

UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DR. WILLIAM C. GORGAS
LICENCIATURA EN TECNOLOGÍA MÉDICA



TRABAJO DE GRADUACIÓN:
APLICACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA
EQUIVALENTE EN LA EVALUACIÓN DE LA ANEMIA POR
DEFICIENCIA DE HIERRO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD
RENAL CRÓNICA.

AUTORES:
MARIAM DEL CARMEN LOMBARDO TERRERO C.I. 9-761-1295
ELIDIA ISABEL SÁEZ AIZPRÚA C.I. 6-725-1621

ASESORES:
LIC. JOVANNA BORACE (ASESOR METODOLÓGICO)
LIC. ARIEL VÁSQUEZ (ASESOR TEMÁTICO)

PANAMÁ, 2026

AGRADECIMIENTOS

Ante todo, me gustaría agradecerle a Dios por darme la fuerza espiritual en los momentos donde mi mente y cuerpo no daban para más; me siento muy bendecida por llegar hasta donde estoy. Asimismo, me llena de regocijo el poderme agradecer a mí misma por haber aprovechado las oportunidades que se me han brindado para llegar a culminar mi licenciatura.

A mi madre, Cindy Terrero, a ella le debo no solo mi vida, sino todo lo que tengo y soy. Gracias por ser mi mayor fuente de inspiración, resiliencia y cariño; tus palabras, aunque a veces duras, me han forjado un camino lleno de metas, ambiciones y sueños. Tu amor me ha mantenido fuerte en las etapas más arduas de mi vida y ha creado un deseo de ser una destacada profesional, tal como tú.

A mi familia y amigos, gracias por estar pendientes de mí, esas llamadas y mensajes donde me recordaban que el mudarme lejos tenía un propósito. En especial a mi prima Yissell Terrero; gracias por siempre estar, ya sea para estudiar juntas o simplemente actualizarnos de nuestra nueva etapa en Panamá; tú hiciste que la ciudad no se sintiera tan fría muchas veces y eso lo valoro mucho.

A mi compañera de tesis Elidia Sáez. Han sido 5 años de amistad que han pasado volando. Voy a extrañar las clases por el hecho de compartir asiento a tu lado. No puedo describir lo feliz que estoy por llegar a este escalón de vida juntas. Gracias por ser la voz de la razón en los momentos más complejos.

A mi novio, José Luis Flores. Gracias por ayudarme en las noches de desvelo, ya sea investigando o estudiando. También agradezco las salidas que hicimos para desconectarnos por unas horas del trabajo de grado y por ser mi consuelo al afrontar las limitaciones que encontré en él. Fuiste la calma en este periodo de estrés y eso te lo agradezco de corazón.

A nuestro asesor de Trabajo de Grado, el Lic. Ariel Vásquez. Gracias por su apoyo y consejos durante nuestra formación académica y este trabajo; es un extraordinario ejemplo del tipo de profesional que me gustaría llegar a ser.

Y para finalizar, gracias a todos los que, de una u otra manera, han aportado en este período de mi vida. Al mirar este camino recorrido, reconozco la fortuna de haber contado con personas que me brindaron su apoyo y motivación en cada etapa de este proyecto.

"Las circunstancias de tu nacimiento son irrelevantes; es lo que haces con el regalo de la vida lo que determina quién eres."
Mewtwo (Pokémon: La Película).

Mariam Del Carmen Lombardo Terrero

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a Dios por brindarme salud, fortaleza, perseverancia e inteligencia para alcanzar cada uno de los propósitos trazados en mi vida. Asimismo, me agradezco a mí misma por aprovechar estos preciados dones y lograr culminar esta etapa tan crucial en mi carrera.

Agradezco con mucho amor a mis padres, Agustín Sáez y Julia Aizprúa, por apoyarme siempre en mis decisiones, por nunca rendirse, por confiar en mí y por brindarme su amor incondicional. Gracias a ellos aprendí el valor de la perseverancia; son las personas que más me inspiran y me motivan a ser mejor cada día.

También agradezco de corazón a mis hermanas, Julia Sáez y Vicenta Sáez, por ser pilares fundamentales e incondicionales en mi vida, por su amor, apoyo, consejos, motivación y por ser una fuente de inspiración constante.

A mi compañera de tesis, Mariam Lombardo. Más que una compañera, se convirtió en una amiga entrañable con la que conté a lo largo de estos cinco años de facultad, brindándome siempre su cariño, apoyo incondicional y palabras de aliento. Gracias por estar siempre presente.

Estoy profundamente agradecida con el Licenciado Ariel Vásquez por haber sido mi asesor y profesor de rotaciones. Gracias por su guía, su paciencia y por compartir sus valiosas enseñanzas.

Finalmente, agradezco a todas aquellas personas que, de alguna u otra manera, me brindaron su apoyo incondicional. Su presencia y compañía fueron un inmenso consuelo y motivación en este camino.

Elidia Isabel Sáez Aizprúa



UNIVERSIDAD LATINA DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

DR. WILLIAM C. GORGAS

DECLARACIÓN JURADA

Yo, **Mariam del Carmen Lombardo Terrero**, con cédula de identidad personal número **9-761-1295**, estudiante graduando del programa/carrera de **Licenciatura en Tecnología Médica**, declaro bajo la gravedad del juramento que el material que aparece en este trabajo de graduación, en la opción **revisión bibliográfica**, es de mi producción intelectual, en razón de lo cual exoneró a la Universidad Latina de Panamá de cualquier responsabilidad relacionada con este aspecto.

Como constancia, firmo la presente declaración el día ____ del mes de _____ del año _____.

Firma del estudiante: _____

Cédula _____

Yo, **Elidia Isabel Sáez Aizprúa**, con cédula de identidad personal número **6-725-1621**, estudiante graduando del programa/carrera de **Licenciatura en Tecnología Médica**, declaro bajo la gravedad del juramento que el material que aparece en este trabajo de graduación, en la opción **revisión bibliográfica**, es de mi producción intelectual, en razón de lo cual exoneró a la Universidad Latina de Panamá de cualquier responsabilidad relacionada con este aspecto.

Como constancia, firmo la presente declaración el día ____ del mes de _____ del año _____.

Firma del estudiante: _____

Cédula: _____

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	2
DECLARACIÓN JURADA.....	4
ÍNDICE GENERAL	5
RESUMEN.....	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO 1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
1.1 NECESIDAD DEL ESTUDIO	11
1.2 OBJETIVOS.....	12
1.2.1 OBJETIVO GENERAL	12
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	12
CAPÍTULO 2 MARCO TEÓRICO	14
2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	15
2.1.1 ESTUDIO N.º 1.....	15
2.1.2 ESTUDIO N.º 2.....	25
2.1.3 ESTUDIO N.º 3.....	32
2.1.4 ESTUDIO N.º 4.....	38
2.1.5 ESTUDIO N.º 5.....	45
2.1.6 ESTUDIO N.º 6.....	52
2.1.7 ESTUDIO N.º 7.....	56
2.2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS	63
2.3. MAGNITUD DEL PROBLEMA.....	64
2.4. BASES LEGALES	65
2.4.1. CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ.....	65
2.4.2. CONVENIOS Y TRATADOS INTERNACIONALES	65
2.4.3. LEYES Y DECRETOS NACIONALES	65
CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA.....	67
3.1 TIPO DE ESTUDIO	68
3.2 POBLACIÓN.....	68
3.3 MUESTRA	68

3.4	UNIDAD DE ANÁLISIS DE DATOS.....	69
3.4.1	CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	69
3.4.2	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	69
3.5	TÉCNICA PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	69
3.6	INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS.....	70
3.7	PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	71
3.8	ASPECTOS ÉTICOS EN LA INVESTIGACIÓN	71
	CAPÍTULO 4: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.....	72
4.1	PRESENTACIÓN DE LA INFORMACIÓN	73
4.2	ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN POR ARTÍCULO	91
	CONCLUSIONES.....	105
	RECOMENDACIONES.....	106
	BIBLIOGRAFÍA.....	107

RESUMEN

Este trabajo se presenta como una revisión bibliográfica con el objetivo de analizar la aplicabilidad clínica de la hemoglobina reticulocitaria equivalente (Ret-He) evaluación de la anemia por deficiencia de hierro en los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) al ser una de las complicaciones más frecuentes en este tipo de pacientes y que representa un gran desafío diagnóstico debido a las limitaciones que los biomarcadores del metabolismo de hierro enfrentan por la presencia de inflamación crónica.

Este se desarrolló a través de una investigación de tipo documental, descriptiva-analítica y de corte transversal, mediante la revisión de literatura científica publicada en bases de datos confiables como Google Académico, SciELO, PubMed, Science Direct, etc. La selección de los estudios se realizó a través de los criterios de inclusión y exclusión previamente establecidos, obteniendo una muestra final de siete investigaciones relacionadas con el uso del Ret-He en pacientes con ERC.

Los resultados del análisis crítico y la síntesis de los estudios evidenciaron que el Ret-He muestra una relación importante con los parámetros clásicos del perfil de hierro y también prueba ser útil para detectar a tiempo la falta de hierro (tanto total como funcional). Asimismo, diversos estudios también señalaron que su influencia es menor debido a los procesos inflamatorios propios de la ERC, lo que permite una evaluación más exacta del estado del hierro y ayuda a seguir la respuesta al tratamiento.

Se llegó a la conclusión de que el Ret-He es una herramienta diagnóstica valiosa y complementaria para evaluar la anemia por deficiencia de hierro en pacientes con ERC, ayudando a tomar decisiones clínicas más rápidas y a manejar a estos pacientes de manera integral.

Palabras clave: Hemoglobina reticulocitaria equivalente (Ret-He), enfermedad renal crónica (ERC), anemia, deficiencia de hierro, saturación de transferrina (IST), ferritina, biomarcadores, perfil férrico.

ABSTRACT

This work presents a literature review with the objective of analyzing the clinical applicability of reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-He) for evaluating iron deficiency anemia in patients with chronic kidney disease (CKD). Iron deficiency anemia is one of the most frequent complications in this patient population and represents a significant diagnostic challenge due to the limitations of iron metabolism biomarkers caused by the presence of chronic inflammation.

This study was conducted using a descriptive-analytical, cross-sectional, documentary research approach, through a review of scientific literature published in reliable databases such as Google Scholar, SciELO, PubMed, ScienceDirect, etc. Studies were selected based on pre-established inclusion and exclusion criteria, resulting in a final sample of seven investigations related to the use of Ret-He in patients with CKD.

The results of the critical analysis and synthesis of the studies showed that Ret-He exhibits a significant relationship with classic iron profile parameters and is also useful for the early detection of iron deficiency (both total and functional). Furthermore, several studies also indicated that its influence is less pronounced due to the inflammatory processes characteristic of CKD, allowing for a more accurate assessment of iron status and aiding in monitoring treatment response.

It was concluded that Ret-He is a valuable and complementary diagnostic tool for evaluating iron deficiency anemia in patients with CKD, facilitating faster clinical decision-making and enabling comprehensive patient management.

Keywords: Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-He), chronic kidney disease (CKD), anemia, iron deficiency, transferrin saturation (TSAT), ferritin, biomarkers, iron profile.

INTRODUCCIÓN

Desde 2002, la comunidad médica internacional ha adoptado una definición unificada de la enfermedad renal crónica (ERC), independientemente de su etiología. Esta se define por la presencia de daño renal o una disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG) durante más de tres meses, y se clasifica en cinco estadios según el nivel de TFG (Boffa & Cartery, 2015).

La anemia es una complicación frecuente de la ERC, cuya prevalencia aumenta a medida que disminuye la TFG. Se asocia con una carga considerable de morbilidad y mortalidad, incluyendo una reducción de la capacidad funcional, mala calidad de vida y un aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares y muerte. Por tanto, el manejo de la anemia es un elemento esencial de la práctica nefróloga contemporánea (KDIGO, 2026).

La evaluación del estado del hierro se ha basado en parámetros tradicionales como la hemoglobina, la ferritina, la saturación de transferrina (TSAT) y el hierro sérico. Sin embargo, en patologías como la ERC, estos marcadores presentan limitaciones debido a la influencia de la inflamación crónica. Esto ha llevado a investigar nuevos marcadores más precisos, como la hemoglobina reticulocitaria equivalente (Ret-He).

El Ret-He es un parámetro hematológico que mide el contenido de hemoglobina presente en los reticulocitos, los cuales son eritrocitos inmaduros liberados desde la médula ósea hacia la circulación periférica, donde permanecen aproximadamente entre uno y dos días antes de madurar completamente (Urrechaga et al., 2006; Rai et al., 2023).

Dado que los reticulocitos reflejan la eritropoyesis reciente, el Ret-He constituye un indicador temprano de la disponibilidad funcional de hierro para la síntesis de hemoglobina. A diferencia de los eritrocitos maduros, cuya vida media es de 120 días aproximadamente, los reticulocitos permiten evaluar cambios más inmediatos en el estado del hierro, lo que convierte a este parámetro en una herramienta útil para la detección precoz de deficiencia de hierro (Mercado, 2023).

Diversos estudios han mostrado que el RET-He presenta una mayor precisión en la detección de eritropoyesis deficiente en hierro en comparación con parámetros tradicionales como el hierro sérico, la ferritina y la TSAT. Asimismo, su uso contribuye a optimizar la toma de decisiones terapéuticas, permitiendo ajustes más oportunos en la administración de hierro y reduciendo el riesgo tanto de deficiencia como de sobrecarga férrica (Toaquiz et al., 2022).

CAPÍTULO 1: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 NECESIDAD DEL ESTUDIO

La enfermedad renal crónica (ERC) constituye un problema de salud pública a nivel mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), afecta aproximadamente a 850 millones de personas, lo que representa más del 10 % de la población global, y es responsable de alrededor de 2,4 millones de muertes anuales, posicionándose como una de las principales causas de mortalidad a nivel global (Li et al., 2020).

En Panamá, la situación no es distinta. Datos de la Caja de Seguro Social (CSS) indican que aproximadamente una de cada diez personas padece enfermedad renal, con una prevalencia estimada entre el 12 % y el 18 %, lo que evidencia un incremento sostenido de casos en los últimos años (Armuelles et al., 2022). Este escenario ha consolidado a la ERC como una condición de alto impacto en el sistema de salud.

Entre sus complicaciones más frecuentes se encuentra la anemia, particularmente en pacientes en hemodiálisis, donde su prevalencia oscila entre el 60 % y el 80 % (Sany et al., 2020; Daali et al., 2025). La anemia en la ERC es de origen multifactorial, destacando la disminución en la producción de eritropoyetina y las alteraciones en el metabolismo del hierro. Además, el estado inflamatorio crónico interfiere con la movilización del hierro, favoreciendo una deficiencia funcional y contribuyendo a la resistencia al tratamiento con eritropoyetina (Merlin et al., 2021).

En la práctica clínica, la evaluación del estado del hierro en estos pacientes representa un desafío. Los parámetros convencionales, como la ferritina sérica, la saturación de transferrina y el hierro sérico, son marcadores indirectos que pueden verse alterados por procesos inflamatorios. En particular, la ferritina puede estar alta aunque no haya suficiente hierro en el cuerpo, ya que actúa como un reactante de fase aguda. Esto puede dificultar un diagnóstico exacto y llevar a decisiones de tratamiento incorrectas (Dalimunthe & Lubis, 2016).

Ante estas limitaciones, se ha propuesto la hemoglobina reticulocitaria equivalente (RET-He) como un biomarcador que refleja de manera más directa la disponibilidad funcional de hierro para la eritropoyesis. Este parámetro permite evaluar de forma temprana el estado del hierro en la médula ósea y resulta útil tanto para el diagnóstico como para el monitoreo de la respuesta al tratamiento con hierro y agentes estimulantes de la eritropoyesis (Merlin et al., 2021).

No obstante, a pesar de su potencial utilidad, la evidencia sobre su aplicabilidad clínica aún es limitada en ciertos contextos, y en Panamá existe escasa información que respalde su uso como herramienta diagnóstica en pacientes con ERC. Esta brecha de conocimiento resalta la necesidad de profundizar en el análisis de su rendimiento clínico frente a los marcadores tradicionales.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

- Analizar la evidencia científica disponible sobre la aplicación clínica de la hemoglobina reticulocitaria equivalente en la evaluación de la deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad renal crónica.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la fisiopatología de la anemia por deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad renal crónica.
- Explicar el fundamento analítico de la hemoglobina reticulocitaria equivalente como indicador de disponibilidad funcional de hierro.
- Comparar el rendimiento diagnóstico del hemoglobina reticulocitaria equivalente con los marcadores tradicionales del perfil férrico en pacientes con enfermedad renal crónica.
- Examinar la evidencia científica sobre la sensibilidad y especificidad de la hemoglobina reticulocitaria equivalente para la detección de deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad crónica.

1.3 JUSTIFICACIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) representa un problema de salud pública con impacto creciente tanto a nivel global como nacional, asociado a múltiples complicaciones, entre las cuales destaca la anemia por deficiencia de hierro. Esta condición incrementa la morbilidad y mortalidad y deteriora significativamente la calidad de vida de los pacientes, afectando su capacidad funcional, estado cardiovascular y desempeño cognitivo.

En la práctica clínica, evaluar el estado del hierro en pacientes con ERC es un desafío, debido a que los marcadores tradicionales pueden alterarse por la inflamación, limitando su utilidad diagnóstica y pudiendo conducir a decisiones terapéuticas inadecuadas.

En este contexto, la hemoglobina reticulocitaria equivalente (Ret-He) ha surgido como un biomarcador prometedor, al reflejar de manera más directa la disponibilidad funcional de hierro para la eritropoyesis. Su uso podría permitir una detección más temprana de la deficiencia de hierro, así como un mejor monitoreo de la respuesta al tratamiento con hierro y agentes estimulantes de la eritropoyesis.

Esta revisión de la literatura es necesaria para analizar la evidencia científica sobre el uso clínico del Ret-He en pacientes con ERC, con el objetivo de determinar su valor diagnóstico en comparación con los parámetros tradicionales y apoyar su posible inclusión en la práctica clínica.

Asimismo, sus resultados podrían contribuir a optimizar la evaluación de la anemia, favorecer decisiones terapéuticas más precisas y apoyar la actualización de protocolos diagnósticos. Finalmente, este estudio sienta bases

para futuras investigaciones orientadas a validar su uso en poblaciones específicas.

CAPÍTULO 2 MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

2.1.1 ESTUDIO N.º 1

The Correlation between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (RET-He), Iron Status, and Erythrocyte Indices in Chronic Kidney Disease Patients at Prof. Dr. R.D. Kandou Manado Hospital

Hessyani Patrisia Theodora Raranta¹, Purwanto Adipireno², Indranila Kustarini Samsuria²

¹Department of Clinical Laboratory, Prof. Dr. R. D. Kandou Manado Hospital, Jl. Raya Tanawangko No.56, Malalayang Satu Barat, Malalayang, Manado, North Sulawesi, Indonesia 95262

²Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Semarang, Central Java, Indonesia

Corresponding Author: Hessyani Patrisia Theodora Raranta, Department of Clinical Laboratory, Prof. Dr. R. D. Kandou Manado Hospital, Jl. Raya Tanawangko No.56, Malalayang Satu Barat, Malalayang, Manado, North Sulawesi, Indonesia 95262
E-mail: hessypatra@gmail.com

Received: 11, Aug, 2023
Accepted: 21, Aug, 2024

ABSTRACT

Background: Chronic Kidney Disease (CKD) is a public health concern with anemia being a major complication. RET-He is a cost-effective parameter to assess iron status in CKD, but further research is necessary to assess its correlation with existing parameters. This study attempted to investigate the correlation between RET-He, iron status, and erythrocyte indices among CKD patients.

Materials and Methods: A cross-sectional study involving 110 CKD patients who underwent routine hematology and iron profile tests (serum iron/SI, total iron binding capacity/TIBC, transferrin saturation/TSAT, and ferritin). RET-He was then measured using a Sysmex XN-1000 hematology analyzer. Statistical tests were used to define the correlation between RET-He, iron status, and erythrocyte indices.

Results: There was a significant positive correlation between RET-He and SI ($r = 0.349$; $p = 0.000$), TSAT ($r = 0.393$; $p = 0.000$), and ferritin ($r = 0.279$; $p = 0.003$). Among CKD patients with excess iron levels, there was a moderate correlation between RET-He and TSAT ($r = 0.404$; $p = 0.000$).

Conclusion: The study found a significant correlation between RET-He levels and iron status markers in CKD patients. RET-He is recommended as an additional parameter to assess iron status and as an additional method to estimate TSAT and ferritin levels, especially in settings where chemistry analyzers are unavailable. Further research is required to establish RET-He cut-off values for identifying excessive iron levels in CKD patients.

Keywords: Reticulocyte hemoglobin equivalent; Iron status; Erythrocyte indices, CKD

INTRODUCTION

With an increasing incidence of kidney failure, a poor prognosis, and significant costs, chronic kidney disease (CKD) is a worldwide public health concern. According to the 2018 Indonesian Baseline Health Research, CKD prevalence at age >15 years is 0.38%^{1,2}, and renal disease is responsible for the second-highest spending in the national insurance system after heart diseases³.

Anaemia is a main issue with chronic kidney disease (CKD). The most significant factor that contributes to anaemia in CKD is erythropoietin deficiency, but other factors that can also play a role include iron shortage, blood loss, hemolytic conditions, uremic substances, and inflammatory states^{4,5}. Erythropoietin is a glycoprotein hormone that controls the process of erythropoiesis: the production of red blood cells (RBCs). The kidneys,

DOI: 10.18502/ijhoscr.v19i1.17824

Copyright © 2025 Tehran University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

IJHOSCR 19(1) - ijhoscr.tums.ac.ir – January, 1, 2025

especially the peritubular fibroblasts of the renal cortex, are responsible for producing this hormone. The kidneys make around 80-90% of erythropoietin, with the liver producing the remaining amounts. This hormone stimulates the differentiation and proliferation of erythroid progenitor cells and the synthesis of haemoglobin to become mature RBCs in the bone marrow^{6,7}. In CKD, the process is disturbed, leading to a decrease in RBCs and anaemia^{4,5}. Anaemia decreases the patient's quality of life and leads to major health problems. Therefore, the management of anaemia is critical. Data shows that about 25% of patients with CKD require recurrent blood transfusion⁸.

The aim of anaemia management in CKD is to improve haemoglobin (Hb) and hematocrit (Hct) levels, specifically Hb >10 g/dL and Hct >30%. This Hb level can be achieved through conservative treatment or with erythropoietin (EPO) therapy. EPO therapy aims to reduce the need for transfusions. EPO therapy failures in CKD often occur in patients with iron deficiency comorbidity. Therefore, iron status examinations are necessary for the management of CKD^{8,9}.

The recommended method of determining iron status is bone marrow iron staining, but it is an invasive and risky procedure. Instead, indirect methods of determining iron status are preferred, such as serum iron (SI), total iron binding capacity (TIBC), transferrin saturation (TSAT), and serum ferritin. However, indirect methods are frequently unavailable due to their high cost, require specialized equipment, and are affected by inflammatory factors that are present in CKD patients^{10,12}.

Currently, an automatic haematology analyzer is equipped with a parameter describing how much iron is available for the erythropoiesis process in the bone marrow, known as reticulocyte haemoglobin equivalent (RET-He), which measures the haemoglobin content in reticulocytes¹³⁻¹⁵. The RET-He examination does not require an additional analyzer, so it is relatively cheaper and more efficient compared to iron status examinations, especially for hospitals that do not have a chemistry analyzer to check the iron status¹⁶⁻¹⁷.

The RET-He examination is not yet a standard procedure at Prof. Dr. R.D. Kandou Manado Hospital.

Although this hospital has a haematology analyzer with the Ret-He parameter, no research has been done on this parameter. Therefore, further study is required to determine the relationship between RET-He and the iron status tests that are regularly performed.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

This was an analytical observational study with cross-sectional study design. The samples were taken from CKD patients in the nephrology clinic who came to the Integrated Clinical Laboratory of Prof. Dr. R.D. Kandou Manado Hospital for haematology and iron status examinations (SI, TIBC, TSAT, and ferritin). For those who met the inclusion criteria, an additional RET-He examination was conducted. The time for collecting samples is throughout July 2020. The sample size was calculated using the consecutive sampling method¹⁹.

$$n = \left[\frac{(Z\alpha + Z\beta)}{0.5 \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right)} \right]^2 + 3$$

$$n = \left[\frac{(1.96 + 1.64)}{0.5 \ln \left(\frac{1+0.499}{1-0.499} \right)} \right]^2 + 3$$

Notes:

n = minimum number of samples required

Zα = Type I Error (Zα) = set at 5% with the two-way hypothesis. Zα is set at 1.96.

Zβ = Type II error (Zβ) = set at 10% with the two-way hypothesis. Zβ is set at 1.64.

r = 0.499¹⁷

Thus, the minimum number of samples required was 100 samples.

Patients had to meet the inclusion criteria for this study, which included those who had iron status examinations, specifically SI, TIBC, TSAT, and ferritin, as well as routine haematology examinations. Patients also must be older than 18 years old. On the other hand, the exclusion criteria indicated that patients referred or consulted from other clinics or units within the nephrology clinic would not be eligible to participate. Patients who had undergone kidney transplantation were additionally excluded from the study. These criteria were created to

guarantee that the study's findings were reliable and relevant to the intended demographic. All participants who met the criteria for inclusion signed informed consent forms before beginning the study. The ethical clearance was issued by the Health Research Ethics Committee of Prof. Dr. R.D. Kandou Manado Hospital with approval number 065/EC/KEPK-KANDOU/VII/2020.

Methods

Haematological and RET-He examinations were conducted using the Sysmex XN-1000 automatic haematology analyzer (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Meanwhile, iron status (SI, TIBC, TSAT, and ferritin) examinations were conducted using the Roche Cobas 8000 autoanalyzer (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Internal and external quality control were done for both instruments twice a year for each parameter.

Statistical analysis

The univariate analysis was utilized to determine the distribution of each variable according to the characteristics of the sample. If normal data distribution was acquired ($p > 0.05$), the results were reported using the mean $\pm$ standard deviation (SD). On the contrary, the results were reported using the median and interquartile range (IQR) when data distribution was not normal.

Then, a bivariate analysis was applied to find the relationship between RET-He and SI, TIBC, TSAT, and ferritin. Moreover, the relationships between RET-He and the RBC, haemoglobin, and hematocrit counts were also determined. The relationship was considered significant if $p < 0.05$. The degree of correlation showed a very weak correlation if $r = 0.00 - 0.199$, a weak correlation if $r = 0.20 - 0.399$, a moderate correlation if $r = 0.40 - 0.599$, a strong correlation if $r = 0.60 - 0.799$, and a very strong correlation if $r = 0.80 - 1.00$, as shown by Table 1²⁰. Data were analyzed using SPSS version 25.0 for Windows.

Table 1: Interpretation of correlation test

r^*	Interpretation
0.00 - 0.199	Very weak correlation
0.20 - 0.399	Weak correlation
0.40 - 0.599	Moderate correlation
0.60 - 0.799	Strong correlation
0.80 - 1.00	Very strong correlation

* r = correlation coefficient

RESULT

Characteristic of Subjects

There were 110 subjects in total, consisted of 53 males (48.2%) and 57 females (51.8%). The age range and mean were 20 - 79 years and 55.2 years, respectively. The distribution of sex and age were shown in Table 2.

Table 2: Characteristics of Subject by Sex and Age

Characteristics	Number (percentage)	
	n	(%)
Sex		
Male	53	(48.2)
Female	57	(51.8)
Total	110	(100.0)
Age		
20 - 35	8	(7.3)
36 - 55	46	(41.8)
56 - 65	30	(27.2)
66 or more	26	(23.6)
Total	110	(100.0)

Age Mean $\pm$ SD = 55.2 $\pm$ 12.2

Data distribution

The Kolmogorov-Smirnov test was conducted to determine the data distribution. It was found that the RET-He, hemoglobin, MCV, MCH, RBC and hematocrit levels data were normally distributed, thus were reported as Mean $\pm$ SD. Meanwhile, the SI, TIBC, TSAT, and ferritin data were not normally distributed, thus the median with an interquartile range (IQR) were reported. The results of the normality test were presented in Table 3.

Table 3: Normality Test's Results for Observed Parameters

Parameters	n	p	Mean $\pm$ SD	Median (IQR)
RET-He (pg)	110	0.059	32.4 $\pm$ 2.47	-
Hb (g/dL)	110	0.200	8.5 $\pm$ 1.38	-
Hct (%)	110	0.200	24.3 $\pm$ 4.13	-
RBC ($\times 10^6$)	110	0.200	2.8 $\pm$ 0.51	-
MCV (fL)	110	0.200	84.8 $\pm$ 4.42	-
MCH (pg.)	110	0.200	30.0 $\pm$ 1.66	-
SI (%)	110	0.000	-	76.0 (77.1 - 95.1)
TIBC (ug/dL)	110	0.000	-	195.5 (202.6 - 229.1)
TSAT (%)	110	0.000	-	35.0 (37.5 - 45.7)
Ferritin (ng/dL)	110	0.001	-	1012.5 (987.1 - 1309.0)

Normal data distribution if $p > 0.005$ **Correlation Tests****Correlation between RET-He, Haemoglobin (Hb), Erythrocyte Count (RBC), and Haematocrit (Hct)**

Pearson's correlation test was done to determine the correlation between RET-He, Hb, RBC, and Hct. Insignificant negative correlations were found in the

Pearson's correlation test between RET-He and Hb, RET-He and RBC, and RET-He and Hct. Table 4 indicates the results of Pearson's correlation test. The correlation scatterplots were presented in Figure 1a – 1c.

Table 4: Correlation between RET-He, Erythrocyte Indices, and Iron Status

	RET-He		
	n	p	r
Erythrocyte Indices			
Hb	110	0.448	-0.073 (very weak)
RBC	110	0.009	-0.250 (weak)
Hct	110	0.105	-0.156 (very weak)
Iron Status			
SI	110	0.000	0.349 (weak)
TIBC	110	0.699	-0.037 (very weak)
TSAT	110	0.000	0.393 (weak)
Ferritin	110	0.003	0.279 (weak)

Statistically significant correlation if $p < 0.005$

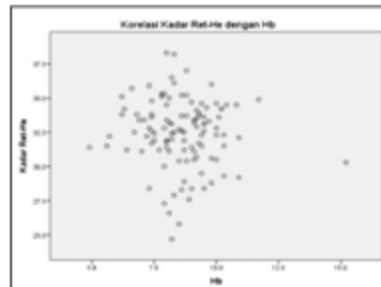


Figure 1a. Correlation between RET-He and Hb

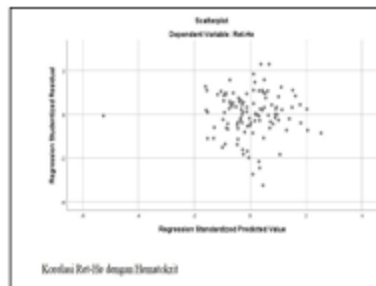


Figure 1b. Correlation between RET-He and Hct

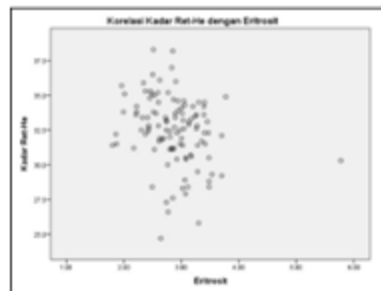


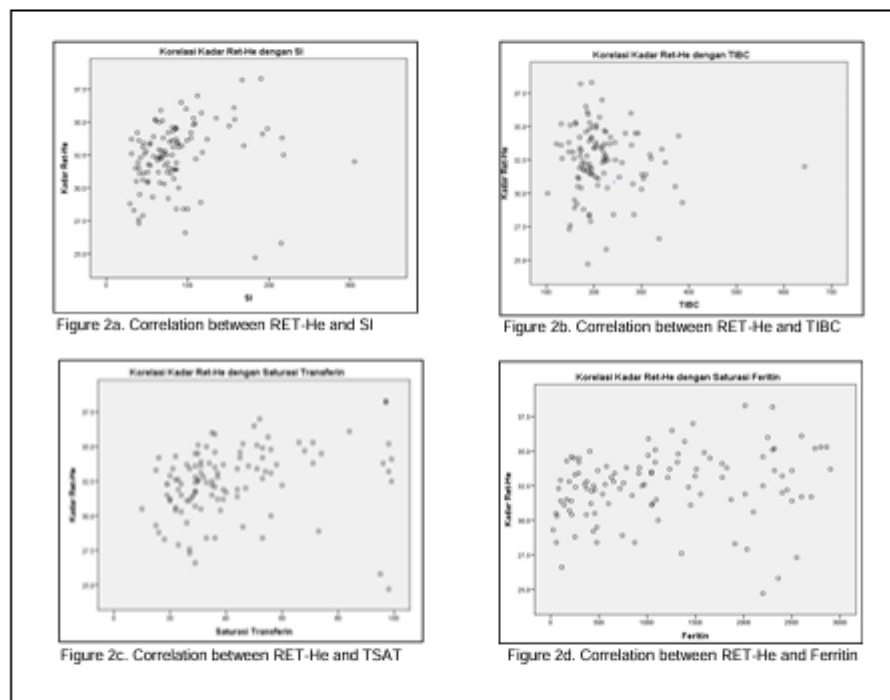
Figure 1c. Correlation between RET-He and RBC

Figure 1. Pearson's correlation scatterplots between Ret-He, Hb, Hct, and RBC

Correlation between RET-He, SI, TIBC, TSAT, and Ferritin

Spearman's ρ (rho) correlation test was done to determine the correlation between RET-He, SI, TIBC, TSAT, and Ferritin. Significant positive correlations were found between RET-He and SI, RET-He and TSAT, and RET-He and ferritin.

Meanwhile, RET-He and TIBC showed an insignificant negative correlation. Table 4 presents the results of Spearman's ρ correlation test and Figure 2a – 2d illustrate the correlation scatterplots.



Iron Status in CKD Patients

A total of 110 samples were examined; of these, 3 (2.7%) were defined as having absolute iron-deficiency anaemia, 2 (1.8%) as having functional iron-deficiency anaemia, 32 (29.1%) as having iron-sufficient anaemia, and 73 (66.4%) as having an iron-excess anaemia. Due to the limited number of samples, the groups with functional iron deficiency

anaemia and absolute iron deficiency anaemia were excluded from the analysis.

The iron excess group was established based on a TSAT level of more than 50% and/or ferritin level of more than 500 $\mu\text{g/mL}$. Normality test was then utilized to identify the distribution of data in the iron-sufficient and iron-excess groups. Data distribution based on iron status is presented by Table 5.

Table 5: Normality Test's Results for Observed Parameters Based on Iron Status

	n	p	Mean $\pm$ SD	Median (IQR)
Iron-sufficient group				
RET-He (pg.)	32	0.473	31.8 $\pm$ 2.00	-
TSAT (%)	32	0.616	29.4 $\pm$ 7.10	-
Ferritin (ng/dL)	32	0.039	289.3 $\pm$ 137.2	-
Iron-excess group				
Ret-He (pg.)	73	0.021	32.8 $\pm$ 2.59	-
TSAT (%)	73	0.003	-	44.0 (43.1 – 54.1)
Ferritin (ng/dL)	73	0.008	1593.4 $\pm$ 700.2	-

Normal data distribution if $p > 0.005$ **Correlation between RET-He, TSAT, and Ferritin in Iron-sufficient and Iron-excess Groups**

In the iron-excess group, there was a statistically significant moderate correlation between RET-He and TSAT. On the contrary, it showed a statistically insignificant negative correlation within the iron-

sufficient group. Meanwhile, there was a positive but not significant correlation between RET-He and ferritin in both groups. The equation $y = -13.5 + 1.89x$ for linear regression was obtained. Table 6 demonstrates the results of correlation tests.

Table 6: Correlation Test between TSAT and Ferritin based on Iron Status

	RET-He		
	n	p	r
Iron-sufficient group			
TSAT	32	0.418	-0.148 (very weak)
Ferritin	32	0.658	0.081 (very weak)
Iron-excess group			
TSAT	73	0.000	0.404 (moderate)
Ferritin	73	0.322	0.118 (very weak)

Statistically significant correlation if $p < 0.005$ **DISCUSSION**

In this study, 110 samples from CKD patients were analyzed to assess their iron status, with categorization into different types of anemia based on iron levels. Critical insights into the prevalence of iron deficiency and excess within this population were provided by the findings. Due to the limited sample sizes in the absolute and functional iron-deficiency anemia groups, further analysis was excluded for these groups, leaving two primary groups: iron-sufficient and iron-excess anemia. The iron-excess group was defined by a Transferrin Saturation (TSAT) level greater than 50% and/or a ferritin level exceeding 500 $\mu\text{g/mL}$. This classification is essential for understanding the complexities of anemia in chronic kidney disease (CKD) and highlights the importance of a comprehensive assessment of iron status in this context.

The relationships between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (RET-He), Hemoglobin (Hb), Erythrocyte Count (RBC), and Hematocrit (Hct) were assessed

using Pearson's correlation test. The results revealed insignificant negative correlations among these parameters, indicating that increases in RET-He do not correspond to significant changes in Hb, RBC, or Hct levels. This finding is particularly intriguing, given that RET-He is typically regarded as a marker for erythropoiesis and iron availability^{31,32}. The absence of a significant correlation may suggest that RET-He does not directly reflect changes in these traditional hematological parameters under the studied conditions. One possible explanation for these findings lies in the complex interplay between erythropoiesis and iron metabolism. While RET-He serves as a valuable indicator of reticulocyte activity and offers insights into bone marrow function, it may not consistently correlate with peripheral blood parameters, especially in populations with varying underlying health conditions or in the presence of confounding factors such as inflammation or chronic disease³³. Future research should aim to explore these relationships further, particularly in larger and

more diverse populations, while also investigating potential confounders that may influence these correlations.

