

## Valutazione del CHR e del rapporto MCH/CHR come indicatori dello stato marziale in pazienti emodializzati

Paparella P.<sup>1</sup>, Battaglia C.<sup>2</sup>, Lucatello A.<sup>2</sup>, Ceriotti L.<sup>1</sup>, Giangrande A.<sup>2</sup>, De Francesco D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio Analisi Chimiche e Microbiologiche e

<sup>2</sup> U.O. Nefrologia e Dialisi - Ospedale di Circolo di Busto Arsizio (VA).

**Riassunto:** *Premesse.* Lo scopo del nostro lavoro è la valutazione del CHR e del rapporto MCH/CHR, quali marcatori di anemia ferrocarenziale, a confronto con i parametri biochimici ed ematologici attualmente utilizzati. *Metodi.* Sono stati studiati 20 pazienti emodializzati in trattamento eritropoietinico costante e marziale ciclico, monitorati per un periodo di otto settimane. *Risultati.* Nei soggetti con CHR e indici biochimici indicativi di una carenza marziale, il solo CHR si dimostra un indice sensibile della efficacia della terapia, riportandosi in tempi brevi a valori non patologici, mentre gli indici biochimici indicano un deficit di ferro per tutta la durata del trattamento e gli indici eritrocitari mostrano variazioni minime o addirittura contrastanti al termine della terapia intrapresa. Il rapporto MCH/CHR si è dimostrato concordante con le informazioni fornite dal CHR. *Conclusioni.* La presenza contemporanea di un CHR nella norma e di un rapporto MCH/CHR inferiore ad 1, anche se associati a indici biochimici che esprimono una carenza marziale, permette di escludere tale condizione nei pazienti in emodialisi e quindi di evitare di intraprendere una inutile terapia con ferro.

### Introduzione

La diagnostica di laboratorio dello stato marziale si basa su tests biochimici ed ematologici; i tests biochimici spesso non forniscono informazioni cliniche adeguate risentendo di possibili interferenze, che possono essere fisiopatologiche, come negli stati di flogosi e di malnutrizione, o analitiche, come nella determinazione della sideremia che richiede un pH di reazione fortemente acido (circa 2), non riscontrabile nella maggior parte dei sistemi analitici di chimica clinica attualmente in uso, con conseguente sottostima del dato.

Da qui il nostro interesse a sperimentare nuovi parametri di indagine, quali il contenuto emoglobinico reticolocitario (CHR) e il rapporto tra contenuto emoglobinico eritrocitario (MCH) e CHR<sup>1,2</sup>, recentemente proposti dall'industria del settore.

Il CHR viene presentato come indicatore precoce dell'utilizzo del ferro a scopo eritropoietico e fornisce un'informazione strettamente legata all'emivita del reticolocita (24 ore); il rapporto MCH/CHR se inferiore a 1 è indice di una fisiologica eritropoiesi, mentre in uno stato ferrocarenziale il suo valore è spesso superiore a 1<sup>3,4</sup>.

### Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su 20 pazienti uremici in trattamento con dialisi extracorporea, ritenuti popo-

lazione di studio di elezione<sup>5-11</sup>, le cui caratteristiche sono riassunte nella tabella I.

A tutti i pazienti è stato somministrato ferro gluconato alla dose di 62.5 mg alla settimana, per un periodo di otto settimane, secondo le modalità indicate nelle linee guida della Società Italiana di Nefrologia<sup>12</sup>. La dose di eritropoietina è stata mantenuta invariata durante il periodo di studio.

Al tempo 0 (basale) e dopo otto settimane di terapia marziale sono stati valutati i livelli di emoglobina, ematocrito, contenuto eritrocitario medio di emoglobina (MCH), CHR, rapporto MCH/CHR, sideremia, indice di saturazione della transferrina e ferritina. Al fine di evitare una sovrastima dei valori il controllo riferito al termine delle 8 settimane di trattamento è stato eseguito 15 giorni dopo l'ultima somministrazione di ferro gluconato.

