

# Evaluación de la fracción de reticulocitos inmaduros como parámetro de ferropenia en el embarazo

## *Evaluation of the fraction of immature reticulocytes as a parameter of iron deficiency in pregnancy*

► Katia Canalejo<sup>1a</sup>, Mónica Aixalá<sup>2a</sup>, Adriana Casella<sup>3b</sup>, Patricia Capanera<sup>3b</sup>, Jorge Medina<sup>4b</sup>, Ana Jelen<sup>3b</sup>

1. Bioquímica. Especialista en Hematología.
  2. Doctora en Bioquímica.
  3. Bioquímica.
  4. Bioquímico.
- a. Instituto de Investigaciones Hematológicas "Mariano R. Castex" de la Academia Nacional de Medicina, Pacheco de Melo 3081, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.
- b. Hospital Vélez Sarsfield, Calderón de la Barca 1550, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

### Resumen

Las embarazadas constituyen un grupo susceptible de desarrollar anemia ferropénica, la cual produce una alteración de la hematopoyesis, con aumento de reticulocitos principalmente a expensas de la fracción de reticulocitos inmaduros (IRF). El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la sensibilidad (S) y especificidad (E) del IRF para el diagnóstico temprano de la deficiencia de hierro en el embarazo. Se obtuvieron muestras de sangre de 99 embarazadas que concurren al laboratorio del Hospital Vélez Sarsfield para su control prenatal. Se realizó el hemograma y el recuento reticulocitario en un autoanalizador hematológico, y se determinaron el hierro sérico y la ferritina. Se halló una sensibilidad de 76,1% y una especificidad de 53,1% por medio del análisis de la curva ROC (*receiver-operating characteristic curve*) para un valor de IRF de 0,35. La comparación de parámetros hematológicos y bioquímicos de las muestras con IRF menor o mayor a 0,35 muestran diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Por estos datos se podría recomendar esta prueba para el diagnóstico precoz de la deficiencia de hierro.

**Palabras clave:** embarazada \* ferropenia \* fracción de reticulocitos inmaduros \* sensibilidad y especificidad

### Summary

*Pregnant women constitute a group capable of developing iron deficiency anemia, which causes a disturbance of hematopoiesis, with increased reticulocyte mainly at the expense of the immature reticulocyte fraction (IRF). The aim of this work was to assess IRF sensitivity (S) and specificity (E for its name in Spanish) for early diagnosis of iron deficiency in pregnancy. Blood samples from 99 pregnant women who attended Vélez Sarsfield Hospital Laboratory for prenatal care. Complete blood cells and reticulocyte automated*

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana  
Incorporada al Chemical Abstract Service.  
Código bibliográfico: ABCLDL.  
**ISSN 0325-2957**  
**ISSN 1851-6114 en línea**  
**ISSN 1852-396X (CD-ROM)**

counts were performed and serum iron and ferritin were analyzed. A 0.35 IRF cutoff was taken when the ROC curve (receiver-operating characteristic curve) was evaluated and a 76.1% sensitivity and 53.1% specificity were found. Comparison of hematological and biochemical parameters of the samples with IRF lower and higher than 0.35 shows significant differences ( $p < 0.05$ ). These results make it possible to recommend this test for early diagnosis of iron deficiency.

**Key words:** pregnancy \* iron deficiency \* immature reticulocyte fraction \* sensitivity and specificity

## Introducción

En el embarazo, la ferropenia es la causa más importante de anemia que se manifiesta con hipocromía y microcitosis (1). Si ésta se presenta antes de la semana veinte de gestación influye en la producción de abortos tempranos, en el aumento de la incidencia de recién nacidos de bajo peso y de partos prematuros; por lo tanto, su detección y tratamiento deben ser lo más precoces posibles (2) (3).

El hierro cumple importantes funciones bioquímicas y fisiológicas: en el transporte y almacenamiento de oxígeno a través de la hemoglobina, en el metabolismo muscular al formar parte de la mioglobina permitiendo el pasaje de oxígeno desde los eritrocitos a las mitocondrias del músculo, y formando parte del sitio activo de los citocromos, los cuales intervienen en múltiples y variadas vías metabólicas como las relacionadas con el metabolismo energético (4). Es un elemento esencial para la formación de la molécula de hemoglobina, por lo que su disminución produce un déficit de la misma causando una alteración de la eritropoyesis (5).