In a complementary analysis, the correlation between RET-He, Serum Iron (SI), Total Iron Binding Capacity (TIBC), Transferrin Saturation (TSAT), and ferritin levels was examined using Spearman's ρ correlation test. This analysis revealed significant positive correlations between RET-He and SI, RET-He and TSAT, also RET-He and ferritin levels, suggesting that as RET-He increases, so do the levels of these iron status markers. These findings align with the hypothesis that RET-He reflects the availability of iron for erythropoiesis, as it measures the hemoglobin content in newly produced red blood cells^{31,32}. Conversely, the negative correlation between RET-He and TIBC was found to be insignificant. In contrast, previous research by Davidkova et al. indicated a weak but significant positive correlation between RET-He levels and TSAT, suggesting that RET-He levels increase as TSAT levels rise¹⁹. Similarly, Rovani et al. reported a significant positive correlation between RET-He and TSAT¹⁵. This finding aligns with the understanding that TIBC can be influenced by various factors, such as nutritional status and inflammation, which may not directly correlate with reticulocyte hemoglobin content^{34,35}. Several factors could contribute to the absence of a significant negative correlation between RET-He and TIBC in this study. For instance, confounding factors like inflammation or iron metabolism disorders may obscure the relationship between these two variables in this cohort. Additionally, the timing of blood sample collection relative to dietary intake or treatment interventions might have impacted the observed levels, further contributing to the insignificant correlation.

The correlation results between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (RET-He), TSAT, and ferritin levels in both iron-sufficient and iron-excess groups provide valuable insights into the dynamics of iron metabolism in patients with chronic kidney disease (CKD). In the iron-excess group, a statistically significant moderate correlation was observed between RET-He and TSAT, suggesting that individuals with excess iron exhibit higher TSAT levels alongside increased RET-He levels. The

significant correlation between RET-He and TSAT aligns with the findings of Poventud-Fuentes et al and Rovani et al^{15,36}. This relationship suggests that increased availability of excess iron may enhance erythropoiesis, reflecting a physiological adaptation to elevated iron levels^{36,37}. In contrast, the correlation between RET-He and TSAT in the iron-sufficient group was found to be statistically insignificant and negative. This unexpected finding implies that, in patients with adequate iron stores, other factors may play a more crucial role in regulating erythropoiesis than TSAT levels do. Regarding ferritin correlations, both groups exhibited a positive relationship between RET-He and ferritin; however, this correlation was not statistically significant. This suggests that although there is a general trend indicating higher ferritin levels are associated with increased RET-He, the relationship in this study remains weak. In contrast, Rovani et al. reported a significant positive correlation ($r = 0.533$; $p < 0.001$) between RET-He and ferritin¹⁵. The lack of strength in our findings may be attributed to limitations such as varying levels of inflammation, which can influence the observed correlation³⁸.

Limitations

This research faced several limitations related to data sampling. Firstly, the study could not investigate chronic kidney disease (CKD) patients without anemia, as no individuals were identified within this group. Additionally, patients undergoing specific therapies, particularly those receiving erythropoietin, were excluded from the study. These factors should be considered when interpreting the results or planning similar research in the future. Moreover, potential confounding variables, such as inflammation and other comorbidities affecting iron metabolism, were not addressed in this study. The relatively small sample size may also restrict the generalizability of the findings. Looking ahead, future research should focus on exploring the underlying mechanisms that contribute to the observed correlations. Larger studies could further investigate how factors like inflammatory markers interact with iron parameters to influence anemia management in CKD patients.

CONCLUSION

In conclusion, this study underscores the intricate relationship between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (RET-He) and iron status in chronic kidney disease (CKD) patients at Prof. Dr. R.D. Kandou Manado Hospital. While RET-He demonstrates a moderate correlation with Transferrin Saturation (TSAT) in iron-excess cases, its limited correlation with ferritin highlights the complexity of iron metabolism in CKD. Based on these findings, a RET-He examination is suggested as an alternative method to estimate TSAT and ferritin levels in CKD patients. Additionally, the RET-He parameter might be used as an additional parameter for determining iron status, especially in hospitals that are still lacking chemistry analyzers. To identify the RET-He cut-off value for identifying iron overload in CKD patients, further study is required. It is also important to consider the patient's medications. All these suggestions need to be considered to improve the quality of CKD management.

REFERENCES

1. Kementerian Kesehatan RI. INFODATIN. Pusat data dan informasi Kementerian Kesehatan RI. Situasi Penyakit Ginjal Kronis. Kemenkes RI;2017
2. Konsensus Manajemen Terapi Anemia Penyakit Ginjal Kronik. Perhimpunan Nefrologi Indonesia. 2011
3. Prodjosudjadi W. Incidence, prevalence, treatment and cost of end-stage renal disease in Indonesia. *Ethn Dis*. 2006; 16(2 Suppl 2):14-6.
4. Suwitra K. Penyakit ginjal kronik. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Jakarta: 2010
5. Urrechaga E, Borque L, Escanero FJ. Assessing Iron Status in CKD Patients: New Laboratory Parameters, In Monika Gooz (ed). *Chronic Kidney Disease*. In Tech, 2012, pp 225-250.
6. Baillie G, Uhlig K, Levey A. Clinical Practice Guidelines in Nephrology: Evaluation, Classification, and Stratification of Chronic Kidney Disease. *Pharmacotherapy*. 2005;25(4):491-502.
7. Hoffbrand AV, Moss PAH. Eritropoiesis dan aspek umum anemia. In: Kapita selekta Hematologi (Essensial Haematology) Edisi ke-6.2010: 13-28
8. Vassalotti J, Centor R, Turner B, et al. Practical approach to detection and management of chronic kidney disease for the Primary Care Clinician. *Am J Med*. 2016;129 (2):153-162.e7 .
9. Gaweda A. Markers of iron status in chronic kidney disease. *Hemodial Int*. 2017;21 Suppl 1(Suppl 1):S21-S27 .
10. Thomas D, Hinchliffe R, Briggs C, et al. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *Br J Haematol*. 2013;161(5):639-648 .
11. Van Wyck D, Alcorn H, Gupta R. Analytical and Biological Variation in Measures of Anemia and Iron Status in Patients Treated with Maintenance Hemodialysis. *Am J Kidney Dis*. 2010;56(3):540-6 .
12. Chinudomwong P, Binyasing A, Trongsakul R, et al. Diagnostic performance of reticulocyte hemoglobin equivalent in assessing the iron status. *J Clin Lab Anal*. 2020; 34(6):e23225 .
13. Dalimunthe N, Lubis A. Usefulness of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent in Management of Regular Hemodialysis Patients with Iron Deficiency Anemia. *Rom J Intern Med*. 2016;54(1):31-6.
14. Davidkova S, Prestidge T, Reed P, et al. Comparison of reticulocyte hemoglobin equivalent with traditional markers of iron and erythropoiesis in pediatric dialysis. *Pediatr Nephrol*. 2016;31(5):819-26 .
15. Rovani F, Nurulita A, Arif M. Analysis of Ret-He in Chronic Kidney Disease patients at DR.Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar. *Indones J Med Lab Technol*. 2018;25(1):1-128.
16. Wirawan R, Tedja A, Henrika F, et al. Concordance between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent and Reticulocyte Hemoglobin Content in CKD Patients Undergoing Hemodialysis. *Acta Med Indones*. 2017;49(1):34-40 .
17. Abdul Gafor A, Subramaniam R, Hadi F, et al. The Role of Reticulocyte Hemoglobin Content in the Management of Iron Deficiency Anemia in Patients on Hemodialysis. *Nephro Urol Mon*. 2018;10(3): e65629.
18. Nakhoul G, Simon J. Anemia of chronic kidney disease: Treat it, but not too aggressively. *Cleve Clin J Med*. 2016;83(8):613-24 .
19. Madiyono B, Moeslichan S, Sastroasmoro S, et al. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta: 2011;348- 82.
20. Tumbelaka AR, Riono P, Sastroasmoro S, et al. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis. Jakarta: 2011; 324-46.
21. Urrechaga E, Borque L, Escanero J. 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):1411-6 .
22. Joob B, Wiwanitkit V. Sysmex XE-5000 Analyser for Detecting Nucleated Red Blood Cells in Peripheral Blood. *Clin Lab*. 2014;60(12):2107.
23. Lukas DL, Hernaningsih Y, Triantanoe A. Diagnostic value of reticulocyte hemoglobin and soluble transferrin receptor in determining the iron status of chronics kidney

- disease with hemodialysis patients. *Asian J Pharm Clin Res.* 2019;12(9):210-14.
24. Hayes W. Measurement of iron status in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2019;34(4):605-613 .
25. Maconi M, Cavalca L, Danise P, et al. 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 .
26. Harada A, Mitsuiki K, Miyata Y. Assessment of iron deficiency in chronic hemodialysis patients: investigation of cutoff values for reticulocyte hemoglobin content. *Clin Exp Nephrol.* 2003;7(1):52-7 .
27. Venkatesan M, Saxena S, Kumar A. Evaluation of Iron Status in Patients of Chronic Kidney Disease - A study to assess the best Indicators Including Serum Transferrin Receptor Assay. *Indian J Nephrol.* 2019;29(4):248-253 .
28. Chandrashekar K, Yashoda HT, Reddy VM. Utility of reticulocyte hemoglobin in diagnosing latent iron deficiency and iron deficiency anemia. *Int J Contemp Pediatr.* 2020;7(5):1049-1053.
29. Ahmed R, Fayek M, Salem D. Using Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (RET- He) in Diagnosis of Iron Deficiency Anemia. *QJM.* 2020;113(Suppl.1):i59-i60.
30. Capone D, Cataldi M, Viniguerra M, et al. Reticulocyte Hemoglobin Content Helps Avoid Iron Overload in Hemodialysis Patients: A Retrospective Observational Study. *In Vivo.* 2017;31(4):709-12.
31. Aedh Al, Khalil MS, Abd-Elkader AS, et al. Reticulocyte hemoglobin as a screening test for iron deficiency anemia: A new cut-off. *Hematol Rep.* 2023;15(1):201-211 .
32. Hönemann C, Hagemann O, Doll D, et al. [Reticulocyte hemoglobin equivalent as a diagnostic marker for the current iron deficiency: Old wine in new bottles]. *Anaesthesist.* 2020;69(12):919-925 .
33. Torino AB, Gilberti M de, da Costa E, et al. Evaluation of erythrocyte and reticulocyte parameters as indicative of iron deficiency in patients with anemia of chronic disease. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015;37(2):77-81 .
34. Kalantar-Zadeh K, Kleiner M, Dunne E, et al. Total iron-binding capacity—estimated transferrin correlates with the nutritional subjective global assessment in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 1998;31(2):263-72 .
35. Iron-binding capacity. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559119/>
36. Poventud-Fuentes I, Chong TH, Dowlin M, et al. Reticulocyte hemoglobin equivalent as a marker to assess iron deficiency: A large pediatric tertiary care hospital study. *Int J Lab Hematol.* 2024;46(1):148-155 .
37. Neef V, Schmitt E, Bader P, et al. The reticulocyte hemoglobin equivalent as a screening marker for iron deficiency and iron deficiency anemia in children. *J Clin Med.* 2021;10(16):3506 .
38. Dignass A, Farrag K, Stein J. Limitations of serum ferritin in diagnosing iron deficiency in inflammatory conditions. *Int J Chronic Dis.* 2018:2018:9394060 .

2.1.2 ESTUDIO n.º 2

Original article

Clinical usefulness of the reticulocyte hemoglobin equivalent in children on hemodialysis

Diana Di Pinto, M.D.^a, Marcos Paz, M.D.^a, Marta Adragna, M.D.^a and Laura López, M.D.^a

ABSTRACT

Introduction. Iron-deficiency anemia is common in hemodialysis patients. Serum ferritin and transferrin saturation (TS) are used for its detection. The reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) is a marker that is not altered by inflammatory conditions and directly reflects iron availability in the bone marrow.

Objective. To explore the diagnostic capability of RET-He to detect absolute iron deficiency and assess its correlation with traditional markers of iron deficiency.

Population and methods. Retrospective study comparing RET-He with ferritin and TS in children on hemodialysis seen at Hospital Garrahan between July 2016 and July 2019.

Results. In 164 observations carried out in 40 children, a weak positive correlation was found between hemoglobin and RET-He ($r = 0.35$, $p < 0.001$), a significant positive correlation between TS and RET-He ($r = 0.52$, $p < 0.001$), a low negative correlation between hemoglobin and ferritin ($r = -0.19$, $p = 0.02$), and a lack of correlation between hemoglobin and TS ($r = 0.05$, $p = 0.5$). Anemia was observed in 50 %; iron-deficiency anemia was detected by traditional markers in 13 % and by RET-He in 44 %. RET-He showed a sensitivity of 90.9 % (95 % CI: 57.1-99.5 %), a specificity of 74.5 % (95 % CI: 66.7-81 %), a negative predictive value of 99.1 % (95 % CI: 94.5-99.9 %), and a positive predictive value of 20.4 % (95 % CI: 10.7-34.7 %) to detect iron-deficiency anemia with a cut-off value of 29 pg.

Conclusions. Despite its limited capability, the use of RET-He as a biomarker of iron deficiency increases the detection of iron-deficiency anemia in children on hemodialysis.

Key words: anemia, reticulocyte hemoglobin equivalent, hemodialysis, child.

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2020.eng.411>

To cite: Di Pinto D, Paz M, Adragna M, López L. Clinical usefulness of the reticulocyte hemoglobin equivalent in children on hemodialysis. *Arch Argent Pediatr* 2020;118(6):411-417.

INTRODUCTION

Anemia is common in patients with chronic kidney disease (CKD) and may be attributed to several factors: inadequate erythropoietin production, iron, vitamin B12 and/or folic acid deficiency, inflammation, blood loss, hyperparathyroidism, among others.¹ It is a major complication for children on hemodialysis and is associated with increased morbidity and mortality and reduced quality of life.²⁻⁴

After erythropoietin insufficiency, iron deficiency is the main cause of anemia in this population.² Hemodialysis patients have absolute iron deficiency due to dietary restrictions and reduced appetite, reduced intestinal absorption because of gastric acid inhibitors and phosphate binders use, and blood loss from the extra-corporeal circuit.^{2,3} Chronic inflammation, associated to dialysis, results in elevated hepcidin, which reduces intestinal iron absorption further and inhibits the release from reticuloendothelial stores, limiting iron available for erythropoiesis.²⁻⁴ Both absolute and functional iron deficiency limit the effectiveness of erythropoietin therapy, resulting in higher doses and, therefore, higher costs.^{2,5}

For many years, the gold standard to assess iron metabolism in patients with renal anemia has been a combination of serum ferritin and transferrin saturation (TS); nevertheless, these markers have limitations.^{2,5-7} Serum ferritin reflects total body iron stores, but it is also an acute phase reactant that may increase with chronic inflammation, making its interpretation difficult in patients with CKD;^{1,2,8} whereas the levels of

a. Department of Nephrology, Hospital Nacional de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan," Autonomous City of Buenos Aires, Argentina.

E-mail address: Diana Di Pinto, M.D.: dianadipinto@yahoo.com

Funding: None.

Conflict of interest: None.

Received: 1-20-2020
Accepted: 7-3-2020

transferrin -the serum protein that mediates iron transport from blood plasma to tissues- display diurnal fluctuation and can be falsely elevated in the setting of malnutrition or chronic disease.^{12,19}

By contrast, the reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He), which estimates the amount of hemoglobin in reticulocytes that reflects the erythropoiesis index over the preceding 2-3 days (early predictor), is not altered by inflammatory conditions and provides real-time information on iron availability in the bone marrow for incorporation into reticulocytes.^{2,5,6,10} Due to these characteristics, in recent years, international guidelines have included RET-He as an iron-deficiency marker, considering a cut-off value of > 29 pg.^{5,7,8,11,12}

Given that there is limited experience of its usefulness in pediatrics, this retrospective study was conducted in order to explore the diagnostic capability of RET-He to detect absolute iron deficiency in children on hemodialysis seen at Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan." The correlation between RET-He and traditional markers of iron deficiency was also assessed.

MATERIAL AND METHODS

Retrospective study of diagnostic accuracy conducted in the Division of Hemodialysis of our hospital between July 2016 and July 2019. Inclusion criteria: patients younger than 18 years who were on hemodialysis at our hospital for more than 3 months and for whom the four biochemical measurements were taken, at least once, to assess iron deficiency (hemoglobin, RET-He, ferritin, and TS). Exclusion criteria: blood dyscrasias, known as hemoglobinopathies, hemolytic anemia and hemorrhagic disorders, myelofibrosis diagnosed by bone marrow biopsy, red blood cell transfusion or active bleeding in the last month.

Clinical data to be assessed: demographic variables, causes of CKD, history of renal transplant, dialysis withdrawal, erythropoietin administration, dialysis duration, and follow-up duration. Laboratory data: hemoglobin, RET-He, serum ferritin, and TS. Information was obtained retrospectively from the electronic medical records.

The following terms were defined:

- Anemia: hemoglobin level below 10 grams per deciliter (g/dL) in children younger than 2 years.

- Absolute iron deficiency: serum ferritin level below 100 micrograms per liter (ug/L) together with TS below 20 %.^{4,7,12}

In our study, a Sysmex XN-1000 autoanalyzer (Roche) was used to measure RET-He and hemoglobin. TS was obtained based on the calculation of blood iron and total iron binding capacity, which were measured with a Cobas 500 analyzer (Roche), whereas ferritin was measured with an ARCHITECT i2000 analyzer (Abbott).

Statistical analysis

Qualitative variables were summarized using frequencies and percentages, and quantitative variables using median (interquartile range [IQR]) when exhibiting asymmetrical distribution (Kolmogorov-Smirnov test). Pearson's coefficient was used to estimate the correlation between hemoglobin, RET-He, and traditional markers of iron deficiency (ferritin and TS). The ability of the RET-He cut-off value (≤ 29) reported in the bibliography^{5,7,11,12} to diagnose iron deficiency was assessed by estimating sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value with their corresponding 95 % confidence intervals (95 % CI), using as gold standard the combination of serum ferritin below 100 ug/L and TS below 20 %. A value of $p < 0.05$ was considered significant. Data were analyzed using SPSS 25. This study was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Garrahan.

RESULTS

Out of the 46 patients on hemodialysis during the study period, 40 met the inclusion criteria. The remaining 6 were excluded because they were older than 18 years or the four biochemical measurements were not available.

Their demographic and clinical characteristics are summarized in Table 1. The main causes of CKD were glomerulopathies (35 %) and congenital anomalies of the kidney and urinary tract (28 %). Twenty-three patients were males (57 %). Twenty-one children (53 %) were 12-18 years old at study initiation, and none of them was younger than 2 years. Thirteen children (32 %) had a history of renal transplant. The median dialysis duration was 17.25 months (IQR: 11.21-34.60), and the median follow-up duration, 15.83 months (IQR: 4.92-16.93). All patients were administered erythropoietin.

TABLE 1. Demographic and clinical characteristics of 40 children on hemodialysis

Characteristics	n (%)
Males	23 (57)
History of renal transplant	13 (32)
Cause of renal disease	
Glomerulopathies	14 (35)
Kidney and urinary tract anomalies	11 (28)
Neurogenic bladder	8 (20)
Atypical hemolytic uremic syndrome	2 (5)
Other	5 (12)
Age at dialysis initiation	
1-6 years old	8 (20)
6-12 years old	15 (37)
12-18 years old	17 (43)
Age at study inclusion	
1-6 years old	6 (15)
6-12 years old	13 (32)
12-18 years old	21 (53)
Hemodialysis withdrawal	27 (67)
Renal transplant	8 (20)
Change of dialysis center	11 (27)
Change of dialysis modality (peritoneal dialysis)	3 (8)
Death	4 (10)
Recovery of renal function	1 (2)
Dialysis duration in months (median and interquartile range)	17.25 (11.21-34.60)
Follow-up duration in months (median and interquartile range)	15.83 (4.92-16.93)
Erythropoietin therapy	40 (100)

%: percent.

A total of 164 observations, were carried out. Anemia was detected in half of cases, and its cause was absolute iron deficiency using traditional markers in 13 % (11 observations) and RET-He in 44 % (36 observations) (Table 2).

Table 2 shows the median and IQR values of hemoglobin, RET-He, ferritin, and TS levels. The linear regression analysis showed a weak positive correlation between hemoglobin and RET-He ($r = 0.35$, $p < 0.001$) and a significant positive correlation between TS and RET-He ($r = 0.52$, $p < 0.001$), as observed in Figures 1 and 2, respectively. A low negative correlation was found between hemoglobin and ferritin ($r = -0.19$, $p = 0.02$), and there was no correlation between hemoglobin and TS ($r = 0.05$, $p = 0.5$) (Figures 3 and 4). Using the cut-off value of 29 pg, the diagnostic test showed a sensitivity of 90.9 % (95 % CI: 57.1-99.5 %), a specificity of 74.5 % (95 % CI: 66.7-81 %), a negative predictive value of 99.1 % (95 % CI: 94.5-99.9 %), and a positive predictive value of 20.4 % (95 % CI: 10.7-34.7 %) to detect absolute iron deficiency.

DISCUSSION

Anemia is common in CKD, particularly in patients on hemodialysis.^{2,6} According to the 2006 Annual Report of the North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies (NAPRTCS), the prevalence of anemia in children on hemodialysis treated with erythropoietin is

TABLE 2. Hemoglobin, reticulocyte hemoglobin equivalent, ferritin, and transferrin saturation levels in 40 children on hemodialysis

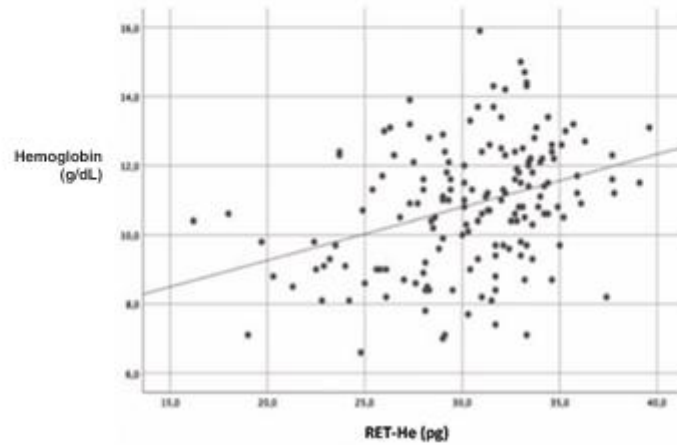
Characteristics	Number of observations	Level (median and interquartile range)
Hemoglobin (g/dL)	164	10.9 (9.4-12.2)
1-6 years old	22	10.1 (8.2-11.3)
6-12 years old	52	10.5 (9.1-11.9)
12-18 years old	90	11.3 (9.9-12.5)
Hemoglobin < 11 g/dL	82 (50 %)	9.5 (8.6-10.4)
+ ferritin < 100 ug/L and TS < 20 %	11 (13 %)	
+ RET-He < 29 pg	36 (44 %)	
RET-He (pg)	164	31.3 (28.1-33.4)
Ferritin (ug/L)	164	229 (123-424)
< 100	31 (19 %)	
100-499	99 (60 %)	
≥ 500	34 (21 %)	
TS (%)	164	26 (18-38)
< 20	45 (27 %)	
≥ 20	119 (73 %)	

RET-He: reticulocyte hemoglobin equivalent; TS: transferrin saturation; g/dL: grams per deciliter; ug/L: micrograms per liter; pg: picograms; %: percent.

higher than 40 %.^{13,14} In the study conducted by Davidkova et al., anemia was present in 45 % of 593 studied observations in 45 children older than

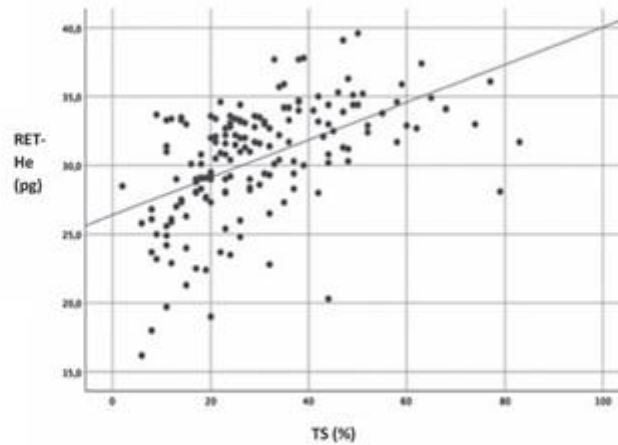
6 months on hemodialysis and peritoneal dialysis.² Our study showed a prevalence of 50 %, with a median hemoglobin level of 9.5 g/dL.

FIGURE 1. Correlation between hemoglobin and reticulocyte hemoglobin equivalent levels in 40 children on hemodialysis



RET-He: reticulocyte hemoglobin equivalent; g/dL: grams per deciliter; pg: picograms.

FIGURE 2. Correlation between reticulocyte hemoglobin equivalent and transferrin saturation levels in 40 children on hemodialysis

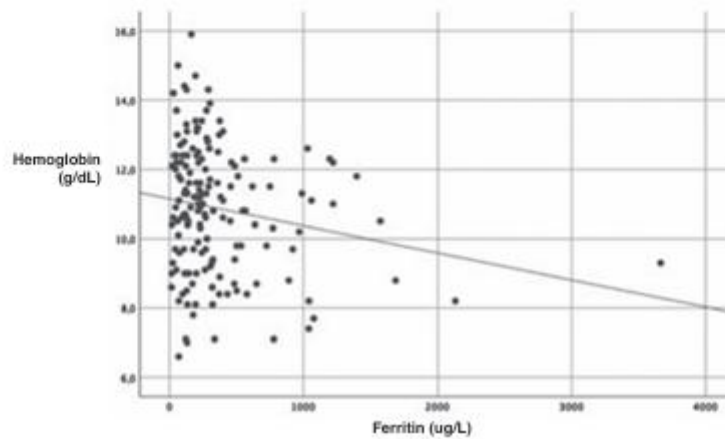


RET-He: reticulocyte hemoglobin equivalent; TS: transferrin saturation; %: percent; pg: picograms.

Before correcting anemia, accurate measurement of iron status is required to avoid unnecessary supplementation.² The currently accepted markers for such measurement in CKD

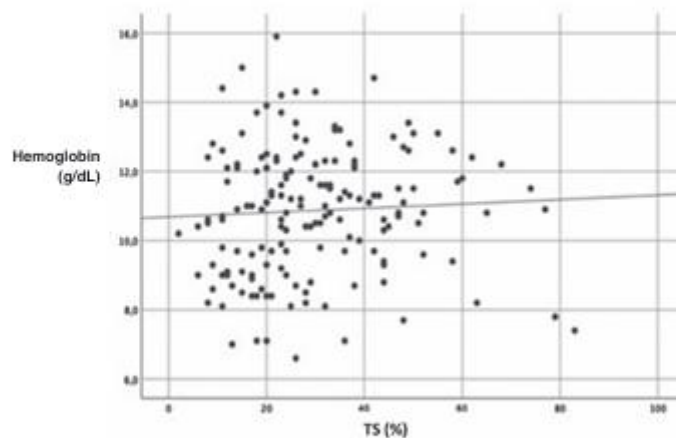
are TS and serum ferritin, although they are known to have limited reliability in assessing iron availability in patients on dialysis.^{3,2,4,5,11,12} Our study showed that, using the combination

FIGURE 3. Correlation between hemoglobin and serum ferritin levels in 40 children on hemodialysis



g/dL: grams per deciliter; ug/L: micrograms per liter.

Figure 4. Correlation between hemoglobin and transferrin saturation levels in 40 children on hemodialysis



TS: transferrin saturation; g/dL: grams per deciliter; %: percent.

of serum ferritin < 100 µg/L and TS < 20 %, 13 % (11 observations) of patients with anemia had absolute iron deficiency, which is higher than that observed in other studies, such as the one conducted by Davidkova et al. in children on dialysis, which showed a value of 3 % (7 observations).²

With the introduction of fourth-generation autoanalyzers, not only blood count accuracy improved, but also a new parameter started being measured: reticulocyte hemoglobin.¹⁰ As mentioned above, the latter is useful as an indicator of iron deficiency; nevertheless, few studies have been conducted in the pediatric population.^{5,6,11}

Using the cut-off value most widely accepted in the bibliography (29 pg), the prevalence of iron-deficiency anemia increased to 44 % (36 observations).^{5,7,11,12} The study conducted by Davidkova et al., showed a prevalence of 38 % (84 observations), using a cut-off value of 28.9.²

Our results, like those of other studies, confirmed a very weak negative correlation between hemoglobin and ferritin.² Ferritin levels, instead of acting as markers of iron availability in patients on hemodialysis, might have reflected the degree of chronic inflammation over time, which would explain the negative correlation between them. The use of a negatively correlated variable in decision-making algorithms for iron management in dialysis is questionable and lacks evidence. In addition, there was a modest positive correlation between hemoglobin and RET-He, which was stronger than the lack of correlation between hemoglobin and TS, and is a more helpful biomarker, as also shown by Davidkova et al.² The good correlation between RET-He and TS observed in our study, as well as in those conducted in the population on hemodialysis, strengthens the hypothesis that this combination of biomarkers warrants further exploration independent of ferritin.^{2,5,6}

The cut-off point of RET-He to diagnose absolute iron deficiency anemia in hemodialysis patients ranges from 27.2 pg to 33 pg, according to different studies, and 29 pg is considered to be the best cut-off value.^{2,6,11,15} In the study we conducted in 40 children on hemodialysis, using 29 pg/ml as cut-off value for RET-He, the diagnostic test showed limited capability to detect absolute iron deficiency.

Although there are no local data regarding

the usefulness of this parameter in the pediatric population, it is worth noting that a weakness of this study is its lack of adequate power due to the limited number of analyzed determinations. Therefore, studies with a higher number of patients are required to draw definite conclusions. In addition, the lack of a reliable gold standard diagnostic test engenders difficulty when assessing the usefulness of new biomarkers in the diagnosis of iron deficiency.

CONCLUSIONS

Despite its limited capability, the use of RET-He as a biomarker of iron deficiency increases the detection of iron-deficiency anemia in children on hemodialysis. ■

REFERENCES

- Atkinson MA, Warady BA. Anemia in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2018; 33(2):227-38.
- Davidkova S, Prestidge TD, Reed PW, Kara T, et al. Comparison of reticulocyte hemoglobin equivalent with traditional markers of iron and erythropoiesis in pediatric dialysis. *Pediatr Nephrol*. 2016; 31(5):819-26.
- Gerson A, Hwang W, Fiorenza J, Barth K, et al. Anemia and health-related quality of life in adolescents with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2004; 44(6):1017-23.
- Gafter-Gvili A, Schechter A, Rozen-Zvi B. Iron Deficiency Anemia in Chronic Kidney Disease. *Acta Haematol*. 2019; 1(1):44-50.
- Miwa N, Akiba T, Kimata N, Hamaguchi Y, 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.
- Dalimunthe NN, Lubis AR. Usefulness of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent in Management of Regular Hemodialysis Patients with Iron Deficiency Anemia. *Row J Intern Med*. 2016; 54(1):51-6.
- KDOQI; National Kidney Foundation. III Clinical practice recommendations for anemia in chronic kidney Disease in children. *Am J Kidney Dis*. 2006; 47(5 Suppl 3):S86-108.
- Gaweda AE. Markers of Iron Status in Chronic Kidney Disease. *Hemodial Int*. 2017; 3:21(Suppl 1):S21-7.
- 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(5):802-8.
- Campuzano-Maya G, Guevara-Arismendi NM. Hemoglobina reticulocitaria: un nuevo parámetro del hemograma de gran valor en el diagnóstico y manejo de la eritropoyesis deficiente de hierro. La clínica y el laboratorio. *Medicina & Laboratorio*. 2015; 21(1-2):11-42.
- Buttarello M, Pajola R, Novello E, Rebeschini M, et al. Diagnosis of iron deficiency in patients undergoing hemodialysis. *Am J Clin Pathol*. 2010; 133(6):949-54.
- Guidance NICE. Chronic kidney disease: managing anaemia. London: NICE; 2015. [Accessed on: November 19th, 2019]. Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/NG8/evidence>.
- United States Renal Data System. Clinical indicators and preventive care. In USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States.

Bethesda: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2018. [Accessed on: November 26th, 2019]. Available at: https://www.usrds.org/2018/view/v2_02.aspx.

14. Atkinson MA, Martz K, Warady BA, Neu AM. Risk for anemia in pediatric chronic kidney disease patients: a report of NAPRTCS. *Pediatr Nephrol*. 2010; 25(9):1699-706.
15. Ogawa C, Tsuchiya K, Maeda K. Reticulocyte hemoglobin content. *Clin Chim Acta*. 2020; 504:138-45.

2.1.3 ESTUDIO N.º 3

Observational Study

Medicine

OPEN

The association of hepcidin, reticulocyte hemoglobin equivalent and anemia-related indicators on anemia in chronic kidney disease

Zhaoli Gao, MD^a, Yingying Hu, PhD^b, Yanxia Gao, PhD^c, Xiaotian Ma, MD^c, Zhao Hu, PhD^{d,*}

Abstract

Hepcidin is an essential regulator of iron homeostasis in chronic kidney disease (CKD) anemia, reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-Hb) can be used to evaluate the availability of iron for erythropoiesis. Previous research has found that hepcidin indirectly regulates RET-Hb. This study aimed to investigate the association of hepcidin, RET-Hb and anemia-related indicators on anemia in chronic kidney disease. A total of 230 individuals were recruited, including 40 CKD3-4 patients, 70 CKD5 patients without renal replacement therapy, 50 peritoneal dialysis patients, and 70 hemodialysis patients. The serum levels of hemoglobin (Hb), reticulocyte, RET-Hb, serum iron, serum creatinine, serum ferritin, total iron binding capacity, hepcidin-25, high sensitivity C-reactive protein, transferrin, erythropoietin, intrinsic factor antibody, soluble transferrin receptor and interleukins-6 (IL-6) were measured. Hepcidin-25 was positively associated with IL-6, and negatively with total iron binding capacity, intrinsic factor antibody, and transferrin. Reticulocyte Hb equivalent was associated positively with Hb, serum ferritin, serum iron, transferrin saturation, and negatively with serum creatinine, reticulocyte, IL-6, STIR. Hepcidin-25 was not associated with RET-Hb, while IL-6 was independently associated with hepcidin-25 and RET-Hb, suggesting that hepcidin has no effect on the iron dynamics of reticulocytes in CKD, may be related to IL-6, indicate a likelihood of a threshold for stimulation of hepcidin-25 expression by IL-6 in order to indirectly regulates RET-Hb.

Abbreviations: CKD = chronic kidney disease, EPO = erythropoietin, Hb = hemoglobin, HD = hemodialysis, hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein, IFAb = intrinsic factor antibody, IL-6 = interleukins-6, PD = peritoneal dialysis, RET = reticulocyte, RET-Hb = reticulocyte hemoglobin equivalent, Scr = serum creatinine, SF = serum ferritin, SI = serum iron, sTfR = soluble transferrin receptor, TIBC = total iron binding capacity, TRF = transferrin, TSAT = transferrin saturation.

Keywords: anemia, chronic kidney disease, hemodialysis, hepcidin-25, peritoneal dialysis, reticulocyte hemoglobin equivalent

1. Introduction

Chronic kidney disease (CKD) is a widespread condition with increasing number of incidences every year.^[1] Anemia is one of the common complications in patients with CKD. Researchers found that approximately 10% of CKD stage 1 to 2 patients and 50% of CKD stage 3 to 5 patients developed anemia during the course of CKD,^[2] while a higher proportion of anemia was observed in hemodialysis patients. If not actively treated, anemia can accelerate the deterioration of renal function, causing complications of the respiratory and digestive systems and increasing the risk of cardiovascular events.^[3] Iron deficiency often reduces the patients sensitivity towards erythropoietin

treatment, resulting in an increase in the dosage of erythropoietin and thereby increasing the cost of treatment.^[4] Therefore, CKD anemia patients should be provided supplementation with adequate dose of iron along with erythropoietin (EPO) treatment.^[5,6] However, with the emergence of safety issues associated with ESA and the increasing cost, the role of reduced iron availability in the pathogenesis of CKD anemia is attracting more and more attention.

Hepcidin-25 (2.5 kDa) is a negative regulatory hormone of iron metabolism that downregulates the level of serum iron and plays an essential role in CKD anemia.^[7-10] Some studies have shown that the expression of hepcidin is regulated by inflammation and iron load.^[11,12] Patients with CKD are in a chronic

This study was supported by the Scientific Research Foundation of Qilu Hospital (Qingdao) (QDKY2018QY13).

The authors have no conflicts of interest to disclose.

All data generated or analyzed during this study are included in this published article [and its supplementary information files].

This study protocol was reviewed and approved by the Medical Ethics Committee, Qilu Hospital of Shandong University (Qingdao, Shandong, China), approval number KYLL-KS-2018022. All patients participating in this study were informed, signed informed consents, and voluntarily participated. All methods were carried out in accordance with Declaration of Helsinki.

^a Department of Nephrology, Qilu Hospital of Shandong University (Qingdao), Qingdao, Shandong, China; ^b Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong, China; ^c Department of Medicine Experimental Center, Qilu Hospital of Shandong University (Qingdao), Qingdao, Shandong, China; ^d Department of Nephrology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong, China.

* Correspondence: Zhao Hu, Department of Nephrology, Qilu Hospital of Shandong University, 107 Wenhuan Road, Jinan, Shandong 250012, P. R. China (e-mail: shuzhao@vip.126.com).

Copyright © 2023 the Author(s). Published by Wolters Kluwer Health, Inc. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBY-NC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and build upon the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal.

How to cite this article: Gao Z, Hu Y, Gao Y, Ma X, Hu Z. The association of hepcidin, reticulocyte hemoglobin equivalent and anemia-related indicators on anemia in chronic kidney disease. *Medicine* 2023;102:17(e33558).

