

28 a 30
de outubro
2016
Bragança
Portugal



I Congresso Nacional

Ciências Biomédicas Laboratoriais

I Encontro Nacional
de Estudantes

Livro de Atas



Instituto Politécnico de Castelo Branco
Escola Superior de Saúde
Dr. Lopes Dias



UNIVERSIDADE DO ALGARVE
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE



INSTITUTO POLITÉCNICO
DE SAÚDE DO NORTE
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE DO VALE DO SOUSA
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE DO VALE DO RIBE



ESTeSC
COIMBRA
HEALTH SCHOOL



ESCOLA SUPERIOR DE
TECNOLOGIA DA SAÚDE
DE LISBOA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA



ESCOLA SUPERIOR
DE TECNOLOGIA DA SAÚDE



INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA
Escola Superior de Saúde

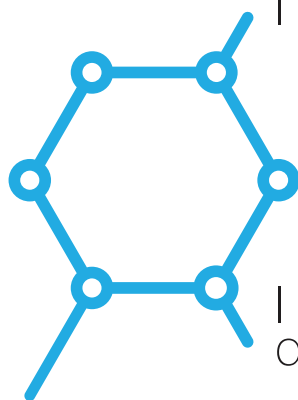
COM O ALTO PATROCÍNIO DE SUA EXCELÊNCIA



O Presidente da República



28 a 30
de outubro
2016
Bragança
Portugal



I Congresso Nacional

Ciências Biomédicas Laboratoriais

I Encontro Nacional
de Estudantes

Título I Congresso Nacional de Ciências Biomédicas Laboratoriais: Livro de Atas
Editores Josiana Vaz
Amadeu Ferro
Clárisse Pais
Helena Pimentel
Sara Ricardo
Design e paginação Atilano Suarez
Serviços de Imagem do Instituto Politécnico de Bragança
Editor Instituto Politécnico de Bragança
ISBN 978-972-745-219-4
Handle <http://hdl.handle.net/10198/14893>

Revisores Ana Lúcia Ramos, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias
António Gabriel, Escola Superior de Tecnologias da Saúde de Coimbra
Cristiana Carneiro, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa
Fernando Bellém, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa
Francisco Rodrigues, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias
Josiana Vaz, Escola Superior de Saúde de Bragança
Manuela Amorim, Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto
Paulo Teixeira, Escola Superior de Tecnologias da Saúde de Coimbra
Regina Silva, Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto
Rui Plácido, Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve
Sara Ricardo, IPATIMUP – Instituto de Patologia e Imunologia
da Universidade do Porto
Susana Vicente, Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve

Apoio



Conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos vs ferritina sérica, na avaliação da deficiência de ferro em doentes oncológicos

Machado, A.¹ Serra, C.^{1,2} Mendes, C.²

Escola Superior de Saúde – Politécnico do Porto, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto
Serviço de Hematologia Laboratorial, Instituto Português de Oncologia FG-EPE, Porto, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto

Email: anacatarina1518@gmail.com; carlasperra@gmail.com; carlos3mendes@gmail.com

Resumo

Introdução: A deficiência de ferro afeta mundialmente 2 milhões de pessoas. A ferritina e o Conteúdo de Hemoglobina dos Reticulócitos (RET-He) são parâmetros que permitem detetar esta alteração. Sendo a ferritina considerada o marcador mais sensível do metabolismo do ferro, o RET-He é o primeiro marcador analisado em sangue periférico a sofrer alterações devido à deficiência de ferro. No entanto, existem condições paralelas que levam ao aumento da concentração de ferritina sérica, tornando mais confiável a aplicabilidade do RET-He face à ferritina. **Objetivo:** Verificar a existência de relação entre os parâmetros RET-He e ferritina sérica, numa população de indivíduos com patologia oncológica. **Material e métodos:** Realizou-se um estudo observacional analítico transversal com os resultados das determinações de RET-He e ferritina obtidas pela base de dados do Instituto Português de Oncologia FG – EPE, Porto entre Setembro de 2015 e Janeiro de 2016. **Resultados:** Através do programa Microsoft Excel 2007 obteve-se a média de RET-He de 32,22pg e de ferritina de 600,95 µg/L. O coeficiente de determinação (r^2) obtido pela realização da regressão linear foi de 0,201. **Conclusão:** Verificou-se uma fraca relação entre as variáveis RET-He e ferritina. Desta forma, não é possível inferir sobre a aplicabilidade do RET-He no diagnóstico de deficiência de ferro em doentes oncológicos, que permitiria a deteção precoce da deficiência de ferro. No futuro, poderá ser estudada a influência das diferentes patologias oncológicas nas variáveis em estudo.

