disease

### Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn. 2017; 86(1–2):19–27

Prispelo: 6. 11. 2016

Sprejeto: 14. 12. 2016

**Methods:** 186 people, 25 patients with iron deficiency anemia, 103 patients with chronic kidney disease, and 58 healthy donors were included in our study. Their whole blood samples were analyzed using two different automated analyzers, XN-1000, Sysmex and Advia 120, Siemens Bayer Diagnostics, to compare reticulocyte and erythrocyte indices.

**Results:** Linear correlation between indices for hemoglobin reticulocyte content (Ret-He and CHr) has been confirmed while correlation between both erythrocyte indices (Hypo-He and %HYPO) can be described by 2<sup>nd</sup> degree polynomial. Cut-off value for the diagnosis of iron deficiency for Ret-He was established at < 28.2 pg and for Hypo-He at > 1.6 % and showed high diagnostic sensitivity (Ret-He = 76 %; Hypo-He = 72 %) and specificity (100 %).

**Conclusions:** Reticulocyte indices Ret-He and CHr are directly comparable and can be used for latent iron deficiency evaluation. Although erythrocyte indices Hypo-He and %HYPO are not exchangeable, both can be used for long-term iron deficiency evaluation. Additionally, we determined reference intervals for Hypo-He and Ret-He.

## Uvod

Anemija zaradi pomanjkanja železa oziroma sideropenična deficitarna anemija (SDA) je najpogostejša oblika anemije, ki je lahko samostojna bolezen ali pa posledica druge bolezni. Sekundarni vzroki SDA so povezani s kroničnim vnetjem, zato je SDA pogosta pri kroničnih vnetnih boleznih črevesja in rodil, malignih boleznih in pri kronični ledvični bolezni (KLB) (1-4). Funkcionalno pomanjkanje železa, značilno za kronična vnetja, nastane ob zadostnih zalogah železa v telesu, vendar povečana sinteza hepcidina prepreči sproščanje železa iz zaloga v makrofagih in zmanjša njegovo absorpcijo iz hrane. Anemija pri kronični ledvični bolezni (AKLB) je posebna oblika anemije ob kroničnem vnetju, ki nastane predvsem zaradi zmanjšane sinteze eritropoetina. Bolniki z AKLB se zdravijo z epoetini, ki stimulirajo eritropoezo, in z železovimi pripravki, s katerimi se nadomeščajo izgube železa. Neustrezno zdravljenje AKLB kratkoročno vodi do funkcionalnega pomanjkanja železa, dolgoročno pa v nastanek SDA. SDA in AKLB se lahko pojavita tudi sočasno, zato je diferencialna diagnostika pomanjkanja železa pri bolnikih s KLB ključna za načrtovanje ustreznega zdravljenja (5).

Laboratorijsko diagnosticiranje pomanjkanja železa obsega (določanje) določanje nasičenosti transferina (TSAT%), koncentracije feritina ( $S_{\text{FER}}$ ), koncentracije serumskega železa ( $S_{\text{Fe}}$ ) ter določanje eritrocitnih in retikulocitnih parametrov. V zahtevnejših primerih lahko izvedemo tudi biopsijo kostnega mozga (KM) in barvanje zaloga železa v njem (6). Za potrditev pomanjkanja železa ob kroničnem vnetju smernice priporočajo uporabo eritrocitnih in retikulocitnih parametrov in določanje C-reaktivnega proteina (CRP) (4,7,8). Glede na velikost in obarvanost eritrocitov, ki ju določajo klasični eritrocitni parametri (PVE, PHE, PKHE), v klinični praksi ločimo hipokromno mikrocitno SDA in normokromno normocitno AKLB. Taka delitev je tudi zaradi velikega vpliva predanalitičnih dejavnikov le delno uporabna, zato se danes v diagnostiki anemij priporoča uporaba novih eritrocitnih in retikulocitnih parametrov (9-12). Ker pa gre za novejšje parametre, katerih imena in načini določanja so lahko patentno zaščiteni, je njihovo določanje odvisno od vrste analizatorja (7,13). Pri diagnosticiranju pomanjkanja železa se najdlje uporabljata parametra koncentracija hemoglobina v retikulocitih (CHr) in delež hipokro-