Received: 3 November 2022 / Received in final form: 21 March 2023 / Accepted: 28 March 2023

<http://dx.doi.org/10.1097/MD.00000000000033558>

inflammatory state, resulting in elevated levels of inflammatory factors, such as high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), interleukins-1, interleukins-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α , and interferon- γ .^[14]

The absolute or functional deficiency of iron is related to the impairment of hemoglobin synthesis, which leads to anemia and reduced tissue oxygen. Serum ferritin (SF) and transferrin saturation (TSAT) are routine biochemical examination projects for diagnosing iron deficiency, which reflects the condition of stored iron and has high accuracy. However, these indicators are easily affected by inflammation; therefore, they have some limitations. As a result, these tests should be replaced by more stable iron parameters to assess the iron status in patients with CKD. As per recent studies, the reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) is the reflection of iron content in reticulocytes and can be used to evaluate the availability of iron for erythropoiesis.^[15–19] Since the National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative recommended the use of RET-He in 2006, RET-He has been regarded as important early indicators for assessing the iron status in patients with CKD.^[20]

A previous study found there was no correlation between serum hepcidin levels and their RET-He levels on peritoneal dialysis patients,^[21] while another study has also shown that RET-He depends on available iron in blood, indirectly regulated by hepcidin.^[22] The association of hepcidin and RET-He on anemia in CKD has not been studied before; in this study, anemia related indicators were measured to study their association with hepcidin and RET-He on anemia in CKD, in order to improve anemia and the quality of life of patients with CKD.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

This study recruited CKD patients hospitalized in Qilu Hospital of Shandong University (Qingdao) from January 2019 to December 2020. Inclusion criteria were stable adult CKD patients. Exclusion criteria included acute-phase inflammation, bleeding, blood transfusion or surgical procedures within 3 months, malignant tumor, hematological diseases, nonrenal anemia, or liver dysfunction were also excluded from the study. This study protocol was reviewed and approved by the Medical Ethics Committee, Qilu Hospital of Shandong University (Qingdao, Shandong, China), approval number KYLL-KS-2018022. All patients participating in this study were informed, signed informed consent, and voluntarily participated. All methods were carried out in accordance with Declaration of Helsinki.

2.2. Data collection

Blood samples were collected in CKD3-4, CKD5 and peritoneal dialysis (PD) patients during the hospitalization, and at the start of hemodialysis (HD) treatment after a 2 days interval from the last treatment in HD patients. The data of each patient was collected from our hospital information management system. The hemoglobin (Hb), reticulocyte (RET), RET-He, serum iron (SI) serum creatinine (Scr), SF, total iron binding capacity (TIBC), hepcidin-25, hs-CRP, transferrin (TRF), EPO, intrinsic factor antibody (IFAb), soluble transferrin receptor (sTfR), IL-6 were analyzed in each group to investigate their association with hepcidin and RET-He on anemia in chronic kidney disease.

2.3. Disease definition

Chronic kidney disease was defined as abnormalities of kidney structure or function, present for more than 3 months, with implications for health according to the Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD Work Group,^[23] and the estimated glomerular filtration rate was calculated using the

simplified prediction equation derived from the modified version in the Modification of Diet in Renal Disease study. The abbreviated Modification of Diet in Renal Disease estimate of kidney function was calculated as $175 \times (\text{Scr}/88.4)^{-1.154} \times \text{age}^{-0.201} \times 0.742$ (if female).^[24] In consideration of good compliance and convenient design, the inclusion criteria for CKD3-4, CKD5, and PD patients were selected hospitalized patients. All patients provided written informed consent to participate in the study. GFR in CKD3 to 4 group was 15 to 59 mL/minutes/1.73 m², and ≤ 15 mL/minutes/1.73 m² in CKD 5 group.

2.4. Detection method

The data of Hb, RET-He, hs-CRP, Scr, SI, TRF, SF, EPO, IFAb, sTfR was collected from our hospital information management system. The levels of Hb, RET-He (Blood cell analyzer Sysmex XN-3000), hs-CRP (DM79-2), Scr (Roche c701 biochemical analyzer), SI, TRF (autobio TBA-FX8), SF, EPO, IFAb, sTfR (Beckman DX1800) in the laboratory department. TIBC was measured using the TIBC test kit (wuhan Elabscience Biotechnology Co., Ltd.), serum IL-6 was measured using the human IL-6 enzyme-linked immunosorbent Kit (wuhan Elabscience Biotechnology Co., Ltd.), hepcidin-25 was measured using the human hepcidin-25 enzyme-linked immunosorbent Kit (wuhan Elabscience Biotechnology Co., Ltd.).

2.5. Statistics

Statistical analysis of the data was performed using the SPSS software (version 21.0, IBM Corp., Armonk, NY). Data are presented as mean $\pm$ SD. Serum ferritin, SI, EPO, IFAb, IL-6, and hs-CRP levels were log-transformed to reduce the skewness of the data. Differences among the NC group, CKD3-4, CKD5, PD, and HD patients were analyzed by 1-way ANOVA. The associations between each clinical parameter were calculated using Pearson correlation coefficients. Factors affecting the levels of hepcidin-25 and the RET-He were analyzed by multiple linear regression model, and model was adjusted by age, sex, and ESA use. *P* values $< .05$ were regarded as statistically significant.

3. Results

In this study, we enrolled 230 CKD patients (men, $n = 153$ 59%), with a range age of 26 to 88 years, the mean age of subjects was 59 ± 12 years, and the median was 62 years at Qilu Hospital (Qingdao) of Shandong University. Among them, 110 patients did not undergo dialysis (40 CKD3-4 patients, 70 CKD5 patients without renal replacement therapy), 50 patients underwent PD (PD group), and 70 patients underwent HD (HD group). The median duration of dialysis was 23 months (range: 2–144 months) in HD patients and 12 months (range: 2–48 months) in PD patients. Diabetic nephropathy (accounted for 38% of the CKD patients) was the most common underlying disease, followed by chronic nephritis (accounted for 34% of the CKD patients), hypertensive renal disease (accounted for 11% of the CKD patients) and chronic kidney disease caused by other conditions (accounted for 17% of the CKD patients). Eighteen (45%) of CKD 3 to 4, 32 (46%) of CKD5 and 37 (74%) of PD patients received ESA (Epogen, 10,000 IU/week) by subcutaneous injection, and 64 (92%) of HD patients did via intravenous injection. Twenty-eight (70%) of CKD3 to 4, 38 (54%) of CKD5, and 46 (92%) of PD patients received oral iron supplementation, while 18 (26%) of HD patients were administered with intravenous iron preparation.

Table 1 shows the biochemical characteristics of each group. As expected, Scr levels in CKD5, HD and PD groups were significantly higher ($P < .05$) than in CKD3-4. RET-He level was

lower in HD group compared with the other groups ($P < .05$). The hs-CRP levels in CKD5, PD and HD group were significantly different ($P < .05$) compared with that in CKD3 to 4 group. Compared with the hepcidin-25 and IL-6 level in CKD3 to 4 and CKD5 group, there was significant difference in HD group ($P < .05$). Total iron binding capacity levels were higher in the HD group than in the PD group ($P < .05$), and there was no significant difference among the other groups ($P > .05$). Serum ferritin, SI, TSAT, and TRF levels were no significant difference among each group ($P > .05$). Intrinsic factor antibody level was higher in the CKD5 group than in the HD groups ($P < .05$). Soluble transferrin receptor level was higher in the HD group than in the other groups ($P < .05$).

3.1. Pearson correlation analysis of hepcidin-25 and other indicators. SF, SI, EPO, IFAb, IL-6, and hs-CRP levels were log-transformed (Table 2).

Hepcidin-25 was positively associated with IL-6 ($R = 0.313$, $P < .001$) in the whole group, while in the CKD3-4 group, hepcidin-25 was associated negatively with STIR ($r = -0.389$, $P = .013$); in the CKD5 group, hepcidin-25 was associated negatively with Hb ($r = -0.286$, $P = .016$); in the PD group, hepcidin-25 was associated positively with IL-6 ($R = 0.393$, $P = .005$), negatively with TIBC ($r = -0.453$, $P = .001$), and IFAb ($r = -0.377$, $P = .007$); in the HD group, hepcidin-25 was associated positively with IL-6 ($R = 0.290$, $P = .015$).

Table 1

Various indicators of the groups.

	Total (n = 230)	CKD3-4 (n = 40)	CKD5 (n = 70)	PD (n = 50)	HD (n = 70)	P value
Age (yr)	59.77 ± 12.35	61.70 ± 11.65	59.94 ± 13.63	56.90 ± 11.28	60.56 ± 12.01	.265
Male sex, n (%)	138 (60.0)	24 (60.0)	35 (50.0)	27 (54.0)	52 (74.2)	.022
Hb (g/L)	95.95 ± 21.78	103.03 ± 18.18	85.40 ± 18.45*	96.30 ± 22.83†	102.21 ± 22.25†	<.001
Scr (μmol/L)	656.67 ± 320.98	217.25 ± 75.87	613.57 ± 257.86*	893.74 ± 285.32*†	781.54 ± 209.78*†	<.001
RET (%)	1.85 ± 0.58	1.93 ± 0.42	1.83 ± 0.63	1.65 ± 0.57	1.96 ± 0.59†	<.001
RET-Hb (pg)	31.04 ± 2.51	32.22 ± 2.08	31.08 ± 2.42*	31.24 ± 2.29	30.18 ± 2.70*†	<.001
hs-CRP (mg/L)	3.81 ± 2.87	2.64 ± 2.33	3.99 ± 2.88*	3.98 ± 3.02*	4.17 ± 2.92*	.041
Hepcidin-25 (ng/mL)	9.53 ± 2.82	8.87 ± 2.33	9.04 ± 2.71	9.50 ± 2.74	10.41 ± 3.08*†	.001
IL-6 (pg/mL)	44.03 ± 24.85	36.85 ± 14.59	39.06 ± 20.88	40.78 ± 19.85	55.53 ± 31.86*†	<.001
SF (pg/mL)	112.10 ± 75.73	91.49 ± 51.46	107.17 ± 70.89	116.92 ± 84.02	125.36 ± 83.85	.132
SI (μmol/L)	11.58 ± 4.41	11.02 ± 3.07	11.16 ± 4.76	11.34 ± 4.89	12.50 ± 4.29	.214
TIBC (μmol/L)	31.21 ± 7.98	30.67 ± 7.03	31.47 ± 8.33	29.52 ± 7.17	32.47 ± 8.58†	.238
TSAT (100%)	37.98 ± 13.18	37.66 ± 13.68	35.88 ± 12.95	38.79 ± 13.83	39.67 ± 12.63	.374
IFAb (AU/mL)	1.19 ± 0.12	1.18 ± 0.10	1.23 ± 0.14	1.18 ± 0.11	1.16 ± 0.11†	.003
STIR (μmol/L)	17.74 ± 6.48	15.98 ± 4.09	16.60 ± 5.93	15.78 ± 6.65	21.27 ± 6.67*†	<.001
TRF (pg/L)	1.86 ± 0.44	1.95 ± 0.28	1.82 ± 0.33	1.92 ± 0.43	1.80 ± 0.59	.196
EPO (mU/mL)	28.18 ± 46.19	16.40 ± 16.09	25.46 ± 37.24	35.23 ± 42.17*	32.60 ± 64.36	.199
ESA use, n (%)	151 (65.7)	18 (45.0)	32 (46.0)	37 (74.0)*†	64 (92.0)*†	<.001

P values mean the overall differences between CKD3-4, CKD5, PD and HD groups. Data were presented as mean ± SD.

CKD3-4 = CKD3-4 patients, CKD5 = CKD5 patients without renal replace treatment, EPO = erythropoietin, Hb = hemoglobin, HD = hemodialysis patients, hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein, IFAb = intrinsic factor antibody, IL-6 = interleukin-6, PD = peritoneal dialysis patients, RET = reticulocyte, RET-Hb = reticulocyte hemoglobin equivalent, Scr = serum creatinine, SF = serum ferritin, SI = serum iron, STIR = soluble transferrin receptor, TIBC = total iron binding capacity, TRF = transferrin, TSAT = transferrin saturation.

* Statistically significant difference compared with the CKD3-4 group ($P < .05$).

† Statistically significant difference compared with the CKD5 group ($P < .05$).

‡ Statistically significant difference compared with the PD group ($P < .05$).

Table 2

Pearson correlation analysis of hepcidin-25 and other indicators.

	Whole		CKD3-4		CKD5		PD		HD	
	r	P value	r	P value	r	P value	r	P value	r	P value
Hb (g/L)	-0.024	.718	0.294	.066	-0.286	.016	0.078	.590	-0.135	.266
Scr (μmol/L)	0.124	.059	-0.148	.361	0.069	.572	-0.04	.782	0.107	.377
RET (%)	0.013	.844	0.127	.433	0.058	.636	-0.018	.903	-0.086	.478
hs-CRP (mg/L)	0.082	.218	-0.125	.443	0.102	.401	-0.095	.510	0.198	.101
IL-6 (pg/mL)	0.313	<.001	0.127	.434	0.217	.071	0.393	.005	0.290	.015
SF (pg/mL)	0.125	.059	0.170	.296	-0.012	.920	0.026	.857	0.234	.051
SI (μmol/L)	-0.060	.363	0.031	.852	-0.070	.563	-0.168	.245	-0.119	.326
TIBC (μmol/L)	-0.169	.010	-0.202	.211	-0.208	.084	-0.453	.001	-0.038	.754
TSAT (100%)	0.067	.309	0.221	.170	0.098	.419	0.080	.578	-0.101	.407
IFAb (AU/mL)	-0.193	.003	0.118	.488	-0.114	.349	-0.377	.007	-0.192	.111
STIR (μmol/L)	0.044	.505	-0.389	.013	-0.016	.896	0.126	.382	-0.051	.673
TRF (pg/L)	-0.141	.033	0.103	.525	-0.119	.326	-0.143	.323	-0.177	.142
EPO (mU/mL)	0.192	.164	-0.021	.900	0.203	.092	0.160	.268	-0.061	.618

SF, SI, EPO, IFAb, IL-6, hs-CRP levels were log-transformed.

CKD3-4 = CKD3-4 patients, CKD5 = CKD5 patients without renal replace treatment, EPO = erythropoietin, Hb = hemoglobin, HD = hemodialysis patients, hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein, IFAb = intrinsic factor antibody, IL-6 = interleukin-6, PD = peritoneal dialysis patients, RET = reticulocyte, RET-Hb = reticulocyte hemoglobin equivalent, Scr = serum creatinine, SF = serum ferritin, SI = serum iron, STIR = soluble transferrin receptor, TIBC = total iron binding capacity, TRF = transferrin, TSAT = transferrin saturation.

3.2. Pearson correlation analysis of RET-He and other indicators in each group. SF, SI, EPO, IFAb, IL-6, and hs-CRP levels were log-transformed (Table 3).

In the whole group, reticulocyte hemoglobin equivalent was associated positively with SI ($R = 0.256$, $P < .001$), TSAT ($R = 0.227$, $P = .001$) and negatively with Scr ($r = -0.234$, $P < .001$) and STIR ($r = -0.238$, $P < .001$).

In the CKD3 to 4 group, RET-He was associated positively with SI ($R = 0.321$, $P = .043$) and negatively with EPO ($r = -0.382$, $P = .015$). In the CKD5 group, RET-He was associated positively with SF ($R = 0.381$, $P = .001$), SI ($R = 0.371$, $P = .002$), and TSAT ($R = 0.276$, $P = .021$) while negatively associated with STIR ($r = -0.275$, $P = .021$). In the PD group, RET-He was associated positively with SI ($R = 0.402$, $P = .004$) and TSAT ($R = 0.394$, $P = .005$), negatively with TRF ($r = -0.352$, $P = .012$). In the HD group, RET-He was associated positively with Hb ($R = 0.265$, $P = .026$).

3.3. The association between the levels of hepcidin-25 and RET-He in each group (Table 4). SF, SI, EPO, IFAb, IL-6, hs-CRP levels were log-transformed.

Hepcidin-25 was not correlated with RET-He ($r = -0.079$, $P = .232$); and there was no correlation between hepcidin-25 and RET-He in each group; the details are as follows: CKD3 to 4 ($r = -0.049$, $P = .763$), CKD5 ($r = -0.227$, $P = .058$), PD ($R = 0.217$, $P = .130$), HD ($R = 0.005$, $P = .968$).

3.4. The multiple regression model for serum hepcidin-25 (Table 5) and RET-He (Table 6).

Multiple regression model was adjusted by age, sex, and ESA use. Table 5 shows that among these factors, IL-6 ($B = 3.685$;

$P < .001$), TIBC ($B = -0.062$; $P = .008$), and IFAb ($B = -11.612$; $P = .007$) were independently associated with hepcidin-25 levels. Table 6 shows that among these factors, Hb ($B = 0.021$; $P = .005$), Scr ($B = -0.002$; $P = .003$), RET ($B = -0.642$; $P = .023$), IL-6 ($B = -2.150$; $P = .005$), SF ($B = 1.032$; $P = .030$), SI ($B = 4.188$; $P < .001$), TSAT ($B = 0.044$; $P < .001$), and STIR ($B = -0.089$; $P < .001$) were independently associated with RET-He levels. Interleukins-6 was independently associated with hepcidin-25 and RET-He.

4. Discussion

Anemia is a major complication in patients with chronic kidney disease. The pathogenesis of anemia in CKD is multifactorial, and the inadequate production of EPO is the leading pathogenetic cause. Other factors such as shortened erythrocyte survival, iron deficiency, bleeding, and subclinical chronic inflammation may also play a role and contribute to anemia in CKD. Erythropoietin is effective if iron is available; however, unnecessary iron supplementation results in iron overload. In CKD, both iron deficiency and chronic inflammation are 2 major factors that contribute to the hypo responsiveness of erythropoietin treatment.^[20] Accumulating evidence shows that hepcidin has emerged as a central molecule that regulates iron metabolism in CKD. Hepcidin reduces iron absorption and efflux and could be predictive of iron status and the response to iron supplementation or erythropoietin-stimulating agents.^[24] Patients with CKD frequently suffer from a chronic inflammatory state which is related to several inflammatory mediators, crucially IL-6, which contributes in renal anemia and resistance to ESA. Interleukins-6 levels are increased in patients with CKD, possibly due to the effects of uremic toxins, and inversely correlate with GFR.^[27]

Hepcidin-25 is induced by inflammatory stimuli such as IL-6 in inflammation anemia, such as CKD anemia.^[24] Higher

Table 3

Pearson correlation analysis of reticulocyte hemoglobin equivalent and other indicators in each group.

	Whole		CKD3-4		CKD5		PD		HD	
	r	P value	r	P value	r	P value	r	P value	r	P value
Hb (g/L)	0.196	.003	0.286	.074	0.203	.091	0.147	.307	0.265	.026
Scr (μmol/L)	-0.234	<.001	-0.046	.780	-0.217	.071	-0.074	.611	-0.136	.263
RET (100%)	-0.150	.023	-0.246	.126	-0.148	.221	-0.193	.178	-0.082	.499
hs-CRP (mg/L)	-0.119	.072	-0.083	.611	-0.188	.118	-0.082	.573	0.065	.595
IL-6 (pg/mL)	-0.185	.005	-0.027	.868	-0.078	.519	-0.106	.466	-0.210	.081
SF (ng/mL)	0.144	.028	-0.213	.187	0.381	.001	0.097	.504	0.205	.089
SI (μmol/L)	0.256	<.001	0.321	.043	0.371	.002	0.402	.004	0.158	.191
TIBC (μmol/L)	0.029	.657	0.189	.242	0.150	.215	0.044	.763	-0.061	.613
TSAT (100%)	0.227	.001	0.124	.445	0.276	.021	0.394	.005	0.209	.083
IFAb (Au/mL)	-0.093	.158	-0.085	.601	-0.126	.297	-0.164	.255	-0.116	.341
STIR (nmol/L)	-0.238	<.001	-0.259	.106	-0.275	.021	-0.262	.066	-0.010	.938
TRF (g/L)	-0.125	.058	0.142	.382	-0.159	.188	-0.352	.012	-0.163	.179
EPO (mIU/mL)	-0.101	.128	-0.382	.015	-0.154	.204	-0.030	.835	0.017	.888

SF, SI, EPO, IFAb, IL-6, hs-CRP levels were log-transformed.

CKD3-4 = CKD3-4 patients, CKD5 = CKD5 patients without renal replace treatment, EPO = erythropoietin, Hb = hemoglobin, HD = hemodialysis patients, hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein, IFAb = intrinsic factor antibody, IL-6 = interleukins-6, PD = peritoneal dialysis patients, RET = reticulocyte, RET-He = reticulocyte hemoglobin equivalent, Scr = serum creatinine, SF = serum ferritin, SI = serum iron, STIR = soluble transferrin receptor, TIBC = total iron binding capacity, TRF = transferrin, TSAT = transferrin saturation.

Table 4

Pearson correlation analysis of reticulocyte hemoglobin equivalent and hepcidin-25 in the whole group and in each group.

	Whole	CKD3-4	CKD5	PD	HD
r	-0.079	-0.049	-0.227	0.217	0.005
P value	.232	.763	.058	.130	.968

CKD3-4 = CKD3-4 patients, CKD5 = CKD5 patients without renal replace treatment, HD = hemodialysis patients, PD = peritoneal dialysis patients.

Table 5
Multiple regression model for serum hepcidin-25.

	Univariate model		Adjusted model*	
	Nonstandardized coefficient (95% CI)	P value	Nonstandardized coefficient (95% CI)	P value
Hb (g/L)	-0.003 (-0.020, 0.014)	.718	-0.003 (-0.020, 0.014)	.727
Scr (μmol/L)	0.001 (0.000, 0.002)	.069	0.001 (0.000, 0.002)	.062
RET (%)	0.063 (-0.570, 0.696)	.844	0.045 (-0.582, 0.672)	.887
RET-He (pg)	-0.089 (-0.236, 0.057)	.232	-0.082 (-0.229, 0.065)	.274
hs-CRP (mg/L)	0.637 (-0.379, 1.654)	.218	0.397 (-0.627, 1.421)	.446
IL-6 (pg/mL)	4.035 (3.439, 5.631)	<.001	3.685 (2.040, 5.329)	<.001
SF (ng/mL)	1.000 (-0.039, 2.039)	.059	0.785 (-0.269, 1.839)	.144
SI (μmol/L)	-0.983 (-3.108, 1.141)	.363	-1.113 (-3.265, 1.038)	.309
TIBC (μmol/L)	-0.060 (-0.105, -0.014)	.010	-0.062 (-0.108, -0.016)	.008
TSAT (100%)	0.014 (-0.013, 0.042)	.309	0.013 (-0.015, 0.041)	.352
IFAb (AU/mL)	-12.602 (-20.955, -4.250)	.003	-11.612 (-19.958, -3.266)	.007
STfR (nmol/L)	0.019 (-0.038, 0.076)	.505	0.006 (-0.051, 0.063)	.831
TRF (g/L)	-0.905 (-1.734, -0.076)	.033	-0.655 (-1.516, 0.206)	.135
EPO (mU/mL)	0.617 (-0.253, 1.486)	.164	0.423 (-0.454, 1.301)	.343

SF, SI, EPO, IFAb, IL-6, hs-CRP levels were log-transformed.

EPO = erythropoietin, Hb = hemoglobin, hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein, IFAb = intrinsic factor antibody, IL-6 = interleukin-6, RET = reticulocyte, RET-He = reticulocyte hemoglobin equivalent, Scr = serum creatinine, SF = serum ferritin, SI = serum iron, STfR = soluble transferrin receptor, TIBC = total iron binding capacity, TRF = transferrin, TSAT = transferrin saturation.

* Model was adjusted by age, sex, and ESA use.

Table 6
Multiple regression model for reticulocyte hemoglobin equivalent.

	Univariate model		Adjusted model*	
	Nonstandardized coefficient (95% CI)	P value	Nonstandardized coefficient (95% CI)	P value
Hb (g/L)	0.023 (0.008, 0.037)	.003	0.021 (0.007, 0.036)	.005
Scr (μmol/L)	-0.002 (-0.003, -0.001)	<.001	-0.002 (-0.003, -0.001)	.003
RET (%)	-0.645 (-1.201, -0.089)	.023	-0.642 (-1.194, -0.090)	.023
Hepcidin-25 (ng/mL)	-0.070 (-0.186, 0.045)	.232	-0.065 (-0.182, 0.052)	.274
hs-CRP (mg/L)	-0.827 (-1.726, 0.073)	.072	-0.846 (-1.753, 0.061)	.067
IL-6 (pg/mL)	-2.113 (-3.580, -0.647)	.005	-2.150 (-3.651, -0.649)	.005
SF (ng/mL)	1.030 (0.109, 1.950)	.028	1.032 (0.098, 1.966)	.030
SI (μmol/L)	3.710 (1.883, 5.537)	<.001	4.188 (2.347, 6.029)	<.001
TIBC (μmol/L)	0.009 (-0.032, 0.050)	.657	0.021 (-0.021, 0.062)	.331
TSAT (100%)	0.043 (0.019, 0.067)	.001	0.044 (0.020, 0.068)	<.001
IFAb (AU/mL)	-5.407 (-12.933, 2.120)	.158	-4.985 (-12.517, 2.547)	.194
STfR (nmol/L)	-0.092 (-0.141, -0.043)	<.001	-0.089 (-0.139, -0.040)	<.001
TRF (g/L)	-0.713 (-1.451, 0.025)	.058	-0.707 (-1.472, 0.058)	.070
EPO (mU/mL)	-0.599 (-1.370, 0.173)	.128	-0.647 (-1.426, 0.131)	.103

SF, SI, EPO, IFAb, IL-6, hs-CRP levels were log-transformed.

EPO = erythropoietin, Hb = hemoglobin, hs-CRP = high sensitivity C-reactive protein, IFAb = intrinsic factor antibody, IL-6 = interleukin-6, RET = reticulocyte, RET-He = reticulocyte hemoglobin equivalent, Scr = serum creatinine, SF = serum ferritin, SI = serum iron, STfR = soluble transferrin receptor, TIBC = total iron binding capacity, TRF = transferrin, TSAT = transferrin saturation.

* Model was adjusted by age, sex, and ESA use.

circulating levels of IL-6 increase the expression of hepcidin, leading to iron sequestration, decreased iron absorption, and lack of iron availability for erythropoiesis. In this study, we measured hepcidin-25 and IL-6, which had a higher level in HD patients compared with non-dialysis patients. In the multiple regression model IL-6 was independently associated with hepcidin-25 levels. Pearson correlation analysis revealed that hepcidin-25 was positively associated with IL-6, and negatively with TIBC, IFAb, and TRF, but not associated with Hb, Scr, RET, hs-CRP, SF, SI, TSAT, STfR, and EPO. In the non-dialysis group, hepcidin-25 had no significant correlation with IL-6, whereas in the dialysis group, hepcidin-25 was positively associated with IL-6, which may be related to our small sample size in each group. This may indicate a likelihood of a threshold for stimulation of hepcidin-25 expression by IL-6.

In recent years, RET-He, whose values are equivalent to reticulocyte hemoglobin content, has emerged as an additional parameter that is helpful in identifying iron-deficient erythropoiesis.^[29] Reticulocyte hemoglobin equivalent is advantageous as it does not interfere with inflammatory conditions and can

be easily measured with a widely available and popular blood cell counter.^[30] Previous research has found that hepcidin indirectly regulates the content of hemoglobin in reticulocytes, and RET-He measurements serve as an indicator of iron deficiency secondary to an increase in hepcidin since hepcidin inhibits the efflux of iron and decreases available iron.^[32] In our study, we also studied the RET-He and its correlation with other indicators. Pearson correlation analysis revealed that RET-He was associated positively with Hb, SF, SI, TSAT, and negatively with Scr, RET, IL-6, STfR, and there was no association with hs-CRP, TIBC, IFAb, TRF, and EPO. In order to prove whether there is correlation between hepcidin-25 and RET-He in CKD, we conducted a Pearson correlation analysis for hepcidin-25 and RET-He in the whole group and each group; the results showed that hepcidin-25 was not correlated with RET-He, and there was no correlation between hepcidin-25 and RET-He in each group. Previous research showed that RET-He values decreased in response to increased hepcidin during septic shock^[32] and community-acquired pneumonia (CAP)^[33] which was not consistent with our results. We consider that it may be related to the

degree of inflammatory response, unlike septic shock and CAP, CKD belong to chronic microinflammatory condition.

In this study, multiple regression analyses also revealed that IL-6 and TIBC were associated with hepcidin-25 levels. Serum creatinine, SI, SE, TSAT, RET, STIR, Hb, and IL-6 levels were associated with RET-He levels. IL-6 is related to both hepcidin-25 and RET-He. Chronic Kidney Disease patients suffer from chronic inflammation due to high level of IL-6; while higher circulating levels of IL-6 increase the expression of hepcidin-25, promote the synthesis and secretion of hepcidin-25 in CKD. We infer that in acute and severe inflammation, increase in hepcidin secretion decreases the release of recycled heme iron by macrophages, increases the sequestration of iron stores in hepatocytes, and reduces circulating free iron, leading to a decrease in RET-He, severe deficiency of iron absorption in the body, and aggravation of anemia. In this study, hepcidin-25 was not associated with RET-He, these results indicated that hepcidin-25 could not regulate the expression of RET-He in the CKD which may relate to IL-6 level.

The limitation of this study is the lack of longitudinal analysis; we will collect longitudinal data and complete the following study. Some patients with CKD were found for the first time and had not been treated in the early stage, so patients on CKD5 non-dialysis have hemoglobin concentration below current guideline recommendations.

5. Conclusion

No correlation was found between the serum hepcidin levels and reticulocyte hemoglobin levels in this study, suggesting that hepcidin does not directly regulate iron dynamics of reticulocytes in CKD, which may relate to IL-6 level. The specific mechanism needs to be further studied.

Author contributions

Conceptualization: Zhaoli Gao, Zhao Hu.

Data curation: Zhaoli Gao, Xiaotian Ma.

Formal analysis: Zhaoli Gao, Xiaotian Ma.

Writing – original draft: Zhaoli Gao, Yingying Hu, Yanxia Gao, Zhao Hu.

Writing – review & editing: Zhaoli Gao, Zhao Hu.

References

- [1] Lankhorst CE, Wish JB. Anemia in renal disease: diagnosis and management. *Blood Rev.* 2010;24:39–47.
- [2] Del Vecchio L, Locatelli F. New treatment approaches in chronic kidney disease-associated anemia. *Expert Opin Biol Ther.* 2014;14:687–96.
- [3] Somvanshi S, Khan NZ, Ahmad M. Anemia in chronic kidney disease patients. *Clin Queries Nephrol.* 2012;1:198–204.
- [4] Davidkova S, Prestidge TD, Reed FW, et al. Comparison of reticulocyte hemoglobin equivalent with traditional markers of iron and erythropoiesis in pediatric dialysis. *Pediatr Nephrol.* 2016;31:819–26.
- [5] Babitt JL, Lin HY. Mechanisms of anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23:1631–4.
- [6] Besarab A, Coyne DW. Iron supplementation to treat anemia in patients with chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol.* 2010;6:699–710.
- [7] Atkinson MA, Warady BA. Anemia in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2018;33:227–38.
- [8] Kali A, Charles MV, Setharam RS. Hepcidin - a novel biomarker with changing trends. *Pharmacogn Rev.* 2015;9:35–40.
- [9] Rishi G, Wallace DF, Subramaniam VN. Hepcidin: regulation of the master iron regulator. *Biosci Rep.* 2015;35:e00192.
- [10] Schmidt PJ. Regulation of iron metabolism by hepcidin under conditions of inflammation. *J Biol Chem.* 2015;290:18975–83.
- [11] Nalado AM, Olorunfemi G, Dix-Peek T, et al. Hepcidin and GDF-15 are potential biomarkers of iron deficiency anaemia in chronic kidney disease patients in South Africa. *BMC Nephrol.* 2020;21:415.
- [12] Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest.* 2004;113:1271–6.
- [13] Pigron C, Ilyin G, Coursaud B, 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;276:7811–9.
- [14] Yilmaz M, Solak Y, Coric A, et al. Renal anemia of inflammation: the name is self-explanatory. *Blood Purif.* 2011;32:220–5.
- [15] Aslam W, Habib M, Aziz S, et al. Reticulocyte hemoglobin equivalent: diagnostic performance in assessment of iron deficiency in patients with hypothyroidism. *Anemia.* 2021;2021:9071057.
- [16] German K, Vu PT, Irvine JD, et al. Trends in reticulocyte hemoglobin equivalent values in critically ill neonates, stratified by gestational age. *J Perinatol.* 2019;39:1268–74.
- [17] Ennis KM, Dahl LV, Rao RB, et al. Reticulocyte hemoglobin content as an early predictive biomarker of brain iron deficiency. *Pediatr Res.* 2018;84:765–9.
- [18] Tantawy AA, Ragab IA, Ismail EA, et al. Reticulocyte hemoglobin content (Ret-He): a simple tool for evaluation of iron status in childhood cancer. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2020;42:e147–51.
- [19] Sany D, El Shahawi Y, Taha J. Diagnosis of iron deficiency in hemodialysis patients: Usefulness of measuring reticulocyte hemoglobin equivalent. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2020;31:1263–72.
- [20] Wirawan R, Tedja AT, Henrika F, et al. Concordance between reticulocyte hemoglobin equivalent and reticulocyte hemoglobin content in CKD patients undergoing hemodialysis. *Acta Med Indones.* 2017;49:34–40.
- [21] Eguichi A, Mochizuki T, Tsukada M, 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.
- [22] Olinder J, Ehinger D, Liljenburg E, et al. Plasma levels of hepcidin and reticulocyte haemoglobin during septic shock. *J Innate Immun.* 2020;12:448–60.
- [23] Levin A, Stevens PE, Bolas RW, et al. Kidney disease: improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;3:1–150.
- [24] Yap E, Pryszczynek Y, Ouyang J, et al. The implication of dropping race from the MDRD equation to estimate GFR in an African American-only cohort. *Int J Nephrol.* 2021;2021:1880499.
- [25] Malyszko J, Malyszko JS, Matuszkiewicz-Rowinska J. Hepcidin as a therapeutic target for anemia and inflammation associated with chronic kidney disease. *Expert Opin Ther Targets.* 2019;23:407–21.
- [26] Ueda N, Takasawa K. Role of hepcidin-25 in chronic kidney disease: anemia and beyond. *Curr Med Chem.* 2017;24:1417–52.
- [27] Coyne DW, Fleming R. Will targeting interleukin-6 in the anemia of CKD change our treatment paradigm? *J Am Soc Nephrol.* 2021;32:6–8.
- [28] Akchurin O, Patino E, Dalal V, et al. Interleukin-6 contributes to the development of anemia in juvenile CKD. *Kidney Int Rep.* 2019;4:470–83.
- [29] Auerbach M, Staffa SJ, Brugnara C. Using reticulocyte hemoglobin equivalent as a marker for iron deficiency and responsiveness to iron therapy. *Mayo Clin Proc.* 2021;96:1510–9.
- [30] Dalimunthe NN, Lubis AR. Usefulness of reticulocyte hemoglobin equivalent in management of regular hemodialysis patients with iron deficiency anemia. *Rons J Intern Med.* 2016;54:31–6.
- [31] Schoorl M, Snijders D, Schoorl M, et al. 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.

Reticulocyte parameters for monitoring anemia in patients with chronic kidney disease on peritoneal dialysis

Parâmetros reticulocitários para monitoramento de anemia em pacientes com doença renal crônica em diálise peritoneal

Júlio C. Merlin¹; Andrea N. M. Amara¹; Lígia Claro²; Thyago P. Moraes¹; Cynthia L. Erthal¹; Roberto Pecoits Filho¹

1. Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil. 2. Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

ABSTRACT

Introduction: Anemia is a complication with impact on morbidity and mortality in chronic kidney disease (CKD) patients. Current markers for the diagnosis and monitoring of anemia in CKD are limited by the interrelation between erythropoiesis, iron stores, inflammation, and the resistance to treatment with erythropoiesis stimulant agents (ESA). **Objective:** The aim of this study was to analyze the role of immature reticulocyte fraction (IRF) and hemoglobin concentration in reticulocytes (RET-He) by the hematology analyser Sysmex XN-5000 in the monitoring of CKD anemia in peritoneal dialysis patients. **Methods:** This was a prospective, observational multicenter study which compared IRF and RET-He with parameters recommended by the guidelines. Inflammatory biomarkers were analyzed by the Luminex® Multiplexing Instruments system. Thirty-five patients (59 ± 13 years old; 51% men) were included in the analysis. **Results:** Hemoglobin was 12.2 ± 2 g/dl; 87% had resistance to ESA. Patients with erythropoietin resistance index (ERI) in the upper quartile presented a significantly higher of IRF and a lower percentage of iron deficiency (12%) compared to ferritin (82%) and transferrin saturation index (STI) (51%). Interleukin-6 (IL-6) levels correlated with the percentage of medium fluorescence reticulocyte (MFR) ($r = 0.45, p < 0.05$). Hemoglobin values after 60 and 180 days were consistently higher in the group of patients with a IRF% lower than 10.5. **Conclusion:** IRF and RET-He may add value in the iron deficiency investigation, as well as in the identification of patients with ERI. Due to the restricted number of patients analyzed in this study, future studies should be encouraged in larger populations and with prospective follow-up, to validate our findings.

Key words: anemia; reticulocytes; peritoneal dialysis; kidney failure chronic.

