

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ
ORIGINAL ARTICLES

**ЖЕЛЯЗОДЕФИЦИТНА АНЕМИЯ И АНЕМИЯ ПРИ ХРОНИЧНО ЗАБОЛЯВАНЕ –
НОВИ ВЪЗМОЖНОСТИ ЗА ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА**

**В. Манолов¹, В. Паскалева-Пейчева², Б. Богов³, Д. Йонова⁴, Е. Възелов⁴, Е. Хаджиев⁵,
М. Велизарова¹, В. Атанасова⁶, С. Хаджидекова¹, В. Василев⁶ и К. Цачев⁶**

¹Катедра по медицинска генетика

²Клиника по ревматология, УМБАЛ “Св. И. Рилски”

³Клиника по нефрология, Катедра по вътрешни болести

⁴Клиничен център по диализа

⁵Клиника по хематология, Катедра по вътрешни болести

⁶Катедра по Клинична лаборатория и клинична имунология

Медицински университет – София

**IRON-DEFICIENCY ANEMIA AND ANEMIA IN CHRONIC DISEASES –
NEW TOOLS IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS**

**V. Manolov¹, V. Paskaleva-Peycheva², B. Bogov³, D. Yonova⁴, E. Vazelov⁴, E. Hadjiev⁵,
M. Velizarova¹, B. Atanasova⁶, S. Hadjidekova¹, V. Vasilev⁶ and K. Tzatchev⁶**

¹Department of Medical Genetics

²Clinic of Rheumatology, “Sv. Ivan Rilski” Hospital

³Clinic of Nephrology, Department of Internal Diseases

⁴Dialysis Center

⁵Clinic of Hematology, Department of Internal Diseases

⁶Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology

Medical University – Sofia

Резюме:

При пациентите с желязодефицитна анемия (ЖДА), както и при тези с нисък серумен феритин в латентна и прелатентна форма на дефицит без съпровождаща анемия се установяват много ниски нива на хепсидин. Анемията при хронични заболявания (АХЗ) е придобито нарушение на хомеостазата на желязото. Това състояние се свързва с инфекция, малигнени заболявания, органна недостатъчност, тежка травма или други случаи на възпаление. Диференцирането на двете състояния е важно за правилния избор на терапевтично поведение. Определихме серумните нива на хепсидин, регулатор на хомеостазата на желязо с помощта на ELISA метод при 90 пациенти с хронично бъбречно заболяване в стадий II до V (n = 30), желязодефицитна анемия (n = 30) и ревматоиден артрит (n = 30) за период от две години. За изчисляване на индекси, за диференциране на желязодефицитна анемия от анемия на хронично заболяване определихме серумни нива на желязо, тотален желязосвързващ капацитет (ТЖСК), феритин и разтворими трансферинови рецептори. Установихме статистически значимо по-високи стойности на серумен хепсидин при пациенти с АХЗ 90.7-770.2 µg/L (P < 0.001); серумните нива на хепсидин са статистически понижени при пациенти с ЖДА 0.45-2.1 µg/L (P < 0.001); референтните граници за хепсидин са 3.052-37.750 µg/L. С помощта на а) индекс на разтворими трансферинови рецептори към феритин [(i)sTfr], б) индекс на хепсидин към феритин (Hepc/Fer) и в) индекс на процентно трансфериново насищане към хепсидин (TSAT/Hepc) установихме cut-off стойностите за ди-