Tab. I Caratteristiche dei pazienti

M/F	10 / 10
Età (anni)	63.4 ± 9.9
Anzianità dialitica (mesi)	75.1 ± 69.7
Nefropatia di base	Glomerulonefrite cronica 9 Nefropatia diabetica 4 Nefroangiosclerosi 3 Malattia policistica 2 Pielonefrite cronica 1 Vasculite 1
Dose EPO (U/Kg/sett)	107 ± 43

La sperimentazione sui pazienti in dialisi è stata preceduta dall'extrapolazione dei valori di riferimento per i parametri reticolocitari nella popolazione sana, svolta su 70 pazienti maschi con un valore medio di Hb di 15 g/dL e volume tra 84,6 fL a 93,1 fL e altrettante pazienti femmine con un valore medio di Hb di 13 g/dL e volume tra 83,2 fL a 91,8 fL, di età variabile compresa tra 20 e 65 anni, che ci ha permesso di ottenere il valore cut-off per il CHr (pari a 29 pg)<sup>13,14</sup>, al di sotto del quale, in accordo con i parametri di indagine classici, è sicuramente presente una condizione ferrocarenziale. Abbiamo deciso di non inserire nella popolazione "sana" i donatori di sangue, date le periodiche donazioni alle quali sono sottoposti (da 2 a 4 donazioni l'anno da 450 a 550 g ciascuna) che comportano un'attività midollare variabile, non costante nel tempo e con ripercussioni anche sulla gettata eritropoietica. I valori cut-off degli altri parametri per la definizione dello stato ferrocarenziale nei pazienti dializzati, sono riportati in tabella II ed extrapolati sia dalla nostra esperienza, sia dalla letteratura. Il CHr e gli altri parametri della serie rossa matura sono stati ottenuti con lettura *light-scatter* su contaglobuli ADVIA 120

**Tab. II Valori identificanti uno stato ferrocarenziale nei pazienti dializzati.**

CHr	29 pg
MCH/CHr	> 1
Sideremia	< 50 mg/dL
Ferritina	< 100 ng/mL
Saturaz. Transferrina	< 20 %
Eritrociti ipocromici	> 10 %

**Tab. III Precisione dei parametri biochimici ed ematologici.**

	Media ±DS	CV
Sideremia (mg/dL)	100,79 ± 2,336	2,32%
Ferritinemia (ng/mL)	110,32 ± 3,83	3,47%
TIBC (mg/dL)	84,84 ± 2,314 415,01 ± 8,113	2,74% 1,95%
% reticolociti	1,997 ± 0,117	5,90%
CHr (pg)	35,09 ± 0,155	0,44%
Emoglobina (g/dL)	14,7 ± 0,271	0,63%
MCV (fL)	88,4 ± 0,476	0,81%

**Tab. IV Andamento dei principali parametri valutati (IS, indice di saturazione della transferrina). I risultati sono espressi come media ± DS.**

	Ferritina (ng/mL)	CHr (pg)	MCH/CHr (rapporto)	IS (%)	Sideremia (mg/dL)	Emoglobina (g/dL)
<b>Basale</b>	157.1 ± 121.1	31.7 ± 3.25	0.86 ± 0.05	18.7 ± 6.2	39.8 ± 11.2	8.82 ± 1.72
<b>8° sett</b>	223.0 ± 89.0	33.1 ± 3.20	0.89 ± 0.04	23.9 ± 7.8	49.8 ± 14.9	9.28 ± 1.78
<b>P</b>	< 0.05	< 0.01	< 0.01	ns	ns	ns

(Bayer); la sideremia con metodo colorimetrico, ferrozina dipendente; la ferritina tramite metodo immunometrico non competitivo (ELISA); la transferrina con misura nefelometrica, come capacità ferrolegante totale (TIBC).