RESUMO

Introdução: Anemia é uma complicação com impacto na morbidade e na mortalidade de pacientes com doença renal crônica (DRC). Os biomarcadores utilizados no diagnóstico e no monitoramento de anemia na DRC são limitados devido à inter-relação entre eritropoiese, estoque de ferro, inflamação e resistência à terapêutica com agentes estimuladores da eritropoiese (AEE). **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi analisar o papel dos marcadores fração de reticulócitos imaturos (IRF) e concentração de hemoglobina nos reticulócitos (RET-He) do analisador hematológico Sysmex XN 5000 no monitoramento da anemia em pacientes em diálise peritoneal. **Métodos:** Estudo prospectivo, observacional e multicêntrico que comparou IRF e RET-He com parâmetros laboratoriais recomendados pelos guidelines. Biomarcadores inflamatórios foram analisados pelo sistema Luminex® Multiplexing Instruments. Este estudo incluiu 35 pacientes (59 ± 13 anos; 51% homens). **Resultados:** Os valores de hemoglobina foram 12,2 ± 2 g/dl; 87% apresentaram resistência a AEE. Pacientes com índice de resistência à eritropoietina (IRE) no quartil superior apresentaram valores significativamente maiores de IRF e menor porcentagem de deficiência de ferro (12%) em comparação com pacientes

First submission on 05/06/20; last submission on 05/12/20; accepted for publication on 08/14/20; published on 07/20/21

e3182021

1

10.5935/jbpm.2104.20210058

com ferritina (82%) e índice de saturação de transferrina (ST) (51%). Os níveis de interleucina 6 (IL-6) correlacionaram-se com a porcentagem de reticulócitos de fluorescência média (MFR) ($r = 0,45$, $p < 0,03$). Valores de hemoglobina após 60 e 180 dias foram consistentemente mais altos no grupo de pacientes com IRP% menor que 10,5. **Conclusão:** IRF e RET-He podem agregar valor na investigação da deficiência de ferro, bem como na identificação do índice de existência à eritropoietina (ERI). Devido ao número restrito de pacientes analisados neste trabalho, estudos futuros devem ser estimulados em populações maiores e com acompanhamento prospectivo, para validação dos nossos achados.

Unitermos: anemia; reticulócitos; diálise peritoneal; insuficiência renal crônica.

RESUMEN

Introducción: La anemia es una complicación con impacto en la morbimortalidad en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC). Los biomarcadores usados para el diagnóstico y seguimiento de la anemia en la ERC están limitados por la interrelación entre eritropoyesis, depósitos de hierro, inflamación y resistencia al tratamiento con agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE). **Objetivo:** El objetivo de este estudio fue analizar el papel de la fracción de reticulocitos inmaduros (IRF) y el equivalente de hemoglobina en reticulocitos (RET-He) mediante el analizador hematológico Sysmex XN-5000 en el seguimiento de la anemia por ERC en pacientes en diálisis peritoneal. **Métodos:** Estudio prospectivo, observacional multicéntrico que comparó IRF y RET-He con los parámetros recomendados por las guías. Los biomarcadores inflamatorios fueron analizados por el sistema Luminex® Multiplexing Instruments. Este estudio incluyó a 35 pacientes (59 ± 13 años; 51% hombres). **Resultados:** La hemoglobina fue de $12,2 \pm 2$ g/dl; el 87% tenía resistencia a AEE. Los pacientes con índice de resistencia a la eritropoietina (IRE) en el cuartil superior tenían un IRF significativamente más alto y un porcentaje más bajo de deficiencia de hierro (12%) en comparación con la ferritina (82%) y las ITS (51%). Los niveles de interleucina-6 (IL-6) se correlacionaron con el porcentaje de reticulocitos de fluorescencia media (MFR) ($r = 0,45$, $p < 0,03$). Los valores de hemoglobina después de 60 y 180 días, fueron consistentemente más altos en el grupo de pacientes con IRP% inferior a 10,5. **Conclusión:** IRF y RET-He pueden agregar valor en la investigación de ferropenia, así como en la identificación de pacientes con ERI. Debido al número limitado de pacientes analizados en este estudio, se deben impulsar estudios futuros en poblaciones más grandes y con seguimiento prospectivo, para validar nuestros hallazgos.

Palabras clave: anemia; reticulocitos; diálisis peritoneal; insuficiencia renal crónica.

INTRODUCTION

Anemia in chronic kidney disease (CKD) is multi-factorial, but mainly driven by erythropoietin (EPO) production deficiency and depletion of iron reserves⁽¹⁻³⁾. Inflammation is also an important determinant in a sub-group of patients, as it interferes directly with iron mobilization and determines EPO resistance⁽¹⁻³⁾. Inflammation in CKD increases the concentration of inflammatory cytokines, interleukin-6 (IL-6) being the principal cytokine responsible for the activation of hepcidin expression^(5,6). Iron stores can be monitored by ferritin and serum levels by iron transferrin saturation (STI), as well as by hemoglobin⁽⁶⁾. Thus, in inflammatory situation, high levels of hepcidin directly and negatively interfere with the availability of iron in erythropoiesis, and may cause anemia, mainly due to iron functional deficiency.

Indeed, relative and absolute reticulocyte count is the principal marker the evaluation of the erythropoietic activity of the bone marrow⁽¹⁰⁾. Although all of these markers are used in clinical practice, they are far from ideal real-time indicators.

Different parameters have been described in the literature, but not much yet evaluated in the CKD population, especially in patients undergoing peritoneal dialysis (PD). Equivalent of hemoglobin concentrations in reticulocytes (RET-He) represents the degree of hemoglobinization that has occurred in the bone marrow which is dependent on iron availability^(11,12). Thus potentially allows an early evaluation, for clinical diagnosis, monitoring and define intervention, particularly in patients with CKD using erythropoiesis stimulating agents (ESA) and iron supplementation⁽¹³⁾. Additionally, immature reticulocytes fraction (IRF) is an excellent marker of nearly real-time erythropoietic

activity since it represents the proportion of younger reticulocytes in the peripheral blood and rises much earlier than the total number of reticulocytes^(5,11,14). These parameters may be useful in the monitoring and management of patients with renal anemia, particularly those on PD.

Due to their conceptual characteristics and because they do not suffer direct analytical interference from inflammation, these reticulocytes markers may identify earlier and better the general iron status and erythropoietic activity of the bone marrow in patients with CKD on PD when compared to conventional markers such as ferritin, transferrin saturation index and reticulocytes count.

OBJECTIVE

Analyse the role of the hematological parameters IRF and RET-He in the monitoring and identification of ESA resistance of CKD anemia in peritoneal dialysis patients.

METHODS

This was a prospective, multi-centric study, including patients with stage 5 CKD on continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD/APD) for at least 30 days, over 18 years of age, with or without therapeutic use of ESA and iron supplements, and who signed the informed consent (project with approval at Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (CEP)-Universidade Estadual de Londrina (UEL) under number: 357/2011). The venous blood samples for the laboratory tests and for blood counts were obtained in tubes with ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)-K₂ and in dry tubes with no anticoagulant, using separator gel and clot activator for measuring inflammatory biomarkers.

Complete blood count (CBC) were processed on the same day of collection for up to a maximum of 4 hours in a hematological analyzer (Sysmex, model XE-5000) to obtain hemoglobin parameters, RET-He, relative reticulocyte count (RET%), immature reticulocytes fraction (IRF%), and their fractions [low fluorescence reticulocyte fraction (LRF%), medium fluorescence reticulocyte (MFR%) and high fluorescence reticulocyte fraction (HFR%)]. Inflammatory biomarkers were measured using the Luminex[®] Multiplexing Instruments (Luminex[®] xMAP[®] Technology), in a single sample for all of the following markers:

interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1).

The demographic and clinical data of the participants were obtained from the medical records, using data from six months before and after the date of sample collection. To evaluate the association between two quantitative variables, the Pearson or Spearman correlation coefficients were estimated. Student's *t*-test or the non-parametric Mann-Whitney tests were used for independent samples *t* for comparison between two groups defined by the erythropoietin resistance index (ERI) that was calculated using the mean weekly dose of the last six months of EPO (micrograms) by their weight (kg) and hemoglobin (Hb) concentration (dose EPO/weight/Hb).

The normality of the variables was evaluated by the Shapiro Wilks test and *p*-values of 0.05 indicated statistical significance. The data were analyzed using the IBM SPSS Statistics v20 program.

RESULTS

Population characteristics and clinical and laboratorial data

Thirty-five patients under peritoneal dialysis, at least 30 days previously, accepted to participate and were included in the study. Demographic, clinical and laboratory data are described on **Table 1**.

Analysis of iron deficiency using ferritin, TSI% and RET-He

Ferritin, TSI%, and RET-He parameters were used to evaluate the availability of iron, following the cutoff criteria proposed by KDIGO (2012)⁽¹⁵⁾ of below 500 μ g/l for ferritin, less than or equal to 30% for TSI and less than 29 μ g for RET-He. The results are shown in **Table 2**.

Analysis da erythropoietin resistance

We calculated erythropoietin resistance index (ERI) for 23 individuals and 86.9% (20/23) presented EPO resistance (values greater than 0.02 μ g according to KDIGO, 2012⁽¹⁶⁾). However, when the ERI values were classified by quartiles (the cut-off of the 3rd quartile being 0.102 μ g) 30.5% (7/23) were above this cut-off. For those who were in the fourth quartile, there was a significant difference for RET-He (*p* < 0.05) when compared to other quartiles.

TABLE 1 – General characteristics of the studied population

Variable	Values
Age (years)	59.7 ± 13.4
Male gender	51.4%
Causes of CKD	
Diabetes mellitus	42.9%
Polycystic kidneys	8.6%
Nephrosclerosis	8.6%
Other causes	40%
Dialysis time (months)	32.8 ± 30.5
APD	100%
BMI	27.4 ± 4.9
ESA use	67.6%
ESA dose	6,223 ± 3,525 (IU/week)
	51.7 ± 29.3 (µg/week)
ERI (ESA/Weight/Hb)	0.071 ± 0.039 (µg)
ERI > 0.02 µg	86.9%
Hemoglobin	12.2 ± 2 (g/dl)
Hemoglobin < 11 g/dl	32.4%
Ferritin	277.5 ± 272.7 (µg)
STI	32.5 ± 10.7 (%)

CKD: chronic kidney disease; APD: continuous ambulatory peritoneal dialysis; BMI: body mass index; ESA: erythropoiesis stimulant agents; ERI: erythropoietin resistance index; Hb: hemoglobin; STI: transferrin saturation index.

TABLE 2 – Deficiency of iron availability and stores, using the parameters ferritin, STI% and RET-He

Iron deficiency	n	%
Ferritin < 500 µg	28	82.1
STI ≤ 30%	29	51.7
RET-He < 29 pg	34	11.8

STI: transferrin saturation index; RET-He: reticulocyte hemoglobin equivalent.

Comparative analysis of erythropoietic activity by RET%, RET#, IRF%, RET-He and ERI

Erythropoietic activity of the bone marrow was evaluated by the reticulocyte parameters (RET%, RET#, IRF%, LFR%, MFR% and HFR% and RET-He), the results of which are shown on Table 3. For each of the reticulocyte variables, we tested the null and alternative hypotheses that the means would be the same or different in the groups, respectively, defined by the fourth quartile (≤ 0.102 or > 0.102). There was a significant difference for the IRF%, MFR% and LFR% ($p < 0.05$) (Table 4, Figures 1 and 2).

Analysis of inflammation by biomarkers, reticulocytes parameters and ERI

The values for the inflammatory biomarkers, IL-1 β , IL-6, MCP-1 and TNF- α , found in each sample, without exception, were above the maximum reference value reported for each biomarker.

IL-6 showed the inverse correlation with reticulocyte parameters (Table 5).

TABLE 3 – Values found for reticulocyte counts: RET%, RET#, IRF%, and RET-He

Variable	n	Mean
RET%	34	1.49 ± 0.55
RET#	34	56,585 ± 16,367
IRF%	34	9.22 ± 5.51
LFR(%)	34	90.8 ± 5.5
MFR(%)	34	8.19 ± 4.66
HFR(%)	34	1.05 ± 0.95
RET-He (pg)	34	34 ± 4.8

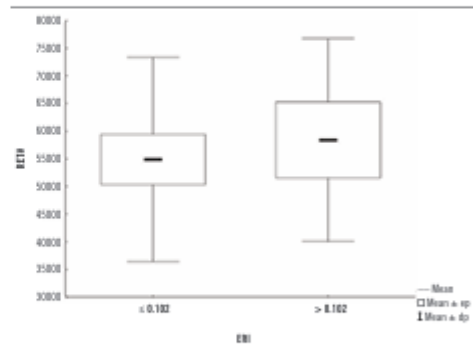
RET%: relative reticulocyte count; RET#: absolute reticulocyte count; IRF%: immature reticulocyte fraction; LFR(%): low fluorescence reticulocyte fraction; MFR(%): medium fluorescence reticulocyte fraction; HFR(%): high fluorescence reticulocyte fraction; RET-He: reticulocyte hemoglobin equivalent.

TABLE 4 – Values found for reticulocyte counts: RET%, RET#, IRF%, and RET-He

Variable	ERI (cut at 4 th quartile)	n	Mean	4 th quartile	p value
RET%	≤ 0.102	16	1.53 ± 0.58	1.9	0.766
	> 0.102	7	1.45 ± 0.64	2.04	
RET#	≤ 0.102	16	54,875 ± 18,457	67,800	0.678
	> 0.102	7	58,386 ± 18,350	74,900	
IRF%	≤ 0.102	16	7.5 ± 4.61	11.45	0.028
	> 0.102	7	13.76 ± 8.15	21.1	
LFR(%)	≤ 0.102	16	92.5 ± 4.61	96.4	0.028
	> 0.102	7	86.24 ± 8.15	95	
MFR(%)	≤ 0.102	16	6.66 ± 3.91	10.05	0.03
	> 0.102	7	11.86 ± 6.87	18.3	
HFR(%)	≤ 0.102	16	0.84 ± 0.79	1.65	0.076
	> 0.102	7	1.9 ± 1.35	3	

Student's t-test for independent samples (RET%, RET#, IRF%, LFR%) and MFR(%), HFR(%)) or non-parametric Mann-Whitney test: $p < 0.05$.

RET%: relative reticulocyte count; RET#: absolute reticulocyte count; IRF%: immature reticulocyte fraction; ERI: erythropoietin resistance index; LFR(%): low fluorescence reticulocyte fraction; MFR(%): medium fluorescence reticulocyte fraction; HFR(%): high fluorescence reticulocyte fraction.

FIGURE 1 – RET% by ERI, 4th quartile versus other quartiles (0.102)

RET%: count of reticulocytes; ERI: erythropoietin resistance index.

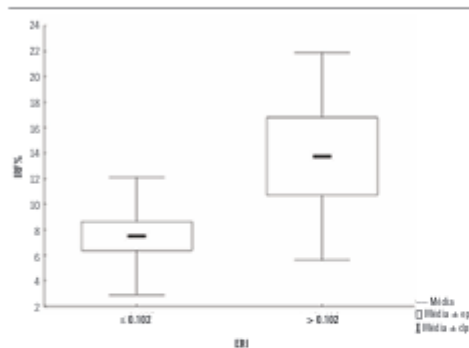


FIGURE 2 – IRF% by ERI, 4th quartile versus other quartiles (0.102)

IRF%: number of immature reticulocyte; ERI: erythropoietin resistance index.

TABLE 5 – Correlation analysis between IL-6 and erythropoietic activity

Variables	n	Correlation coefficient	p value
RET% × IL-6	23	0.14*	0.52
RET% × IL-6	23	0.36*	0.093
IRF% × IL-6	23	0.39*	0.062
LFR(%) × IL-6	23	-0.39*	0.062
MFR(%) × IL-6	23	0.45*	0.03
HRF(%) × IL-6	23	0.21*	0.344

*Spearman correlation coefficient.

RET%: relative reticulocyte count; RET%: absolute reticulocyte count; IRF%: immature reticulocyte fraction; LFR(%): low fluorescence reticulocyte fraction; MFR(%): medium fluorescence reticulocyte fraction; HRF(%): high fluorescence reticulocyte fraction; IL-6: interleukin-6.

Correlation analysis between hemoglobin and IRF%

Hemoglobin values at the moment of analysis, and after 60 and 180 days were consistently higher in the group of patients with a IRF% lower than 10.5 (Table 6).

TABLE 6 – Correlation analysis between Hb values and IRF%, considering values ≤ 10.5 and > 10.5

Variable	IRF%	n	Mean	p value*
Hb (current)	≤ 10.5	21	12.8 ± 2.1	0.029
	> 10.5	13	11.3 ± 1.4	
Hb pg/dl (60 days)	≤ 10.5	17	12.7 ± 2	0.045
	> 10.5	11	11.6 ± 0.7	
Hb pg/dl (180 days)	≤ 10.5	11	13 ± 2.7	0.02
	> 10.5	8	11.1 ± 1.3	

*Student's t-test for independent samples (Hb pg/dl – 60 and 180 days later) or non-parametric Mann-Whitney test; p < 0.05; Hb: hemoglobin.

DISCUSSION

Anemia is an early and frequent complication in patients with CKD, especially for those on dialysis, and is associated with high morbidity and mortality. However, resistance to ESA treatment associated with chronic inflammation in these patients is an important cause of persistent anemia. In view of limited clinical and laboratory tools currently used for the diagnosis, monitoring and treatment of anemia in CKD, in the present study we analyzed the potential of hematological parameters of reticulocytes, IRF and RET-He, that could improve this process^{13, 19}.

In the present study, 32.4% (11/34) of the individuals presented Hb < 11 g/dl, corroborating the findings of Gonçalves & Pecoits-Filho (2013)²⁶ (38% in a similar population), and Alves *et al.* (2015)²³ presenting 34% in patients with CKD on hemodialysis (HD). However, it was lower than that related by Kanbay *et al.* (2010)²⁷, who reported about 90% of patients with a glomerular filtration rate of less than 25–30 ml/min with anemia. In view of these findings, the studied population seemed to represent a typical, clinically stable population on peritoneal dialysis, and therefore, adequate for a study of anemia with new diagnostic perspectives.

Iron deficiency is prevalent in 50% of patients with CKD. Ferritin and TS1% are the main available markers of iron stores and systemic iron, however, their values can be overestimated in situations of chronic inflammatory disease such as anemia in CKD and in PD. For this reason, the goal of this study was use reticulocytes parameters IRF and RET-He as markers of iron and erythropoietic activity that are not influenced by inflammation and may better reflect the real status of these two factors. RET-He has been demonstrated to be a marker with good sensitivity and precocity for the assessment of iron deficiency, and the adequacy of iron stores and availability²⁸. Although there are several studies that suggest reference or cutoff values for RET-He, few refer specifically to patients with CKD and PD. The cut-off value proposed in the present study was suggested by the NKF-KDOQI (29 pg), in agreement with the British Guidelines for Laboratory Diagnosis of Functional Iron Deficiency and with the work of Piva *et al.* (2014)²⁸, who demonstrated a higher positive predictive value, when compared with ferritin values below 50 µg/l and ST1% < 13%. We observed that only 11.8% (4/34) were below recommended values, which contrasts with the high prevalence of iron deficiency assessed by TS1% or ferritin.

Future studies should establish a reference or cutoff value for monitoring iron availability in based in RET-He. This will

potentially add information in clinical practice with no additional cost, since RET-He are included in the report generated by modern analyzers^(11, 13).

When evaluating the ESA resistance in the complex context of inflammation and iron mobilization, we observed that 86.9% (20/23) of the individuals presented an ERI greater than 0.02 µg, but there was no significant difference when compared to ERI values with those of RET%, RET*, IRP% (LFR%, MFR%, HFR%) and RET-He. However, when ERI was evaluated in quartiles, it seems to be more adequate approach. In this case, there was a significant difference ($p < 0.05$) when comparing the ERI values of the 4th quartile and the values for IRP%, MFR% and LFR%, but not for RET% and RET*. This finding is striking, since RET* is the recommended exam for monitoring the management of patients with CKD on dialysis using ESA. As suggested by the International Society of Laboratory Hematology, IRP% and RET* may be useful used together because IRP% means response or acceleration and RET* effectiveness of erythropoiesis activity. Butarello *et al.* (2016)⁽¹⁸⁾ hypothesized that this relationship is variable, independent, and concordant. Elevated IRP% compared to normal or decreased RET* is the standard finding that identifies ineffective erythropoiesis. In the present study we standardized reference values for the parameters RET%, RET*, IRP%, LFR%, MFR% and HFR%, in Sysmex analyzer, model XE 5000, 0.43%-1.36%; 23,000-70,100/µl; 1.6%-10.5%; 89.9%-98.4%; 1.6%-9.5%; 0.0%-1.7%, respectively⁽²¹⁾.

In addition, in the present study, there was a significant difference between IRP% (values $\leq 10.5\%$ and $> 10.5\%$) and values of current Hb, 60 days and 180 days ($p < 0.05$). We can see that the mean value of Hb was lower for those individuals in whom the IRP% was greater than 10.5%. This fact may suggest two possible and different clinical situations for each group specifically: in the group where IRP% is lower than 10.5% and higher values for hemoglobin, it may

indicate a stable and effective erythropoiesis, corroborated by the ERI value, less than 0.102; in the group in which IRP% is higher than 10.5% and with lower hemoglobin values may indicate accelerated but ineffective erythropoietic activity or erythropoietic stress, since in this group ERI values are higher than 0.102, that is, are in the 4th quartile of resistance to EPO.

Finally, our study describes IL-6 as the inflammatory marker that demonstrates a correlation with the variables MFR% ($p = 0.03$) and tendency of association with IRP% and LFR%, both with p values = 0.062, the latter being an inverse correlation. Garza *et al.* (2003)⁽²²⁾ positions IL-6 as the main route of activation of hepcidin, directly interfering in the balance of mobility and availability of iron for erythropoiesis. IL-1 β and TNF- α suppress the expression of the EPO gene – Canziani *et al.* (2006)⁽²³⁾.

CONCLUSION

We conclude that the new reticulocytic hematological parameters IRF and RET-He, add value for the identification of iron mobilization and deficiency, as well as in the identification of patients with erythropoietin resistance induced by inflammation. Due to the small number of patients evaluated in this study, future studies should validate our findings in larger populations and with prospective follow-up.

ACKNOWLEDGEMENT

We are grateful to the Hematology Laboratory of the Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná for an important contributions to the development of this project.

REFERENCES

1. Szarova J, Ballas J, Bárány P. Inflammation and resistance to erythropoiesis-stimulating agents – what do we know and what needs to be clarified? *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20 Suppl 8: viii2-viii7. PubMed PMID: 16079326.
2. Iseki K, Kohagura K. Anemia as a risk factor for chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2007; 107: S4-9. PubMed PMID: 17943141.
3. Silva PH, Alves HB, Comar SR, Henneberg R, Merlin JC, Stinghen ST. Hematologia Laboratorial: teoria e procedimentos. Porto Alegre: Artmed; 2016.
4. Grotto HZW. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2008; 30(5): 390-97. doi: 10.1590/S1516-84842008000500012.
5. Vianna HR, Soares CMBM, Tavares MS, Teixeira MM, Silva ACS. Inflamação na doença renal crônica: papel de citocinas. *J Bras Nefrol.* 2011; 33(3): 351-64. doi: 10.1590/S0101-2802011000300012.
6. Pecoits-Filho R, Heimbürger O, Barany P, et al. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients. *Am J Kidney Dis.* 2005; 41: 1212-18. PubMed PMID: 12776273.

7. Del Vecchio L, Pozzini P, Andrucci S, Locatelli F. Inflammation and resistance to treatment with recombinant human erythropoietin. *J Ren Nutr.* 2005; 15: 137-41. PubMed PMID: 15648023.
8. Pecoito-Filho R, Carvalho MJ, Stenvinkel P, Bengt Lindholm B, Heimbürger O. Systemic and intraperitoneal interleukin-6 system during the first year of peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2006; 26: 53-63. PubMed PMID: 16538876.
9. Besarab A. Anemia and iron management. *Semin Dial.* 2011; 24(5): 498-503. doi: 10.1111/j.1525-139X.2011.00983.x
10. Braga DSGPA. Contagem global automática: parâmetros analisados, significado clínico e causas de erro [dissertation]. Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas, Universidade do Porto; 2014.
11. Chuan CL, Liu RS, Wei YH, Huang TP, Tarnag DC. Early prediction of response to intravenous iron supplementation by reticulocyte haemoglobin content and high fluorescence reticulocyte count in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 18(2): 370-7. PubMed PMID: 12543894.
12. Mast AE, Blinder MA, Dietzen DJ. Reticulocyte hemoglobin content. *Am J Hematol.* 2008; 83(4): 307-10. PubMed PMID: 18027835.
13. Alves MT, Vilaça SS, Carvalho MG, Fernandes AP, Duse LMS, Gomes KB. Resistance of dialyzed patients to erythropoietin. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015; 37(3): 190-97. doi:10.1016/j.bjh.2015.02.001.
14. Wollmann M, Gerson BMC, Schwert V, Figueroa RW, Ritzel GO. Reticulocyte maturity indices in iron deficiency anemia. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2014; 36(1): 25-28. doi: 10.5581/1516-8484.20140009.
15. KDIGO Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl.* 2012; 2(4): 279-335.
16. Gonçalves S, Dal Lago EA, Moraes TP, et al. Lack of adequate predialysis care and previous hemodialysis, but not hemoglobin variability, are independent predictors of anemia-associated mortality in incident Brazilian peritoneal dialysis patients: Results from the BRAZPD Study. *Blood Purif.* 2012; 34(3-4): 298-305. PubMed PMID: 23235144.
17. Kanbay M, Perazella MA, Kasapoglu B, Korog M, Covic A. Erythropoiesis stimulatory agent-resistant anemia in dialysis patients: review of causes and management. *Blood Purif.* 2010; 29(1): 1-12. PubMed PMID: 19816014.
18. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (Ret-He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haem.* 2006; 28(5): 303-8. PubMed PMID: 16999719.
19. Piva E, Brugnara C, Spolacore F, Plebani M. Clinical utility of reticulocyte parameter. *Clin Lab Med.* 2014; 35(1): 133-63. PubMed PMID: 25676377.
20. Butarello 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. PubMed PMID: 27195903.
21. Pekelharing JM, Hauss O, Jonge R, et al. Haematology reference intervals for established and novel parameters in healthy adults. *Sysmex J Int.* 2010; 20(1): 1-11.
22. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood.* 2003; 102(3): 783-88. PubMed PMID: 12663437.
23. Canziani MEF, Bastos MG, Bregman R, et al. Deficiência de ferro e anemia na doença renal crônica. *J Bras Nefrol.* 2006; 28(2): 86-90. doi: 10.1590/S1516-848420100005000047.

CORRESPONDING AUTHOR

Julio C. Merlin  0000-0002-8973-4806
e-mail: merlinjc1960@gmail.com



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.



Evaluation of Predicting the Value of the Reticulocyte Hemoglobin Equivalent for Iron Deficiency in Chronic Kidney Disease Patients

Kien Nguyen Trung^{#1,*}, Hung Ta Viet^{#1}, Hanh Nguyen Thi Hien¹, Van Nguyen Khanh¹, Tuyen Thai Danh¹ and Thang Le Viet²

¹Department of Hematology and Blood Transfusion, Military Hospital 103, Vietnam Military Medical University, Hanoi, Vietnam

²Department of Nephrology and Hemodialysis, Military Hospital 103, Vietnam Military Medical University, Hanoi, Vietnam

*Corresponding author: Department of Hematology and Blood Transfusion, Military Hospital 103, Vietnam Military Medical University, Hanoi, Vietnam. Email: kienkien@gmail.com

These authors are contributed equally as the first author.

Received 2021 November 22; Accepted 2022 February 17.

Abstract

Background: Iron management is essential for anemia treatment in chronic kidney disease. The reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) is a reticulocyte parameter that reflects hemoglobin synthesis of newly formed erythrocytes in the bone marrow in real-time.

Objectives: This study aims to evaluate the role of reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) in predicting iron deficiency in chronic kidney disease (CKD) patients.

Methods: Following a descriptive cross-sectional observational design, this study was conducted on 131 adult patients with CKD stages 3 - 5. Laboratory indices, including complete blood count, some biochemical indices, iron status, and reticulocyte indices (including RET-He), were measured. Iron deficiency (ID) was defined as TSAT < 20%, where serum ferritin level > 100 ng/mL was defined as functional ID, while serum ferritin level <100 ng/mL was defined as absolute ID.

Results: Nearly 42% of patients had ID. The mean concentration of RET-He in CKD patients with ID was significantly lower than that of patients without ID ($P < 0.001$). Based on the Receiver Operating Characteristic (ROC) curve model, RET-He had a good predictive value for ID in CKD patients (AUC = 0.762; $P < 0.001$; cut-off value: 28.15 g/L, the sensitivity of 45.5%, and the specificity of 100%). Serum iron, RET-He, serum albumin, and mean corpuscular volume (MCV) were independent risk factors to predict ID in CKD patients.

Conclusions: This study demonstrated that RET-He is an appropriate index to predict ID in CKD patients.

Keywords: RET-He, Iron Deficiency, CKD

1. Background

Chronic kidney disease (CKD) is a widespread health problem affecting millions worldwide. CKD not only is associated with increased incidence, prevalence, and cost of treatment but also leads to end-stage CKD. Anemia is a common complication of CKD that contributes to reduced quality of life and poor treatment outcomes (1, 2). Erythropoiesis-stimulating agents (ESAs) promote erythropoiesis in CKD patients; however, iron deficiency often leads to decreased response to treatment with ESA (3). Iron deficiency often leads to increased doses of ESAs, causing adverse effects in patients (4). Therefore, the assessment of iron status in CKD patients is essential. In clinical practice, clinicians often use traditional markers to evaluate iron status, such as serum iron, ferritin, and transferrin saturation (TSAT) levels (5). Reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) is a new indicator to assess the iron status

of immature erythrocytes, which can be measured by a flow cytometry technique (4). RET-He is a parameter that reflects hemoglobin synthesis by newly formed red blood cells in the bone marrow in real-time. In order to clarify the role of RET-He in predicting ID in CKD patients, we conducted this study to "evaluate the role of Reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) for predicting iron deficiency in chronic kidney disease patients."

2. Objectives

This study aimed to evaluate the RET-He role in predicting iron deficiency in CKD patients.

3. Methods

Following a descriptive cross-sectional observational design, this study was conducted on 131 adult patients with

CKD stages 3 - 5 attending the Department of Nephrology and Hemodialysis, Military Hospital 103, from October 2019 to October 2020. Patients aged 16 years and above, in both genders, diagnosis with CKD stages 3 - 5 (without undergoing hemodialysis) who were willing to participate were recruited in this study. We excluded patients who were on renal replacement therapy, or had a history of receiving EPO within the previous two weeks, or had a history of receiving iron therapy, and those with evidence of bleeding, infection, or blood transfusion within the past six months.

Laboratory investigation included complete blood count, conventional biochemical indices, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), free iron, and ferritin concentration tests. CKD was diagnosed and staged based on the National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcome Quality Initiative (NKF/KDOQI) criteria (6). Anemia in CKD was defined as World Health Organization (WHO) criteria (Hb < 130 g/L in males and < 120 g/L in females) (7). Serum iron profiles consist of free iron, ferritin, and TIBC, in which TIBC was estimated by a Diagnosis-Related Group TIBC (bioactive) enzyme-linked immunosorbent assay kit using the principle of competitive binding.

TSAT (%) was calculated as $(\text{serum iron} \times 100) / \text{TIBC}$. Iron deficiency (ID) was defined as TSAT < 20%, where serum ferritin level > 100 ng/mL was defined as functional ID, while serum ferritin level < 100 ng/mL was defined as absolute ID, according to the NKF's KDOQI anemia guidelines (8).

Complete blood count and reticulocyte indices were performed on a Sysmex XN1000 analyzer, Japan. RET-He was measured in the reticulocyte channel by flow cytometry using a Polymerthin fluorescent dye.

3.1. Statistical Analysis

All the continuous data were represented by the mean and standard deviation (for normally distributed data) or by the median and interquartile (for non-normally distributed data). These data were compared by the Student's *t*-test or Mann-Whitney U test, respectively. Categorical data were presented by the frequency with percentage and were analyzed using the Chi-square test. Pearson correlation was used to measure the degree of the association between linearly related variables. The receiver operating characteristic (ROC) curves with the area under the curve (AUC) were calculated to predict ID. Multivariate adjusted regression analysis was performed to determine the independent risk factors for ID (using a backward selection procedure). Statistical analysis was calculated by the Statistical Package for the Social Science version 22.0. A *P*-value < 0.05 was considered significant.

4. Results

Table 1 shows the baseline characteristics of all patients. The mean age of all patients was 51.56 ± 18.2 years, in which the proportion of males was more than 70%. There were 51 patients with CKD stages 3 - 4 in our study, and 80 patients had CKD stage 5. In our study, the proportion of hypertension, anemia, and ID were 84%, 93.1%, and 42%, respectively. The mean RET-He concentration was 30.2 ± 3.69 g/L. When comparing the demographic and laboratory characteristics between the two groups (ie, CKD stages 3 - 4 and CKD stage 5), we found no difference in some baseline characteristics such as the mean age, gender, body mass index (BMI), anemia, as well as some laboratory indices such as MCV, MCH, MCHC, absolute reticulocyte counts, and serum iron concentration. Besides, as shown in Table 1, patients with CKD stage 5 had a significantly higher proportion of hypertension, CGN etiology, moderate, and severe anemia; higher median concentration of urea, creatinine, hs-CRP, reticulocyte percentage, RET-He, serum ferritin, and TSAT; lower eGFR, serum albumin level, TIBC, and proportion of ID, as compared to those of patients with CKD stages 3 - 4.

When comparing some hematological indices based on ID status, we found that the mean concentration of MCHC and RET-He in CKD patients with ID was significantly lower than that of patients without ID ($P = 0.001$ and $P < 0.001$, respectively). CKD patients with ID had lower hemoglobin, MCH, MCHC, absolute reticulocyte count, and a higher reticulocyte percentage. However, the difference is not statistically significant, with $P > 0.05$ (Table 2).

As shown in Table 3, there was a strong positive correlation between RET-He and serum iron ($r = 0.513$, $P < 0.001$), and TSAT ($r = 0.589$, $P < 0.001$); a moderate positive correlation between RET-He and Ferritin ($r = 0.399$, $P < 0.001$); and a weak negative correlation between RET-He and TIBC ($r = -0.182$, $P = 0.037$) (Table 3).

Based on the ROC curve model, RET-He had a good predictive value of ID in CKD patients compared to some traditional iron indices (AUC = 0.762; $P < 0.001$; cut-off value: 28.15 g/L, the sensitivity of 45.5%, and the specificity of 100%) (Figure 1).

Table 4 shows that serum iron, RET-He, serum albumin, and MCV are independent risk factors for ID in CKD patients.

5. Discussion

We apply the WHO diagnostic criteria for anemia based on hemoglobin concentration (HGB). Anemia was defined as HGB < 130 g/L for adult men and < 120 g/L for women. In our study, the proportion of anemia was 93.1% (patients

Table 1. Clinical Characteristics and Laboratory Parameters for Each Chronic Kidney Disease Stage (N = 131) ^a

Clinical Characteristics and Laboratory Parameters	All Patients (N = 131)	CKD Stage 3 and Stage 4 (N = 54)	CKD Stage 5 (N = 80)	P-Value
Age (y)	50.56 ± 10.2	51.71 ± 10.11	50.19 ± 10.24	0.283
Sex				0.419
Female	36 (27.5)	12 (23.5)	24 (30)	
Male	95 (72.5)	39 (76.5)	56 (70)	
BMI	20.34 ± 1.94	20.48 ± 1.95	20.24 ± 1.93	0.495
Hypertension	110 (84)	36 (70.6)	74 (92.5)	0.001
Etiology				0.001
CGN	62 (47.3)	15 (29.4)	47 (58.8)	
Chronic pyelonephritis	24 (18.3)	15 (29.4)	9 (11.3)	
Diabetes	19 (14.5)	9 (17.6)	10 (12.5)	
Hypertension	20 (15.3)	12 (23.5)	8 (10)	
Polycystic kidney diseases	6 (4.6)	0 (0)	6 (7.5)	
Serum Urea (mmol/L)	23.8 (15.3 - 35.4)	33.3 (9.8 - 47.5)	31.6 (24.94 - 41.2)	< 0.001
Serum creatinine (μmol/L)	503 (265 - 886)	201 (185 - 294)	752 (577.25 - 1000.25)	< 0.001
eGFR (ml/min/1.73 m²)	10.5 (5.7 - 20.4)	28.9 (6.9 - 35.9)	6.5 (5.02 - 9.5)	< 0.001
Serum albumin (g/L)	35.93 ± 6.32	37.43 ± 5.73	34.97 ± 6.21	0.024
hs-CRP (mg/L)	2.5 (0.5 - 8.8)	1.08 (0.32 - 3.25)	3.1 (1.1 - 14.87)	0.003
Anemia	122 (93.1)	45 (88.2)	77 (96.3)	0.153
Severity of anemia				< 0.001
Mild	41 (33.6)	27 (60)	34 (42.5)	
Moderate	46 (37.7)	15 (33.3)	31 (40.3)	
Severe	35 (28.7)	3 (6.7)	32 (41.6)	
Hb (g/L)	96.00 ± 26.45	107.88 ± 29.4	88.44 ± 21.33	< 0.001
MCV (fL)	85.05 ± 8.01	83.35 ± 9.07	86.13 ± 7.02	0.069
MCH (pg)	27.93 ± 3.19	27.44 ± 3.48	28.25 ± 2.98	0.377
MCHC (g/L)	324.17 ± 22.33	321.56 ± 19.09	325.83 ± 24.34	0.288
RET# (T/L)	0.071 (0.062 - 0.084)	0.071 (0.062 - 0.075)	0.073 (0.064 - 0.085)	0.771
RET% (%)	2.00 ± 0.65	1.84 ± 0.5	2.1 ± 0.72	0.932
RET-Hb (g/L)	30.2 ± 3.69	29.33 ± 4.35	30.9 ± 3.2	0.01
Serum iron (μmol/L)	10.8 (6.6 - 15.1)	10.8 (7.2 - 15.1)	10.85 (6.45 - 14.9)	0.518
Ferritin (ng/mL)	169.37 (73.02 - 488.28)	252.6 (107.1 - 405.65)	404.38 (169.38 - 540.02)	0.040
TIBC (μmol/L)	51.47 (39.57 - 72.3)	72.3 (67.9 - 81.25)	43.38 (35.69 - 59.82)	< 0.001
TSAT (%)	20.58 (12.73 - 24.36)	17.65 (10.33 - 20.58)	22.46 (18.05 - 30.96)	< 0.001
Iron deficiency				0.002
Yes	55 (42)	30 (58.8)	25 (31.2)	
No	76 (58)	21 (41.2)	55 (68.8)	

Abbreviations: CKD, chronic kidney disease; BMI, body mass index; CGN, chronic glomerulonephritis; eGFR, estimated glomerular filtration rate; hs-CRP, high-sensitivity C-reactive protein; Hb, hemoglobin; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular Hb; MCHC, mean corpuscular Hb concentration; RET#, absolute reticulocyte count; RET%, reticulocyte percentage; RET-Hb, reticulocyte hemoglobin equivalent; TIBC, total iron-binding capacity; TSAT, transferrin saturation; SD, standard deviation.