<p>Ключови думи:</p> <p>Адрес за кореспонденция:</p>	<p>ференциране на ЖДА и АХЗ – а) 0.108; б) 0.363; в) 2.272. Нашите резултати показват приложимостта на изследване на хепсидин и неговата роля за диференциране на ЖДА от АХЗ при подпомагане правилния терапевтичен избор на клиницистите.</p> <p>хепсидин, желязодефицитна анемия, анемия на хронично заболяване, ревматоиден артрит, хронично бъбречно заболяване, диализа</p> <p><i>Д-р Виктор Манолов, Катедра по медицинска генетика, МУ, ул. „Св. Г. Софийски“ № 1, 1431 София, тел. 02 9230 928, e-mail: victhedoc2@yahoo.com</i></p>
<p>Summary:</p> <p>Key words:</p> <p>Address for correspondence:</p>	<p>Hepcidin is shown to be very low in patients with iron-deficiency anemia (IDA), as well as in those with a low serum ferritin in the latent and pre-latent forms of deficit without accompanying anemia. Anemia of chronic disease (ACD) is an acquired disorder of iron homeostasis. This condition is associated with infection, malignancy, organ failure, severe trauma, or other causes of inflammation. Differentiation between the two conditions is important for the correct choice of therapeutic approach. We determined serum hepcidin levels, a key iron homeostasis regulator using a Sandwich ELISA method in 90 patients with: chronic kidney disease, stages II to V (n = 30), iron-deficiency anemia (IDA) (n = 30) and rheumatoid arthritis (n = 30) for a period of two years. To calculate the indexes for differentiation of iron deficiency anemia from anemia of chronic diseases we determined serum iron, total iron-binding capacity (TIBC), ferritin and soluble transferrin receptors. We established significant higher levels of hepcidin in patients with ACD 90.7-770.2 µg/L (P < 0.001); serum concentration of hepcidin in patients with IDA were significantly lower 0.45-2.1 µg/L (P < 0.001); the reference ranges for hepcidin were 3.052-37.750 µg/L. Using a) index of soluble transferrin receptors to ferritin [(i)sTfr], b) index of hepcidin to ferritin (Hepc/Fer) and c) index of transferrin saturation to hepcidin (TSAT/Hepc) we determined cut-off levels for differentiation between IDA and ACD – a) 0.108; b) 0.363; c) 2.272. Our results show the main role of serum hepcidin quantification in differentiation between IDA and ACD and help clinicians to make the right therapeutic choice.</p> <p>hepcidin, iron-deficiency anemia, anemia in chronic diseases, rheumatoid arthritis, chronic kidney diseases, dialysis</p> <p><i>Victor Manolov, M.D., Department of Medical Genetics, Medical University, 1 "Sv. G. Sofiyski" Blvd., Bg – 1431 Sofia, tel. +359 2 9230 928, e-mail: victhedoc2@yahoo.com</i></p>

ВЪВЕДЕНИЕ

При пациентите с желязодефицитна анемия, както и при тези с нисък серумен феритин в латентна и прелатентна форма на дефицит без съпровождаща анемия се установяват много ниски нива на хепсидин, често дори под долната граница на откриване на използваните методи за количествен анализ на показателя [1].

Ефект от прилагане на желязни препарати върху концентрациите на хепсидина. При здрави индивиди се наблюдава повишение на концентрацията на хепсидина в серум и урина по време на прием на орални желязо-съдържащи препарати [2]. Някои проучвания показват значима отрицателна корелация между серум-

ния хепсидин и скоростта на абсорбция на желязо в червата. Серумните концентрации на хепсидина могат да служат като предиктор на терапевтичния ефект при прием на перорални желязни препарати. Още повече, отговорът на хепсидина към терапията с перорални желязни препарати би могъл да бъде полезен тест за оценка на абсорбцията на желязото при желязен дефицит.

Прилагането на интравенозни препарати разграничава пациенти с повишено ниво на хепсидин при желязодефицитна анемия. По този начин се предотвратява ненужното натрупване и прилагане на перорална терапия с желязни препарати поради «резистентност» на организма [3, 4].

Инфекциите се свързват със значими промени в хомеостазата на желязото. Анемията при малария се характеризира с ниско серумно желязо и повишен хепсидин, който е причина за акумулиране на желязо в ендотелната макрофагеална система и до недоимък на желязо за нуждите на еритропоезата [5-8]. Вероятно повишеният хепсидин играе протективна роля срещу растежа на микроорганизми, като намалява екстрацелуларното желязо. От друга страна, повишеният хепсидин може да доведе до дефицит на желязо и до невъзможност за ефективно компенсиране при орално суплементиране, защото потиска абсорбцията на желязо през чревната лигавица. Повишеният хепсидин при възпаление може да увеличи вирулентността на бактериите, която зависи от количеството желязо в макрофагите (напр. *Salmonella*, *Mycobacteria spp.*). Такива патогени са характерни за ендемичните маларийни райони. Нецелесъобразното суплементиране с желязо на деца от тези региони без дефицит в депата може да доведе до тежки странични ефекти поради стимулирана пролиферация на латентни патогени [2, 9, 10].