La precisione dei parametri biochimici ed ematologici, valutata secondo i dati del nostro laboratorio, è riportata in tabella III (valori ottenuti con campioni di sangue fresco replicati 15 volte su un unico livello). Dopo la valutazione della distribuzione normale delle singole serie di dati mediante test di Kolmogorov-Smirnov, l'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il test t di Student per dati appaiati e la regressione lineare semplice dove appropriato. E' stata considerata significativa una  $p < 0.05$ .

## Risultati

L'andamento dei principali parametri valutati è riportato in tabella IV. Al tempo 0 abbiamo osservato che 16 soggetti su 20 presentavano valori biochimici (sideremia, percentuale di saturazione della transferrina, ferritinemia) tali da indicare una carenza marziale; in solo 2 soggetti su 20 vi era concordanza tra valori biochimici e CHr nell'indicare lo stato ferrocarenziale; in tutti i soggetti il rapporto MCH/CHr era inferiore ad 1, indice di una eritropoiesi equilibrata come bilancio marziale (in netto contrasto con i parametri biochimici).

Al termine della valutazione abbiamo osservato che tutti i pazienti classificati dagli indici biochimici come carenti di ferro, presentavano al termine del trattamento indicazioni sovrapponibili; negli stessi soggetti l'informazione fornita dagli indici biochimici era ancora in contrasto con il valore del CHr e con il rapporto MCH/CHr, entrambi sempre nella norma; la ferritina subiva andamenti irregolari tali da renderne non univoca l'interpretazione (l'entità degli incrementi e dei decrementi era tale da non sembrare imputabile esclusivamente alla terapia marziale), tuttavia risultava il parametro biochimico più vicino alle informazioni fornite dal CHr; gli indici ematologici (Hb e MCV) non mostravano variazioni significative in seguito alla terapia, segnalando al termine della stessa la medesima condizione riscontrata al tempo 0 (basale); il CHr dei due pazienti patologici risentiva dell'effetto della terapia e si normalizzava nell'arco di una settimana, così come il rapporto MCH/CHr.

## Discussione

Dallo studio condotto sulla popolazione sana di riferimento si evince che: a) i parametri biochimici si posizionano uniformemente, sia per la popolazione maschile che per quella femminile, nei range di riferimento utilizzati nel nostro laboratorio; b) i range di riferimento per gli indici reticolocitari sono differenziati a seconda del sesso (tabella V); c) la stretta correlazione tra MCH e CHr ( $r_{\text{MASCHI}}=0,990$ ;  $r_{\text{FEMMINE}}=0,995$ ) e tra volume globulare medio eritrocitario (MCV) e reticolocitario (MCVr) ( $r_{\text{MASCHI}}=0,991$ ;  $r_{\text{FEMMINE}}=0,987$ ), testimonia la confrontabilità tra parametri eritrocitari e reticolocitari; d) la presenza in tutta la popolazione di un rapporto MCH/CHr inferiore ad 1, in accordo con la letteratura, è indice di un assetto marziale equilibrato.

Dai dati sperimentali è emerso che nei soggetti con CHr e indici biochimici indicativi di una carenza marziale, il solo CHr si dimostra un indice sensibile della efficacia della terapia, riportandosi in tempi brevi a valori non patologici, mentre gli indici biochimici indicano un deficit di ferro per tutta la durata del trattamento e gli indici eritrocitari mostrano variazioni minime o addirittura contrastanti al termine della terapia intrapresa. Il rapporto MCH/CHr si è dimostrato invece concordante con le informazioni fornite dal CHr.

Alla luce di quanto osservato, possiamo affermare che la diagnosi di carenza marziale, formulata con il solo utilizzo degli indici biochimici ed eritrocitari, non è rappresentativa della reale situazione del paziente e che la presenza contemporanea di un CHr nella norma e di un rapporto MCH/CHr inferiore ad 1, anche se associati a indici biochimici che esprimono una carenza marziale, permette di escludere tale condizione e quindi di evitare di intraprendere una terapia con ferro, riducendo in questo modo gli eventuali effetti tossici o da sovraccarico che tale terapia potrebbe causare, o, nel caso di pazienti uremici, di razionalizzare l'uso della terapia eritropoietinica con vantaggi anche economici.