mnih eritrocitov s koncentracijo hemoglobina, nižjo od 280 g/L (%HYPO), ki sta na voljo na hematoloških analizatorjih proizvajalca Siemens. Parameter CHR je odvisen od vgradnje železa v retikuloците in tako omogoča oceno razpoložljivosti železa za eritropoezo v KM v zadnjih dveh dneh. Njegovo zmanjšanje bistveno prej, preden pade koncentracija hemoglobina, pokaže na porušeno ravnovesje med razpoložljivostjo železa in eritropoezo. Parameter %HYPO pa služi za oceno pomanjkanja železa v obdobju zadnjih treh mesecev. Leta 1997 so klinično uporabo CHR prvič potrdili v ZDA, že istega leta pa so tudi Evropske smernice za spremljanje AKLB prvič priporočile uporabo CHR, ker je boljši napovedni dejavnik za oceno pomanjkanja železa v primerjavi z biokemijskimi in klasičnimi eritrocitnimi parametri. V posodobitvi leta 2004 so v smernice dodali še %HYPO (4,7,13). Parameter Ret-He je izračunana vrednost ekvivalenta hemoglobina v retikulocitih, ki jo določajo hematološki analizatorji proizvajalca Sysmex. Poleg Ret-He ti analizatorji omogočajo tudi določanje deleža hipokromnih eritrocitov z vsebnostjo hemoglobina < 17 pg (Hypo-He).

Ker so raziskave potrdile linearno ujemanje parametrov CHR in Ret-He, je Ameriška organizacija za prehrano in zdravila (FDA) leta 2005 potrdila klinično uporabnost Ret-He za oceno pomanjkanja železa (13-19). Parametrov Hypo-He in %HYPO med seboj ne moremo neposredno primerjati zaradi razlik v načinu določanja, lahko pa primerjamo računsko pretvorjene vrednosti (20).

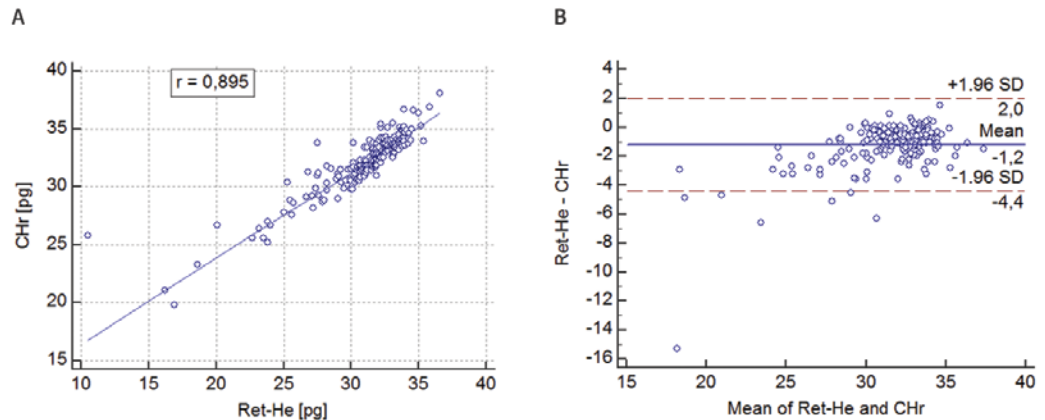
Kljub številnim raziskavam, ki potrjujejo enako uporabnost Ret-He in CHR ter %HYPO in Hypo-He, priporočila za odkrivanje in zdravljenje AKLB zaenkrat ne vključujejo parametrov Ret-He in Hypo-He. Ker pa se v številnih slovenskih laboratorijih na vseh ravneh

uporabljajo hematološki analizatorji, ki podajajo ti dve vrednosti, smo z našo raziskavo želeli oceniti njuno uporabnost pri oceni pomanjkanja železa pri bolnikih s SDA ter AKLB ter ju primerjati s parametroma CHR ter %HYPO. Ker literatura navaja različne referenčne vrednosti za Ret-He in Hypo-He, smo želeli preveriti tudi ustreznost po literaturi privzetih referenčnih vrednosti.