Palavras-chave: Conteúdo de Hemoglobina dos Reticulócitos, Ferritina, Deficiência de ferro, Diagnóstico

Introdução

A deficiência de ferro é uma alteração que afeta mundialmente mais de 2 milhões de pessoas e é responsável por 0,8 milhões de óbitos. Desta forma, na tentativa de diminuir o número de novos casos é importante identificar os fatores de risco e os parâmetros que permitem detetar o défice de ferro.^{1,2} A nutrição deficiente em ferro é a principal causa desta alteração, afetando principalmente as crianças, seguida de hemorragias.³⁻⁷ Os fatores de risco associados a esta patologia incluem infeções parasitárias, idade, sexo e perfil socioeconómico.⁸

A deficiência de ferro é responsável por 50% das anemias desenvolvidas mundialmente, e, em Portugal, estudos verificam que 10,9% da população desenvolve anemia causada por este tipo de deficiência.^{2,9,10}

O ferro é essencial na síntese da hemoglobina, encontrando-se incorporado maioritariamente no grupo heme dos eritroblastos e da mioglobina presente nos músculos. A presença do ferro no grupo heme assegura o transporte de oxigénio pela corrente sanguínea, visto que este se liga às moléculas de oxigénio, contribuindo também para a regulação da quantidade de eritropoietina produzida pelo fígado influenciando assim a eritropoiese.^{3,11,12,13}

O ferro existente no organismo resulta da alimentação e da reciclagem dos eritrócitos senescentes.¹⁴ A deficiência funcional do ferro é caracterizada por um desequilíbrio entre o ferro necessário para a eritropoiese e a biodisponibilidade deste.^{15,16} Esta alteração ocorre quando o ferro é retido pelos macrófagos no sistema reticuloendotelial, ficando os hepatócitos com baixas concentrações de ferro. Desta forma não ocorre mobilização suficiente de ferro para a eritropoiese tendo como consequência o desenvolvimento de anemia.^{5,12,14,17} Esta é verificada em processos inflamatórios, infeções e em anemias provocadas por quimioterapia, caracterizando-se por elevadas concentrações de ferritina entre 100 e 800µg/L.¹⁵

O diagnóstico de deficiência de ferro é realizado com base na coloração citoquímica de ferro em esfregaços de

medula óssea, sendo esta a metodologia de referência. A coloração de ferro ou *Perl's* permite visualizar a presença de grânulos de ferro nos sideroblastos existentes na medula óssea. Na deficiência de ferro é previsto a ausência de depósitos de ferro.^{5,7,15,18-20} No entanto, uma vez que o aspirado de medula óssea é um método invasivo, poder-se-á realizar a determinação de parâmetros bioquímicos, sendo a ferritina sérica o parâmetro de maior interesse clínico.²¹

A ferritina é constituída por 24 subunidades de dois tipos de cadeias: *Heavy* (H) e *Light* (L).^{11,22,23} É considerada o marcador mais sensível do metabolismo do ferro uma vez que é responsável pelo armazenamento deste nas células.^{3,11} Assim a determinação quantitativa desta metaloproteína no soro ou plasma permite inferir a concentração de ferro no organismo uma vez que o valor da sua concentração é proporcional às reservas de ferro.²⁴