^a All the continuous data were represented by the mean ± SD (for normally distributed data) or by the median and interquartile (for non-normally distributed data). Categorical data were presented by the No. (%).

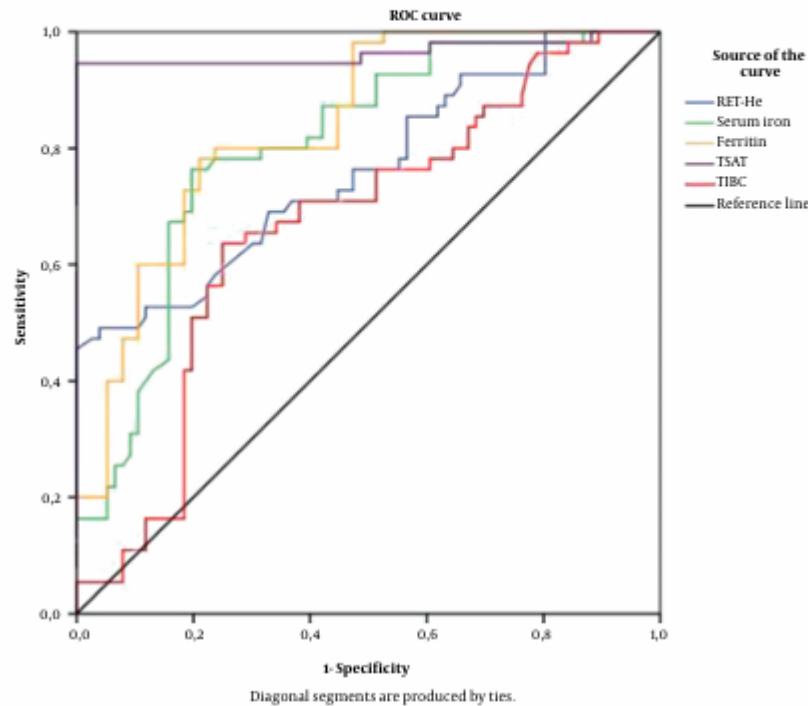


Figure 1. Receiver operating characteristics (ROC) curves of RET-He and some iron status indices for prediction of iron deficiency in CKD patients ($n = 138$). RET-He: AUC = 0.762; $P < 0.004$; Cut-off: 28.6 (g/L); Sensitivity: 45.5%; Specificity: 100%.

with CKD stages 3 and 4 were 88.2%, and patients with CKD stage 5 were 96.3%). The prevalence of anemia in our study was higher than in some other studies. Li et al. studied the proportion and severity of anemia in 2420 CKD patients in Shanghai, China, and indicated that the proportion of anemia in patients with chronic kidney disease (CKD) stages 3, 4, and 5 was 51.1%, 79.2%, and 90.2%, respectively (9). Salman et al. showed that the proportion of anemia was 75.8% in all stages. The proportion of anemia in CKD stage 3 was 41.9%, stage 3b was 63.4%, stage 4 was 85.4%, and stage 5 was 97.4% (10). Anemia is a widespread complication in CKD patients with and without kidney failure.

The prevalence of anemia usually increases with the CKD stage. The more severe the renal function is, the higher the proportion of anemia and its severity. This

reflects the pathogenesis of chronic renal failure. As the kidney function decreases drastically, the severity of metabolic and endocrine disorders also increases, in which the disturbance of erythropoietin secretion worsens (10-12). In addition, inflammatory cytokines inhibit hematopoiesis in the bone marrow due to the development of alkaline balance disorder and increased levels of free radicals, which may worsen anemia (13). Many subsequent studies provided evidence to better understand the causes and mechanisms of anemia in CKD patients more fully. All three mechanisms of anemia had been seen in CKD patients, including reduced hematopoiesis in bone marrow, increased destruction of red blood cells, and blood loss (14).

Since the KDOQI 2006 workgroup recommended tar-

Table 2. Comparison of Some Hematological Indices Based on Iron Deficiency Status (N = 114)

Variables	Iron Deficiency (N = 55)	None (N = 59)	P-Value
Hb (g/L)	94.44 ± 25.66	97.15 ± 27.12	0.565
MCV (fL)	84.75 ± 8.21	85.26 ± 7.90	0.719
MCH (pg)	27.67 ± 2.58	28.12 ± 3.58	0.432
MCHC (g/L)	316.89 ± 16.84	329.44 ± 24.35	0.001
RET# (T/L)	0.071 (0.058 - 0.087)	0.073 (0.065 - 0.084)	0.325
RET% (%)	2.04 ± 0.81	1.99 ± 0.51	0.968
RET-He (g/L)	27.99 ± 4.38	31.8 ± 2.2	< 0.001

Abbreviations: Hb, hemoglobin; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular Hb; MCHC, mean corpuscular Hb concentration; RET#, absolute reticulocyte count; RET%, reticulocyte percentage; RET-He, reticulocyte hemoglobin equivalent.

getting serum ferritin levels of more than 100 ng/mL in patients with non-dialysis ESRD, some randomized control studies showed that iron treatment had erythropoietic effects in patients with stages 3 - 5 CKD and ferritin levels exceeding 100 ng/mL (8, 15). Currently, the Vietnamese Nephrology Association covers the use of intravenous iron in patients with CKD and with TSAT < 20.0% or ferritin < 100 ng/mL, and Hb lower than 10 g/dL. In our study, the total ID proportion was 42%. When investigating iron status in CKD patients, we found that patients with CKD stage 5 had a significantly lower proportion of ID than patients with CKD stages 3 - 4 (58.8% compared to 32.2%). This result can be attributed to the fact that most patients with CKD stages 3 - 4 were newly discovered and had no history of receiving treatment. Therefore, the proportion of ID was higher than patients with stage 5 CKD who received treatment. Alzaheb and Al-Amer reported that ID anemia was prevalent (12.5%) among female university students in Saudi Arabian. They also reported that inadequate iron intake was a risk factor for anemia (16). In our study, the median concentration of serum ferritin and TSAT were significantly lower, and the median concentration of TIBC was significantly higher in patients with CKD stage 5 than stages 3 - 4. It can be attributed to the fact that in patients with chronic renal failure, ID can be caused by several factors such as inadequate iron intake due to poor diet or restrictive diets, reduced iron absorption, and blood loss through heavy periods or internal bleeding (17, 18). Several biochemical indices, such as serum ferritin concentration and TSAT, are used to diagnose ID. However, these tests also have certain restrictions: TSAT% is strongly affected by the daily iron fluctuation, while serum ferritin can be increased in chronic inflammatory diseases (19, 20). Therefore, RET-He has become a potential indicator to replace ferritin and TSAT to assess iron storage in CKD patients because it directly evaluates

the iron used for the hemoglobin biosynthesis throughout erythropoiesis (21).

As results in Table 1 indicate, the mean value of the reticulocyte percentage (RET%) was 2%; absolute reticulocyte count (RET#) was 0.071 T/L, and reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) was 30.2 pg. In our study, both percentage and the absolute value of reticulocytes were higher than those of Maconi et al., who studied over 200 dialysis patients (1.45% and 0.05 T/L, respectively). However, the concentration of RET-He in our study was lower than that of Maconi et al. (30.2 pg compared to 33.9 pg) (22). Miwa et al. studied 217 hemodialysis patients and showed that the RET-He mean value was 32.4 pg (23).

The observed difference in the findings of these studies can be attributed to the characteristics of participants. In our study, patients had not been treated with any renal replacement therapy or iron supplementation treatment. Therefore the proportion of patients with iron deficiency anemia in our study were higher than those above studies.

As shown in Table 2, the mean concentration of MCHC and RET-He in CKD patients with ID was significantly lower than that of patients without ID (P = 0.001 and P < 0.001, respectively). This finding is entirely consistent with the characteristic of iron-deficiency anemia, hypochromic anemia, and decreased concentration of RET-He.

When studying the correlation between RET-He and some iron status indices, we found a strong positive correlation between RET-He and serum iron (r = 0.513, P < 0.001), and TSAT (r = 0.589, P < 0.001); a moderate positive correlation between RET-He and Ferritin (r = 0.399, P < 0.001); and a slight negative correlation between RET-He and TIBC (r = -0.182, P = 0.037) (Table 3). Measurement of reticulocyte hemoglobin equivalent (RET-He) is a test to diagnose and monitor ID anemia. RET-He is an early measurement of the current iron supply to erythropoiesis in the bone marrow (24). Therefore, when ID occurs, manifesting in the depletion of red blood cells (decreased MCH) or decreased serum iron and ferritin concentrations, the concentration of RET-He will also decrease.

Many studies used RET-He as a reliable indicator to assess ID in CKD patients. Based on the ROC curve analysis (Figure 1), RET-He had a good predictive value for ID in CKD patients compared to some traditional iron indices (AUC = 0.762; P < 0.001; cut-off value: 28.15 g/L, the sensitivity of 45.5%, and the specificity of 100%). Our results were similar to those of Miwa et al. In this study, RET-He had a good predicting value for ID with AUC = 0.776; cut-off value = 33pg; sensitivity = 74.3%; specificity = 64.9% (23). Brugnara et al. also showed that at the cut-off level of 27.2 pg, RET-He had a diagnostic value for ID with AUC = 0.913; P < 0.0001; sensitivity up to 93.3%; specificity of 83.2% (25). A multivariate regression model using backward selection criteria was es-

Table 3. Correlation Between RET-He and Several Iron Status Indices (N = 11)

Indices	RET-He (g/L)		Correlation Equation
	r	P-Value	
Serum iron ($\mu\text{mol/L}$)	0.543	< 0.001	RET-He = 0.259 $\times$ Serum iron + 26.746
Ferritin (ng/mL)	0.359	< 0.001	RET-He = 0.008 $\times$ Ferritin + 27.522
TIBC ($\mu\text{mol/L}$)	-0.182	0.037	RET-He = 32.119 - 0.034 $\times$ TIBC
TSAT (%)	0.589	< 0.001	RET-He = 0.166 $\times$ TSAT + 26.529

Abbreviations: RET-He, reticulocyte hemoglobin equivalent; TIBC, total iron-binding capacity; TSAT, transferrin saturations.

Table 4. Multivariate Logistic Regression Analysis Concerning Prognosis Factor for Iron Deficiency in CKD Patients (N = 13)

Variables	OR	95% CI	P-Value
Serum iron ($\mu\text{mol/L}$)	0.833	0.741 - 0.936	0.002
RET-He (g/L)	0.624	0.482 - 0.81	< 0.001
Albumin (g/L)	1.026	1.028 - 1.232	0.011
MCV (fL)	1.074	1.003 - 1.149	0.04
MCHC (g/L)	0.97	0.918 - 1.003	0.076

Abbreviations: RET-He, reticulocyte hemoglobin equivalent; MCV, mean corpuscular volume; MCHC, mean corpuscular Hb concentration.

established to confirm the predictive value of RET-He in predicting ID in CKD patients. The results presented in Table 4 show that serum iron, RET-He, serum albumin, and MCV were independent risk factors for predicting ID in CKD patients.

5.1. Conclusions

In conclusion, RET-He had a good predictive value of iron deficiency in CKD patients compared to some traditional iron indices.

Footnotes

Authors' Contribution: Research idea and study design: NTK, TVH, and LVT; Data acquisition: NTK and NTHH; Data analysis/interpretation: NTK and NKV; Statistical analysis: NTK; Supervision or mentorship: TDT and LVT.

Conflict of Interests: The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

Data Reproducibility: The authors are able to provide additional relevant original data underpinning their research if requested by the Editor or reviewers.

Ethical Approval: Animals did not participate in this research. All human research procedures followed the committee's ethical standards responsible for human experimentation (institutional and national) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2008. This study

was approved by the Ethical Committee of Vietnam Military Medical University (No.340/VMMU-IRB).

Funding/Support: The authors did not receive any funds to perform this study.

Informed Consent: Written informed consents were signed by all study participants.

References

- Eknoyan G, Lameire N, Barsoum R, Eckardt KU, Levin A, Levin N, et al. The burden of kidney disease: improving global outcomes. *Kidney Int.* 2004;66(4):1330-4. [PubMed ID: 15458424]. <https://doi.org/10.1016/j.1523-7755.2004.00894.x>.
- Nurko S. Anemia in chronic kidney disease: causes, diagnosis, treatment. *Cleve Clin J Med.* 2006;79(1):289-97. [PubMed ID: 16548452]. <https://doi.org/10.3949/ccjm.71.3.289>.
- Covic A, Nistor I, Donciu MD, Dumea R, Bolognani D, Goldsmith D. Erythropoiesis-stimulating agents (ESA) for preventing the progression of chronic kidney disease: a meta-analysis of 19 studies. *Am J Nephrol.* 2014;40(1):263-79. [PubMed ID: 25123019]. <https://doi.org/10.1159/000366025>.
- Hayes W. Measurement of iron status in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2019;34(4):605-11. [PubMed ID: 29666907]. [PubMed Central ID: PMC6394676]. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-3955-x>.
- Bermejo F, Garcia-Lopez S. A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases. *World J Gastroenterol.* 2009;15(37):4638-43. [PubMed ID: 19787826]. [PubMed Central ID: PMC2754511]. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.4638>.
- National Kidney F. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002;39(2 Suppl 1):S1-266. [PubMed ID: 11904577].
- World Health Organization. Haemoglobin for the diagnosis of anemia and assessment of severity: Vitamin and Mineral Nutrition Information System. *World Health Organ.* 2011;3-6.
- Kdoqi. KDOQI Clinical Practice Guideline and Clinical Practice Recommendations for anemia in chronic kidney disease: 2007 update of hemoglobin target. *Am J Kidney Dis.* 2007;50(1):471-510. [PubMed ID: 17220528]. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2007.06.008>.
- Li Y, Shi H, Wang WM, Peng A, Jiang GR, Zhang JY, et al. Prevalence, awareness, and treatment of anemia in Chinese patients with nondialysis chronic kidney disease: First multicenter, cross-sectional study. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(24): e1872. [PubMed ID: 2730977]. [PubMed Central ID: PMC4998459]. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000003872>.
- Salman M, Khan AH, Adnan AS, Sulaiman SA, Hussain K, Shehzadi N, et al. Prevalence and management of anemia in pre-dialysis Malaysian patients: A hospital-based study. *Rev Assoc Med Bras (1992).*

- 2016;62(8):742-7. [PubMed ID: 27992014]. <https://doi.org/10.1590/0006-9282.62.08.742>.
11. Ryu SR, Park SK, Jung JY, Kim YH, Oh YK, Yoo TH, et al. The Prevalence and Management of Anemia in Chronic Kidney Disease Patients: Result from the KoreaN Cohort Study for Outcomes in Patients With Chronic Kidney Disease (KNOW-CKD). *J Korean Med Sci*. 2017;32(2):249-56. [PubMed ID: 28049235]. [PubMed Central ID: PMC5299990]. <https://doi.org/10.3346/jkms.2017.32.2.249>.
12. Akizawa T, Makino H, Matsuo S, Watanabe T, Imai E, Nitta K, et al. Management of anemia in chronic kidney disease patients: baseline findings from Chronic Kidney Disease Japan Cohort Study. *Clin Exp Nephrol*. 2018;15(2):248-57. [PubMed ID: 21234785]. <https://doi.org/10.1007/s10157-010-0196-7>.
13. Laurence F, Balducci L, Ersler W, de Gaetano G. Qualitative changes of hematopoiesis. *Blood Disorders in the Elderly*. Cambridge University Press; 2008. p. 95-109. <https://doi.org/10.1017/cbo9780511545238.009>.
14. Nankaku M, Eckardt KU. Pathogenesis of renal anemia. *Semin Nephrol*. 2006;26(4):261-8. [PubMed ID: 16949463]. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2006.06.001>.
15. Qunibi WY, Martinez C, Smith M, Benjamin J, Mangione A, Roger SD. A randomized controlled trial comparing intravenous ferric carboxymaltose with oral iron for treatment of iron deficiency anaemia of non-dialysis-dependent chronic kidney disease patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(5):1599-607. [PubMed ID: 20929905]. [PubMed Central ID: PMC3084440]. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq613>.
16. Alzahrani KA, Al-Amer O. The Prevalence of Iron Deficiency Anemia and its Associated Risk Factors Among a Sample of Female University Students in Tabuk, Saudi Arabia. *Clin Med Insights Womens Health*. 2017;10:179562X17745088. [PubMed ID: 29225484]. [PubMed Central ID: PMC5740833]. <https://doi.org/10.1177/179562X17745088>.
17. Babitt JL, Lin HY. Molecular mechanisms of hepcidin regulation: implications for the anemia of CKD. *Am J Kidney Dis*. 2010;55(4):726-41. [PubMed ID: 20189278]. [PubMed Central ID: PMC2905036]. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.12.030>.
18. Zumbrennen-Bullough K, Babitt JL. The iron cycle in chronic kidney disease (CKD): from genetics and experimental models to CKD patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(2):263-73. [PubMed ID: 24215084]. [PubMed Central ID: PMC3910145]. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft443>.
19. 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(6):1498-505. [PubMed ID: 17358435]. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.6.1498>.
20. Buttarello M, Pajola R, Novello E, Rebeschini M, Cantaro S, Ollisi F, et al. Diagnosis of iron deficiency in patients undergoing hemodialysis. *Am J Clin Pathol*. 2010;133(6):949-54. [PubMed ID: 20472854]. <https://doi.org/10.1309/AJCPQAX01FHF500A>.
21. 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. [PubMed ID: 23193472]. [PubMed Central ID: PMC3501962]. <https://doi.org/10.1155/2012/239476>.
22. Maconi M, Cavalea I, Danise P, Cardarelli F, Brini M. Erythrocyte and reticulocyte indices in iron deficiency in chronic kidney disease: comparison of two methods. *Scand J Clin Lab Invest*. 2009;69(3):365-70. [PubMed ID: 19125368]. <https://doi.org/10.1080/00365200802657673>.
23. Miwa N, Akiba T, Kimura 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. [PubMed ID: 19624802]. <https://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2009.0379.x>.
24. Dalimunthe NN, Lubis AR. Usefulness of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent in Management of Regular Hemodialysis Patients with Iron Deficiency Anemia. *Ran J Intern Med*. 2016;54(1):30-6. [PubMed ID: 27141568]. <https://doi.org/10.2151/rjim-2016-0003>.
25. Brugnara C, Schuller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol*. 2006;28(5):303-8. [PubMed ID: 16999799]. [PubMed Central ID: PMC1618805]. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2257.2006.00812.x>.

2.1.6 ESTUDIO N.º 6

Significance of Content of the Reticulocyte Hemoglobin in the Management of Renal Anemia

Chie Ogawa^{a,d} Ken Tsuchiya^{b,d} Kosaku Nitta^c Kunimi Maeda^{a,d}

^aMaeda Institute of Renal Research, Kawasaki, Japan; ^bDepartment of Blood Purification, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan; ^cDepartment of Medicine, Kidney Center, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan; ^dBiomarker Society, INC., Kawasaki, Japan

Keywords

Content of the reticulocyte hemoglobin · Serum ferritin · Transferrin saturation · Hepcidin-25 · Hemodialysis

Abstract

Optimal iron level in hemodialysis patients remains a subject of debate. The reticulocyte hemoglobin content (CHr) is believed to reflect the concentration of iron required in the most recent hematopoiesis in the bone marrow. CHr is not influenced by any factors that measure direct hemoglobin (Hb) of reticulocytes and is considered a reliable indicator. The supply of iron for Hb synthesis is regulated by hepcidin-25 (Hep-25). However, CHr and Hep-25 measurements are not covered by the Japanese medical insurance system. Serum ferritin (s-ft) and transferrin saturation (TSAT) are used mainly as indicators of internal iron status. Therefore, we examined the relationships among CHr, s-ft, TSAT, and Hep-25 to determine the optimal iron level. This report presents the clinical significance of CHr, the potential use of CHr for the diagnosis of iron deficiency, and tests for optimal iron level using CHr as performed in our hospital.

© 2019 S. Karger AG, Basel

Clinical Significance of Reticulocyte Hemoglobin Content

Of the total 3–5 g of iron in the body, 70% is present in the reticuloendothelial system. Iron is used for hemoglobin (Hb) synthesis in the bone marrow at an hourly rate of 0.8–1.0 mg. Because 3–4 mg of iron circulates in the blood, the recycling of iron represents a primary source. Therefore, maintenance of Hb synthesis requires an efficient use of iron to avoid iron deficiency or iron overload.

The hematopoiesis of red blood cells (RBCs) starts with erythropoietin acting on erythroblast precursor cells to aid their differentiation into proerythroblasts. Proerythroblasts finally differentiate into erythroblasts after 4–5 divisions. After 3–5 days of differentiation, erythroblasts undergo enucleation through chromatin condensation and become reticulocytes. Hb synthesis starts at the proerythroblast stage and increasingly accelerates with differentiation into basophilic erythroblasts, polychromatophilic erythroblasts, and orthochromatic erythroblasts while Hb is being accumulated. After their production in the bone marrow, the reticulocytes are released 2–3 days later into the peripheral blood. Their

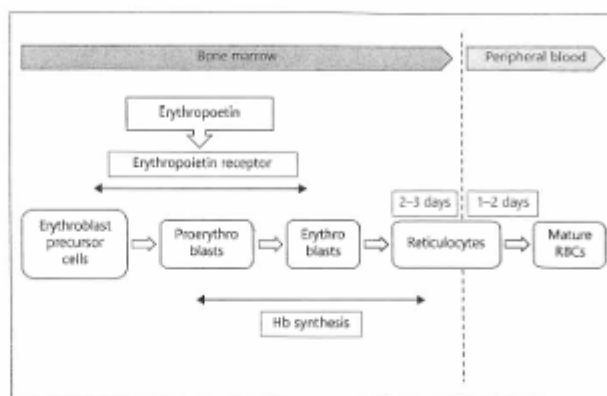
KARGER

© 2019 S. Karger AG, Basel

E-Mail: karger@karger.com
www.karger.com/hps

Chie Ogawa, MD, PhD
Maeda Institute of Renal Research
62-1-403 Kamego-cho, Nakahara-ku
Kawasaki, Kanagawa 211-0063 (Japan)
E-Mail: ico-ogawa@gmail.com

Fig. 1. The hematopoiesis of RBCs. Hb synthesis starts at the proerythroblast stage and increasingly accelerates in erythroblasts. The reticulocytes are released 2–3 days later from the bone marrow into the peripheral blood and differentiate in mature RBCs 1–2 days later. RBCs, red blood cells; Hb, hemoglobin.



reticular components are removed at each of their passage in the spleen in a cycle of 1–2 days to produce mature RBCs (Fig. 1). Because reticulocytes remain in the peripheral blood only for a short period, reticulocyte hemoglobin content (CHr) is believed to accurately reflect the concentration of iron required in the most recent hematopoiesis.

To date, optimal iron level in hemodialysis (HD) patients has been examined with the aim of raising Hb levels and reducing erythropoiesis-stimulating agents (ESAs) [1]. The survival time of mature RBCs is 120 days in healthy people. Although decreased RBC survival has been reported in HD patients, it is difficult to assess hematopoietic efficacy based on Hb in mature RBCs [2]. Therefore, the optimal iron level in hematopoiesis is examined more accurately using CHr as an index rather than using Hb in mature RBCs.

CHr Measurement

CHr is measured by the flow cytometry technique using a laser beam. First, a surfactant is applied to spheroidize and immobilize RBCs without changing their volume. Next, the RNA in the reticulocyte is stained in blue using Oxazir 750. Subsequently, mature RBCs and reticulocytes are distinguished based on the concentration of RNA calculated using absorbance values, and their volumes and Hb levels are calculated using their scattering light measurements. Therefore, as a reticulocyte index, a mean corpuscular volume of reticulocyte and a corpus-

cular Hb concentration mean of reticulocyte can be directly measured. CHr is a mean value of reticulocyte Hb level, which is calculated based on the cell volume and Hb level of each reticulocyte. These measurements are highly stable, with 20-time repeated measurements resulting in a coefficient of variation of 0.8–1.6% [3], with stable CHr measurements also observed in HD patients [4]. When samples were preserved for a longer time, CHr presented the highest stability: while mean corpuscular volume of reticulocyte and concentration mean of reticulocyte remained stable only for 8 h at room temperature and for 24 h of refrigeration, the results for CHr did not vary after 24 h at room temperature and 72 h of refrigeration [5].

Previous Examinations of CHr in HD Patients

Based on its characteristics to reflect the concentration of iron required in hematopoiesis in real time, CHr has been considered useful for diagnosing absolute, functional iron deficiency. In particular, HD patients suffer from dialysis-related blood loss and use ESA under chronic inflammatory conditions; therefore, they are more likely to present absolute, functional iron deficiency and their diagnosis of iron deficiency is considered crucial. Maximizing the effectiveness of high-cost ESAs being used by HD patients by avoiding iron deficiencies will also help to reduce medical expenses.

Currently, the optimum cutoff values for CHr of iron deficiency in HD patients are determined and examined using a technique wherein the "iron deficiency criteria" are

established via a ROC curve, which is used to determine both sensitivity and specificity. For the iron deficiency criteria, a few methods have been used, including one in which intravenous chalybeate is administered to observe increased responses in CHr, Hb, and Hct [6–10] and another in which serum ferritin (s-ft) <100 ng/mL and transferrin saturation (TSAT) <20% are used as the criteria [11]. In the intravenous chalybeate administration method, CHr significantly rises at 48 h after the administration and peaks at 96 h in the iron-deficient group, whereas little variability is observed in the iron-sufficient group [9]. These data show that CHr responds to the chalybeate administration in the iron-deficient condition but not once the concentration of iron reaches a certain level. In the present study, wherein we used ADVIA 120 for measurement, the cutoff value was 29–32.4 pg. A sensitivity of 43–100% and a specificity of 80–93.2% have been reported in the literature. These results showed that despite a high specificity, the sensitivity varied in various reports, suggesting that further examination is required. Nevertheless, many of these results were superior to the sensitivity and specificity compared to the s-ft and TSAT tested at the same time, indicating the usefulness of CHr [7, 8, 10, 11].

Examination of the Optimal Iron Level using CHr in HD Patients

CHr has previously been shown to be useful in diagnosing iron deficiency. However, because CHr measurements are not covered by the Japanese medical insurance system, they are not widely used. In this study, we examined the correlation of CHr with s-ft and TSAT, which are routinely used as iron parameters, to express the optimal iron content for hematopoiesis in HD patients using s-ft and TSAT.

Previous reports have shown that CHr is positively correlated with s-ft and TSAT [9, 12], but in iron-sufficient conditions, CHr has been shown to remain unchanged even with chalybeate administration. Therefore, we propose that CHr is positively correlated with s-ft and TSAT up to certain s-ft and TSAT values but is not affected beyond these values. Our aim was to identify the optimum cutoff values for which the relationship of CHr with s-ft and TSAT changes. In addition, we investigated the relationship between CHr and hepcidin-25 (Hep-25) measured at the same time. Iron absorption from the intestinal tract and the iron supply from cells to the blood are regulated by Hep-25 [13]. Because iron in the blood is used for hematopoiesis and is depleted within 4–5 h unless supplied, iron metabolism by Hep-25 is likely regulated during hematopoiesis.

This is a retrospective observational study using the data of 181 HD outpatients receiving recombinant human erythropoietin. All patients provided informed consent authorizing data sampling and analysis at the initiation of dialysis therapy. We measured CHr using ADVIA 120 (Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) and Hep-25 using LC-MS/MS.

To determine optimal cutoff values, correlation coefficients were analyzed using the change sensitivity analysis method. As a result, the optimal cutoff value for s-ft was 50 ng/mL (≤ 50 ng/mL, $r = 0.47$ vs. > 50 ng/mL, $r = 0.22$; F value = 17.64) and that for TSAT was 24% ($\leq 24\%$, $r = 0.58$ vs. $> 24\%$, $r = 0.08$, F value = 34.45). Using these optimum cutoff values, we classified the patients by iron levels to additionally examine the relationship between the number of reticulocytes and CHr. As a result, the CHr in the s-ft > 50 ng/mL and TSAT $> 24\%$ group did not decrease even if the number of reticulocytes increased. Therefore, under the condition of s-ft > 50 ng/mL and TSAT $> 24\%$, the concentration of iron required in hematopoiesis is likely sufficient even if the number of reticulocytes has increased. In addition, we found that in the relationship between CHr and Hep-25, there were two cutoff values, with optimal Hep-25 cutoff values of 20 ng/mL (≤ 20 ng/mL, $r = 0.52$ vs. > 20 ng/mL, $r = -0.01$; F value = 21.12) and 70 ng/mL (≤ 70 ng/mL, $r = 0.36$ vs. > 70 ng/mL, $r = -0.45$; F value = 24.52). Hep-25 is induced by iron and inflammatory signals [14], but in the patient groups examined in this study, CRP levels were low (median: 0.06 [interquartile range 0.03–0.27] mg/dL), indicating that inflammation was well controlled. Therefore, we believe the Hep-25 level depends on the concentration of iron in many patients. These results suggest that the concentration of iron equivalent to 20 ng/mL of Hep-25 is insufficient for hematopoiesis and that the concentration of iron equivalent to 21–70 mg/mL of Hep-25 is sufficient, and the concentration of iron equivalent to > 70 mg/mL develops negative iron metabolism.

Hep-25 and s-ft showed a strong, significant correlation ($r = 0.731$, $R^2 = 0.535$, $p < 0.001$). The s-ft values equivalent to 20 and 70 ng/mL of Hep-25, which were predicted based on an approximate straight line, were 59.7 (95% CI 48.5–70.9) and 155.1 (95% CI 142.6–167.5), respectively.

Conclusions

Currently, iron level in HD patients is managed using s-ft, which is an index of stored iron, and TSAT, which is an index of available iron, in accordance with

relevant guidelines. However, both indices are affected by factors such as inflammatory status, infectious diseases, liver diseases, malignant tumors, and nutritional status. Furthermore, TSAT is subject to a diurnal variation. Therefore, their reliability as indices for iron is debatable [15, 16]. Only CHr directly reflects the concentration of iron required in hematopoiesis. In HD patients, many factors influence iron-related data, such as chronic inflammatory conditions, undernutrition, frequent chelate administration, and ESA use. However, CHr levels are almost equal to those of healthy people in the iron-sufficient state [12]; CHr represents a stable marker for the concentration of iron required in hematopoiesis.

The results of the present study suggest that in patients receiving recombinant human erythropoietin, the concentration of iron of Hep-25 >70 ng/mL is the lower limit of iron sufficiency and that negative iron metabolism occurs at this level in hematopoiesis. Because it has been shown that the long-acting ESA uses a greater concentration of iron during hematopoiesis and it suppresses Hep-25 [17, 18], further studies are warranted.

Disclosure Statement

The authors have no conflicts of interest to disclose.

Funding Source

This work was in part supported by PSPS KAKENHI Grant Number 17K09714. This study was supported in part by a Grant-in-Aid for Intractable Renal Diseases Research, Research on rare and intractable diseases, Health and Labour Sciences Research Grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

Permissions for Image Reproduction

Not applicable.

Prior Publication

This is an original work, and has not been published in whole or in part elsewhere and is not under consideration by any other journal.

References

- KDIGO clinical practice guideline for anemia in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2012;4:292–298.
- Vos FE, Schollum JB, Coulter CV, Doyle TC, Duffell SB, Walker RJ: Red blood cell survival in long-term dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2011;58:591–598.
- Brugnara C, Hipp MJ, Irving PJ, et al: Automated reticulocyte counting and measurement of reticulocyte cellular indices. Evaluation of the Miles H³ blood analyzer. *Am J Clin Pathol* 1994;102:623–632.
- Van Wyck DB, Alcorn H Jr, Gupta R: Analytical and biological variation in measures of anemia and iron status in patients treated with maintenance hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2010;56:540–546.
- Harris N, Kianicka J, Kratz A: The ADVIA 2120 hematology system: flow cytometry-based analysis of blood and body fluids in the routine hematology laboratory. *Lab Hematol* 2005;11:47–61.
- 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.
- Bottarello M, Pajola R, Novello E, Rebeschini M, Cantaro S, Olivi F, Naso A, Plesani M: Diagnosis of iron deficiency in patients undergoing hemodialysis. *Am J Clin Pathol* 2010;133:949–954.
- Tessitore N, Solero GP, Lippi G, Bassi A, Facchini GB, Bedogna V, Gammuro L, Brocco G, Restivo G, Bernich P, Lupo A, Maschio G: The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:1416–1423.
- Mittman N, Sreedhara R, Mushnick R, Chatopadhyay J, Zelmanovic D, Vasighi M, Avram MM: Reticulocyte hemoglobin content predicts functional iron deficiency in hemodialysis patients receiving rHuEPO. *Am J Kidney Dis* 1997;30:912–922.
- 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.
- 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.
- Tsachya K, Okano H, Teramura M, Iwamoto Y, Yamashita N, Suda A, Shimada K, Nihei H, Ando M: Content of reticulocyte hemoglobin is a reliable tool for determining iron deficiency in dialysis patients. *Clin Nephrol* 2003;59:115–123.
- Ganz T: Hepcidin – a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Hematol* 2006;108:1381–1387.
- Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, Higuchi M, Yamaya H, Umehara H, et al: Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using proteinChip system. *Blood* 2006;108:1381–1387.
- Nakanishi T, Kurogane T, Nanami M, Otaki Y, Nonoguchi H, Haraoka Y, et al: Importance of ferritin for optimizing anemia therapy in chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2010;32:439–446.
- Bross R, Zitterkopf J, Pithia J, Benner D, Ramhord M, Kovesdy CP, et al: Association of serum total iron-binding capacity and its changes over time with nutritional and clinical outcomes in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2009;29:571–581.
- Shoji S, Inaba M, Tomosugi N, Okuno S, Ichii M, Yamakawa T, Kurihara S: Greater potency of darbepoetin- α than erythropoietin in suppression of serum hepcidin-25 and utilization of iron for erythropoiesis in hemodialysis patients. *Eur J Haematol* 2013;90:237–244.
- Omura S, Honda H, Kobayashi Y, Yamamoto T, Michihata T, Shibasaki K, Yuza T, Hirao K, Tomosugi N, Shibata T: Effects of long-term erythropoiesis-a agents on iron metabolism in patients on hemodialysis. *Ther Apher Dial* 2015;19:582–589.

2.1.7 ESTUDIO N.º 7



JKU 14(2) (2025)

Jurnal Kedokteran Unram

<https://ejournal.unram.ac.id/index.php/jku/submissions>



Correlation between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (Ret-HE) and Iron Profile in Routine Hemodialysis Patients at West Nusa Tenggara General Hospital

Atina Rizki Putri^{1*}, I Gede Yasa Asmara², Triana Dyah Cahyawati³

¹ Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

² Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

³ Departemen Radiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

DOI: <https://doi.org/10.29303/jk.v14i2.6116>

Article Info

Received : May 7, 2025

Revised : May 30, 2025

Accepted : June 2, 2025

Abstract: Chronic kidney disease (CKD) is a dysfunction that occurs in the kidneys and causes the body's inability to maintain homeostasis. Kidney replacement therapy is needed, one of which is hemodialysis (HD). The hemodialysis process and CKD can cause complications, especially iron deficiency anemia (IDA). Accurate iron status evaluation is essential in HD patients. However, access to comprehensive iron studies such as serum iron (SI), total iron binding capacity (TIBC), and transferrin saturation (TSAT) remains limited in many Indonesian healthcare facilities. Therefore, a practical and affordable alternative parameter is needed. This research aims to determine the correlation between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (Ret-HE) and standard IDA diagnostic examinations (SI, TIBC, and TSAT). This study is cross-sectional, with 50 participants fulfilling the research criteria. Data collection was carried out at the Hemodialysis Unit of the West Nusa Tenggara General Hospital using a consecutive sampling method. The study result showed 42 subjects (84%) have normal Ret-HE (≥ 29 pg). There was a statistically significant correlation between Ret-HE and SI ($r=0.236$, $p=0.049$), and TIBC ($r=-0.251$, $p=0.040$), and TSAT ($r=0.288$, $p=0.021$) in routine HD patients.

Keywords: CKD, iron deficiency anemia, Ret-HE, hemodialysis, SI, TIBC, TSAT.