Анемията при хронични заболявания е придобито нарушение на хомеостазата на желязото. Това състояние се свързва с инфекция, малигнен заболявания, органна недостатъчност, тежка травма или други случаи на възпаление. Анемията обикновено е слабо или умерено изразена, еритроцитите могат да не показват типични характеристики на дефицит на желязо. Най-често етиологията се свързва с нарушено рециклиране на желязо от макрофагите, нарушена чревна абсорбция на желязо, еритроидните прекурсори реагират бързо на диферитрансферина, но еритропоезата е нарушена поради недостатъчно желязо.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

За период от две години определихме серумните нива на хепсидин с помощта на верифициран ELISA метод [11] при 90 пациенти с хронично бъбречно заболяване, стадии II до V (n = 30), желязодефицитна анемия (n = 30) и ревматоиден артрит (n = 30). Резултатите бяха сравнени с референтните стойности за българска популация, определени в предишни проучвания [12]. За изчисляване на индекси, за диференциране на ЖДА от АХЗ определихме серумни нива на желязо, тотален желязо-свързващ капацитет (ТЖСК), феритин и разтворими трансферинови рецептори. Всички изследвани индивиди попълваха информирано съгласие съобразно Декларацията от Хелзинки (Директива 2001/20/ЕС).

Клинико-химичните показатели бяха определени с помощта на биохимичен анализатор Cobas Integra 400 (Roche Diagnostics), имунологичен анализатор Elecsys 2010 (Roche Diagnostics), атомноабсорбционна спектрофотометрия на Analyst 300 (Perkin Elmer) и нефелометрия на BNProSpec (Siemens Healthcare). За статистически анализи използвахме t-test на Student, корелация на Pearson, ROC криви.

РЕЗУЛТАТИ

Разпределението на включените индивиди по пол и възраст е показано в табл. 1. Границите на референтната област на серумен хепсидин за българската популация са 3.052-37.750 µg/L. Установихме статистически значимо по-високи стойности на серумен хепсидин при пациенти с АХЗ 90.7-770.2 µg/L (P < 0.001); серумните нива на хепсидин са статистически понижени при пациенти с ЖДА 0.45-2.1 µg/L (P < 0.001) (табл. 2). С помощта на: а) индекс на разтворими трансферинови рецептори към феритин [(i)sTfr], б) индекс на хепсидин към феритин (Hepc/Fer) и в) индекс на процентно трансфериново насищане към хепсидин (TSAT/Hepc) установихме cut-off стойностите за диференциране на ЖДА и АХЗ – а) 0.108; б) 0.363; в) 2.272 (табл. 3).

На базата на получените резултати от определените индекси пациентите с ревматоиден артрит показаха разлики (фиг. 1-3).

Таблица 1. Демографски показатели на включените индивиди

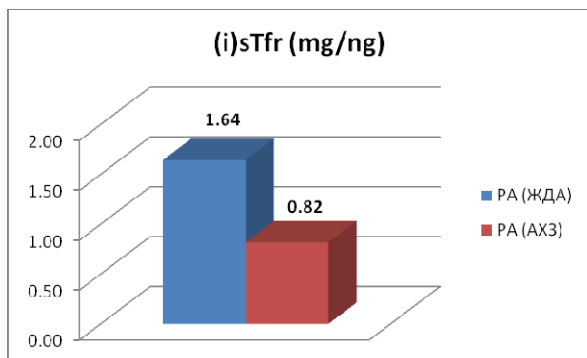
Група	n =	Възраст ± SD
Контролна	180	34.9 ± 12.5
ХБЗ (стадий II до V)	30	58.3 ± 10.1
Ревматоиден артрит	30	51.2 ± 8.4
Желязодефицитна анемия	20	25.6 ± 10.2

Таблица 2. Серумни нива на хепсидин при изследваните групи

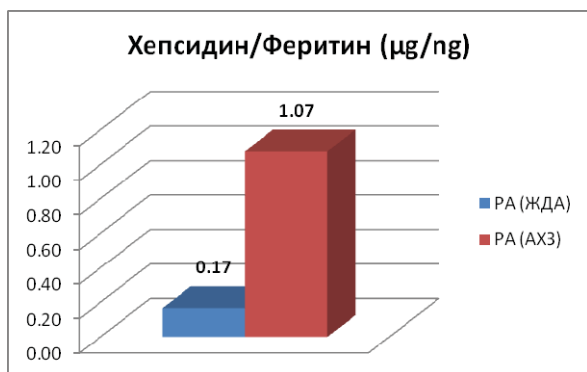
Група	Хепсидин (µg/L) ± SD
Контролна	20.4 ± 9.2
ХБЗ (стадий II до V)	430.5 ± 40.9
Ревматоиден артрит	49.8 ± 17.5
Желязодефицитна анемия	1.3 ± 0.4