No entanto, existem condições que levam ao aumento da concentração de ferritina sérica, tais como doenças crónicas, diabetes, alcoolismo, síndromes metabólicas e inflamações.^{10,12,25,26} Um valor de ferritina inferior a 10µg/L é sugestivo de anemia por deficiência de ferro, embora este parâmetro bioquímico não seja indicador da biodisponibilidade do ferro.²⁴

Em indivíduos oncológicos que apresentam deficiência de ferro, a ferritina pode encontrar-se em concentrações consideradas normais, devido à elevação da sua concentração em quadros clínicos inflamatórios e/ou crónicos. Nestas situações verifica-se que existe um aumento do armazenamento do ferro, no entanto este encontra-se retido no complexo de Golgi, não estando disponível para a eritropoiese.^{6,16,22,24}

Adicionalmente, em complemento do diagnóstico de anemia por deficiência de ferro, pode determinar-se Volume Corpuscular Médio (MCV), Hemoglobina Corpuscular Média (MCH), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (MCHC), transferrina e saturação da transferrina, embora estes apresentem baixa sensibilidade.^{10,12,18,21,25,27,28}

Recentemente foi desenvolvido um método que determina o Conteúdo de Hemoglobina dos Reticulócitos (RET-He), sendo este o primeiro marcador analisado em sangue periférico que sofre alterações devido à deficiência de ferro.^{4,21} A concentração de RET-He é determinada em amostras de sangue total colhidas em tubo com anticoagulante ácido etilendiaminotetracético (EDTA) no autoanalisador hematológico XN9000 da Sysmex[®] por citometria de fluxo e fluorescência, sendo este um dos autoanalisadores utilizados para detetar a concentração de RET-He. A sua determinação é importante em várias situações como no diagnóstico de anemia, na eritropoiese restrita de ferro e na deficiência funcional de ferro, direcionando para a melhor terapêutica.^{2,5,17,18,29-31} De forma a auxiliar a diferenciação entre um défice funcional de ferro ou uma deficiência de ferro clássica o resultado obtido com a determinação do RET-He deve ser avaliado simultaneamente com o valor de ferritina sérica.²⁴

O RET-He permite avaliar em tempo real a biodisponibilidade do ferro pela determinação da concentração de hemoglobina presente nos reticulócitos, indicando assim a quantidade de ferro disponível nos últimos 3 a 4 dias para a eritropoiese.^{10,21,32,33-35} A carência de ferro ou a indisponibilidade deste para a eritropoiese provoca a diminuição da concentração de RET-He, sendo por isso considerado um marcador precoce de deficiência de ferro.⁴ O diagnóstico de deficiência de ferro conclui-se em casos cujo valor de RET-He é inferior a 28 pg. Este parâmetro não sofre alterações significativas com o aumento da idade nem é afetado por interferências fisiológicas, representando mais vantagens em relação à ferritina. Desta forma, torna-se confiável a sua aplicabilidade em todas as populações, incluindo crianças, grávidas, idosos e indivíduos com patologias crónicas.^{2,13,17,28} No entanto, a concentração de RET-He também apresenta-se diminuída em indivíduos com talassemia.^{2,4,24,27,32} Como o RET-He é um marcador de biodisponibilidade do ferro, a sua utilização permite monitorizar a terapêutica do ferro. Por este motivo, a sua determinação é útil em indivíduos com deficiência de ferro, uma vez que, reflete a biodisponibilidade atual de ferro nestes indivíduos. O sucesso da terapêutica pode ser verificado após 2 a 3 dias do início desta pelo aumento da concentração de RET-He.^{2,4,35}

Este estudo tem como objetivo verificar a existência de relação entre os valores obtidos com a determinação do RET-He e os valores de ferritina sérica, numa população de amostras provenientes de indivíduos com doença oncológica.