Citation: Putri, A.R., Asmara, I.G.Y., Cahyawati, T.D. (2025). Hubungan antara Ret-HE (*Reticulocyte Hemoglobin Equivalent*) dan Profil Besi pada Pasien Hemodialisis Rutin di RSUD Provinsi NTB. *Jurnal Kedokteran Unram*. DOI: Vol. 14 (2), 72-78. DOI: <https://doi.org/10.29303/jk.v14i2.6116>

Pendahuluan

Penyakit ginjal kronik (PGK) merupakan disfungsi ginjal yang mengarah pada ketidakmampuan tubuh dalam mempertahankan homeostasis melalui pengontrolan volume dan komposisi darah (Saputra et al., 2019). Berdasarkan Riskesdas 2018, prevalensi penderita PGK di Indonesia adalah 3,8% dari total penduduk usia ≥ 15 tahun. Angka ini menunjukkan terjadinya peningkatan kasus pada tahun 2013 yaitu sebesar 2% dan diperkirakan akan terus mengalami kenaikan setiap tahunnya (Evans et al., 2022; PERNEFRI, 2018; Riskesdas, 2018). Disfungsi ginjal pada PGK bersifat menetap sehingga membutuhkan tatalaksana

pengganti ginjal terutama hemodialisis (HD) (Hernawathi et al., 2020; Saputra et al., 2019; S Setiati et al., 2014)

Pasien PGK yang menjalani terapi HD meningkatkan risiko terjadinya komplikasi. Berdasarkan penelitian oleh Utami et al., yang dilakukan di RSUP Sanglah, didapatkan data komplikasi terbanyak pada pasien HD adalah anemia ($> 60\%$) (Utami et al., 2020). Prevalensi anemia berdasarkan data dari ± 87.000 pasien yang menjalani HD, didapatkan 78% diantaranya mengalami anemia (PERNEFRI, 2018). Prevalensi anemia defisiensi besi (ADB) pada pasien PGK yang menjalani HD tercermin dari tingginya angka

Email: atinarizki01@gmail.com (*Corresponding Author)

Copyright © (2025), The Author(s).

This article is distributed under a [Lisensi Creative Commons Atribusi 4.0 Internasional](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

terapi eritropoietin (EPO) dan terapi preparat besi intravena yaitu sebanyak 652.708 dan 34.430 pasien pada tahun 2018. Hal ini menunjukkan bahwa anemia terutama ADB merupakan komplikasi pada pasien HD masih menjadi masalah di Indonesia (PERNEFRI, 2018).

Tingginya kasus ADB dan komplikasi yang dapat ditimbulkan menyebabkan diperlukannya pemeriksaan diagnosis ADB secara dini untuk ketepatan manajemen terapi pasien. Pemeriksaan laboratorium berupa darah lengkap disertai pemeriksaan profil besi menggunakan parameter standar seperti serum iron (SI), total iron binding capacity (TIBC), transferrin saturation (TSAT), dan ferritin serum dapat digunakan untuk diagnosis ADB pasien HD (Davidkova et al., 2016; Di Pinto et al., 2020). Pemeriksaan kadar besi menggunakan parameter standar memiliki beberapa kekurangan dan tidak dimiliki oleh semua rumah sakit (RS) di Indonesia (Davidkova et al., 2016; DeLoughery, 2017; Keohane et al., 2016; Knovich et al., 2009). Selain pemeriksaan profil besi standar, terdapat pemeriksaan Ret-HE atau *reticulocyte hemoglobin equivalent* untuk mengukur kadar besi melalui penghitungan kadar hemoglobin yang terdapat pada retikulosit. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Ret-HE memiliki manfaat dalam mengetahui kadar besi karena tidak dipengaruhi oleh inflamasi sehingga hasilnya dapat diinterpretasikan dengan baik. Pemeriksaan Ret-HE lebih mudah untuk dilakukan karena dapat dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan darah rutin pasien HD sehingga dapat mengurangi jumlah pengambilan sampel dan menghemat biaya (Rachmiwati et al., 2018).

Studi ini berbeda dengan studi sebelumnya karena menggunakan data primer Ret-HE dan data sekunder kadar besi pada pasien HD berusia produktif (18-65 tahun). Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sehingga pemeriksaan Ret-HE dapat dipertimbangkan sebagai pemeriksaan penunjang dalam diagnosis dini ADB pada pasien HD karena efektifitas dan efisiensinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan Ret-HE dengan profil besi pasien HD rutin di Rumah Sakit Umum Daerah Provinsi Nusa Tenggara Barat.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional menggunakan pendekatan potong lintang. Desain potong lintang (*cross-sectional*) yang digunakan dalam studi ini merupakan pendekatan metodologis yang sesuai untuk mengevaluasi korelasi antara parameter laboratorium Ret-HE dengan profil besi pada pasien hemodialisis, karena memungkinkan analisis hubungan antar variabel dalam satu waktu pengukuran tanpa memerlukan tindak lanjut jangka panjang (Fishbane & Maesaka, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan Ret-HE dengan profil besi pasien yang menjalani HD rutin di RSUD Provinsi NTB. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – April 2024 di Unit HD RSUD Provinsi NTB. Kriteria inklusi yaitu pasien usia 18–65 tahun, telah menjalani HD rutin selama ≥ 3 bulan, pasien yang memiliki data pemeriksaan profil besi (SI, TIBC dan TSAT), dan bersedia menjadi subjek penelitian. Kriteria eksklusi adalah pasien dengan data rekam medis tidak lengkap, pasien yang mengalami perdarahan akut dan pernah menerima transfusi darah dalam 2 minggu terakhir. Sampel penelitian ini diambil dengan menggunakan metode *consecutive sampling*. Data Ret-HE didapatkan dari data primer hasil pemeriksaan laboratorium, sedangkan data kadar SI, TIBC, dan TSAT didapatkan dari rekam medis pasien. Besar sampel minimal pada penelitian ini didasarkan pada rumus besar sampel analisis korelatif sebagai berikut.

$$n = \left(\frac{Z\alpha + Z\beta}{0,5 \ln \left(\frac{1+r}{1-r} \right)} \right)^2 + 3$$

$$n = \left(\frac{1,64 + 1,28}{0,5 \ln \left(\frac{1+0,5}{1-0,5} \right)} \right)^2 + 3$$

$$n = 31,2577$$

$$n \approx 31$$

Analisis data dilakukan menggunakan *Statistical Package for the Social Science* atau SPSS. Uji statistik yang digunakan adalah uji korelatif Pearson jika data terdistribusi normal atau uji korelatif Spearman jika data tidak terdistribusi normal. Untuk mengetahui perbandingan profil besi antar subjek dengan nilai Ret-HE ≥ 29 dan < 29, dilakukan uji tes T independen jika data terdistribusi normal atau menggunakan uji Mann-Whitney U jika data tidak terdistribusi normal.

Penelitian ini sudah disetujui oleh Komite Etik Penelitian RSUD Provinsi NTB dengan No: 00.9.1/KEP/2023. Semua subjek penelitian menandatangani formulir *inform consent* setelah diberikan penjelasan dan setuju ikut penelitian.

Hasil dan Pembahasan

Terdapat 50 pasien HD rutin yang memenuhi kriteria penelitian dan dilakukan analisis. Tidak didapatkan perbedaan jumlah subjek penelitian berdasarkan jenis kelamin, yaitu masing-masing 25 orang (50%) perempuan dan laki-laki. Subjek penelitian mayoritas berada pada usia 18-59 tahun, yaitu 40 orang (80%) (Tabel 1). Rerata usia responden penelitian adalah 51,1 tahun. Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018, kasus PGK terbanyak ditemukan pada kelompok usia 65-74 tahun dengan prevalensi 8,23% diikuti dengan kelompok usia ≥ 75 tahun dengan prevalensi 7,48%.

Tabel 1. Karakteristik Responden Penelitian

Variabel Karakteristik	N	%
Jenis Kelamin		
Perempuan	25	50
Laki-laki	25	50
Total	50	100
Usia		
18-59 tahun	40	80
≥ 60 tahun	10	20
Total	50	100

Hubungan Hubungan Ret-HE dengan Profil Besi pada Pasien HD Rutin

Studi pada pasien HD rutin di RSUD Provinsi NTB menunjukkan bahwa Ret-HE memiliki korelasi yang bermakna dengan SI yaitu $p=0,049$, TIBC yaitu $p=0,040$, dan TSAT yaitu $p=0,021$ (Tabel 2).

Tabel 2. Hubungan Ret-HE dengan Profil Besi Pasien HD Rutin

Variabel Bebas	Variabel terikat	Nilai p	Nilai r
Ret-HE	SI	0,049	0,236
	TIBC	0,040	-0,251
	TSAT	0,021	0,288

Pada uji Pearson ini juga didapatkan nilai r atau koefisien korelasi antara Ret-HE dengan SI dan TSAT berada pada angka 0,236 dan 0,288 sehingga dapat dikatakan bahwa kekuatan korelasi antarvariabel adalah lemah (interval 0,20-0,39) dengan arah korelasi positif. Sedangkan, pada hubungan antara Ret-HE dan TIBC didapatkan nilai $r = 0,251$ yang menunjukkan bahwa kekuatan korelasi antarvariabel tersebut adalah lemah (interval 0,20-0,39) dengan arah korelasi negatif.

Penelitian ini dapat dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit Adam Malik, Medan oleh Dalimunthe & Lubis (2016) dengan 72 subjek penelitian dengan 54 subjek (75%) diantaranya menderita anemia. Penelitian ini menggunakan nilai *cut off* Ret-HE 31,6 pg dengan sensitivitas 81,5% dan spesifisitas 61,1%. Penelitian ini dilakukan pada pasien HD rutin selama lebih dari 3 bulan, berusia > 18 tahun, dan menjalani sesi HD dua kali perminggu. Pada penelitian ini, subjek dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok dengan ADB ($n = 16$) dan tidak ADB ($n = 38$). Pada kelompok ADB didapatkan usia rerata subjek adalah 49,2 tahun dan 15 diantara berjenis kelamin laki-laki. Pada kelompok non ADB didapatkan rerata usia subjek adalah 45,1 tahun dengan 16 diantaranya adalah laki-laki. Berdasarkan uji korelasi Pearson dan Spearman yang dilakukan, didapatkan hubungan yang signifikan dengan kekuatan sedang dan arah positif antara Ret-HE dengan SI ($p = 0,0001$, $r = 0,592$). Hasil yang sama didapatkan terkait hubungan

antara Ret-HE dan SI yaitu hubungan yang signifikan dengan kekuatan sedang dengan arah korelasi positif ($p = 0,0001$, $r = 0,499$) (Dalimunthe & Lubis, 2016).

Pada penelitian yang Gao *et al.*, (2023) di China menyatakan adanya hubungan yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$) antara Ret-HE dengan SI, TSAT, dan TIBC pada pasien yang menjalani HD. Didapatkan nilai korelasi Pearson antara Ret HE dengan pemeriksaan standar profil besi masing-masing adalah TIBC ($r = 0,381$, $p = 0,001$), SI ($r = 0,371$, $p = 0,002$), dan TSAT ($r = 0,276$, $p = 0,021$) (Gao *et al.*, 2023). Hasil yang sejalan ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Trung *et al.*, (2022). Pada penelitian ini didapatkan hasil positif kuat antara Ret-HE dengan SI ($r = 0,513$, $p < 0,001$), dan TSAT ($r = 0,589$, $p < 0,001$); hubungan positif sedang antara Ret-HE dan feritin ($r = 0,399$, $p < 0,001$); serta hubungan positif lemah antara Ret-HE dengan TIBC ($r = -0,182$, $p = 0,037$).

Pada penelitian ini, didapatkan hasil yang selaras dengan ketiga penelitian di atas. Sebanyak 84% pasien memiliki nilai Ret-He ≥ 29 pg pada studi ini mengindikasikan rendahnya prevalensi defisiensi besi absolut pada populasi HD yang diteliti. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Dalimunthe & Lubis (2016) dan Rachmiwatie *et al.*, (2018) yaitu sebanyak 51,7% dan 70,4% subjek penelitian tidak menderita ADB. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rachmiwatie *et al.*, (2018) keadaan ini dapat dipengaruhi oleh adanya perbedaan lama HD yang dilakukan oleh subjek penelitian. Pada subjek penelitian yang mengalami ADB, didapatkan bahwa subjek penelitian menjalani HD dalam jangka waktu yang lebih lama dibandingkan dengan kelompok nonADB. Didapatkan nilai median lama menjalani HD pada kelompok ADB adalah 29 bulan, sedangkan pada kelompok nonADB adalah 14 bulan. Adanya perbedaan lama menjalani HD ini dikaitkan dengan semakin meningkatnya risiko subjek penelitian untuk mengalami kehilangan darah yang mengandung zat besi, pengambilan sampel darah yang lebih banyak, dan meningkatnya kejadian inflamasi pada subjek penelitian yang mengalami ADB karena waktu menjalani HD yang lebih panjang (Rachmiwatie *et al.*, 2018). Pemberian terapi besi pada pasien HD rutin yang menderita ADB juga dapat mempengaruhi kadar besi di tubuh pasien (Dalimunthe & Lubis, 2016; Rachmiwatie *et al.*, 2018; Trung *et al.*, 2022).

Kondisi ADB pada pasien PGK yang menjalani HD rutin adalah hal yang umum ditemukan. ADB pada pasien umumnya terjadi karena tingginya kadar besi pada darah yang hilang selama proses HD dan perawatan rutin yang dijalani oleh pasien. Diperkirakan, pasien PGK yang menjalani HD rutin dapat kehilangan zat besi sekitar 1,5-2 g setiap tahunnya. Angka ini menunjukkan ketimpangan dengan jumlah zat besi

yang dapat diserap oleh tubuh yang berasal dari makanan dan minuman yang dikonsumsi sehari-hari (Garini, 2018). ADB yang dibiarkan dalam jangka panjang tanpa pengobatan yang tepat dapat meningkatkan risiko terjadi berbagai penyakit lanjutan seperti gangguan pada jantung dan pembuluh darah (Garini, 2018; Pangaribuan, 2017; Rachmiwati et al., 2018; Rishi & Subramaniam, 2017).

Pada ADB fungsional yang lebih parah, dapat terjadi inhibisi retikuloendotelial akibat inflamasi dan/atau infeksi yang terjadi secara kronis. Kondisi inflamasi dan infeksi kronis ini ditandai dengan meningkatnya kadar CRP (*C-Reactive Protein*). Inflamasi kronis ini disebabkan oleh hepsidin yang berperan dalam regulasi negatif penyimpanan dan pelepasan besi di dalam tubuh sehingga terjadinya peningkatan hepsidin menyebabkan penurunan pelepasan besi menuju ke darah (Dalimunthe & Lubis, 2016; Davidkova et al., 2016; Skikne, 2008; Wish, 2006). Peningkatan hepsidin akan menyebabkan TSAT menjadi menurun karena jumlah besi yang terikat pada protein transportnya berkurang. Pada kondisi ADB fungsional, TSAT pasien biasanya berada < 20% karena adanya peningkatan produksi eritrosit yang terlalu pesat tanpa disertai dengan kadar besi yang berikatan dengan transferin yang adekuat untuk digunakan dalam sintesis Hemoglobin. Kondisi ini menyebabkan peningkatan pelepasan besi yang berikatan dengan transferin di darah tidak sebanding dengan kecepatan transferin melakukan pengikatan kembali besi dari cadangan besi yang terdapat di dalam tubuh sehingga TSAT pada darah turun (Wish, 2006).

Nilai SI sebagai penanda banyaknya besi yang bersirkulasi di darah yang dapat digunakan untuk eritropoiesis. Kadar SI jarang digunakan secara tunggal karena variabilitas nilainya yang tinggi akibat terjadinya perubahan diurnal pada setiap pasien (Buttarelli et al., 2010; Fishbane & Maesaka, 1997). Terjadinya peningkatan hepsidin pada pasien HD rutin menyebabkan terjadinya penurunan kadar SI tubuh yang dapat digunakan untuk proses eritropoiesis. Berbeda halnya dengan TIBC, pada kondisi inflamasi, kadar TIBC akan meningkat dengan cepat. Hal ini disebabkan karena TIBC menggambarkan jumlah kebutuhan besi untuk dilepaskan menuju serum. Kadar TIBC mengalami peningkatan sebagai akibat dari menurunnya kadar transferin pada kondisi pasien HD rutin yang mengalami inflamasi sehingga peningkatan kapasitas maksimum besi yang dibutuhkan untuk mencukupi saturasi dari plasma darah (Kasvosve & Delanghe, 2002; Mahant et al., 2023).

Perbedaan kekuatan korelasi pada hasil penelitian ini dengan tiga penelitian pembandingan sebelumnya dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti adanya perbedaan kriteria penelitian, jumlah

subjek penelitian, variabilitas subjek penelitian, dan nilai rerata kelompok (Akobeng, 2016). Pada penelitian oleh Di Pinto et al., (2020), penelitian ini menggunakan sampel sebesar 40 sampel dan penelitian ini dilakukan pada anak-anak berusia 2-18 tahun, serta menggunakan *cut off* Ret-HE 29 pg. Pada penelitian yang dilakukan oleh Dalimunthe & Lubis (2016) menggunakan jumlah sampel yang lebih besar yaitu 72 sampel. Penelitian tersebut memiliki kriteria eksklusi berupa adanya bukti inflamasi, keganasan, dan penyakit infeksi yang tidak menjadi kriteria eksklusi dalam penelitian ini (Dalimunthe & Lubis, 2016). Kondisi inflamasi yang ditandai dengan meningkatnya penanda inflamasi seperti CRP dapat mempengaruhi kadar feritin dan kondisi malnutrisi dapat mempengaruhi kadar transferin sehingga ketika dilakukan pengukuran rentan didapatkan hasil yang tidak reliabel sebagai penanda status besi pasien.

Tabel 3. Perbedaan Rerata Dua Variabel Independen

Variabel	Ret-HE, rerata (SD)		Nilai p
	≥ 29 pg (n=42)	< 29 pg (n=8)	
SI	87,4 (52,7)	92,8 (52,2)	0,789
TIBC	188,4 (47,9)	314,9 (322,7)	0,305
TSAT	49,9 (32,9)	47,5 (30,0)	0,849

Pada penelitian ini tidak didapatkan adanya perbedaan yang signifikan secara statistik dengan uji t test antara dua kelompok Ret-HE dengan *cut off point* 29 pg terhadap hasil pemeriksaan SI, TIBC dan TSAT ($p > 0,05$). Berdasarkan penelitian Trung et al., (2022), kadar Ret-HE didapatkan lebih rendah pada penderita ADB ($28,0 \pm 4,2$ pg) dibandingkan pada nonADB ($31,8 \pm 2,2$ pg) dengan nilai $p < 0,001$. Hasil ini merupakan hasil yang ideal karena dalam beberapa penelitian pendukung juga didapatkan hal serupa seperti pada penelitian Rachmiwati et al., (2018) didapatkan rerata 26,1 pg pada pasien PGK dengan ADB dan 35,9 pg pada pasien PGK nonADB ($p < 0,001$). Hasil yang sejalan juga ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Uçar et al., (2019) dengan rerata kadar Ret-HE yang didapatkan lebih rendah pada penderita ADB ($21,0 \pm 4,1$ pg) dibandingkan pada bukan penderita ($32,1 \pm 6,8$ pg) dengan nilai $p < 0,001$.

Nilai *cut off* Ret-HE yang digunakan pada penelitian ini meskipun memiliki nilai sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi (90,9% dan 74,5%), tidak ideal dalam semua kondisi klinis, usia, dan karakteristik semua populasi (Di Pinto et al., 2020). Berdasarkan penelitian oleh Di Pinto et al., adanya perbedaan sampel yang digunakan yaitu subjek penelitian yang digunakan adalah anak berusia ≤ 18 tahun sehingga memungkinkan adanya perbedaan dalam hasil uji sensitifitas dan spesifisitas. Pada populasi anak dan dewasa, didapatkan perbedaan PGK yang cukup banyak. Pada anak, PGK biasanya disebabkan karena

adanya kelainan kongenital yang terjadi pada traktus urinarius pada ginjal, sedangkan pada populasi dewasa banyak disebabkan karena diabetes melitus dan hipertensi. (Atkinson & Furth, 2011; Di Pinto et al., 2020; Inker et al., 2014; Warady & Chadha, 2007).

Ret-He merupakan parameter yang praktis dan efisien untuk pemantauan status besi fungsional pada pasien HD, serta sangat berguna di fasilitas dengan keterbatasan sumber daya karena pengukuran ini dapat dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan darah rutin tanpa biaya tambahan yang signifikan (Brugnara et al., 2006; Rishi & Subramaniam, 2017). Penelitian mengenai Ret-HE cenderung masih baru dan cukup jarang dilakukan terutama di Indonesia sebagai upaya menemukan inovasi pemeriksaan lain dalam diagnosis ADB khususnya pada pasien yang menjalani HD rutin dengan harga dan efisiensi yang baik dibandingkan parameter profil besi saat ini. Namun, berdasarkan hasil penelitian ini dan beberapa penelitian sebelumnya didapatkan bahwa saat ini Ret-HE dapat digunakan sebagai pemeriksaan tambahan atau pelengkap untuk mengetahui status besi pasien HD dan masih belum bisa digunakan sebagai pengganti pemeriksaan profil besi standar (SI, TIBC dan TSAT).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan dalam interpretasi hasil. Ukuran sampel yang relatif kecil mengurangi kekuatan statistik serta membatasi kemampuan untuk generalisasi ke populasi HD yang lebih luas. Selain itu, potensi bias seleksi mungkin terjadi akibat metode pengambilan sampel secara berturut-turut, sehingga keterwakilan terhadap populasi HD secara umum perlu dipertimbangkan secara hati-hati. Penggunaan data sekunder profil besi bisa menyebabkan variabilitas hasil penelitian karena Ret-HE dan profil besi tidak diambil pada waktu yang bersamaan. Kondisi peradangan atau malnutrisi yang bisa dijumpai pada pasien HD tidak dilakukan eksklusi sehingga berpotensi mempengaruhi hasil penelitian.

Kesimpulan

Terdapat hubungan yang signifikan antara Ret-HE dengan profil besi pada pasien HD rutin di RSUD Provinsi NTB. Tidak didapatkan adanya perbedaan yang signifikan profil besi antara pasien dengan nilai Ret-HE ≥ 29 pg dan <29 pg. Pemeriksaan Ret-HE menunjukkan potensi sebagai alat tambahan (*adjunct tool*) dalam evaluasi status besi pada pasien HD, khususnya di fasilitas layanan kesehatan dengan keterbatasan akses terhadap pemeriksaan panel besi lengkap.

Referensi

Akobeng, A. K. (2016). Understanding type I and type II errors, statistical power and sample size. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*, 105(6), 605–609.

<https://doi.org/10.1111/APA.13384>

- Atkinson, M. A., & Furth, S. L. (2011). Anemia in children with chronic kidney disease. *Nature Reviews. Nephrology*, 7(11), 635. <https://doi.org/10.1038/NRNEPH.2011.115>
- Brugnara, C., Schiller, B., & Moran, J. (2006). Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clinical and Laboratory Haematology*, 28(5), 303. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2257.2006.00812.X>
- Buttarelo, M., Pajola, R., Novello, E., Rebeschini, M., Cantaro, S., Oliosi, F., Naso, A., & Plebani, M. (2010). Diagnosis of Iron Deficiency in Patients Undergoing Hemodialysis. *American Journal of Clinical Pathology*, 133(6), 949–954. <https://doi.org/10.1309/AJCPQAX0JFHPS0OA>
- Dalimunthe, N. N., & Lubis, A. R. (2016). Usefulness of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent in Management of Regular Hemodialysis Patients with Iron Deficiency Anemia. *Romanian Journal of Internal Medicine = Revue Roumaine de Médecine Interne*, 54(1), 31–36. <https://doi.org/10.1515/rjim-2016-0003>
- Davidkova, S., Prestidge, T. D., Reed, P. W., Kara, T., Wong, W., & Prestidge, C. (2016). Comparison of reticulocyte hemoglobin equivalent with traditional markers of iron and erythropoiesis in pediatric dialysis. *Pediatric Nephrology*, 31(5), 819–826. <https://doi.org/10.1007/s00467-015-3284-2>
- DeLoughery, T. G. (2017). Iron Deficiency Anemia. *Medical Clinics of North America*, 101(2), 319–332. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.004>
- Di Pinto, D., Paz, M., Adragna, M., & López, L. (2020). Clinical usefulness of the reticulocyte hemoglobin equivalent in children on hemodialysis. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 118(6), 411–417. <https://doi.org/10.5546/AAP.2020.ENG.411>
- Evans, M., Lewis, R. D., Morgan, A. R., Whyte, M. B., Hanif, W., Bain, S. C., Davies, S., Dashora, U., Yousef, Z., Patel, D. C., & Strain, W. D. (2022). A Narrative Review of Chronic Kidney Disease in Clinical Practice: Current Challenges and Future Perspectives. *Advances in Therapy*, 39(1), 33. <https://doi.org/10.1007/S12325-021-01927-Z>
- Fishbane, S., & Maesaka, J. K. (1997). Iron management in end-stage renal disease. *American Journal of*

- Kidney Diseases*, 29(3), 319–333. [https://doi.org/10.1016/S0272-6386\(97\)90192-X](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(97)90192-X)
- Gao, Z., Hu, Y., Gao, Y., Ma, X., & Hu, Z. (2023). The association of hepcidin, reticulocyte hemoglobin equivalent and anemia-related indicators on anemia in chronic kidney disease. *Medicine*, 102(17), E33558. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000033558>
- Garini, A. (2018). Kadar Hemoglobin Pada Pasien Gagal Ginjal Kronik Yang Menjalani Hemodialisis. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*, 13(2), 111–116. <https://doi.org/10.36086/jpp.v13i2.234>
- Hermawathi, N. M. R., Hajat, A., Hernaningsih, Y., & Widodo, W. (2020). The difference of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent Pre- and Post-Ultrafiltration Hemodialysis in Patients with Chronic Kidney Disease. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 26(3), 303–306. <https://doi.org/10.24293/ijcpml.v26i3.1556>
- Inker, L. A., Astor, B. C., Fox, C. H., Isakova, T., Lash, J. P., Peralta, C. A., Tamura, M. K., & Feldman, H. I. (2014). KDOQI US Commentary on the 2012 KDIGO Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of CKD. *American Journal of Kidney Diseases*, 63(5), 713–735. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2014.01.416>
- Kasvosve, I., & Delanghe, J. (2002). Total iron binding capacity and transferrin concentration in the assessment of iron status. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 40(10), 1014–1018. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2002.176>
- Keohane, E. M., Smith, L. J., & Walenga, J. M. (2016). *Rodak's Hematology: Clinical Principle and Applications* (5th ed.). Elsevier.
- Knovich, M. A., Storey, J. A., Coffman, L. G., Torti, S. V., & Torti, F. M. (2009). Ferritin for the Clinician. *Blood Reviews*, 23(3), 95. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2008.08.001>
- Mahant, H., Jain, S., Patel, A., & Lapani, B. (2023). Appropriate Method of TIBC Estimation in Reference to Serum Transferrin Levels. *J Lab Physicians*, 15(1), 25–30. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1750065>
- Pangaribuan, L. M. P. (2017). Hak Asasi Manusia. *Jurnal Hukum & Pembangunan*, 19(6), 519. <https://doi.org/10.21143/jhp.vol19.no6.1180>
- PERNEFRI. (2018). 11th Report Of Indonesian Renal Registry 2018. *Indonesian Renal Registry (IRR)*, 1–46.
- Rachmiwati, A., Noormartany, Gondodiputro, R. S., Prihatni, D., & Al, E. (2018). Reticulocyte Hemoglobin Level of Absolute Iron Deficiency Anemia and NonAbsolute Iron Deficiency Anemia In End State Renal Disease Undergoing Maintenance Hemodialysis. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 21(1), 32–39. <https://doi.org/https://doi.org/10.24293/ijcpml.v21i1.1256>
- Rishi, G., & Subramaniam, V. N. (2017). The relationship between systemic iron homeostasis and erythropoiesis. *Bioscience Reports*, 37(6). <https://doi.org/10.1042/BSR20170195>
- Riskesdas. (2018). Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. *Kementrian Kesehatan RI*, 53(9), 1689–1699.
- Saputra, T. T., Tjiptaningrum, A., Wulan, D., & Rengganis, S. (2019). Hubungan Indeks Eritrosit dengan Kadar Reticulocyte Hemoglobin (Ret-He) pada Pasien Gagal Ginjal Kronik dengan Anemia di Bangsal Hemodialisa RSUD Kabupaten Bekasi Relationship of Erythrocyte Index and Reticulocyte Haemoglobin (Ret-He) Level in Chronic. *Medula*, 8(2), 114–120.
- Setiati, S., Alwi, I., Sudoyo, A., Stiyohadi, B., & Syam, A. (2014). *Buku Ajar Ilmu penyakit Dalam Edisi 6 Jilid 1* (Siti Setiati (ed.); 6th ed.). InternaPublishing.
- Skikne, B. S. (2008). Serum transferrin receptor. *American Journal of Hematology*, 83(11), 872–875. <https://doi.org/10.1002/ajh.21279>
- Trung, K. N., Viet, H. T., Hien, H. N. T., Khanh, V. N., Danh, T. T., & Viet, T. L. (2022). Evaluation of Predicting the Value of the Reticulocyte Hemoglobin Equivalent for Iron Deficiency in Chronic Kidney Disease Patients. *Nephro-Urology Monthly* 2022 14:2, 14(2), 121289. <https://doi.org/10.5812/NUMONTHLY-121289>
- Uçar, M. A., Falay, M., Dağdas, S., Ceran, F., Uurlu, S. M., & Özet, G. (2019). The Importance of RET-He in the Diagnosis of Iron Deficiency and Iron Deficiency Anemia and the Evaluation of Response to Oral Iron Therapy. *Journal of Medical Biochemistry*, 38(4), 496. <https://doi.org/10.2478/JOMB-2018-0052>
- Utami, I. A. A., Santhi, D. G. D. D., & Lestari, A. A. W.

(2020). Prevalensi dan komplikasi pada penderita gagal ginjal kronik yang menjalani hemodialisa di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar tahun 2018. *Intisari Sains Medis*, 11(3), 1216–1221. <https://doi.org/10.15562/ism.v11i3.691>

Warady, B. A., & Chadha, V. (2007). Chronic kidney disease in children: the global perspective. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 22(12), 1999–2009. <https://doi.org/10.1007/S00467-006-0410-1>

Wish, J. B. (2006). Assessing iron status: beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 1 Suppl 1, 4–8. <https://doi.org/10.2215/CJN.01490506>

2.2. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La anemia por deficiencia de hierro (ADH) es la causa más común de anemia a nivel mundial, afectando aproximadamente a 1.600 millones de personas (Iolascon et al., 2021). La anemia en la ERC es multifactorial: deficiencia absoluta o funcional de hierro, producción inadecuada de eritropoyetina (EPO), inflamación crónica y acortamiento de la vida media eritrocitaria (Mikhail et al., 2017).

Históricamente, el diagnóstico de la ADH se ha basado en parámetros bioquímicos clásicos: ferritina sérica, saturación de transferrina (TSAT), hierro sérico y capacidad total de fijación de hierro (Cappellini et al., 2020). No obstante, desde la década de 1990 se estableció que estos marcadores tienen limitaciones significativas en el contexto de la ERC, donde la inflamación crónica eleva la ferritina como reactante de fase aguda, sin importar los depósitos reales de hierro (Fonseca et al., 2023).

El contenido de hemoglobina reticulocitaria equivalente (CHr) desarrollado por el grupo de Brugnara demostró que el CHr disminuía precozmente ante la deficiencia de hierro, incluso antes de que se alteraran los índices eritrocitarios clásicos (Brugnara et al., 1993). Su utilidad se confirmó en pacientes en hemodiálisis (Fishbane et al., 1997) y, tras su aprobación por la FDA en 1997, se consolidó como el predictor más potente de deficiencia de hierro, superando a marcadores tradicionales como la ferritina sérica (Brugnara et al., 1999, 2006).

La hemoglobina reticulocitaria equivalente (Ret-He) se calcula al medir el forward catéter de la población de reticulocitos que se identifica en el scattergram óptico de los glóbulos rojos, eligiendo las células con la mayor fluorescencia lateral que se obtiene usando un marcador fluorescente de ácidos nucleicos (Arrechaga et al., 2013). Un año después, Brugnara et al. (2006) publicaron el artículo de revisión que demostró una buena concordancia entre Ret-He y CHr ($r^2 = 0.88$) y estableció un punto de corte de 27.2 pg para el diagnóstico de deficiencia de hierro en diálisis (sensibilidad 93.3 %, especificidad 83.2 %), consolidando la evidencia sobre su utilidad en pacientes con ERC. A partir de 2006, muchos estudios han confirmado el Ret-He en pacientes con ERC. Su independencia del estado inflamatorio fue una de las ventajas más importantes, ya que la ferritina y la TSAT son controladas por la proteína reguladora del hierro, la hepcidina, que aumenta en la inflamación crónica típica de la ERC (Gluba-Brzózka et al., 2020).

En 2013, Urrechaga et al. publicaron una revisión exhaustiva sobre los biomarcadores de hipocromía, donde recopilaron la evidencia sobre nuevos parámetros eritrocitarios y reticulocitarios presentes en los analizadores modernos, destacando su capacidad para identificar o detectar deficiencia de hierro absoluta y funcional sin costo adicional, al obtenerse del mismo hemograma. (Urrechaga et al., 2013). Con la evidencia acumulada, estos

parámetros fueron siendo incluidos poco a poco en las guías de práctica clínica. La guía KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) para el manejo de la anemia en la ERC recomendó considerar el CHr como herramienta adicional para la evaluación del estado del hierro (Mikhail et al., 2017). La UK Kidney Association, en su actualización de 2025, confirmó que los parámetros reticulocitarios son útiles para orientar la terapia con hierro en pacientes con ERC, especialmente en aquellos con inflamación concomitante (Bhandari et al., 2025).

2.3. MAGNITUD DEL PROBLEMA

La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud pública mundial de proporciones epidémicas. Según el estudio Global Burden of Disease (GBD) 2023, la cifra de adultos (≥ 20 años) con ERC se duplicó en las últimas décadas, pasando de 378 millones en 1990 a 788 millones en 2023 (GBD 2023 CKD Collaborators, 2025).

En América Latina, la carga de la enfermedad aumentó considerablemente entre 1990 y 2019, agravada por desigualdades socioeconómicas y sistemas de salud heterogéneos (Correa-Rotter et al., 2023; Rosas-Valdez et al., 2024). Un metaanálisis regional reportó una prevalencia agrupada del 17.14 %, siendo mayor en mujeres (19.23 %) que en hombres (16.75 %), y con variaciones extremas que van desde el 7.26 % en Ecuador hasta el 27.14 % en Haití (Rosas-Valdez et al., 2024). Asimismo, la terapia de reemplazo renal (TRR) promedió 848 casos por millón de población (pmp) en 2019, liderada por Puerto Rico (2,129 pmp) frente a las tasas más bajas en Nicaragua (111 pmp) (Correa-Rotter et al., 2023).

La anemia en la ERC tiene un impacto clínico significativo: se asocia con mayor mortalidad, hospitalización, eventos cardiovasculares y progresión de la ERC (Stoumpos et al., 2024). Además, contribuye al síndrome cardiorrenal-anemia, una compleja interacción fisiopatológica que empeora el pronóstico cardiovascular y renal (Zoccali et al., 2023). La deficiencia de hierro es la causa más común y tratable de anemia en la ERC, y se presenta en dos formas: deficiencia absoluta (depósitos disminuidos) y deficiencia funcional (hierro insuficiente para la eritropoyesis a pesar de depósitos adecuados, mediada por inflamación y hepcidina elevada) (Ganz et al., 2020).

La prevalencia de deficiencia de hierro en pacientes con ERC es alarmantemente alta. Nalado et al. (2020) reportaron que el 26.1 % de los pacientes con ERC presentaban anemia ferropénica, con una frecuencia tres veces mayor que en la población control (35.3 % vs. 9.2 %). Además, el 32.3 % de los participantes presentaba deficiencia de hierro sin anemia, lo que representa una ventana de oportunidad diagnóstica y terapéutica. En pacientes en hemodiálisis, la prevalencia de deficiencia de hierro funcional es aún mayor, alcanzando hasta el 50-70 % (Courville et al., 2026).

A pesar de la magnitud del problema, el diagnóstico de la anemia ferropénica en la ERC sigue siendo un desafío clínico. Los marcadores tradicionales (ferritina sérica y saturación de transferrina [TSAT]) son influenciados por la inflamación crónica que se presenta en la ERC, lo que resulta en un diagnóstico insuficiente y en un tratamiento excesivo con hierro (Fonseca et al., 2023; Rohr et al., 2023). Esta limitación es especialmente relevante en América Latina y Colombia, donde la prevalencia de ERC es elevada y el acceso a métodos diagnósticos sofisticados se restringe en muchas regiones.

La incorporación de parámetros como la hemoglobina reticulocitaria equivalente (Ret-He), que no se ve afectada por la inflamación y ofrece una evaluación en tiempo real de la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis, podría mejorar sustancialmente el manejo de estos pacientes y reducir la carga de la enfermedad (Brugnara et al., 2006; Urrechaga et al., 2013).

2.4. BASES LEGALES

La investigación se rige bajo normas jurídicas nacionales e internacionales relacionadas con la protección de la propiedad intelectual y la ética científica en el ámbito de la salud.

2.4.1. CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE LA REPÚBLICA DE PANAMÁ

La Constitución de la República de Panamá (1972), establece que:

TÍTULO III

DERECHOS Y DEBERES INDIVIDUALES Y SOCIALES

CAPÍTULO 1.º

GARANTÍAS FUNDAMENTALES

ARTÍCULO 53.” Todo autor, artista o inventor goza de la propiedad exclusiva de su obra o invención, durante el tiempo y la forma que establezca la ley”.

2.4.2. CONVENIOS Y TRATADOS INTERNACIONALES

- El Convenio que establece la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (Convenio de la OMPI), el instrumento internacional firmado el 14 de julio de 1967 en Estocolmo que dio origen a la OMPI. El tratado entró en vigor en 1970; fue enmendado en 1979.
- Tratado de la OMPI sobre Derecho de Autor (WCT), adoptado en Ginebra el 20 de diciembre de 1996.