## Bolniki in metode dela

V raziskavo smo vključili 186 preiskovancev. Njihove vzorce polne krvi smo analizirali v roku 15 minut od odvzema na analizatorjih XN-1000, Sysmex in Advia 120, Siemens Bayer Diagnostics, pri čemer so nas zanimale naslednje vrednosti: koncentracija hemoglobina (Hb), koncentracija CRP, Ret-He, Hypo-He, CHR in %HYPO. Skupina zdravih preiskovancev (N = 58) je imela vse vrednosti hemograma znotraj referenčnih intervalov. V drugo skupino smo uvrstili bolnike z anemijo (ženske: Hb < 120 g/L, moški: Hb < 130 g/L) in glede na biokemične parametre (TSAT%,  $S_{Fe}$  in  $S_{Fe}$ ) potrjeno SDA (N = 25). Pri vseh smo dodatno izključili pridružene bolezni in vnetje (CRP < 5 mg/L). Tretja opazovana skupina so bili dializni bolniki z že potrjeno KLB (N = 103). Pri bolnikih s KLB smo določili še vrednosti biokemijskih parametrov za oceno pomanjkanja železa, TSAT%,  $S_{Fe}$  in  $S_{Fe}$ . 15 bolnikov s KLB ni imelo anemije (Hb > 120 g/L), ostale pa smo na podlagi biokemijskih parametrov razvrstili v tri podskupine, in sicer smo bolnike s KLB, ki so imeli znake AKLB ob izključenem vnetju (CRP < 5 mg/L), uvrstili v skupino AKLB 1 (N = 50), bolnike s KLB, ki so imeli znake AKLB in SDA (CRP < 5 mg/L, TSAT% < 20 %,  $S_{Fe}$  < 200 µg/L), smo vključili v skupino AKLB 2 (N = 7), v skupino AKLB 3 (N = 31) pa smo uvrstili bolnike

**Slika 1:** A) Korelacija med retikulocitnima parametroma Ret-He in CHr (N=186). B) Bland-Altmanov diagram razlik med Ret-He in CHr.



s KLB, ki so kazali znake vnetja (CRP > 5 mg/L). Glede na stopnjo KLB so bili vsi bolniki stopnje 5 razen 6 bolnikov s stopnjo 4 (2 v skupini AKLB1 in 4 v skupini AKLB3).

Zbrane podatke smo statistično obdelali s statističnim programom Med-Calc 14.8.1.

## Rezultati

Najprej smo preverili ujemanje med obema parametroma za oceno količine hemoglobina v retikulocitih (CHr in Ret-He). Predpostavili smo, da so rezultati meritev porazdeljeni asimetrično, kar smo potrdili s testom Kolmogorov-Smirnov ( $P < 0,05$ ). Ugotovili smo linearno povezavo med parametroma Ret-He in CHr ( $r = 0,895$ ). Vrednost me-