Material e métodos

Foi realizado um estudo observacional analítico transversal com os resultados das determinações de RET-He, por citometria de fluxo fluorescente e ferritina, por ensaio imuno-turbidimétrico, obtidas através da base de dados do sistema informático e-deiaLab do Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil, EPE-Porto, entre Setembro de 2015 e Janeiro de 2016. Para o tratamento de dados foi elaborado, através do programa Microsoft Excel 2007, uma reta de regressão linear para analisar a relação entre as variáveis “Ferritina sérica” e “RET-He”.

Resultados

Com a base de dados construída pelo sistema informático e-deia-Lab foram estudadas 270 determinações de RET-He e ferritina sérica, pertencentes a 225 indivíduos com patologia oncológica. Destes 225 indivíduos 52,44% (n=118) eram do sexo masculino e 47,56% (n=107) do sexo feminino. A análise da distribuição dos indivíduos por grupos etários permitiu verificar que o grupo etário [65-72] foi o mais frequente. A média de idades foi de $47,28 \pm 25,39$ anos e mediana de 49, variando de 1 ano a 92 anos.

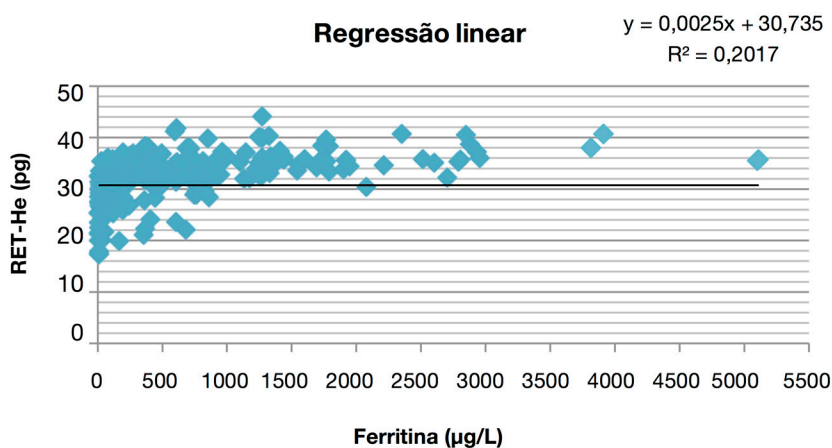
Da população de 225 indivíduos foram obtidas 270 determinações de Eritrócitos (RBC), HGB, Hematócrito (HCT), Volume Corpuscular Médio (MCV), Hemoglobina Corpuscular Média (MCH), RET-He, Reticulócitos (Ret) e Ferritina (Tabela 1). A média de HGB foi de $11,27 \pm 2,12$ g/dL variando de 6 a 16,2 g/dL; a média de RET-He foi de $32,22 \pm 4,52$ pg variando de 17,3 a 44,1 pg e a média da ferritina foi de $600,95 \pm 815,46$ µg/L e os seus valores variam entre 7 a 5111 µg/L.

Tabela 1 - Resultados das determinações laboratoriais recolhidas

	RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	Ret-He (pg)	Ret (%)	Ferritina (µg/L)
Média	3,74	11,27	34,21	92,25	30,4	32,22	2,11	600,95
Erro-padrão	0,04	0,13	0,37	0,53	0,22	0,28	0,09	49,63
Mediana	3,77	11,3	34,4	93,1	30,8	32,9	1,7	298
Moda	3,77	11,2	32,2	94,7	29,1	33	1,4	9
Desvio-padrão	0,74	2,12	6,06	8,64	3,59	4,52	1,42	815,46
Variância da amostra	0,54	4,51	36,7	74,6	12,92	20,45	2,01	664969,76
Intervalo	3,49	10,2	28,5	47,6	20,6	26,8	8,2	5104
Mínimo	1,82	6	17,9	64,5	18,4	17,3	0,3	7
Máximo	5,31	16,2	46,4	112,1	39	44,1	8,5	5111
Contagem	270	270	270	270	270	270	270	270

Da totalidade dos dados das variáveis RET-He e ferritina sérica (n=270) obtidos pelo programa informático e-deiaLab realizou-se a regressão linear, cujo coeficiente de determinação (r^2) foi de 0,201 (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Regressão linear



Discussão

Este estudo foi efetuado numa população de doentes oncológicos, representando esta condição uma limitação não só devido às neoplasias, mas também ao processo de cronicidade e/ou inflamatório que poderá decorrer nesta população, bem como os tratamentos a que estão sujeitos, como a quimioterapia.