2.4.3. LEYES Y DECRETOS NACIONALES

- Ley 64 de 10 de octubre de 2012, sobre Derecho de Autor y Derechos Conexos.

- Ley 43 de 21 de julio de 2004, que reorganiza el Ministerio de Salud.
- Ley 81 de 26 de marzo de 2019, sobre Protección de Datos Personales.

CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA

3.1 TIPO DE ESTUDIO

El tipo de estudio es una revisión bibliográfica sistemática con un diseño no experimental, de carácter descriptivo-analítico de corte transversal. No existe intervención directa sobre las variables, debido a que los datos ya han sido generados y publicados previamente en otros estudios científicos referentes al tema de investigación.

La investigación se apoya en un enfoque cualitativo, debido a que se centrará en la interpretación, análisis crítico y síntesis de los hallazgos reportados en la literatura científica.

3.2 POBLACIÓN

La población se compone de literatura científica disponible sobre la hemoglobina reticulocitaria equivalente y su uso en la evaluación de la deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad renal crónica. Esta incluye: artículos originales, revisiones sistemáticas, metaanálisis, guías relevantes, etc.

3.3 MUESTRA

La muestra está compuesta por un subconjunto de artículos científicos, 7 en total, que pasaron por un proceso de depuración basado en los criterios de inclusión y exclusión establecidos.

Los artículos que no se incluyeron como parte de la muestra se utilizaron como base para el marco teórico y antecedentes históricos.

Se emplea un muestreo no probabilístico por conveniencia, ya que los artículos se seleccionan en función de la relación directa con la hemoglobina reticulocitaria equivalente y su aplicabilidad clínica en pacientes con enfermedad crónica.

Los estudios relacionados son los siguientes:

Estudio n.º 1: Correlación entre el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (RET-He), el estado del hierro y los índices eritrocitarios en pacientes con enfermedad renal crónica en el Hospital Prof. Dr. RD Kandou Manado. Raranta, H. P. T., Adipireno, P., & Samsuria, I. K. (2025).

Estudio n.º 2: Utilidad clínica del equivalente de hemoglobina reticulocitaria en niños sometidos a hemodiálisis. Di Pinto, D., Paz, M., Adragna, M., & López, L. (2020).

Estudio n.º 3: Asociación de hepcidina, equivalente de hemoglobina reticulocitaria e indicadores relacionados con la anemia en la enfermedad renal crónica. Gao, Z., Hu, Y., Gao, Y., Ma, X., & Hu, Z. (2023).

Estudio n.º 4: Parámetros de reticulocitos para el control de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica en diálisis peritoneal. Merlin, J. C., Amaral, A. N. M., Claro, L., et al. (2021)

Estudio n.º 5: Evaluación de la predicción del valor del equivalente de hemoglobina reticulocitaria para la deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad renal crónica. Nguyen Trung K, Ta Viet H, Nguyen Thi Hien H, Nguyen Khanh V, Thai Danh T, et al. (2022).

Estudio n.º 6: Importancia del contenido de hemoglobina reticulocitaria en el manejo de la anemia renal. Ogawa, C., Tsuchiya, K., Nitta, K., & Maeda, K. (2019).

Estudio n.º 7: Correlación entre el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (Ret-HE) y el perfil de hierro en pacientes sometidos a hemodiálisis de rutina en el Hospital General de Nusa Tenggara Occidental. Putri, A. R., Asmara, I. G. Y., & Cahyawati, T. D. (2025).

3.4 UNIDAD DE ANÁLISIS DE DATOS

3.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Artículos científicos, revisiones sistemáticas o metaanálisis.
- Artículos con texto completo accesible
- Publicaciones que se puedan traducir al español
- Estudios relacionados con hemoglobina reticulocitaria equivalente
- Investigaciones en pacientes con enfermedad renal crónica
- Artículos publicados en los últimos 10 años

3.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Artículos que no se puedan traducir
- Estudios que no aborden directamente la hemoglobina reticulocitaria equivalente o su relación con la deficiencia de hierro en enfermedad renal crónica.
- Publicaciones fuera del rango de años establecido.

3.5 TÉCNICA PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Para la recolección de la información, se organizó basado en las etapas metodológicas descritas por Henao Willes (2001) para la construcción de estados del arte.

Consta de cinco etapas:

Etapas 1: Interpretación del objetivo. Se definió el objetivo del estudio basándose en la importancia del problema y los objetivos de la investigación.

El enfoque principal fue identificar cómo se puede usar el Ret-He en la evaluación de la anemia por deficiencia de hierro en pacientes con ERC.

Etapas 2: Búsqueda de evidencias. Se buscó información que conformara la muestra y antecedentes de la investigación; para esta etapa se utilizaron buscadores académicos como Google Académico, SciELO, PubMed, Science Direct, etc. Y, con la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión previamente presentados, se consolidaron los 7 artículos que conformarían la muestra a estudiar.

Etapas 3: Análisis de la información. Se diseñó un modelo de matriz de análisis documental para los 7 estudios seleccionados. En esta se colocaron datos clave como: formulación del problema, objetivos, criterios de inclusión y exclusión, metodología, variables, resultados e instrumentos.

Etapas 4: Reflexión crítica. Cuando se completaron las matrices, se procedió a llevar a cabo un análisis descriptivo por artículo. En esta etapa se pudieron identificar similitudes y diferencias clínicas y metodológicas entre cada estudio.

Etapas 5: Síntesis e integración. En la etapa final, se juntó la información analizada para crear las conclusiones y recomendaciones del estudio, además de identificar consensos clínicos sobre el Ret-He y la ERC.

3.6 INSTRUMENTOS PARA RECOLECCIÓN DE DATOS

Como instrumentos para la recolección de datos, se crearon matrices con puntos específicos que permitieron estructurar la información de cada estudio y asegurar la adecuada disposición de los datos en función de los objetivos planteados.

Estos aspectos clave incluyen:

- Formulación del problema
- Ámbito
- Revista/Año
- Objetivos
- Criterios
- Tipo de estudio
- Metodología de recolección de datos
- Muestra
- Variables
- Instrumentos

La aplicación de esta herramienta facilitó el análisis comparativo entre los estudios y permitió identificar similitudes y diferencias notables en torno al uso del Ret-He en pacientes con ERC.

3.7 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

El procesamiento y análisis de la información se realizó mediante una revisión cualitativa y comparativa del contenido de los siete estudios relacionados con el Ret-He y la ERC.

Esta revisión bibliográfica se llevó a cabo mediante una serie de pasos sistemáticos y claros, basados en el problema de investigación sobre la aplicación clínica del Ret-He en pacientes con ERC. La información relevante fue extraída y organizada en matrices de recolección de datos, lo que nos permitió realizar una síntesis integral de los resultados para dar una resolución a los objetivos del estudio.

A través de este análisis se establecieron relaciones entre los distintos estudios, permitiendo generar conclusiones con bases fundamentadas, recomendaciones para futuras investigaciones, establecer la utilidad clínica del Ret-He y discutir sus ventajas frente a parámetros convencionales.

3.8 ASPECTOS ÉTICOS EN LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación, al ser una revisión bibliográfica de carácter documental, no involucró la participación directa de seres humanos ni la utilización de muestras biológicas. En consecuencia, no generó riesgos físicos, psicológicos, sociales, económicos o legales para ningún individuo o grupo poblacional.

El estudio se desarrolló bajo los principios éticos de integridad y confidencialidad científica, garantizando el uso adecuado de la información de las fuentes consultadas. Se fundamentó en los principios generales de la ética en investigación establecidos en la Declaración de Helsinki, Informe Belmont, las Buenas Prácticas Clínicas y las normas/criterios éticos establecidos en los códigos nacionales de ética o leyes vigentes, para así promover el respeto por el conocimiento científico y la difusión responsable.

Se respetó la propiedad intelectual de los autores siguiendo los lineamientos establecidos por las Normas de la American Psychological Association en su séptima edición (APA 7.^a ed.). Se evitó cualquier forma de plagio y se reconoció adecuadamente la autoría de los datos y resultados utilizados.

Cabe resaltar que el protocolo de investigación se sometió a registro, evaluación y aprobación de las instituciones correspondientes, que incluían el Comité de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Latina de Panamá, la Plataforma de Registro y Seguimiento de Investigación para la Salud (RESEGIS) y el Comité de Bioética de la Universidad Santander (CBI-USANTANDER) con el fin de cumplir los requisitos éticos y metodológicos establecidos para llevar a cabo el estudio.

CAPÍTULO 4: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

4.1 PRESENTACIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se muestra el análisis de cada una de las 7 investigaciones elegidas, utilizando matrices que facilitaron la organización de la información para un análisis crítico y comparativo. Este instrumento de recolección facilitó la identificación de objetivos, tipo de estudio, metodología, muestra y variables utilizados en cada estudio, con base en las etapas previamente descritas.

Etapas 3: Análisis de la información.

Etapas 4: Reflexión crítica.

Etapas 5: Síntesis e integración.

En las matrices se relacionaron los siguientes aspectos:

- Formulación del problema
- Ámbito
- Revista/Año
- Objetivos
- Criterios
- Tipo de estudio
- Metodología de recolección de datos
- Muestra
- Variables
- Instrumentos

Ver matrices relacionadas desde el número 1 hasta el número 7.

APLICACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA EQUIVALENTE EN LA EVALUACIÓN DE LA ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

Estudio n.º 1: Correlación entre el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (RET-He), el estado del hierro y los índices eritrocitarios en pacientes con enfermedad renal crónica en el Hospital Prof. Dr. RD Kandou Manado. Raranta, H. P. T., Adipireno, P., & Samsuria, I. K. (2025).

Etapa 3: Análisis de la información

Implicó la búsqueda de puntos específicos del artículo de investigación, los cuales se encuentran en cada una de las matrices.

MATRIZ N.º 1

Formulación del Problema	Revista/ Año	Objetivos	Criterios	Tipo de Estudio	Ámbito	Muestra	Variables Principales	Método para recoger los datos	Instrumentos
Evaluar la correlación de la hemoglobina reticulocitaria equivalente (RET-He), el perfil sérico y los	International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research, Vol. 19, N.º 1, 2025	Investigar la correlación entre RET-He, el perfil sérico (hierro [SI], capacidad total de fijación	Inclusión : >18 años, pacientes con ERC que se realizaron perfil sérico y hematología rutinaria.	Observacional analítico con diseño transversal.	Hospital Prof. Dr. R.D. Kandou Manado, Indonesia.	110 pacientes (53 hombres, 57 mujeres) con enfermedad renal crónica con orden de exámenes	RET-He, hemoglobina, hematocrito (Hct), glóbulos rojos (RBC), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobi	Recolección de muestras sanguíneas consecutivas durante el mes de julio de 2020, para realización de pruebas hematológicas generales,	Sysmex XN-1000 para evaluar el RET-He y parámetros eritrocitarios rutinarios; Roche Cobas 8000 para

índices eritrocitarios en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) para valorar el estado de hierro y apoyar el manejo clínico.		de hierro [TIBC], saturación de transferrina [TSAT] y ferritina) y los parámetros eritrocitarios rutinarios en pacientes con ERC.	Exclusión: pacientes trasplantados renales; pacientes referidos de otras clínicas o unidades,			s de hematología rutinaria y perfil férrico.	na corpuscular media (HCM), TIBC, TSAT, SI y ferritina.	perfil férrico y, adicionalmente, el RET-He. Posteriormente, se efectuó análisis estadístico de correlación (Pearson y Spearman).	perfil de hierro. Software SPSS versión 25.0 para análisis estadístico.
---	--	---	--	--	--	--	---	---	---

Fuente: Elaboración propia

APLICACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA EQUIVALENTE EN LA EVALUACIÓN DE LA ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

Estudio n.º 2: Utilidad clínica del equivalente de hemoglobina reticulocitaria en niños sometidos a hemodiálisis. Di Pinto, D., Paz, M., Adragna, M., & López, L. (2020).

Etapas 3: Análisis de la información

Implicó la búsqueda de puntos específicos del artículo de investigación, los cuales se encuentran en cada una de las matrices.

MATRIZ N.º 2

Formulación del Problema	Revista/a/ Año	Objetivos	Criterios	Tipo de Estudio	Ámbito	Muestra	Variab les Princip ales	Método para recoger los datos	Instrumentos
La anemia ferropénica es frecuente en pacientes pediátricos en hemodiálisis. Los marcadores	Archivos Argentinos de Pediatría, Vol. 118(6) 2020.	Explorar la capacidad diagnóstica de RET-He para detectar la deficiencia absoluta	Inclusión: Pacientes menores de 18 años en hemodiálisis durante más de 3 meses y con determinaciones de hemoglobina (Hb), RET-He, ferritina y	Retrospectivo de exactitud diagnóstica.	División de Hemodiálisis del Hospital Nacional de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Buenos	40 niños en hemodiálisis; se analizaron 164 observaciones (23 varones, en edades entre 1 a 18 años).	Hb, RET-He, ferritina sérica y TS.	Recolección retrospectiva de datos clínicos y de laboratorio a partir de historial clínico electrónico de los pacientes	Sysmex XN-1000 para RET-He y Hb; Cobas 500 (Roche) para hierro/TIBC; Architect i2000 (Abbott)

tradicionales tienen limitaciones por inflamación y variabilidad; por lo que se requiere evaluar la utilidad diagnóstica de la hemoglobina reticulocitaria equivalente (RET-He) para detectar deficiencia de hierro en niños.		de hierro y evaluar su correlación con los marcadores tradicionales de deficiencia de hierro.	saturación de transferrina (TS). Exclusión: Pacientes con hemoglobinopatías, anemias hemolíticas, trastornos hemorrágicos, mielofibrosis, transfusión reciente o sangrado activo.		Aires, Argentina.			para analizar las mediciones de Hb, RET-He, ferritina y TS. Posteriormente, se realizaron correlaciones de Pearson y pruebas diagnósticas (sensibilidad, especificidad, VPP y VPN)	para ferritina.
---	--	---	--	--	-------------------	--	--	--	-----------------

Fuente: Elaboración propia

APLICACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA EQUIVALENTE EN LA EVALUACIÓN DE LA ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

Estudio n.º 3: Asociación de hepcidina, equivalente de hemoglobina reticulocitaria e indicadores relacionados con la anemia en la enfermedad renal crónica. Gao, Z., Hu, Y., Gao, Y., Ma, X., & Hu, Z. (2023)

Etapas 3: Análisis de la información

Implicó la búsqueda de puntos específicos del artículo de investigación, los cuales se encuentran en cada una de las matrices.

MATRIZ N.º 3

Formulación del Problema	Revista/Año	Objetivos	Criterios	Tipo de Estudio	Ámbito	Muestra	Variables Principales	Método para recoger los datos	Instrumentos
La anemia en la ERC es multifactorial y los parámetros tradicionales de hierro se ven afectados por factores como la	Medicine, Vol. 102, 2023.	Investigar la asociación de la hepcidina, Ret-He y los indicadores relacionados con la anemia	Inclusión: Pacientes adultos hospitalizados con ERC estable. Exclusión: Pacientes con inflamación aguda,	Estudio observacional, transversal	Hospital Qilu de la Universidad de Shandong (Qingdao), China.	Fue un total de 230 pacientes con ERC: 40 pacientes ERC en etapa 3-4, 70 ERC en etapa 5 sin	Hepcidina-25 y Ret-He, Hb, reticulocitos, hierro sérico, ferritina, TIBC, TSAT, transferrina,	Recolección de muestras sanguíneas consecutivas entre enero de 2019 y diciembre de 2020, para la determinación de	Sysmex XN-3000 para Hb y Ret-He; Roche c701 para creatinina. Equipos Beckman DX1800 para ferritina, EPO, IFAb

inflamación. Con ese contexto, fundamental llevar a cabo investigaciones que analicen la asociación entre hepcidina, hemoglobina equivalente reticulocitaria (RET-He) e indicadores relacionados con la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica.		en pacientes con ERC.	sangrado, transfusión o cirugía en los últimos 3 meses, cáncer, enfermedades hematológicas, anemia no renal y/o disfunción hepática.			terapia de reemplazo renal, 50 en diálisis peritoneal y 70 en hemodiálisis.	creatinina sérica, IL-6, proteína C reactiva de alta sensibilidad, EPO, anticuerpos contra el factor intrínseco (IFAb) y receptor soluble de transferrina (sTfR).	parámetros hematológicos, bioquímicos e inflamatorios. Posteriormente, se llevó a cabo un análisis estadístico con ANOVA, correlaciones Pearson y regresión múltiple ajustada por edad, sexo y uso de agentes estimulantes de la eritropoyesis (ASE por sus siglas en inglés).	y sTfR. Kits ELISA para IL-6 y hepcidina-25. Software SPSS v210 para análisis estadístico.
---	--	-----------------------	--	--	--	---	---	--	--

Fuente: Elaboración propia

APLICACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA EQUIVALENTE EN LA EVALUACIÓN DE LA ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

Estudio n.º 4: Parámetros de reticulocitos para el control de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica en diálisis peritoneal. Merlin, J. C., Amaral, A. N. M., Claro, L., et al. (2021)

Etapa 3: Análisis de la información

Implicó la búsqueda de puntos específicos del artículo de investigación, los cuales se encuentran en cada una de las matrices.

MATRIZ N.º 4

Formulación del Problema	Revista/Año	Objetivos	Criterios	Tipo de Estudio	Ámbito	Muestra	Variables Principales	Método para recoger los datos	Instrumentos
Los biomarcadores convencionales para el diagnóstico y seguimiento de la anemia en pacientes	Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPM L), 2021	Analizar el papel de la fracción de reticulocitos inmaduros (IRF) y el equivalente de	Inclusión: Pacientes ≥ 18 ERC estadio 5 en diálisis peritoneal durante al menos 30 días, con o sin agentes estimulantes	Prospectivo, observacional, multicéntrico.	Centro de Hematología y Hemoterapia de Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil.	35 pacientes con ERC en diálisis peritoneal (59 $\pm$ 13 años; 51 %	RET-He, IRF, hemoglobina (Hb), ferritina, índice de saturación de transferrina (IST/TSI), reticulocitos	Recolección de muestras de sangre para la realización de hemogramas, medición de parámetros	Analizador hematológico Sysmex XE-5000/XN-5000 para hemogramas y parámetros reticulocitarios;

con enfermedad renal crónica (ERC) presentan limitaciones debido a la influencia de la inflamación, las reservas de hierro y la resistencia a los agentes estimulantes de la eritropoyesis. Con esto en mente, se plantea si parámetros reticulocitarios (IRF y RET-He)		hemoglobina en reticulocitos (RET-He) mediante el analizador hematológico Sysmex XN-5000 en el seguimiento de la anemia por ERC en pacientes en diálisis peritoneal.	es de eritropoyesis (ESA) y suplemento de hierro que firmaron el consentimiento informado. Exclusión : no fueron especificados			hombres).	s (RET%, RET#, LFR%, MFR%, HFR%), biomarcadores inflamatorios (IL-1 β , IL-6, TNF- α , MCP-1), índice de resistencia a eritropoyetina (ERI).	reticulocitarios y biomarcadores inflamatorios; adicionalmente, se revisaron los historiales clínicos con datos de 6 meses antes y después de la toma de muestra.	sistema Luminex Multiplexing Instruments para biomarcadores inflamatorios; revisión de expedientes clínicos.
---	--	--	--	--	--	-----------	---	---	---

pueden mejorar el monitoreo.									
------------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Fuente: Elaboración propia

APLICACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA EQUIVALENTE EN LA EVALUACIÓN DE LA ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

Estudio n.º 5: Evaluación de la predicción del valor del equivalente de hemoglobina reticulocitaria para la deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad renal crónica. Nguyen Trung K, Ta Viet H, Nguyen Thi Hien H, Nguyen Khanh V, Thai Danh T, et al. (2022).

Etapa 3: Análisis de la información.

Se identificaron los elementos clave del diseño y los resultados de la investigación, destacando la importancia de la hemoglobina reticulocitaria equivalente (RET-He) para prever la falta de hierro (ID) en personas con enfermedad renal crónica (ERC).

MATRIZ N.º 5

Formula ción del Problema	Revista/ Año	Objetivos	Criterios	Tipo de Estudio	Ámbito	Muestra	Variables Principales	Método para recoger los datos	Instrumentos
El principal problema que abordó en este estudio es conocer el valor de la hemoglobina	Revista mensual de Nefro-Urología: Vol. 14, número 2; e121289. Publicado el 11 de mayo de 2022.	Su objetivo principal fue evaluar el papel de la hemoglobina reticulocitaria equivalente	Inclusión : pacientes ≥16 años, ambos sexos, diagnosticados con ERC estadios 3–5 (sin hemodiálisis)	Estudio observacional descriptivo de corte transversal	Departamento de Nefrología y Hemodiálisis, Hospital Militar 103, Universidad Médico-	131 pacientes adultos con ERC estadios 3–5.	Dependiente: deficiencia de hierro (TSAT < 20 %). Independiente: RET-He.	Por medio de muestras sanguíneas para hemograma completo, índices bioquímicos convencionales	Se utilizó el analizador hematológico Sysmex XN1000 (Japón) para hemograma e índices

bina reticulocitaria equivalente (RET-He) para predecir la deficiencia de hierro (ID) en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) estadios 3–5		nte (RET-He) para la deficiencia de hierro (ID) en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) estadios 3–5.	sis), que aceptaron participar. Exclusión: terapia de reemplazo renal, antecedentes de haber recibido EPO en las 2 semanas previas, terapia con hierro, evidencia de sangrado, infección o transfusión sanguínea en los últimos 6 meses.		Militar de Vietnam, Hanói. Periodo: octubre 2019 a octubre 2020.		Covariables: hierro sérico, ferritina, TIBC, TSAT, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, recuento absoluto y porcentaje de reticulocitos, albúmina sérica, hs-CRP, eGFR, urea, creatinina.	nales, marcadores de estado de hierro (hierro sérico, ferritina, TIBC) e índices reticulocitarios (incluyendo RET-He).	reticulocitarios, además de citometría de flujo con colorante fluorescente Polymerth in para la medición de RET-He un Kit ELISA para estimación de TIBC. Análisis estadístico con SPSS (the Statistical Package for the Social Science) v22.0.
--	--	---	---	--	--	--	---	--	--

Fuente: Elaboración propia

APLICACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA EQUIVALENTE EN LA EVALUACIÓN DE LA ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

Estudio n.º 6: Importancia del contenido de hemoglobina reticulocitaria en el manejo de la anemia renal. Ogawa, C., Tsuchiya, K., Nitta, K., & Maeda, K. (2019).

Etapa 3: Análisis de la información

Se fundamentó en la búsqueda de información acerca de componentes particulares del artículo de investigación, la cual se encuentra en cada matriz.

MATRIZ N.º 6

Formulación del Problema	Revista / Año	Objetivos	Criterios	Tipo de Estudio	Ámbito	Muestra	Variables Principales	Método para recoger los datos	Instrumentos
El nivel adecuado de hierro en personas que se encuentran en hemodiálisis (HD) continúa siendo un	Blood Purification, 2019; 47(suppl 2): 1–4	Evaluar la correlación de CHr con s-ft y TSAT para expresar el contenido óptimo de hierro para la hematopoyesis en	Inclusión: Pacientes ambulatorios HD que reciben eritropoyetina humana recombinante (rHuEPO). Todos	Retrospectivo y observacional	Hospitalario. Maeda Institute of Renal Research y Tokyo Women's Medical Universi	181 pacientes ambulatorios en hemodiálisis (HD).	CHr (contenido de hemoglobina reticulocitaria), s-ft (ferritina sérica), TSAT (saturación de	Recolección retrospectiva a partir de registros clínicos al inicio de la terapia	ADVIA 120 (Bayer Diagnosis) para medición de CHr por citometría de flujo; LC–MS/MS

tema debatido. La fiabilidad de los marcadores convencionales (s-ft y TSAT) está influida por inflamación, infecciones, enfermedad hepática y tumores. Es necesario determinar los valores de corte óptimos de ferritina sérica (s-ft) y saturación de transferrina(TSAT) usando CHr como referencia, e investigar su relación con		pacientes HD. Identificar los valores de corte óptimos de CHr, s-ft y TSAT. Para diagnosticar deficiencia de hierro en pacientes en hemodiálisis (HD). Investigar la relación entre CHr y Hep-25 medida simultáneamente.	firmaron consentimiento informado al inicio de la diálisis. Inflamación bien controlada (PCR mediana: 0.06 mg/dL; RIQ: 0.03–0.27). Exclusión: El artículo no presenta una lista explícita de estos.		ty, Japón		transferrina), Hep-25 (hepcidina -25), número de reticulocitos, Hb (hemoglobina), PCR (proteína C reactiva, variable de control).	de diálisis.	(cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem) para Hep-25.
--	--	--	---	--	-----------	--	---	--------------	--

la hepcidina- 25 (Hep-25).									
-------------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Fuente: Elaboración propia

APLICACIÓN CLÍNICA DE LA HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA EQUIVALENTE EN LA EVALUACIÓN DE LA ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

Estudio n.º 7: Correlación entre el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (Ret-HE) y el perfil de hierro en pacientes sometidos a hemodiálisis de rutina en el Hospital General de Nusa Tenggara Occidental. Putri, A. R., Asmara, I. G. Y., & Cahyawati, T. D. (2025).

Etapa 3: Análisis de la información

Los elementos específicos de este artículo de investigación se sintetizaron en la recolección de información.

MATRIZ N.º 7

Formulación del Problema	Revista/ Año	Objetivos	Criterios	Tipo de Estudio	Ámbito	Muestra	Variables Principales	Método para recoger los datos	Instrumentos
La anemia por deficiencia de hierro es una complicación frecuente en pacientes en hemodiálisis	Jurnal Kedokteran Unram, Volumen 14, Número 2, junio 2025, pp. 72–78. DOI: 10.29303/jk.v14i2.6116	Determinar la correlación entre el Ret-HE y los parámetros tradicionales de	Inclusión: edad 18–65 años, HD rutinaria ≥ 3 meses, con datos de perfil férrico (hierro	Observacional analítico con diseño transversal (cross-sectional).	Unidad de Hemodiálisis del Hospital General de Nusa Tenggara	50 pacientes seleccionados mediante muestreo consecutivo (consec	Independiente: Ret-HE (reticulocyte hemoglobin equivalent). Dependientes: SI (serum	Datos primarios de Ret-HE mediante análisis de laboratorio; datos secundarios de	Analizador hematológico automatizado para Ret-HE; métodos de laboratorio estandarizados para perfil férrico; SPSS para análisis estadístico; pruebas de

s (HD). Los parámetros estándar de perfil férrico (hierro sérico, TIBC, TSAT) presentan limitaciones de disponibilidad y costo en muchos centros de salud de Indonesia. Se plantea si el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (Ret-HE), un parámetro más económico y práctico		hierro (hierro sérico, TIBC, TSAT y ferritina) en pacientes en hemodiálisis rutinaria del Hospital General de Nusa Tenggara Occidental.	sérico, TIBC, TSAT), y consentimiento informado. Exclusión: datos de historia clínica incompletos, hemorragia aguda, transfusión sanguínea en las últimas 2 semanas.		Occidental (RSUD Provinsi NTB), realizado entre enero y abril de 2024.	utive sampling). Tamaño muestral mínimo calculado: 31 pacientes.	iron), TIBC (total iron binding capacity), TSAT (transferri n saturation).	arios de SI, TIBC y TSAT extraídos de historias clínicas.	correlación de Pearson/Spearman y prueba T de independencia/Mann-Whitney U.
---	--	---	---	--	--	--	--	---	---

que puede realizarse junto con el hemograma rutinario se correlaciona significativamente con el perfil férrico estándar en pacientes en HD rutinaria.									
---	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Fuente: Elaboración propia

4.2 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN POR ARTÍCULO

Estudio n.º 1: Correlación entre el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (RET-He), el estado del hierro y los índices eritrocitarios en pacientes con enfermedad renal crónica en el Hospital Prof. Dr. RD Kandou Manado. Raranta, H. P. T., Adipireno, P., & Samsuria, I. K. (2025).

Etapas 4: Reflexión crítica

Este estudio nace desde la problemática clínica relevante, ya que la anemia es una de las complicaciones más comunes que enfrentan los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC); la evaluación de los parámetros férricos en ellos enfrenta limitaciones tales como la susceptibilidad a alteración de resultados por procesos inflamatorios y, desde el punto de vista laboratorial, son pruebas bioquímicas de alto costo.

En este contexto, los autores sugieren analizar la relación entre la hemoglobina reticulocitaria equivalente (RET-He), el perfil de hierro y los índices eritrocitarios en pacientes con ERC para valorar el estado de hierro y apoyar el manejo clínico.

El diseño observacional analítico de corte transversal fue apropiado para determinar la correlación entre las variables estudiadas. Además, los criterios de inclusión y exclusión se describieron de manera adecuada, permitiendo seleccionar pacientes adultos con ERC que contaban con estudios completos de perfil férrico y hematológico. Sin embargo, por la forma en que se llevó a cabo el estudio, no se pudieron establecer relaciones de causa y efecto ni medir cambios en los parámetros con el tiempo, lo que dificulta entender cómo ha evolucionado la salud de los pacientes (Raranta et al., 2025).

La muestra estuvo conformada por 110 pacientes, la cual se apropió para garantizar una adecuada potencia estadística. Sin embargo, al limitarse a un solo hospital, a un único mes de recolección y a pacientes trasplantados, se ve reducida la representatividad de pacientes con ERC pertenecientes a otras áreas geográficas o centros hospitalarios y la aplicabilidad de los hallazgos a la totalidad de pacientes con ERC.

Los resultados mostraron una correlación positiva y estadísticamente significativa entre RET-He y algunos marcadores del metabolismo del hierro, específicamente hierro sérico ($r = 0.349$; $p = 0.000$), saturación de transferrina (TSAT) ($r = 0.393$; $p = 0.000$) y ferritina ($r = 0.279$; $p = 0.003$). Sin embargo, la influencia de estas asociaciones fue débil, lo que indica que, aunque el RET-

He refleja parcialmente el estado del hierro disponible para la eritropoyesis no puede ser visto como un reemplazo total de los marcadores tradicionales.

Por otra parte, no se encontró una correlación significativa entre RET-He y la capacidad total de fijación del hierro (TIBC), hemoglobina (Hb) y hematocrito (Hct); en el caso del TIBC, los autores atribuyen ese resultado a la influencia de factores adicionales de los pacientes, como su estado nutricional o inflamación, y para el Hb y Hct lo consideraron un limitante para el valor del RET-He como marcador integral de anemia.

Un hallazgo relevante fue la correlación moderada encontrada entre RET-He y TSAT en el grupo de pacientes con exceso de hierro ($r = 0.404$; $p = 0.000$). Este resultado sugiere que el RET-He podría ser útil como herramienta complementaria para estimar la disponibilidad de hierro en pacientes con sobrecarga férrica. Sin embargo, la correlación entre RET-He y ferritina no fue significativa cuando se analizaron de forma independiente los grupos con suficiente hierro y con exceso de hierro. Esto podría explicarse por el comportamiento de la ferritina como reactante de fase aguda, susceptible a alteraciones provocadas por procesos inflamatorios frecuentes en pacientes con ERC (Raranta et al., 2025).

En cuanto a las limitaciones del estudio, es importante resaltar la exclusión de pacientes con anemia ferropénica absoluta y funcional de algunos de los análisis. Esto se debe al reducido número de participantes, lo que no permitió la evaluación con mayor profundidad del comportamiento del RET-He en poblaciones donde este marcador podría tener mayor utilidad diagnóstica.

Los autores concluyen, basados en los resultados ya descritos, que el RET-He presenta una correlación significativa con diversos marcadores del perfil férrico y recomiendan su utilización como parámetro adicional para la valoración de pacientes con ERC. Asimismo, señalan la necesidad de realizar un mayor número de estudios que permitan establecer valores de corte específicos para identificar sobrecarga de hierro y definir con mayor precisión su utilidad clínica. Esta recomendación es adecuada, ya que los resultados obtenidos muestran un buen potencial para el diagnóstico, pero aún necesitan ser validados a través de estudios en múltiples centros, con grupos de personas más grandes y seguimiento a largo plazo (Raranta et al., 2025).

Estudio n.º 2: Utilidad clínica del equivalente de hemoglobina reticulocitaria en niños sometidos a hemodiálisis. Di Pinto, D., Paz, M., Adragna, M., & López, L. (2020).

Etapas 4: Reflexión crítica

Este estudio aborda la anemia ferropénica en los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) en hemodiálisis, pero en una población de riesgo que muchas veces no es la muestra usual de investigaciones: pacientes pediátricos. La literatura previa se ha centrado en pacientes adultos, por lo que la inclusión de población infantil representa un aporte novedoso e importante.

Los autores plantean que el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (RET-He) podría resolver las limitaciones de los marcadores tradicionales del estado del hierro, como la ferritina, que son influenciados por la inflamación y otros factores biológicos.

Al ser un estudio de tipo retrospectivo, se limita a la capacidad de establecer causalidad y de controlar variables que causen confusión; adicionalmente, al haber sido una muestra pequeña (40 niños y 164 observaciones), se vio reducido su poder estadístico (Di Pinto et al., 2020)

Cabe destacar que, por criterios de los investigadores, los pacientes con hemoglobinopatías, hemorragias recientes o transfusiones fueron excluidos; esto restringe la representatividad de la población pediátrica en hemodiálisis e introduce una variabilidad no explorada a profundidad.

En sus resultados se resalta que el uso del RET-He (≤ 29 pg) incrementó la detección de anemia ferropénica en niños en hemodiálisis al 44 %, comparado con el 13 % detectado por marcadores tradicionales (ferritina < 100 $\mu\text{g/L}$ y saturación de transferrina [TS] < 20 %); esto demostró una sensibilidad del 90.9 % y un valor predictivo negativo de un 99.1 %, lo que lo convierte en un excelente parámetro para descartar anemia. (Di Pinto et al., 2020, p. 416)

En cuanto a correlaciones, se encontró una correlación positiva moderada entre el RET-He y la TS ($r=0.52$, $p<0.001$), lo que respalda su utilidad como marcador del hierro disponible para la eritropoyesis; por otro lado, no se observó una correlación significativa entre la hemoglobina (Hb) y la TS ($r=0.05$, $p=0.5$), lo que cuestiona su utilidad como parámetro en este tipo de población. En el caso RET-He y Hb, fue más débil ($r=0.35$, $p<0.001$), pero significativa, indicando que el RET-He refleja mejor la disponibilidad de hierro que la Hb madura; adicionalmente, se obtuvo una correlación negativa entre Hb y ferritina ($r=-0.19$, $p=0.02$), lo que refuerza la idea de que la ferritina en este contexto refleja inflamación más que reservas de hierro. (Di Pinto et al., 2020, p. 416)

Este artículo abre una línea de investigación en el entorno pediátrico que, hasta el momento, no ha sido tan explorada. Los resultados obtenidos lo vuelven un aporte clave para demostrar que el RET-He es una herramienta prometedora y accesible para el seguimiento o descarte de la anemia ferropénica por su alto valor predictivo negativo; sin embargo, su baja especificidad hace que en la práctica clínica se deba complementar con el perfil férrico.

Cabe resaltar que, por el diseño del estudio, la evidencia recolectada se vio limitada. Se recomendaría llevar a cabo estudios prospectivos, multicéntricos y con un mayor número de muestra para tener bases de mayor validez y así definir puntos de corte específicos para la población pediátrica.

Estudio n.º 3: Asociación de hepcidina, equivalente de hemoglobina reticulocitaria e indicadores relacionados con la anemia en la enfermedad renal crónica. Gao, Z., Hu, Y., Gao, Y., Ma, X., & Hu, Z. (2023).

Etapas 4: Reflexión crítica

En este estudio se examina la anemia en la enfermedad renal crónica (ERC) a través de la relación entre la hepcidina-25, la inflamación (IL-6) y el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (RET-He). Con base en esto, los autores proponen la idea principal de que la hepcidina controla directamente al RET-He y, por lo tanto, la disponibilidad de hierro para la eritropoyesis.

El trabajo se planteó como un estudio observacional transversal, con un enfoque analítico para explorar asociaciones entre hepcidina-25, RET-He y otros indicadores de anemia en pacientes con ERC.

La muestra se conformó por un total de 230 participantes, donde se incluyeron pacientes con diferentes estadios de ERC (desde la etapa 3 hasta la 5) y modalidades de tratamiento (diálisis peritoneal y hemodiálisis). Al ser una muestra amplia, aporta representatividad y permite realizar comparativas entre subgrupos; sin embargo, las diferentes causas de ERC, uso variable de agentes estimulantes de la eritropoyesis (ESA por sus siglas en inglés) y hierro introducen factores de confusión complejos de controlar. (Gao et al., 2023)

La medición de RET-He se realizó con el analizador Sysmex XN-3000, y hepcidina-25 mediante kits ELISA, lo que asegura precisión técnica. El análisis

estadístico incluyó correlaciones de Pearson y regresión múltiple ajustada por edad, sexo y uso de ESA, lo que fortalece la validez interna. (Gao et al., 2023)

El estudio demostró que el RET-He se asociaba positivamente con la hemoglobina (Hb), ferritina, hierro sérico (SI) y saturación de transferrina (TSAT), y negativamente con creatinina, reticulocitos, IL-6 y receptor soluble de transferrina (sTfR). Sin embargo, de los resultados, el más llamativo fue que no se encontró una correlación significativa entre hepcidina-25 y RET-He ($r = -0.079$, $p = 0.232$); pero sí una con la IL-6. Con esto, los autores sugieren que la inflamación es el verdadero mediador de la relación y que la hepcidina-25 no afecta directamente la disponibilidad de hierro en los reticulocitos. (Gao et al., 2023)

Con estos resultados, el análisis multivariado apoya la idea de que la inflamación es un factor importante en la anemia ferropénica de la ERC y que el RET-He muestra de manera confiable la disponibilidad de hierro en la médula ósea y la eficacia de la eritropoyesis.