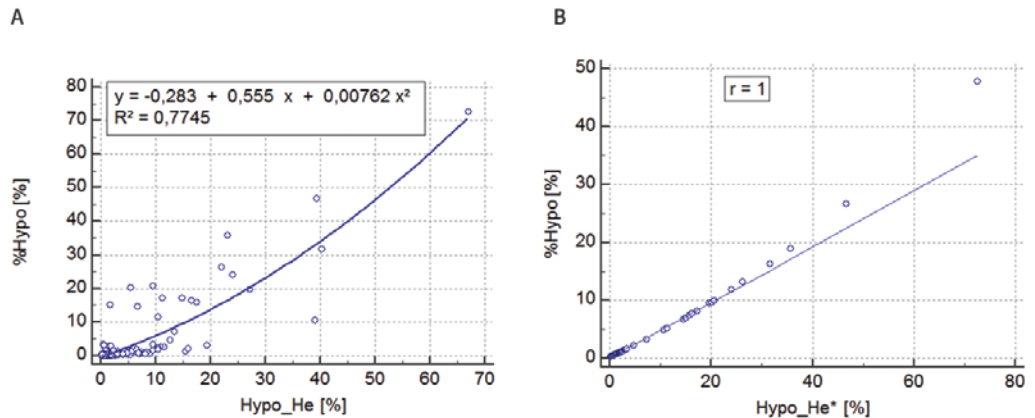
diane je pri Ret-He nekoliko nižja (31,7 pg, 95 % CI = 31,3–31,9 pg) kot pri CHr (32,3 pg; 95 % CI = 31,9–32,8 pg). Dobro ujemanje med meritvami je potrdila tudi analiza z Bland-Altmanovim diagramom, pri kateri je bila večina razlik med parametroma Ret-He in CHr v okviru dovoljenega območja  $\pm 2$  SD, odstopajoče vrednosti razlik pa so se z izjemo enega vzorca pojavile pri nižjih koncentracijah (<30 pg). Primerjava z Bland-Altmanovim diagramom tudi pokaže, da je povprečje vrednosti razlik med parametroma CHr in Ret-He 1,2 pg. Nekoliko slabše je ujemanje med obema parametroma pri vrednostih Ret-He, nižjih od 30 pg, vendar Spearmanov koeficient korelacije še vedno kaže na njuno dobro ujemanje ( $r = 0,766$ ,  $N = 45$ ).

**Tabela 1:** Povprečne vrednosti eritrocitnih in retikulocitnih parametrov pri bolnikih s SDA, AKLB in zdravih osebah.

Parameter	Zdrave osebe (N = 58)		SDA (N = 25)		AKLB (N = 88)		AKLB 1 (N = 50)		AKLB 3 (N = 31)	
	Med	CIM	Med	CIM	Med	CIM	Med	CIM	Med	CIM
Ret-He [pg]	31,9	31,5–32,1	25,6	23,5–28,2	32,1	31,6–32,5	32,7	32,2–33,1	30,2	28,1–31,3
CHr [pg]	32,1	31,6–32,5	27,8	26,4–29,6	33,4	31,7–34,1	33,7	33,1–33,9	31,7	30,9–33,1
Hypo-He [%]	0,2	0,1–0,2	10,5	1,7–17,4	0,4	0,2–0,9	0,3	0,3–0,4	0,8	0,4–1,7
%HYPO [%]	0,9	0,7–1,4	15,8	3,8–20,0	1,9	1,0–5,3	1,4	1,1–1,7	5,0	2,6–9,3

Legenda: Med – mediana, CIM – interval zaupanja mediane.

**Slika 2:** A) Povezava med eritrocitnima parametroma Hypo-He in %HYPO. Opisuje jo navedeni polinom druge stopnje. B) Linerna povezava med preračunano vrednostjo Hypo-He\* in %HYPO.



Primerjava parametrov za oceno deleža hipokromnih eritrocitov Hypo-He in %HYPO je potrdila polinomsko povezavo drugega reda (Slika 2. A). Da povezavo med obema parametrom opisuje polinom druge stopnje, so ugotovili že v prejšnjih raziskavah. Parameter Hypo-He smo preračunali v Hypo-He\* po enačbi, povzeti iz literature (20):  $\text{Hypo-He}^* = 0,2016 + 0,3981 \times \% \text{HYPO} + 0,00356 \times \% \text{HYPO}^2$ . Tako smo dobili linearno povezavo med Hypo-He\* in %HYPO, ki omogoča lažjo primerjavo obeh parametrov (20) (Slika 2. B).