Los parámetros bioquímicos utilizados para evaluar el metabolismo del hierro son la determinación de hierro sérico, la capacidad de fijación de hierro total (CFHT), el porcentaje de saturación de la transferrina, la ferritina sérica y el receptor soluble de transferrina. La utilidad individual de cada una de estas determinaciones es limitada para reflejar adecuadamente el estado de hierro en el organismo, siendo necesario en muchas oportunidades contar con el resultado de más de una de ellas (6).

Se ha incorporado el recuento reticulocitario conjuntamente con el cálculo de la fracción inmadura de los mismos como herramienta en la evaluación temprana de la eritropoyesis restringida en hierro (7).

EL objetivo de este trabajo ha sido evaluar la sensibilidad y especificidad de la fracción de reticulocitos inmaduros (IRF) para el diagnóstico de ferropenia en el embarazo y observar si dicha fracción permite detectar la deficiencia de hierro en una etapa temprana (cuando la hemoglobina y los índices hematimétricos son normales, pero las reservas de hierro están depletadas como

para afectar la hematopoyesis e inducir la producción de reticulocitos inmaduros) (8).

## Materiales y Métodos

El estudio fue realizado a 99 embarazadas que concurren al laboratorio central del Hospital Vélez Sarsfield, situado en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, para su control prenatal, durante el año 2008. El criterio de inclusión fue: edad comprendida entre 18 y 40 años, sin antecedentes de enfermedades ni prescripción de hierro. Todas las muestras fueron recolectadas antes de las 10 h.

Se obtuvieron muestras de sangre anticoagulada con EDTA K3, y suero en tubo seco con gránulos (DVS SRL, partido de San Martín, provincia de Buenos Aires, Argentina).

A estas muestras se les realizó hemograma y recuento reticulocitario con un autoanalizador hematológico Cell Dyn 3700 (Abbott, IL-EE.UU.), con controles interno (Cell-Dyn Plus Control-Abbott, EE.UU.) y externo (Programa Bs. As. de control de calidad-CEMIC). Se utilizó el colorante nuevo azul de metileno para el recuento reticulocitario (Reticulocyte Reagent Abbott, EE.UU.). En suero se realizó la determinación de hierro con el método colorimétrico directo (Fer-Color AA Wiener), y ferritina en inmunoanalizador ELECSYS 1010 (Roche, New Jersey-EE.UU.); se utilizó como control externo para ambas determinaciones el Programa Bs. As. de control de calidad-CEMIC y como control interno para hierro Standatrol S-E-Wiener y para ferritina Preci control tumor marker-ROCHE.

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se procesaron estadísticamente con el programa Graph Pad Prism versión 4. La curva ROC fue usada para ilustrar la capacidad diagnóstica del IRF. El valor de corte se estableció en base a la mejor combinación de sensibilidad y especificidad (9). La tabla de contingencia de doble entrada se utilizó para calcular la eficiencia pronóstica: Valor Predictivo Positivo (VPP) y Valor Predictivo Negativo (VPN).