Pela análise da tabela 1, relativa aos parâmetros hematológicos e bioquímicos recolhidos, verifica-se que a amostra em estudo apresenta uma média de HGB de 11,27 g/dL. Para o género feminino considera-se anemia um valor de HGB inferior a 11 g/dL e para o género masculino um valor de HGB inferior a 12 g/dL.² Desta forma, pode concluir-se que o valor médio de HGB é baixo, podendo a maioria dos indivíduos em estudo apresentar anemia. No estudo de Peerschke et al também se verifica uma população de indivíduos com patologia oncológica anémica. O valor médio de ferritina sérica obtido na amostra em estudo é elevado (600,95 µg/L) uma vez que valores de ferritina entre 10 a 250 µg/L são os valores de referência, sendo o valor obtido esperado numa população de amostras de doentes oncológicos. Estes poderão encontrar-se elevados devido à neoplasia ou ao tratamento, não refletindo o valor real de ferro armazenado. De forma a verificar se o valor de ferritina sérica elevado é devido a um processo inflamatório ou a uma sobrecarga de ferro, poder-se-á determinar parâmetros auxiliares como a Proteína C Reativa (PCR) e a saturação da transferrina. Numa situação de inflamação é esperada uma elevada concentração da PCR, enquanto numa sobrecarga de ferro é esperado um aumento da saturação da transferrina.

A média de RET-He obtida nas determinações dos indivíduos incluídos no estudo foi de 32,22 pg, considerado normal relativamente aos valores de referência, que se encontram entre 28 a 36 pg.² Este resultado permite afirmar que os indivíduos em estudo, em média, não têm deficiência de ferro, encontrando-se este biodisponível para a eritropoiese, podendo concluir-se que a deficiência de ferro não é a causa do valor obtido de HGB diminuído. Sendo o valor de RET-He específico da determinação da biodisponibilidade do ferro e, como não sofre alterações em processos de fase aguda demonstra uma maior especificidade relativamente à ferritina.¹⁰ O estudo do RET-He também apresenta vantagens em relação à determinação da HGB, na medida em que o seu resultado diminui num período de 2 a 3 dias como consequência da deficiência de ferro, enquanto a deteção da diminuição da HGB só é verificável após 1 semana deste desequilíbrio dos níveis de ferro.^{4,36}

A regressão linear possibilita identificar e estimar uma função que descreva, o mais próximo possível, a relação entre as variáveis, que permitirá prever o valor que a variável dependente y (RET-HE) irá assumir para um determinado valor da variável independente x (ferritina sérica). A relação é determinada pelo valor do r^2 que avalia a qualidade do ajustamento do modelo aos dados. Com a realização da regressão linear (gráfico 1) obteve-se a equação da reta $y=0,002x-30,73$ e r^2 de 0,201. No gráfico 1 visualiza-se uma concentração de pontos, não existindo um padrão linear. Estatisticamente verifica-se que o r^2 obtido é baixo não permitindo inferir relação entre as variáveis em estudo, RET-He e ferritina sérica, sendo este resultado já verificado nos estudos de Peerschke *et al.* e Lorenz L. *et al.* A inexistência de relação entre as variáveis não permite inferir sobre a aplicabilidade do RET-He no diagnóstico de deficiência de ferro, que possibilitaria a deteção precoce da deficiência de ferro, a principal vantagem da determinação do RET-He. Esta vantagem permite iniciar a terapêutica de ferro mais precocemente, possibilitando evitar possíveis consequências resultantes deste défice, como a anemia.