Da bi potrdili uporabnost eritrocitnih in retikulocitnih parametrov pri oceni pomanjkanja železa, smo preverili, ali se povprečne vrednosti parametrov statistično razlikujejo med testnimi skupinami (Tabela 1). V primerjavo smo vključili skupino zdravih in bolnikov s SDA, od bolnikov s KLB pa vse z ane-

mijo ( $\text{Hb} < 120 \text{ g/L}$ ), ločeno pa še skupini z AKLB, ki sta bili dovolj številčni (AKLB<sub>1</sub> in AKLB<sub>3</sub>) (Tabela 1). Za primerjavo razlik med povprečnimi vrednostmi Ret-He, Hypo-He med testnimi skupinami smo uporabili neparametrični test dveh neodvisnih spremenljivk Mann-Whitney in 95-odstotni interval zaupanja. Primerjava s skupino zdravih oseb je potrdila, da so vrednosti hemoglobina v retikulocitih (Ret-He in CHr) značilno zmanjšane ( $P < 0,001$ ), vrednosti hipokromnih eritrocitov (Hypo-He in %HYPO) pa značilno zvečane ( $P < 0,0001$ ) pri bolnikih s SDA. Med zdravimi osebami in dializnimi bolniki z anemijo (AKLB) ter obema večjima podskupinama (AKLB<sub>1</sub> in AKLB<sub>3</sub>) ni bistvenih razlik v količini hemoglobina v retikulocitih, medtem ko pri deležu hipokromnih eritrocitov zaznamo priča-

**Tabela 2:** Mejne vrednosti eritrocitnih in retikulocitnih parametrov za oceno pomanjkanja železa pri SDA ter določeni referenčni intervali za eritrocitne in retikulocitne parametre.

Parameter	Mejna vrednost	Občutljivost/ Specifičnost [%]	Določeni referenčni interval	Okvirne referenčne vrednosti <sup>21</sup>
Ret-He	< 28,2 [pg]	76/100	29,6–34,1 [pg]	32,1–38,8 [pg]
Hypo-He	> 1,6 [%]	72/100	0,1–1,5 [%]	0,1–1,1 [%]
CHr	< 29,7 [pg]	72/98		
%HYPO	> 2,7 [%]	74/90		

kovan porast pri skupini AKLB in predvsem pri podskupini AKLB<sub>3</sub>.

S pomočjo analize ROC smo določili mejne vrednosti parametrov Ret-He, CHr, Hypo-He in %HYPO pri preiskovancih s SDA. Želeli smo ugotoviti, pri katerih vrednostih lahko zanesljivo potrdimo prisotnost pomanjkanja železa (Tabela 2). S primerjavo površin (AUC) pod krivuljo ROC smo potrdili večjo diagnostično uporabnost parametrov Ret-He (AUC = 0,893) in Hypo-He (AUC = 0,938) v primerjavi s CHr (AUC = 0,865) in %HYPO (AUC = 0,737) pri oceni pomanjkanja železa. Referenčne intervale smo postavili pri skupini zdravih preiskovancev z metodo percentilov glede na vrednost mediane in ob upoštevanju 95-odstotnega intervala zaupanja (Tabela 2). Spodnjo referenčno mejo smo določili pri 2,5 percentilu in zgornjo referenčno mejo pri 97,5 percentilu vseh vrednosti. Navajamo tudi po literaturi povzete okvirne referenčne intervale (21).

## Razpravljanje

Določanje retikulocitov in retikulocitnih parametrov zagotavljajo različni sodobni hematološki analizatorji. Za razliko od parametrov krvne slike pa so oznake retikulocitnih in eritrocitnih parametrov odvisne od vrste analizatorja, kar lahko vnaša nejasnost pri njihovi klinični uporabi. Zato smo v raziskavi z meritvami na dveh različnih analizatorjih, ki se rutinsko uporabljata v laboratorijski diagnostiki v UKC Ljubljana in širše po slovenskih laboratorijih, želeli pokazati, da so vrednosti retikulocitnih in eritrocitnih parametrov obeh analizatorjev med seboj primerljive.