## Resultados

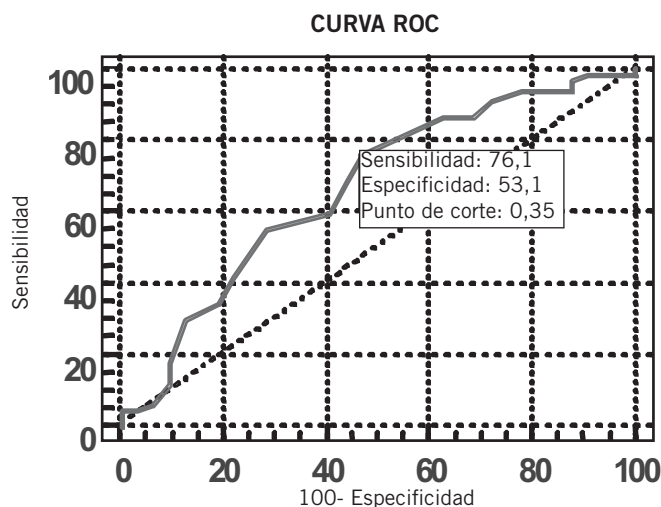
La población estudiada se dividió en dos grupos en base a los valores de ferritina (2). Considerando que dicha determinación constituye un método apropiado para evaluar los depósitos de hierro y que es un marcador preciso de su deficiencia). Grupo I control (ferritinas  $\geq 15$  ng/dL, hierro  $> 60$   $\mu\text{g/dL}$  y hemoglobinas  $> 11$  g/dL), y Grupo II deficiente de hierro (ferritinas  $< 15$  ng/dL). Con estos datos se elaboró la curva ROC (*Receiver-Operator Characteristic Curve*) que permitió obtener el valor de sensibilidad y especificidad. Se evaluó el IRF como prueba diagnóstica contrastándola con la ferri-

tina sérica y se obtuvo un área bajo la curva de 0,668 (la cual representa la eficiencia global del *test*) (9).

El valor de 0,35 como punto de corte otorga el mejor balance entre sensibilidad y especificidad, cuyos valores son:  $S=76,1\%$  y  $E=53,1\%$  para esta prueba (Fig. 1) (Fig. 2).

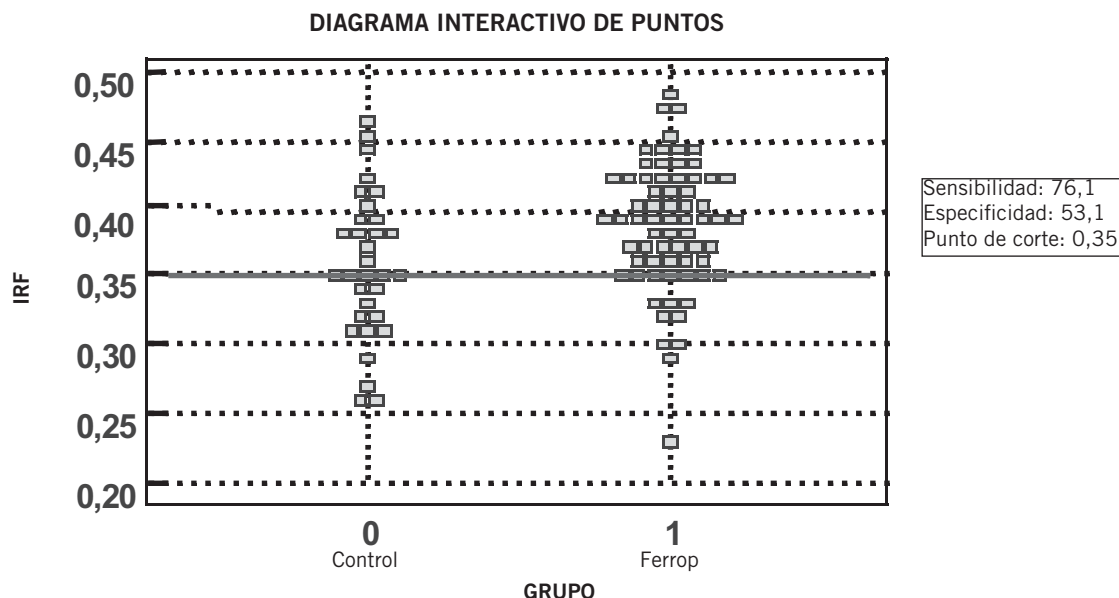
La eficiencia pronóstica se obtuvo a través de una tabla de contingencia de doble entrada (Tabla I) hallándose un VPP =  $77,2\%$  y un VPN =  $51,5\%$  (Tabla II).

La Tabla III presenta la comparación de los valores hematológicos y bioquímicos de las embarazadas con IRF menor y mayor o igual a 0,35. Fueron encontradas diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con la hemoglobina, VCM, HCM, recuento reticulocitario y ferritina (10).



El área bajo la curva, de 0,668, representa la eficiencia global de la prueba.