Таблица 3. Cut-off стойности на изчислените индекси

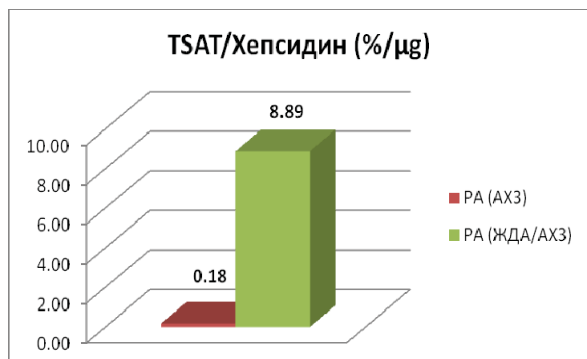
Група	sTfr/Ferritin (mg/ng)	Hepcidin/Ferritin (µg/ng)	TSAT/Hepcidin (%/µg)
Контролна (cut-off)	0.108	0.363	2.272
АХЗ	≥ 0.109	≥ 0.364	≥ 2.273
ЖДА	≤ 0.107	≤ 0.362	≤ 2.271



Фиг. 1. Индекс на разтворими трансферинови рецептори към феритин при пациенти с ревматоиден артрит



Фиг. 2. Индекс на хепсидин към феритин при пациенти с ревматоиден артрит



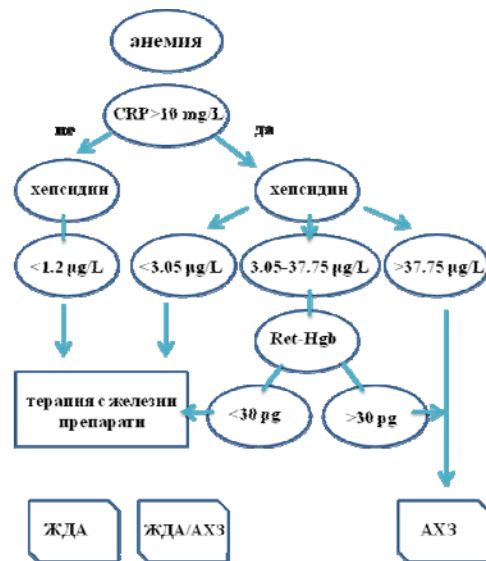
Фиг. 3. Индекс на процентно трансфериново насищане към хепсидин при пациенти с ревматоиден артрит

ОБСЪЖДАНЕ

За разграничаване на пациенти с ЖДА от АХЗ предлагаме следния алгоритъм (фиг. 4) (по [13], с наши данни).

При пациенти с възпалително заболяване и ниски нива на хепсидин се очаква да има недостиг на желязо. За разлика от тях тези с високо ниво на серумен хепсидин се диагностицират с АХЗ.

Използването на серумните нива на хепсидин ще помогне за оценяване на необходимостта от прилагането на препарати, съдържащи желязо. Резултатите показват, че пациенти с ЖДА могат да бъдат подложени на лечение с такива лекарства, докато пациенти с АХЗ не се нуждаят от тях.



Фиг. 4. Алгоритъм за терапевтичен избор на поведение при желязодефицитна анемия и анемия при хронично заболяване

При пациенти с ревматоиден артрит са установени силни корелации между серумните нива на хепсидин с феритин и индекс на разтворими трансферинови рецептори. Серумните нива на хепсидин представляват диагностичен тест на дефицита на желязо, дори в присъствието на възпаление и диференцират групи с желязодефицитна анемия и комбинация от недостиг на желязо/анемия на хронично заболяване, в сравнение с групата пациенти с АХЗ [13]. Известно е, че серумният хепсидин не се увеличава значително при пациенти с нарушена бъбречна функция, които не се нуждаят от диализа. Пациенти на хемодиализа обаче показват значително по-високи нива, отколкото пациенти с хронична бъбречна недостатъчност. Концентрацията на серумния феритин е значим предиктор за нивата на хепсидин в серума [14].