Klinična uporabnost koncentracije hemoglobina v retikulocitih je bila dokazana pri oceni pomanjkanja železa pri diagnosticiranju SDA pri odraslih

in otrocih, saj na neinvaziven način podaja informacijo o trenutni razpoložljivosti železa v KM. Prednost uporabe retikulocitnih parametrov za oceno razpoložljivosti železa je predvsem v tem, da v primerjavi s klasičnimi biokemijskimi parametri vnetje ne vpliva na njihovo vrednost. Zato so uporabni v diferencialni diagnostiki anemije ob kroničnem vnetju in SDA, ki se pogosto pojavita hkrati. Smernice tako priporočajo spremljanje razpoložljivosti železa s pomočjo parametra CHr pri bolnikih s KLB. Napačni odmerki epoetinov in pripravkov železa pri zdravljenju AKLB vodijo do nastanka SDA in funkcionalnega pomanjkanja železa, lahko pa tudi do pretirane preobremenitve z železom (3,13,22). V naši raziskavi smo potrdili dobro ujemanje parametrov Ret-He in CHr (Slika 1), kar je v skladu z rezultati drugih raziskav, ki so potrdile linearno korelacijo in popolno medsebojno primerljivost parametrov pri oceni pomanjkanja železa (15,17,18,23). Nekoliko slabšo povezavo med parametroma smo opazili v območju znižanih vrednosti (<30 pg), kar gre pripisati vključenosti manjšega števila bolnikov s SDA. Zato bi bilo smiselno omejiti primerjavo parametrov le na preiskovance z zelo nizkimi vrednostmi. Poudariti velja, da se vrednosti retikulocitnih parametrov normalizirajo hitro po začetku zdravljenja, kar je razlog tudi temu, da je bilo zelo malo bolnikov s SDA med bolniki s KLB. Največje razlike med retikulocitnima parametroma smo opazili pri izrazito nizkih vrednostih (<25 pg), vendar nismo pri nobenem preiskovancu določili, s katerim od določenih parametrov lažno normalne vrednosti.

Eritrocitna parametra Hypo-He in %HYPO odražata dlje časa trajajoče pomanjkanje železa, saj je življenjska doba eritrocitov v krvi 120 dni. Klinično se parametra uporabljata v diferencial-

ni diagnostiki SDA, AKLB in anemije ob kroničnih vnetjih. Številne raziskave so potrdile njuno uporabnost pri spremljanju zdravljenja hemodializnih bolnikov. Uporabo %HYPO v kombinaciji s parametrom CHr/Ret-He priporočajo tudi smernice za zdravljenje AKLB (5,7,14,24,25). Med parametroma Hypo-He in %HYPO smo tako kot druge raziskave potrdili polinomsko povezavo drugega reda. Z uporabo matematičnega preračuna, povzetega po literaturi, smo dokazali linearno povezavo med parametroma Hypo-He\* in %HYPO (20). Zaradi različnega načina določanja deleža hipokromnih eritrocitov Hypo-He in %HYPO medsebojno nista zamenljiva, s pomočjo preračunane vrednosti Hypo-He\* pa lahko kliniki dobijo primerljiv kazalec uveljavljenemu parametru %HYPO (Slika 2).

Uporabnost parametrov Ret-He in Hypo-He smo testirali pri zdravih posameznikih, pri skupini bolnikov s SDA ter pri dializnih bolnikih s KLB, pri katerih se status železa rutinsko spremlja tudi s parametroma CHr in %HYPO. Pričakovano značilno odstopajo vrednosti pri bolnikih s SDA, ne glede na parameter, tehnologijo ali primerjalno skupino (Tabela 1). Skupina dializnih bolnikov pa potrjuje predvsem dobro vodenje oskrbe z železom. Zlasti skupina AKLB<sub>1</sub>, pri kateri smo izključili prisotnost vnetja, izkazuje glede na retikulocitne in eritrocitne parametre primerljiv status železa kot skupina zdravih. Nekoliko manj ugodne so vrednosti pri dializnih bolnikih s prisotnim vnetjem (AKLB<sub>3</sub>). Vendar tudi pri tej skupini nismo našli nobenega bolnika, pri katerem bi bil kateri koli eritrocitni ali retikulocitni parameter izven referenčnih meja. Primerjava obeh eritrocitnih parametrov (%HYPO in Hypo-He) pokaže značilno razliko pri dializnih bolnikih z vnetjem (AKLB<sub>3</sub>). Pri teh bolnikih je bila vrednost medi-

ane %HYPO 5 %, kar je na meji funkcijskega pomanjkanja železa. Pri diagnosticiranju anemij se namreč uporabljata dve mejni vrednosti; pri vrednostih > 5 % naj bi šlo za funkcijsko, pri > 10 % pa za absolutno pomanjkanje železa, ko je tudi potrebno pričeti zdravljenje (4). Mediana vrednosti Hypo-He za isto skupino pa je bila 0,8 %, kar je tudi precej pod mejno vrednostjo 2,7 %. S stališča klinične uporabe so torej tako eritrocitni kot retikulocitni parametri povsem primerljivi.