Figura 1. Curva ROC para la fracción de reticulocitos inmaduros en embarazadas, contrastada con ferritina sérica.



El valor de 0,35 como punto de corte otorga el mejor balance entre sensibilidad y especificidad.

Figura 2. Diagrama interactivo de puntos

Tabla I. Tabla de doble entrada utilizada para hallar la eficiencia pronóstica de la prueba (IRF).

| Resultado de la prueba | Grupo ferropénico | Grupo control | Total |
|------------------------|-------------------|---------------|-------|
| IRF $\geq$ 0,35        | 51                | 15            | 66    |
| IRF < 0,35             | 16                | 17            | 33    |
| Total                  | 67                | 32            | 99    |

Grupo control (ferritinas  $\geq$ 15 ng/dL, hierro > 60  $\mu$ g/dL y hemoglobinas > 11g/dL), Grupo ferropénico (ferritinas < 15 ng/dL)

Tabla II. Eficiencia Pronóstica de la Prueba Diagnóstica (IRF)

|                           | Valor | Intervalo de Confianza (95%) |
|---------------------------|-------|------------------------------|
| Sensibilidad              | 76,1  | 64,1%-85,7%                  |
| Especificidad             | 53,1  | 34,7%-70,9%                  |
| Valor Predictivo Positivo | 77,3  | 65,3%-86,7%                  |
| Valor Predictivo Negativo | 51,5  | 33,5%-69,2%                  |

Tabla III. Comparación de los valores hematológicos y bioquímicos de las embarazadas utilizando el IRF como prueba diagnóstica

| Parámetros                         | IRF < 0,35<br>(n = 33) | IRF $\geq$ 0,35<br>(n = 66) | p      |
|------------------------------------|------------------------|-----------------------------|--------|
| Hemoglobina (g/dL)                 | 12 $\pm$ 1,4           | 11,1 $\pm$ 1,4              | 0,0087 |
| VCM (fL)                           | 87,3 $\pm$ 5,7         | 84,9 $\pm$ 6,6              | 0,0162 |
| HCM (pg)                           | 29,8 $\pm$ 2,3         | 28,6 $\pm$ 2,6              | 0,0067 |
| ADE (%)                            | 15,4 $\pm$ 1,6         | 15,9 $\pm$ 1,7              | 0,07   |
| Reticulocitos x 10 <sup>9</sup> /L | 85,1 $\pm$ 16,6        | 95,6 $\pm$ 17,3             | 0,0063 |
| Ferritina ( $\mu$ g/L)             | 32,5 $\pm$ 32,4        | 14,9 $\pm$ 18,6             | 0,0001 |

## Discusión y Conclusiones

Ha sido reconocido por la OMS que las embarazadas constituyen un grupo susceptible de desarrollar anemia ferropénica durante el transcurso del embarazo debido al mayor requerimiento de este elemento, por lo cual el diagnóstico precoz de la deficiencia del mismo adquiere una gran importancia (11).

Varios trabajos científicos avalan la observación de que el VCM y el RDW son parámetros útiles como indicadores de la deficiencia de hierro en el organismo, debido a que a medida que avanza la eritropoyesis deficiente de hierro se observa una disminución del VCM y un aumento del RDW (12). Los indicadores que reflejan tempranamente la alteración de la hematopoyesis son: la producción acelerada de reticulocitos, principalmente la fracción inmadura (7) y el receptor sérico soluble de transferrina (8) (no disponible en este laboratorio por su costo). En la literatura hay antecedentes de experiencias que evaluaron actividad eritropoyética en: terapias con eritropoyetina, post trasplante de médula ósea, beta talasemia menor; a

través del recuento de reticulocitos, sus fracciones, y/o el contenido de hemoglobina reticulocitaria (13) (14). En embarazadas no hay antecedentes, por lo cual se llevó adelante este estudio.

Actualmente algunos centros de salud cuentan en sus laboratorios de análisis clínicos con contadores hematológicos en los cuales se puede realizar el recuento reticulocitario, obteniéndose los resultados en valor absoluto, porcentual y fracción de reticulocitos inmaduros. Esta última podría considerarse una prueba útil, dada la sensibilidad (76,1%) y la especificidad (53,1%) halladas.