Este estudo encontra-se também limitado pelo baixo tamanho amostral, não permitindo extrapolar os resultados para a população oncológica em geral. Os diferentes diagnósticos entre os indivíduos da amostra em estudo, que podem ser influenciados pela anamnese dos doentes, como exposição ambiental, alimentação, hábitos tabágicos e consumo de álcool, foram também fatores limitantes para o referido estudo.

Conclusão

O parâmetro RET-He é considerado um indicador precoce da deficiência de ferro, evitando possíveis consequências resultantes deste défice pelo início precoce da terapêutica. Este apresenta diversas vantagens em relação à determinação da ferritina e da HGB, cujo número de determinações podem ser reduzidas no diagnóstico de deficiência de ferro.

No entanto, este estudo constatou a fraca relação entre as variáveis RET-He e ferritina sérica, devido às patologias/quadros clínicos dos doentes envolvidos que podem ter influenciado as variáveis analisadas, nomeadamente na determinação do parâmetro ferritina sérica.

No futuro, de modo a atingir a finalidade do estudo, deverá ser estudada a influência das diferentes patologias oncológicas nas variáveis RET-He e ferritina, de forma a verificar se poderá existir relação entre ambas as variáveis

consoante o diagnóstico. A inclusão dos parâmetros bioquímicos transferrina e saturação da transferrina também poderá ser vantajosa, permitindo auxiliar o diagnóstico de deficiência de ferro.

Referências bibliográficas

1. Report T world health. The world health report. WHO Disponível em: <http://www.who.int/whr/2002/chapter4/en/index3.html> (2010, accessed 15 June 2016).
2. Peerschke EIB, Pessin MS, Maslak P. Using the hemoglobin content of reticulocytes (RET-He) to evaluate anemia in patients with cancer. *American Journal of Clinical Pathology*, 2014, pp. 506–512.
3. Bishop M, Fody E, Schoeff L. *Clinical Chemistry Techniques, Principles, Correlations*. 6th ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2010.
4. Powers JM, Buchanan GR. Diagnosis and management of iron deficiency anemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 2014, pp. 729–745.
5. Camaschella C. Iron-Deficiency Anemia. *New England Journal of Medicine*, 2015, pp. 1832–1843.
6. Uijterschout L, Domellöf M, Vloemans J, *et al.* The value of Ret-Hb and sTfR in the diagnosis of iron depletion in healthy, young children. *European journal of clinical nutrition*, 2014, pp. 882–886.
7. Gualandro SFM, Hojaij NHSL, Filho WJ. Deficiência de ferro no idoso. *Rev Bras Hematol Hemoter*. Epub ahead of print 2010. DOI: 10.1590/S1516-84842010005000058.
8. Brito LL, Barreto ML, Silva RDCR, *et al.* Risk factors for iron-deficiency anemia in children and adolescents with intestinal helminthic infections. *Rev Panam salud pública* 2003; 14: 422–31.
9. Goddard AF, McIntyre AS, Scott BB. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. *Gut*, 2013, pp. iv1–iv5.
10. Davidkova S, Prestidge TD, Reed PW, *et al.* Comparison of reticulocyte hemoglobin equivalent with traditional markers of iron and erythropoiesis in pediatric dialysis. *Pediatr Nephrol*. Epub ahead of print 14 December 2015. DOI: 10.1007/s00467-015-3284-2.
11. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*. 6th ed. Filadélfia: W. B. Saunders, 2008.
12. Clenin GE, Cordes M, Huber A, *et al.* Iron deficiency in sports – definition, influence on performance and therapy. *Swiss Medical Weekly*, 2015, pp. 1–15. Camaschella C, Pagani A, Nai A, *et al.* The mutual control of iron and erythropoiesis. 2016; 1–7.
13. Camaschella C, Pagani A, Nai A, *et al.* The mutual control of iron and erythropoiesis. 2016; 1–7.
14. Grotto HZW. Metabolismo do ferro : uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2008; 5: 390–397.
15. Peyrin-biroulet L, Williet N, Cacoub P. Guidelines on the diagnosis and treatment of iron deficiency across indications : a systematic review 1. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.3945/ajcn.114.103366.
16. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Erythrocyte and reticulocyte indices in the assessment of erythropoiesis activity and iron availability. 2013; 144–149.
17. Miwa N, Akiba T, Kimata N, *et al.* Usefulness of measuring reticulocyte hemoglobin equivalent in the management of haemodialysis patients with iron deficiency. 2010; 248–255.
18. Schapkaitz E, Buldeo S, Mahlangu JN. Diagnosis of iron deficiency anaemia in hospital patients : Use of the reticulocyte haemoglobin content to differentiate iron deficiency anaemia from anaemia of chronic disease. 2016; 106: 53–54.
19. Hughes D a, Stuart-Smith SE, Bain BJ. How should stainable iron in bone marrow films be assessed? *J Clin Pathol* 2004; 57: 1038–1040. 26
20. Loffler H, Rastetter J, Haferlach T. *Atlas of Clinical Hematology*. 6th ed. Springer, 2010. Epub ahead of print 2010. DOI: 10.1136/jcp.43.6.523-d.
21. Lorenz L, Arand J, Buchner K, *et al.* Reticulocyte haemoglobin content as a marker of iron deficiency. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2015, pp. F198–202.
22. Wang W, Knovich M, Coffman L. Serum ferritin: Past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1800: 760–769.
23. Li L, Zhang L, Knez M. Comparison of two endogenous delivery agents in cancer therapy: Exosomes and ferritin. *Pharmacol Res* 2016; 110: 1–9.
24. Beckman Coulter I. AU ® Instruções de utilização Ferritin. 2015, pp. 1–7.
25. Karagülle M, Gündüz E, Mutlu FŞ, *et al.* Clinical Significance of Reticulocyte Hemoglobin Content in the Diagnosis of Iron Deficiency Anemia.
26. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. 2006; 303–308.
27. Karlsson T. Comparative Evaluation of the Reticulocyte Hemoglobin Content Assay When Screening for Iron Deficiency in Elderly Anemic Patients. 2011; 10–12.
28. Semmelrock MJ, Raggam RB, Amrein K, *et al.* Reticulocyte hemoglobin content allows early and reliable detec-