**Tab. V** Valori di riferimento del gruppo di controllo per gli indici reticolocitari.

PARAMETRO	LIMITE INFERIORE	LIMITE SUPERIORE
<b>Reticolociti (%)</b>		
Maschi	0,8	2,6
Femmine	0,9	2,4
<b>CHr (pg)</b>		
Maschi	31,8	36,5
Femmine	30,5	35,4
<b>MCVr (fL)</b>		
Maschi	102,0	111,7
Femmine	98,0	107,7
<b>MCH/CHr</b>		
Maschi	0,86	0,90
Femmine	0,86	0,89

## Bibliografia

1. D'Onofrio G, Chirillo R, Zini G, Caenaro G, Tommasi M, Micciulli G. Simultaneous measurements of reticulocyte and red blood cell indices in healthy subjects and patients with microcytic and macrocytic anemia. *Blood* 1995; 85:818-23.
2. Brecher G, Stohlman F. Reticulocyte size and erythropoietic stimulation. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1961; 107:887-91.
3. Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ, Bridges H, Platt O. Reticulocyte haemoglobin content (CHr): early indicator of iron deficiency and response to therapy. *Blood* 1994; 83:3100-1.
4. Fishbane S, Galgano C, Langley RC Jr., Canfield W, Maesaka JK. Reticulocyte haemoglobin content in the evaluation of iron status of haemodialysis patients. *Kidney Int* 1997; 52:217-22.
5. van Wyck DB, Stivelman JC, Ruiz J, Kirilin LF, Katz MA, Ogden DA. Iron status in patients receiving erythropoietin for dialysis associated anemia. *Kidney Int* 1989; 35:712-6.
6. Mc Dougall IC, Hutton RD, Cavill I, Coles GA, Williams JD. Poor response to treatment of renal anemia with erythropoietin corrected by iron given intravenously. *Br Med J* 1989; 299:157-8.
7. Brugnara C, Collela GM, Cremins J, Langley RC Jr, Schneider TJ, Rutherford CJ, et al. Effects of subcutaneous recombinant human erythropoietin in normal subjects: development of decreased reticulocyte haemoglobin content and iron-deficient erythropoiesis. *J Lab Clin Med.* 1994; 123:660-67.
8. Mc Dougall IC, Cavill I, Hulme B, Bain B, Mc Gregor E, Mc Kay P, et al. Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: a new approach. *Br Med J* 1992; 304:225-6.
9. Brugnara C, Chambers LA, Malynn E, Goldberg MA, Kruskall MS. Red cell regeneration induced by subcutaneous recombinant erythropoietin: iron deficient erythropoiesis in iron-replete subjects. *Blood* 1993; 81:956-64.
10. Mc Dougall IC. Poor response to erythropoietin: practical guidelines on investigation and management. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10:607-17.
11. Mc Dougall IC. Monitoring of iron status and iron supplementation in patients treated with erythropoietin. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1994; 3:620-5.
12. Brancaccio D, Canavese C, Carozzi S, Cianciaruso B, Panzetta G, Piccoli A. Linee guida per il trattamento dell'anemia nell'insufficienza renale. *Giorn It Nefrol* 1999; 16:41-53.
13. Okano H, Tsuchiya K, Ando M, Teramura M, Nihei H. Content of reticulocyte hemoglobin in dialysis patients: a reliable tool for determination of iron deficiency and of iron supplement amount. Abstract. XXXVII Congress of the European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association. September 17-20, 2000-Nice, France.
14. Tessitore N, Solero P, Lippi G, Faccini G, Bedogna V, Gammara L, et al. Diagnostic power of iron status markers in detecting functional iron deficiency (fid) in hemodialysis patients on erythropoietin (EPO). Abstract. XXXVII Congress of the European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association. September 17-20, 2000-Nice, France.