Ugotovili smo visoko diagnostično občutljivost in specifičnost določenih mejnih vrednosti parametrov Ret-He (<28,2 pg) in CHr (<29,7 pg) za ugotavljanje pomanjkanja železa pri SDA, pri čemer so lastnosti testa za parameter Ret-He celo nekoliko boljše (Tabela 2). Podobno velja tudi za eritrocitna parametra Hypo-He (>1,6 %) in %HYPO (>2,7 %). Referenčna intervala za parametra Ret-He in Hypo-He, ki smo ju postavili na podlagi določitev pri zdravih osebah, sta primerljiva z okvirnimi referenčnimi intervali, ki jih navaja literatura (17,19). Opozoriti velja, da so pri retikulocitnih in eritrocitnih parametrih za klinično uporabo mnogo pomembnejše od referenčnih intervalov mejne (t.i. cut-off) vrednosti. Pri parametru Ret-He je to 28,2 pg, pod katero gre za zmanjšano razpoložljivost železa. Ta vrednost je povsem skladna z navedbami v literaturi (4). V naši raziskavi smo tako potrdili, da so tako vrednosti Ret-He kot CHr pod 28 pg zanesljiv kazalec pomanjkanja železa. Tudi referenčne vrednosti za parameter Hypo-He so bistveno nižje od mejne vrednosti 1,6 %. Parameter Hypo-He služi prepoznavanju funkcijskega pomanjkanja železa, ki naj bi bilo prisotno šele nad %HYPO > 5 %, kar pri uporabi polinomskega preračuna ustreza 2,3 % Hypo-He. Zato lahko zaključimo, da je postavljena referenčna meja za parameter Hypo-He (>2,7 %), diagnostično

učinkovita za prepoznavo tovrstnega pomanjkanja železa.

## Zaključki

Ker so oznake, referenčni intervali in značilnosti eritrocitnih in retikulocitnih parametrov odvisne od proizvajalca hematološkega analizatorja, je pomembno, da zaradi zamenjave tehnologije v laboratoriju ne pride do težav pri diagnosticiranju anemij in pri spremljanju zdravljenja bolnikov s pripravki železa, kemoterapijo in epoetini. Zato je ključno, da znamo umestiti v klinično upo-

rabo parametre, ki so neposredno primerljivi, kakršna sta CHr in Ret-He, kot tudi ustrezno uporabljati tiste, ki niso (Hypo-He in %HYPO). Kot je pokazala tudi naša raziskava, gre za parametre, ki z veliko občutljivostjo in specifičnostjo kažejo na pomanjkanje železa. Številni slovenski laboratoriji imajo tudi na primarni ravni analizatorje, ki določajo retikulocite in njihove parametre. Ob uporabi ostalih parametrov krvne slike in uveljavljenih biokemičnih parametrov je pri klinični obravnavi anemičnega bolnika torej pomembna tudi določitev retikulocitov.