- tion of functional iron deficiency in blood donors. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 678–682.
29. Urrechaga E, Boveda O, Aguayo FJ, *et al.* Percentage of hypochromic erythrocytes and reticulocyte hemoglobin equivalent predictors of response to intravenous iron in hemodialysis patients. 2016; 1–6.
 30. Stopper B. *Tecnologia e Parâmetros Clínicos Avançados*. Sysmex.
 31. Canals C, Remacha A, Sardá M, *et al.* Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter - reticulocyte hemoglobin equivalent - in the diagnosis of anemia. 90.
 32. Bain BJ, Bates I, Laffan M, *et al.* *Dacie and Lewis Practical Haematology*. 11th ed. Elsevier, 2011.
 33. Mast AE, Blinder MA, Dietzen DJ. Reticulocyte hemoglobin content. 2008; 307–310.
 34. Sudmann-Day ÅA, Piehler A, Klingenberg O, *et al.* Six-day stability of erythrocyte and reticulocyte parameters in-vitro: a comparison of blood samples from healthy, iron-deficient, and thalassemic individuals. *Scand J Clin Lab Invest* 2015; 75: 247–53.
 35. Parodi E, Giraudo MT, Ricceri F, *et al.* Absolute Reticulocyte Count and Reticulocyte Hemoglobin Content as Predictors of Early Response to Exclusive Oral Iron in Children with Iron Deficiency Anemia. 2016.
 36. Parodi E, Giraudo M, Davitto M. Reticulocyte parameters: markers of early response to oral treatment in children with severe iron-deficiency anemia. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2012.