El estudio también demostró que los pacientes en hemodiálisis tenían niveles más bajos de RET-He que otros grupos (ERC etapa 3-4, 5 sin diálisis, diálisis peritoneal), lo que refuerza la utilidad de RET-He como marcador sensible en poblaciones con mayor riesgo de anemia. (Gao et al., 2023)

El trabajo de estos autores demuestra que, incluso en presencia de inflamación, el RET-He es un marcador útil, pero de forma complementaria. La falta de correlación con hepcidina-25 sugiere que RET-He es más estable y menos afectado por variaciones hormonales, lo que lo convierte en un parámetro práctico para el seguimiento y monitoreo de anemia para pacientes con ERC.

Estudio n.º 4: Parámetros de reticulocitos para el control de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica en diálisis peritoneal. Merlin, J. C., Amaral, A. N. M., Claro, L., et al. (2021)

Etapas 4: Reflexión crítica

El estudio se centra en la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) en diálisis peritoneal (DP), una población menos estudiada que los pacientes en hemodiálisis, donde se plantean los parámetros reticulocitarios.

Los autores plantean la idea de que los parámetros reticulocitarios como la fracción de reticulocitos inmaduros (IRF) y el equivalente de hemoglobina

reticulocitaria (RET-He) podrían mejorar el monitoreo de la anemia y la resistencia a agentes estimulantes de la eritropoyesis (ESA).

El estudio fue de diseño prospectivo, observacional y multicéntrico, lo que permitió una diversidad de pacientes. Sin embargo, el tamaño de la muestra, el cual fue de 35 pacientes, al ser pequeño, lo limita en precisión analítica. (Merlin et al., 2021)

Se utilizó el analizador Sysmex XE-5000 para medir RET-He e IRF para asegurar la calidad de resultados; adicionalmente, se incluyeron biomarcadores inflamatorios (interleucina-6 [IL-6], factor de necrosis tumoral- α [TNF- α], proteína quimiotáctica de monocitos-1 [MCP-1]), lo que añadió valor, a pesar del tamaño de muestra.

Otro aspecto metodológico crucial que resaltar es que solo se incluyeron pacientes clínicamente estables, lo que puede no reflejar la realidad de todos los pacientes en diálisis peritoneal, especialmente aquellos con mayor comorbilidad o inflamación.

Los resultados mostraron la prevalencia de anemia en pacientes con ERC en 32.4% (hemoglobina [Hb] <11 g/dl). Esto corrobora que la anemia es una de las complicaciones más frecuentes en esta población (algo menor en los pacientes con hemodiálisis). Cabe resaltar que el grupo de estudio tenía una resistencia a agentes estimulantes de la eritropoyesis (ESA >0.02 μ g) del 87%. Esto refleja una dificultad terapéutica en el grupo. (Merlin et al., 2021)

En cuanto a la disponibilidad de hierro, se obtuvo que la ferritina y la saturación de transferrina (TSAT) sugirieron una alta prevalencia de deficiencia (82 % y un 51.7 %, respectivamente), mientras que el RET-He. Detectó deficiencia en solo el 11.8 % de los pacientes. Esta discrepancia sugiere que RET-He refleja mejor el hierro funcional disponible para la eritropoyesis y se ve afectado en menor medida por la inflamación que la transferrina y TSAT. (Merlin et al., 2021)

Además, se vio que los pacientes con IRF% >10.5 tenían niveles de Hb más bajos y más resistencia a ESA, mientras que los que tenían IRF% ≤ 10.5 mostraban Hb más alta y menos resistencia. Esto hace que el IRF sea un marcador dinámico de la eficacia eritropoyética. (Merlin et al., 2021)

El estudio aporta evidencia de que tanto el RET-He como el IRF pueden complementar a los marcadores rutinarios para el monitoreo de anemia en pacientes con ERC en DP, al ser útiles para identificar la deficiencia de hierro y la resistencia a ESA (respectivamente).

Este aporte también nos da a entender que la anemia ferropénica en diálisis peritoneal puede estar subdiagnosticada o mal interpretada si se usan solo ferritina y TSAT. RET-He, junto con IRF, ofrece una visión más precisa del

hierro disponible para la eritropoyesis y permite diferenciar entre deficiencia absoluta y funcional. Sin embargo, para definir puntos de corte y tener más validez clínica de su uso, se deben llevar a cabo estudios prospectivos con un tamaño de muestra mayor y un seguimiento longitudinal.

Estudio n.º 5: Evaluación de la predicción del valor del equivalente de hemoglobina reticulocitaria para la deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad renal crónica. Nguyen Trung K, Ta Viet H, Nguyen Thi Hien H, Nguyen Khanh V, Thai Danh T, et al. (2022).

Etapas 4: Reflexión crítica

Esta investigación se realizó buscando evaluar el papel de la hemoglobina reticulocitaria equivalente (RET-He), evidenciando precozmente la deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC). Según la teoría proporcionada por el artículo, este nuevo parámetro es un nuevo indicador para evaluar el estado de hierro en eritrocitos inmaduros y se mide por medio de la citometría de flujo.

Los aportes en los que se centró este artículo son evidenciar la utilidad del RET-He y evidenciar la deficiencia de hierro en pacientes adultos con ERC en estadios 3 a 5. Para la realización de este estudio se utilizaron criterios de inclusión y exclusión, los cuales se detallaron adecuadamente, excluyendo a pacientes en terapia de reemplazo renal, con terapia con hierro o EPO reciente, sangrado activo, infección o transfusión en los últimos seis meses. (Trung et al., 2022)

En este estudio, el del RET-He para identificar la deficiencia de hierro en pacientes con ERC fue moderada. El uso de un punto de corte de RET-He de 28.15 g/L se derivó del análisis ROC, reportando que presentó una sensibilidad de 45.5%, detectando menos de la mitad de los casos con deficiencia de hierro, y una especificidad de 100%, indicando que todos los pacientes identificados sin anemia verdaderamente no la tenían. (Trung et al., 2022)

Ya que se trató de un estudio observacional descriptivo de corte transversal, el tamaño de la muestra (131 pacientes adultos con ERC en estadios 3-5) fue moderado. Los pacientes procedían de un único hospital militar en Vietnam, con un porcentaje masculino de más del 70 % y una edad media de 51 años, con exclusión de pacientes en diálisis, con transfusión reciente o que recibían tratamiento con hierro/EPO, lo que limitaba la representatividad de la práctica clínica rutinaria. (Trung et al., 2022)

Por lo tanto, no puede incluir a todos los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) en distintos contextos geográficos o clínicos y la población no era representativa.

En cuanto a sus limitaciones, tenemos que, al ser un estudio transversal, no permite determinar la causalidad ni evaluar la evolución longitudinal del RET-He. Además, dado que es una experiencia realizada en un único centro con una población limitada, esto restringe la generalización a otros países, edades o perfiles clínicos. Por otro lado, su sensibilidad moderada (45.5 %) indica que pueden pasarse por alto casos de deficiencia de hierro. Dado que se excluyeron pacientes tratados, los resultados podrían no aplicarse directamente a los pacientes que reciben hierro o eritropoyetina, como es habitual en la práctica clínica.

Los hallazgos y aportes proporcionados por los autores son aplicables a la práctica clínica, ya que el RET-He se mide automáticamente junto a la biometría hemática y es un parámetro accesible y económico. Sin embargo, como se menciona en los límites, al tener criterios de exclusión estrictos, reduce la generalización a la práctica clínica rutinaria, donde la mayoría de los pacientes sí reciben esas terapias. El RET-He no fue superior en sensibilidad, pero sí en especificidad (100 %). La ferritina y la saturación de transferrina (TSAT) siguen siendo más sensibles, pero están más afectadas por inflamación y otras condiciones.

Este estudio concluye así: RET-He tuvo un buen valor predictivo de deficiencia de hierro en pacientes con ERC en comparación con algunos índices tradicionales de hierro. (Trung et al., 2022)

La prevalencia de anemia del 93.1 % es muy elevada, y los autores la comparan adecuadamente con estudios de referencia (Li et al., Salman et al.). Sin embargo, el hallazgo de que los pacientes en ERC estadio 5 tengan menor proporción de deficiencia de hierro que los de estadios 3-4 (31.2 % vs. 58.8 %) se atribuye a que estos últimos son pacientes "recién descubiertos" sin tratamiento previo, lo que podría tener relevancia en los resultados obtenidos. Esta explicación no se verifica con datos sobre el tiempo de diagnóstico o el tratamiento previo recibido. (Trung et al., 2022)

El modelo de regresión logística señala que la albúmina sérica y el MCV son factores de riesgo independientes, además del hierro sérico y el RET-He. La inclusión de la albúmina (OR = 1.126; P = 0.011) sugiere que el estado nutricional e inflamatorio influye en el riesgo de ID, pero los autores no exploran esta relación en la discusión. (Trung et al., 2022)

Al conocer 100 % especificidad (100 %) y su sensibilidad (45.5 %), los autores presentaron el parámetro RET. Lo he como complementario más que como un sustituto de los marcadores tradicionales. Por ende, este marcador refleja

hierro disponible en la eritropoyesis en tiempo real, antes de que se manifiesten cambios o saturación de transferrina, lo que lo convierte en un marcador útil para detectar deficiencia funcional temprana, aunque no suficiente por sí solo debido a su baja sensibilidad. (Trung et al., 2022)

Los autores compararon sus resultados con otros estudios:

- Miwa et al. (2010) reportaron AUC = 0.776, con sensibilidad mayor (74.3 %) pero menor especificidad (64.9 %).
- Brugnara et al. (2006) encontraron AUC = 0.913, con sensibilidad 93.3 % y especificidad 83.2 %.

En este estudio, RET-He demostró adecuada correlación con hierro y TSAT, confirmando su utilidad clínica. Aunque presentan ciertas contradicciones, por ejemplo, los valores de corte, en este estudio se propone un punto de corte de 28.15 g/L, mientras que otros autores sugieren valores entre 27-33 pg, y la sensibilidad es mucho más baja que en otros estudios, por lo cual podría interpretarse como una contradicción. (Trung et al., 2022)

Los autores les atribuyen estas diferencias a las variaciones en las características de la población; los pacientes no estaban en diálisis ni recibían hierro/EPO, lo que aumentaba la proporción de deficiencia de hierro y modificaba los valores de referencia.

Estudio n. ° 6: Significance of content of the reticulocyte hemoglobin in the management of renal anemia. Ogawa, C., Tsuchiya, K., Nitta, K., & Maeda, K. (2019). Blood Purification, 47(Suppl. 2), 70-73.

Etapas 4: Reflexión crítica

El estudio abarca un problema clínico actual, que es la falta de acuerdo acerca del nivel ideal de hierro en hemodiálisis. La literatura previa documenta que s-ft y TSAT se ven influidas por inflamación, enfermedades hepáticas y variación diurna. Esto resalta la importancia de encontrar un marcador más directo como CHr.

El diseño retrospectivo, los objetivos (identificar valores de corte de s-ft y TSAT usando CHr) y el problema planteado (determinar niveles óptimos de hierro). La hipótesis de que CHr tiene una correlación positiva con s-ft y TSAT hasta un cierto límite y luego se estabiliza concuerda con el método estadístico utilizado (análisis de sensibilidad del cambio, calculando coeficientes de correlación y valores F para detectar puntos de inflexión). (Ogawa et al., 2019)

Para un diseño observacional retrospectivo, el tamaño de la muestra (n=181) es adecuado y permitió correlaciones estadísticas (por ejemplo, el CHr con ferritina, TSAT y hep-25) y detección de puntos de corte. Eran pacientes ambulatorios en hemodiálisis que estaban bajo tratamiento con eritropoyetina recombinante en Japón, con inflamación controlada (PCR muy baja). Esto refleja un subgrupo específico: pacientes estables y bajo agentes estimulantes de la eritropoyesis (ESA). La población no necesariamente representa a todos los pacientes con ERC en hemodiálisis, especialmente en contextos con mayor inflamación, variabilidad nutricional o diferentes prácticas clínicas.

Los resultados son consistentes: s-ft ≤ 50 ng/mL ($r=0.47$ vs. >50 : $r=0.22$; $F=17.64$), TSAT ≤ 24 % ($r=0.58$ vs. >24 : $r=0.08$; $F=34.45$) y Hep-25 con dos puntos de corte (20 y 70 ng/mL). Son convenientes con el modelo biológico donde la correlación CHr-marcador de hierro se debilita una vez superado el umbral de suficiencia. Además, la correlación Hep-25/s-ft ($r=0.731$, $p<0.001$) valida internamente la medición. Sin embargo, al ser retrospectivo, no hubo intervención que confirmara que elevar el hierro en el grupo “deficiente” mejora CHr. (Ogawa et al., 2019)

Algunas de sus limitaciones: Al tratarse de un diseño retrospectivo, no permite establecer causalidad ni evaluar evolución longitudinal. Al tratarse de una muestra unicéntrica japonesa, limita la generalización a otras poblaciones y contextos, por ejemplo, las diferencias étnicas, dietéticas o de práctica clínica. Presenta un sesgo de selección, ya que el CHr no está cubierto por el seguro japonés, lo que restringe su aplicabilidad práctica; por ende, solo se midió CHr en centros con disponibilidad del equipo.

Este artículo indica que RET-He disminuye rápidamente cuando la eritropoyesis carece de hierro disponible, incluso antes de que se alteren parámetros clásicos como ferritina o saturación de transferrina; además, un aumento de RET-He en las primeras 48-96 horas tras la administración de hierro señala que el hierro está siendo incorporado a la síntesis de hemoglobina en reticulocitos (Ogawa et al., 2019). El estudio nos dice que administrar ESA cuando RET-He está bajo no genera respuesta, porque carece de hierro. Monitorizar RET-He ayuda a evitar el uso innecesario de ESA en pacientes con déficit funcional de hierro.

Como aportes, propone valores de corte concretos y clínicamente aplicables para s-ft (50 ng/mL) y TSAT (24 %) basados en CHr, y revela que Hep-25 >70 ng/mL podría representar el límite inferior de suficiencia de hierro, con metabolismo férrico negativo por encima de ese nivel.

Algunos vacíos son el no evaluar la respuesta a la administración intravenosa de hierro para validar los puntos de corte propuestos. Tampoco se analizaron subgrupos por dosis de ESA, tiempo en diálisis o comorbilidades. Los autores

mencionan que los ESA de larga acción consumen más hierro y suprimen Hep-25, pero no incluyeron este análisis.

Los autores reportan que RET-He (CHr) mostró una alta especificidad (80–93.2%), lo que significa que RET-He identifica con bastante precisión a los pacientes que no tienen deficiencia de hierro, y una sensibilidad variable (43–100%), lo que indica que no a menudo logra detectar todos los casos de deficiencia, hallazgos que coinciden con estudios previos en pacientes en hemodiálisis. (Ogawa et al., 2019). Los autores mencionan que, a pesar de que la sensibilidad presenta fluctuaciones, la especificidad es siempre más alta que la de otros parámetros tradicionales como ferritina sérica y saturación de transferrina. El punto de corte propuesto fue de 29-32.4 pg; para RET-He se usó el analizador ADVIA 120. Este rango se determinó mediante análisis ROC, comparando la respuesta al hierro intravenoso y los criterios clásicos de deficiencia (ferritina <100 ng/mL y TSAT <20 %). (Ogawa et al., 2019)

Estudio n.º 7: Correlación entre el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (Ret-HE) y el perfil de hierro en pacientes sometidos a hemodiálisis de rutina en el Hospital General de Nusa Tenggara Occidental. Putri, A. R., Asmara, I. G. Y., & Cahyawati, T. D. (2025).

Etapas 4: Reflexión crítica

Este estudio se mete de lleno en un problema clínico real: la enorme cantidad de pacientes en hemodiálisis que sufren anemia ferropénica y lo complicado que resulta acceder a un panel de hierro completo cuando los recursos escasean. La verdad es que proponer el Ret-HE como una herramienta de apoyo tiene todo el sentido del mundo, especialmente viendo las necesidades prácticas del sistema de salud en Indonesia.

En cuanto al método, el diseño transversal es el adecuado para analizar cómo se relacionan los parámetros en un momento específico. Además, el hecho de contar con 50 pacientes, superando los 31 que se necesitaban como mínimo, le da al estudio la fuerza estadística necesaria para detectar correlaciones moderadas. (Putri et al., 2025).

Los autores reconocen varias limitaciones importantes: el tamaño muestral relativamente pequeño restringe la generalización; por ser estudio monocéntrico, con exclusión implícita de mayores de 65 años y con muestreo consecutivo, la muestra no necesariamente refleja la heterogeneidad de la población HD/ERC a nivel regional o nacional; el uso de datos secundarios

para el perfil férrico introduce variabilidad, ya que Ret-HE y los parámetros férricos no se tomaron simultáneamente y no se excluyeron condiciones inflamatorias o de malnutrición que pueden alterar los marcadores de hierro, particularmente el TSAT y la ferritina. (Putri et al., 2025)

El análisis utiliza como punto de corte RET-He ≥ 29 pg y señala que dicho corte tiene una sensibilidad del 90,9 % y especificidad del 74,5 %. Estos valores, en términos absolutos, indican alta sensibilidad y moderada especificidad para detectar el estado que los autores comparan (deficiencia de hierro/deficiencia absoluta de hierro según sus criterios). Aun así, qué tan útil sea realmente en la práctica clínica depende mucho del estándar de referencia que se use y del tipo de población de la que estemos hablando (Putri et al., 2025).

Solo terminaron quedando 8 pacientes en el grupo de Ret HE <29 pg, frente a los 42 que tenían ≥ 29 pg. La verdad es que, con tan pocos casos en un lado, las estimaciones de sensibilidad y especificidad no son precisas y los intervalos de confianza se vuelven amplios. Los autores emplearon y discutieron Ret HE = 29 pg como punto de corte (compararon grupos ≥ 29 vs <29) y lo comentan en la discusión. (Putri et al., 2025)

Esto fortalece la validez de constructo del análisis. Aun así, hay que tener en cuenta que la fuerza de esta relación varía mucho de un estudio a otro. Esto pasa sobre todo por las diferencias en los criterios de selección, el tamaño de los grupos y quiénes participaban en las pruebas. Al final, lo que esto nos dice es que el Ret-HE no siempre puede reemplazar de forma directa a un perfil férrico completo. (Putri et al., 2025)

Este estudio es algo nuevo para Indonesia, especialmente porque casi no se ha investigado el Ret-HE por allá. Lo interesante es que aporta datos reales de un hospital público en una provincia que todavía está en desarrollo, lo cual es clave para saber cómo actuar cuando no sobran los recursos.

Al final, el estudio sí logra demostrar que existe una relación entre el Ret-HE y los parámetros de siempre. Sin embargo, aquí está el detalle: las correlaciones que salieron son bastante bajas (entre 0.236 y 0.288) y no se notaron diferencias importantes en el perfil de hierro entre los que tenían un Ret-HE normal o bajo. Entonces, la conclusión es clara: el Ret-HE funciona como un buen complemento, pero no piensen que va a reemplazar al análisis de hierro completo. Por eso, y como señala Putri (2025), hay que tomarse estos resultados con calma por las limitaciones que hubo en la metodología.

Etapa 5: Síntesis e integración

Tras el análisis individual de los siete estudios incluidos en esta revisión, se pudo consolidar la evidencia científica para identificar puntos de convergencia entre los distintos autores, así como diferencias metodológicas que diversifican y enriquecen la comprensión del tema.

De manera general, los estudios coinciden en que la anemia es una de las complicaciones más frecuentes de la enfermedad renal crónica (ERC). Además, su diagnóstico precoz es un desafío de importancia clínica debido a que los marcadores tradicionales del metabolismo de hierro se ven afectados por la inflamación crónica o por terapias dialíticas.

Uno de los principales consensos identificados fue la utilidad del Ret-He como indicador de la disponibilidad inmediata de hierro para la eritropoyesis. Los artículos demostraron asociaciones significativas entre el Ret-He y diversos parámetros férricos, tales como hierro sérico (IS), ferritina, capacidad total de fijación de hierro (TIBC) y saturación de transferrina (IST).

La evidencia revisada mostró que el Ret-He posee capacidad para detectar de manera temprana la deficiencia de hierro, incluso antes de que se manifiesten alteraciones significativas en los parámetros hematológicos.

Otro punto clave fue que los resultados en poblaciones sometidas a diferentes modalidades de tratamiento renal sustitutivo se mantenían consistentes. Tanto en pacientes en hemodiálisis como en aquellos en diálisis peritoneal, el Ret-He ha mostrado utilidad para el monitoreo del estado del hierro y el seguimiento de la respuesta eritropoyética.

Esta característica refuerza su potencial como biomarcador de seguimiento clínico en escenarios donde las necesidades de hierro pueden variar constantemente.

Desde el punto de vista metodológico, se observó una variabilidad en tipos de estudio donde se acentuaban los observacionales, descriptivos y transversales. Aunque las diferencias en tamaño y tipo de muestra pueden dificultar la comparación directa de ciertos resultados, la tendencia general fue reconocer el valor clínico del Ret-He.

En conjunto, la evidencia científica analizada permite concluir que el Ret-He constituye una herramienta complementaria prometedora para la valoración de la anemia por deficiencia de hierro en pacientes con ERC debido a su capacidad para reflejar la disponibilidad funcional de hierro, su utilidad en distintas modalidades de tratamiento renal y su menor susceptibilidad a factores inflamatorios; esto lo convierte en un biomarcador de gran interés clínico e investigativo. No obstante, se considera necesario continuar desarrollando investigaciones prospectivas y multicéntricas que permitan

establecer puntos de corte estandarizados y fortalecer la evidencia sobre su implementación en la práctica clínica habitual.

CONCLUSIONES

- La evidencia científica analizada demuestra que la hemoglobina reticulocitaria equivalente (Ret-He) posee aplicabilidad para la evaluación de anemia por deficiencia de hierro en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC), debido a su capacidad de reflejar de forma oportuna la disponibilidad funcional de hierro.
- Los estudios revisados evidencian una evolución progresiva en la investigación de este biomarcador, pasando a ser considerado un parámetro complementario y consolidándose como una herramienta prometedora para la valoración del estado férrico y el monitoreo de la eritropoyesis.
- La anemia en la enfermedad renal crónica es complicación de origen multifactorial, donde la deficiencia de hierro (tanto absoluta como funcional) constituye la causa más frecuente y tratable. La disminución en la producción de eritropoyetina, el estado inflamatorio crónico y la elevación de hepcidina generan un entorno desfavorable para la eritropoyesis.
- El Ret-He se consolida como un biomarcador hematológico que mide directamente el contenido de hemoglobina en los reticulocitos más jóvenes circulantes, lo que refleja la disponibilidad funcional de hierro en el momento de la eritropoyesis. A diferencia de los eritrocitos maduros, que representan un estado histórico del metabolismo del hierro, los reticulocitos permiten evaluar cambios recientes en la eritropoyesis.
- La comparación entre el Ret-He y los marcadores tradicionales del perfil férrico, realizada en los estudios analizados, evidenció que el Ret-He ofrece ventajas diagnósticas importantes, especialmente en pacientes con inflamación crónica. Sin embargo, a pesar de su confiabilidad, se debe llevar a cabo el análisis de los resultados de manera simultánea entre ambos grupos de biomarcadores.
- La evidencia científica analizada demostró que el Ret-He posee niveles de sensibilidad y especificidad adecuados para la detección de la deficiencia de hierro en pacientes con ERC. Estos hallazgos sugieren que el Ret-He puede contribuir a mejorar la precisión diagnóstica y la toma de decisiones clínicas en el manejo de la anemia asociada a la ERC.

RECOMENDACIONES

- Considerar integrar la RET-He en los protocolos para manejar la anemia en pacientes con ERC, evaluando su impacto en reducción de pruebas complementarias y optimización de terapia con hierro y agentes estimulantes de la eritropoyesis (ESA).
- Promover la inclusión de pacientes en distintos estadios de enfermedad renal crónica, considerando tanto aquellos que presentan o no procesos inflamatorios como quienes se encuentran o no bajo terapias dialíticas. Esta estrategia debe ampliarse hacia poblaciones multicéntricas en diversos contextos clínicos (incluyendo pacientes hospitalizados y ambulatorios) con el fin de fortalecer la validez externa y la aplicabilidad de los hallazgos.
- Considerar los estudios prospectivos y longitudinales, que permitan evaluar la evolución de RET-He en el tiempo y su respuesta a terapias.
- Desarrollar estudios que evalúen la relación de la RET-He con otros factores como inflamación, estado nutricional y uso de agentes estimuladores de la eritropoyesis (ESA), debido a que estas condiciones afectan la interpretación de ferritina y TSAT.
- Implementar más variables de interés, como los parámetros inflamatorios CRP, IL-6 y albúmina, para el mejoramiento de la interpretación.
- Ajustar y consensuar valores de referencia para el Ret-He según población, laboratorio y equipo utilizado.
- Promover la capacitación continua de profesionales de laboratorio clínico, nefrólogos y demás personal de salud acerca de la utilidad diagnóstica y el potencial clínico del RET-He en conjunto con el perfil férrico estándar.
- Ampliar la investigación y uso del RET-He en diferentes poblaciones con alto riesgo de desarrollar anemia por deficiencia de hierro, por ejemplo, mujeres embarazadas, infantes, adultos mayores, etc.

BIBLIOGRAFÍA

- Armuelles, L. G., Armuelles, L. G., & Armuelles, L. G. (2022, December 26). Enfermedad renal crónica, “un problema de salud pública Panamá”. [www.laestrella.com.pa. https://www.laestrella.com.pa/vida-y-cultura/salud/enfermedad-renal-cronica-problema-salud-BFLE483417](https://www.laestrella.com.pa/cultura/salud/enfermedad-renal-cronica-problema-salud-BFLE483417)
- Asamblea Nacional de la República de Panamá. (1972). Constitución Política de la República de Panamá. <https://pdba.georgetown.edu/Constitutions/Panama/vigente.pdf>
- Asamblea Nacional de la República de Panamá. (2004, 21 de julio). Ley n.º 43 de 2004, que reorganiza el Ministerio de Salud. Gaceta Oficial de la República de Panamá.
- Asamblea Nacional de la República de Panamá. (2012, 10 de octubre). Ley n.º 64 de 2012, sobre derecho de autor y derechos conexos. Gaceta Oficial de la República de Panamá.
- Asamblea Nacional de la República de Panamá. (2019, 26 de marzo). Ley n.º 81 de 2019, sobre protección de datos personales. Gaceta Oficial de la República de Panamá.
- Asociación Médica Mundial. (2024). Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos>
- Bhandari, S., Spencer, S., Oliveira, B., Mikhail, A., Brooks, O., Bryant, G., Willicombe, M., Baines, R., Alldridge, L., & Haslam-England, S. (2025). UK Kidney Association clinical practice guideline: Update of anaemia of chronic kidney disease. BMC Nephrology, 26, Artículo 195. <https://doi.org/10.1186/s12882-025-04115-1>
- Boffa, J., & Cartery, C. (2015). Insuficiencia renal crónica o enfermedad renal crónica. EMC - Tratado de Medicina, 19(3), 1–8. [https://doi.org/10.1016/s1636-5410\(15\)72803-5](https://doi.org/10.1016/s1636-5410(15)72803-5)
- Brugnara, C., Laufer, M. R., Friedman, A. J., & Platt, O. (1993). Reticulocyte hemoglobin content (CHr): Early indicator of response to iron therapy. Blood, 82(Suppl. 1), A93.
- Brugnara, C., Schiller, B., & Moran, J. (2006). Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) y assessment de estados deficientes en hierro. Clinical & Laboratory Haematology, 28(5), 303-308. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2257.2006.00812.x>

Brugnara, C., Zurakowski, D., Boyd, T., & Platt, O. (1999). Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *JAMA*, 281(23), 2225-2230. <https://doi.org/10.1001/jama.281.23.2225>

Cappellini, M. D., Musallam, K. M., & Taher, A. T. (2020). Iron deficiency anaemia revisited. *Journal of Internal Medicine*, 287(2), 153-170. <https://doi.org/10.1111/joim.13004>

Correa-Rotter, R., Méndez Durán, A., Vallejos, A., et al. (2023). Unmet needs of CKD in Latin America: A review from expert virtual working group. *Kidney International Reports*, 8(5), 954-967. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2023.02.1082>

Courville, K., Bustamante, N., & Tomlinson, J. (2026). Managing iron deficiency anemia in advanced chronic kidney disease and dialysis. *En Physiology*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1013781>

Daali, S., El Atifi, K., Hamouche, N., Aboudar, Z., Jabrane, M., Bendriouich, A., Rafei, A., Mazighi, S., Elkarci, S., Aboulmakarim, S., Fadili, W., Sayagh, S., Chettati, M., & Laouad, I. (2025). Assessment of Reticulocyte Hemoglobin Content in Patients Undergoing Chronic Hemodialysis for Optimized Anemia Management. *Cureus*, 17(5), e83867. <https://doi.org/10.7759/cureus.83867>

Dalimunthe, N. N., & Lubis, A. R. (2016). Usefulness of Reticulocyte Hemoglobin Equivalent in Management of Regular Hemodialysis Patients with Iron Deficiency Anemia. *Romanian Journal of Internal Medicine*, 54(1), 31–36. <https://doi.org/10.1515/rjim-2016-0003>

Di Pinto, D., Paz, M., Adragna, M., & López, L. (2020). Clinical usefulness of the reticulocyte hemoglobin equivalent in children on hemodialysis. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 118(6), 411–417. <https://doi.org/10.5546/aap.2020.eng.411>

Fishbane, S., Galgano, C., Langley, R. C., Canfield, W., & Maesaka, J. K. (1997). Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. *Kidney International*, 52(1), 217-222. <https://doi.org/10.1038/ki.1997.324>

Fonseca, Ó., Ramos, A. S., Gomes, L. T. S., Gomes, M. S., & Moreira, A. C. (2023). New perspectives on circulating ferritin: Its role in health and disease. *Molecules*, 28(23), 7707. <https://doi.org/10.3390/molecules28237707>

Ganz, T., Aronoff, G. R., Gaillard, S., et al. (2020). Iron administration, infection, and anemia management in CKD: Untangling the effects of intravenous iron therapy on immunity and infection risk. *Kidney Medicine*, 2(3), 341-353. <https://doi.org/10.1016/j.xkme.2020.01.006>

Gao, Z., Hu, Y., Gao, Y., Ma, X., & Hu, Z. (2023). The association of hepcidin, reticulocyte hemoglobin equivalent and anemia-related indicators on anemia in chronic kidney disease. *Medicine*, 102(17), e33558. <https://doi.org/10.1097/md.00000000000033558>

GBD 2023 CKD Collaborators. (2025). Global, regional, and national burden of chronic kidney disease in adults, 1990-2023, and its attributable risk factors: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2023. *The Lancet*.

Gluba-Brzózka, A., Franczyk, B., Olszewski, R., & Rysz, J. (2020). The influence of inflammation on anemia in CKD patients. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(3), 725. <https://doi.org/10.3390/ijms21030725>

Iolascon, A., Rivella, S., Anagnou, N. P., Camaschella, C., Swinkels, D. W., Muckenthaler, M. U., Porto, G., Barcellini, W., Andolfo, I., Risitano, A. M., Kattamis, A., Cappellini, M. D., Taher, A., De Franceschi, L., Rees, D. C., Russo, R., Tamary, H., Stauder, R., & Girelli, D. (2021). The EHA research roadmap: Anemias. *HemaSphere*, 5(6), e607. <https://doi.org/10.1097/hs9.0000000000000607>

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Anemia Work Group. (2026). KDIGO 2026 clinical practice guideline for the management of anemia in chronic kidney disease (CKD). *Kidney International*, 109(1S), S1–S99. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2025.06.006>

Li, P. K., Garcia-Garcia, G., Lui, S., Andreoli, S., Fung, W. W., Hradsky, A., Kumaraswami, L., Liakopoulos, V., Rakhimova, Z., Saadi, G., Strani, L., Ulasi, I., Kalantar-Zadeh, K., Li, P. K. T., Garcia-Garcia, G., Andreoli, S., Kalantar-Zadeh, K., Kumaraswami, L., Liakopoulos, V., . . . Ulasi, I. (2020). Kidney health for everyone everywhere—from prevention to detection and equitable access to care. *Kidney International*, 97(2), 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.12.002>

Mercado, V. (2023). Utilidad de la hemoglobina reticulocitaria para la evaluación del estado férrico en donantes de sangre [Universidad Peruana Cayetano Heredia]. <https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle>

Merlin, J. C., Amaral, A. N. M., Claro, L., Moraes, T. P., Erthal, C. L., & Filho, R. P. (2021). Reticulocyte parameters for monitoring anemia in patients with chronic kidney disease on peritoneal dialysis. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 57. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20210038>

Mikhail, A., Brown, C., Williams, J. A., Mathrani, V., Shrivastava, R., Evans, J., Isaac, H., & Bhandari, S. (2017). Renal association clinical practice guideline on anaemia of chronic kidney disease. *BMC Nephrology*, 18, Artículo 345. <https://doi.org/10.1186/s12882-017-0688-1>

Nalado, A. M., Mahlangu, J., Duarte, R., Paget, G., Olorunfemi, G., Jacobson, B., & Naicker, S. (2018). Utility of reticulocyte haemoglobin content and percentage hypochromic red cells as markers of iron deficiency anaemia among black CKD patients in South Africa. *PLoS ONE*, 13(10), e0204899. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204899>

Nalado, A. M., Olorunfemi, G., Dix-Peek, T., et al. (2020). Hepcidin and GDF-15 are potential biomarkers of iron deficiency anaemia in chronic kidney disease patients in South Africa. *BMC Nephrology*, 21, Artículo 415. <https://doi.org/10.1186/s12882-020-02046-7>

Nguyen Trung K, Ta Viet H, Nguyen Thi Hien H, Nguyen Khanh V, Thai Danh T, et al. Evaluation of Predicting the Value of the Reticulocyte Hemoglobin Equivalent for Iron Deficiency in Chronic Kidney Disease Patients. *Nephro-Urol Mon.* 2022;14(2):e121289. doi: <https://doi.org/10.5812/numonthly-121289>

Ogawa, C., Tsuchiya, K., Nitta, K., & Maeda, K. (2019). Significance of Content of the Reticulocyte Hemoglobin in the Management of Renal Anemia. *Blood purification*, 47 Suppl 2, 70–73. <https://doi.org/10.1159/000496641>
<https://www.biomarker.jp/ronbun/pdf/r12.pdf>

Organización Mundial de la Propiedad Intelectual. (1996). Tratado de la OMPI sobre Derecho de Autor (WCT).

Órgano Ejecutivo de la República de Panamá. (2021, 28 de mayo). Decreto Ejecutivo n.º 285 de 2021, que reglamenta la Ley n.º 81 de 2019 sobre protección de datos personales. *Gaceta Oficial de la República de Panamá*.

Putri, A. R., Asmara, I. G. Y., & Cahyawati, T. D. (2025). Correlation between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (Ret-HE) and Iron Profile in Routine Hemodialysis Patients at West Nusa Tenggara General Hospital. *Unram Medical Journal*, 14(2), 72–78. <https://doi.org/10.29303/jk.v14i2.6116>

Rai, D., Wilson, A. M., & Moosavi, L. (2023). *Histología, reticulocitos*. StatPearls Publishing.

Raranta, H. P. T., Adipireno, P., & Samsuria, I. K. (2025). The Correlation between Reticulocyte Hemoglobin Equivalent (RET-He), Iron Status, and Erythrocyte Indices in Chronic Kidney Disease Patients at Prof. Dr. R.D. Kandou Manado Hospital. *International Journal of Hematology-Oncology and Stem Cell Research*, 19(1), 50–59. <https://doi.org/10.18502/ijhoscr.v19i1.17824>

Rohr, M., Brandenburg, V., & Brunner-La Rocca, H. P. (2023). How to diagnose iron deficiency in chronic disease: A review of current methods and potential markers for the outcome. *European Journal of Medical Research*, 28, Artículo 15. <https://doi.org/10.1186/s40001-022-00922-6>

Rosas-Valdez, F. U., Aguirre-Vázquez, A. F., & Agudelo-Botero, M. (2024). Prevalence of chronic kidney disease in Latin America: A systematic review and meta-analysis. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 48, e41. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2024.41>

Sany, D., Shahawi, Y. E., & Taha, J. (2020). Diagnosis of iron deficiency in hemodialysis patients: Usefulness of measuring reticulocyte hemoglobin equivalent.

Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation, 31(6), 1263.
<https://doi.org/10.4103/1319-2442.308335>

Stoumpos, S., Crowe, K., Sarafidis, P., et al. (2024). Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors for anaemia in chronic kidney disease: A clinical practice document by the European Renal Best Practice board. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 39(Suppl. 2), ii1-ii20. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfae075>

Toaquiza, Myrian Doris Cayo, Floreano, Diana Lourdes Ponce, Castro, Jazmin Elena, & Jalca, Alexander Dario Castro. (2022). Hemoglobina reticulocitaria y su utilidad clínica en el diagnóstico temprano de eritropoyesis por deficiencia de hierro absoluto en mujeres adolescentes. *Vive Revista de Salud*, 5(14), 337-347. Epub 22 de junio de 2022. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v5i14.152>

Urrechaga, E., Borque, L., & Escanero, J. F. (2006). Reticulocyte hemoglobin content (Ret He) in the assessment of iron status. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 44(11), 1411–1412.

Urrechaga, E., Borque, L., & Escanero, J. F. (2013). Biomarkers of hypochromia: The contemporary assessment of iron status and erythropoiesis. *BioMed Research International*, 2013, Article 603786. <https://doi.org/10.1155/2013/603786>

Zoccali, C., Mallamaci, F., Adamczak, M., et al. (2023). Cardiovascular complications in chronic kidney disease: A review from the European Renal and Cardiovascular Medicine Working Group. *Cardiovascular Research*, 119(11), 2017-2032. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvad083>