## Literatura

1. Camaschella C. Iron-deficiency anemia. *N Engl J Med.* 2015;372(2):1832–43.
2. Theurl I, Aigner E, Theurl M, Nairz M, Seifert M, Schroll A, et al. Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: Diagnostic and therapeutic implications. *Control.* 2009;113(21):5277–86.
3. Aapro M, Österborg A, Gascón P, Ludwig H, Beguin Y. Prevalence and management of cancer-related anaemia, iron deficiency and the specific role of I.V. iron. *Ann Oncol.* 2012;23(8):1954–62.
4. Thomas DW, Hinchliffe RF, Briggs C, Macdougall IC, Littlewood T, Cavill I. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *Br J Haematol.* 2013;161(5):639–48.
5. Bahrainwala J, Berns JS. Diagnosis of Iron-Deficiency Anemia in Chronic Kidney Disease. *Semin Nephrol.* 2016;36(2):94–8.
6. Nairz M, Theurl I, Wolf D, Weiss G. Iron deficiency or anemia of inflammation?: Differential diagnosis and mechanisms of anemia of inflammation. *Wien Med Wochenschr* 2016;166(13–14):411–23.
7. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Biomarkers of hypochromia: The contemporary assessment of iron status and erythropoiesis. *Biomed Res Int.* 2013;2013:603786.
8. Ratcliffe LE, Thomas W, Glen J, Padhi S, Pordes BA, Wonderling D. Diagnosis and management of iron deficiency in CKD: A summary of the NICE guideline recommendations and their rationale. *Am J Kidney Dis* 2016;67(4):548–58.
9. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. The role of automated measurement of red cell subpopulations on the Sysmex XE 5000 analyzer in the differential diagnosis of microcytic anemia. *Int J Lab Hematol.* 2011;33(1):30–6.
10. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Erythrocyte and reticulocyte parameters in iron deficiency and thalassemia. *J Clin Lab Anal.* 2011;25(3):223–8.
11. Buttarello M. Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how? *Int J Lab Hematol.* 2016;38 suppl 1:123–32.
12. Preložnik-Zupan I, Lenart K. Klinični pomen novih metod (količina hemoglobina v retikulocitih in hipokromni eritrociti) za oceno pomanjkanja železa v telesu. *Zdrav Vestn* 2004(6);73:499–502.
13. Piva E, Brugnara C, Spolaore F, Plebani M. Clinical Utility of Reticulocyte Parameters. *Clin Lab Med.* 2015;35(1):133–63.
14. National Institute for Health and Care Excellence (NICE) UK. Chronic kidney disease: managing anaemia. NICE Guide, Published: 3 June 2015. [cited 2016 Dec 19]. Available from: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng8>.
15. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol.* 2006;28(5):303–8.
16. 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 Posttreatment Sideropenic Anemia. *Am J Clin Pathol.* 2004;121(4):489–95.
17. 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(2):248–55.
18. Thomas L, Franck S, Messinger M, Linssen J, Thomé M, Thomas C. Reticulocyte hemoglobin measurement – Comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(11):1193–202.
19. 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(11):1411–16.
20. Buttarello M, Pajola R, Novello E, Rebeschini M, Cantaro S, Oliosio F, et al. Diagnosis of iron defi-



- ciency in patients undergoing hemodialysis. *Am J Clin Pathol.* 2010;133(6):949–54.
21. Pekelharing JM, Hauss O, de Jonge R, Lokhoff J, Sodikromo J, Spaans M, et al. Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Diagnostic perspectives (Sysmex).* 2013. Available from: [http://www.sysmex.se/fileadmin/media/f100/Diagnostic\\_Perspectives/Pekelharing\\_DiagPersp\\_Vol1\\_1-11.pdf](http://www.sysmex.se/fileadmin/media/f100/Diagnostic_Perspectives/Pekelharing_DiagPersp_Vol1_1-11.pdf).
  22. Peerschke EIB, 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(4):506–12.
  23. Maconi M, Cavalca L, Danise P, Cardarelli F, Briani M. Erythrocyte and reticulocyte indices in iron deficiency in chronic kidney disease: comparison of two methods. *Scand J Clin Lab Invest.* 2009;69(3):365–70.
  24. Buttarello M, Pajola R, Novello E, Mezzapelle G, Plebani M. Evaluation of the hypochromic erythrocyte and reticulocyte hemoglobin content provided by the Sysmex XE-5000 analyzer in diagnosis of iron deficiency erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(12):1939–45.
  25. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Erythrocyte and reticulocyte indices in the assessment of erythropoiesis activity and iron availability. *Int J Lab Hematol.* 2013;35(2):144–9.