Определянето на серумния хепсидин е все още новост в българската медицинска практика. Въвеждането на надежден рутинен метод за изследване на хепсидин в биологични течности е стъпка напред в лечението на заболяванията с нарушена хомеостаза на желязото. Нашето проучване при пациенти с ревматоиден артрит осигурява основа за избора на правилния терапевтичен подход при лечението на анемия при различни състояния, протичащи с идентични нарушения в обмяната на желязо – бременност, туморни заболявания, възпалителни процеси на стомашно-чревния тракт, миелом и др.

Благодарности

Това проучване е осъществено с помощта на Грант №№ 2/2012, 10/2013 и 67/2014, Медицински университет – София.

Библиография

- Ganz, T. et al. Immunoassay for human serum hepcidin. – *Blood*, **112**, 2008, 4292-4297.
- Kroot, J. J. et al. Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. – *Haematologica*, **94**, 2009, 1748-1752.
- Goodnough, L. et al. Hepcidin assay and IV iron therapy are superior to ferritin and oral iron therapy in identifying patients with iron deficiency anemia (IDA). – *Am. J. Hematol.*, **88**, 2013, № 5, E11.
- Bregman, D. B. et L. T. Goodnough. Experience with intravenous ferric carboxymaltose in patients with iron deficiency anemia. – *Ther. Adv. Hematol.*, **5**, 2014, № 2, 48-60.
- Cherian, S. et al. An insight into the relationships between hepcidin, anemia, infections and inflammatory cytokines in pediatric refugees: a cross-sectional study. – *Plos One*, **3**, 2008, e4030.
- De Mast, Q. et al. Assessment of urinary concentrations of hepcidin provides novel insight into disturbances in iron homeostasis during malarial infection. – *J. Infect. Dis.*, **199**, 2009, 253-262.
- De Mast, Q. et al. Increased serum hepcidin and alterations in blood iron parameters associated with asymptomatic *P. falciparum* and *P. vivax* malaria. – *Haematologica*, **95**, 2010, 1068-1074.
- Nweneka, C. V. et al. Iron delocalisation in the pathogenesis of malarial anaemia. – *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **104**, 2010, 175-184.
- Kemna, E. H. et al. Mass spectro-metry-based hepcidin measurements in serum and urine: analytical aspects and clinical implications. – *Clin. Chem.*, **53**, 2007, 620-628.
- De Domenico, I. et al. Hepcidin mediates transcriptional changes that modulate acute cytokine-induced inflammatory responses in mice. – *J. Clin. Invest.*, **120**, 2010, 2395-2405.
- Manolov, V., B. Atanasova, V. Vasilev, K. Tzatchev et M. Velizarova. ELISA method for serum hepcidin quantification in Bulgarian population. – *Acta Medica Bulgarica*, 2014, № 1, 22-29.
- Manolov, V., B. Atanasova, M. Velizarova, V. Vasilev et K. Tzatchev. Serum hepcidin levels in Bulgarian population. – *Clin. Lab.*, **60**, 2014, 2001-2006.
- van Santen, S. et al. Hepcidin and hemoglobin content parameters in the diagnosis of iron deficiency in rheumatoid arthritis patients with anemia. – *Arthritis Rheum.*, **63**, 2011, № 12, 3672-3680.
- Peters, H. P. et al. Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. – *Nephrol. Dial. Transplant.*, **25**, 2010, 848-853.

Постъпила за печат на 5 януари 2015 г.



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
ЦЕНТРАЛНА МЕДИЦИНСКА БИБЛИОТЕКА

ул. "Св. Г. Софийски" № 1, 1431 София

(02) 952-23-93, (02) 952-16-45, (02) 952-05-09, (02) 952-59-20, <http://www.mu-sofia.bg>

АБОНАМЕНТЕН СПИСЪК – 2015

Заглавие	Периодичност	Годишен абонамент в лв.
Acta Medica Bulgarica (на англ. език)	2	20
Акупунктура	2	14
Български медицински журнал	3	30
Детски и инфекциозни болести	2	16
Ендокринни заболявания	3	21
Медицински мениджмънт и здравна политика	4	28
Медицински преглед	6	48
Неврология и психиатрия	2	14
Обща медицина	4	32
Сестринско дело	3	24
Съвременна стоматология	3	30
Сърдечно-съдови заболявания	3	30