La eficiencia pronóstica positiva indica la probabilidad de que el 77,2% de embarazadas con un IRF mayor a 0,35 tenga realmente una deficiencia de hierro (8). En el análisis del cuadro de los parámetros hematológicos y bioquímicos, donde la población de embarazadas queda dividida en dos grupos según su IRF, se observó que los valores promedios de hemoglobina, VCM y amplitud de la distribución eritrocitaria (ADE) son normales en ambos. Sin embargo, en el grupo con IRF mayor a 0,35 se observa un descenso significativo en la hemoglobina, VCM, ferritina y un aumento significativo en el recuento reticulocitario, lo cual estaría indicando la presencia de eritropoyesis ferropénica en estas embarazadas.

Se observó que 18 de las 99 muestras evaluadas no presentaron ninguna alteración en su hemograma; estos resultados en la práctica clínica habitual, no harían sospechar una disminución en los depósitos de hierro. Sin embargo, el IRF es mayor a 0,35. Al analizar los resultados de ferritina se comprobó que el 66,6% (12/18) tenían sus depósitos depletados (ferritina <15 ng/dL), lo cual indicaría que el aumento del IRF antecede a las modificaciones en el VCM y hemoglobina (14).

Sobre la base de los resultados de este trabajo, se recomendaría agregar al hemograma de control de las embarazadas, la determinación de IRF como ayuda al diagnóstico precoz de la deficiencia de hierro.

### CORRESPONDENCIA

DRA. KATIA CANALEJO  
Pacheco de Melo 3081 - C1425AUM  
E-mail: canalejok@hematologia.anm.edu.ar

## Referencias bibliográficas

1. Canalejo K, Casella A, Bucci M, Cappanera P, Jelen A, Aixalá M. Anemia microcítica: ferropenia como causa de anemia en el embarazo. *Bioquím Patol Clín* 2000; 64 (2): 17-24.
2. UNICEF/UNU/WHO. Iron deficiency anemia: assessment, prevention, and control. A guide for programme managers. Geneva: World Health Organization; 2001.
3. Casanova BF, Sammel MD, Macones GA. Development of a clinical prediction rule for iron deficiency anemia

- in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193 (2): 460-6.
4. Lichtman Marshall A, Beutler E, Sligsohn U, Kaushansky K, Kipps T, editores. *Williams Hematology*. 7th ed. New York: Mc Graw-Hill; 2006.
  5. Lee GR, Bithell T, Foerster J, Athens J, Lukens J. *Win-trobe hematología clínica*. 9ª ed. Buenos Aires: Inter-médica; 1994.
  6. Odonnell AM, Viteri FE, Carmuega E. Deficiencia de hierro-desnutrición oculta en América latina. Buenos Aires: CESNI; 1997.
  7. Brugnara C. Iron Deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem* 2003; 49 (10): 1573-8.
  8. Choi JW. Sensitivity, specificity, and predictive value of serum soluble transferrin receptor at different stages of iron deficiency. *Ann Clin Lab Sci* 2005; 35 (4): 435-9.
  9. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem* 1993; 39 (8): 561-77.
  10. Casella A, Jelen AM, Canalejo K, Aixalá M. Valores de referencia de la serie eritroide con tecnología del siglo XXI en embarazadas: Prevalencia de anemia. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2007; 41 (1): 47-50.
  11. Breyman C. Iron deficiency and anaemia in pregnancy: modern aspects of diagnosis and therapy. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29 (3):506-16.
  12. Larregina A, Reimer E, Suldrup N, Luis S, Zavatti J, Polini NN. Diagnóstico diferencial de anemias microcíticas. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2004; 38 (4): 465-9.
  13. Choi JW, Pai SH. Change in erythropoiesis with gestational age during pregnancy. *Ann Hematol* 2001; 80 (1): 26-31.
  14. Choi JW, Pai SH. Reticulocyte subpopulations and reticulocyte maturity index (RMI) rise as body iron status falls. *Am J Hematol* 2001; 67(2): 130-5.

**Aceptado para su publicación el 31 de agosto de 2010**