

**VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO  
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS IR  
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA**

**MAGISTRO DARBAS**

**GELEŽIES STOKOS IR LĖTINIŲ LIGŲ ANEMIJŲ LABORATORINIŲ  
DIAGNOSTINIŲ RODIKLIŲ PALYGINIMAS**

Magistrantė LINA ČIORNIENĖ \_\_\_\_\_

(parašas)

Darbo vadovė

dr. doc. R. Budrionienė \_\_\_\_\_

(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos ir

Laboratorinės medicinos katedros vedėja

hab. dr. , prof. Z. Kučinskienė

leidžiama ginti \_\_\_\_\_

(parašas)

Darbo pateikimo data \_\_\_\_\_

Registracijos Nr.

## SUMMARY

### **Comparing iron deficiency anemia and anemia of chronic disease using laboratory diagnostic indices**

**Objective.** The objective of this work is to research iron deficiency anemia (IDA) and anemia of chronic disease (ACD) laboratory diagnostic indices. Comparison anemia, inflammation and iron metabolism process reflected parameters between IDA and ACD.

**Material and methods.** The study investigated 40 persons with IDA and 20 persons with ACD treated in the Klaipeda University Hospital. In the analyzer ARCHITECT® c 8000 tested serum iron using ferene by spectrofotometric, ferritin and CRP concentration by immunoturbidimetric method. Blood samples were collected in EDTA and analyzed using automated hematology analyzer (Sysmex XE-2100), according to the radio-frequency/direct-current detection method, hydro dynamic focusing, flow cytometry method and SLS-hemoglobin method. Obtained the results for CBC count, including values for hemoglobin, hematocrit, RBC count and RBC indices (MCV, MCH, MCHC, RDW), WBC count and differentiation and PLT count. Was measured the erythrocyte sedimentation rate according to the standard Westergren method. All statistical analyses, including 2 – tailed t-test (unpaired) and correlation analyses were performed using STATISTICA 7 (*StatSoft, Inc. 2004*).

**Results.** Comparing IDA and ACD using anemia reflect laboratory diagnostic indices hemoglobin, hematocrit, RBC count and RBC indices. Detected, that the hemoglobin concentration, MCV, MCH, MCHC indices statistically significant higher in patients with ACD and RDW statistically significantly higher in patients with IDA. Assessing of iron metabolism differences reflected indices in the sample groups. Compare the analysis of inflammatory process reflecting markers (CRP, ferritin, erythrocyte sedimentation rate, WBC count and the immature granulocyte fraction) and identify statistically higher averages for persons with ACD compare with IDA.

**Conclusions.** Compared IDA and ACD using anemia reflect laboratory diagnostic indices detected statistically significantly differences between sample groups. Patients with IDA dominated microcytic hypochromic anemia and ACD – normocytic normochromic anemia. Assessing of iron metabolism reflected indices between IDA and ACD patients, detected statistically significantly higher values in ACD group. The analysis of inflammatory process reflecting markers identified statistically higher values in ACD compared with IDA. The assessment of inflammation process reflecting markers patients with ACD received a statistically reliable the strong correlation between the ferritin and the CRP and that show than inflammation process can influence ferritin concentration.

## TURINYS

1. ĮVADAS.....	6
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	7
2.1. Geležies apykaita organizme.....	7
2.1.1. Geležies rezorbcija proksimalinėje dvylikapirštės žarnos dalyje.....	7
2.1.2. Geležies homeostazės reguliavimo mechanizmas.....	9
2.2. Geležies stokos etiologija ir patogenezė.....	11
2.3. Lėtinių ligų anemijos etiologija ir patogenezė.....	12
2.4. Klinikiniai anemijų tyrimo rodikliai.....	14
2.4.1. Hemoglobino reikšmė anemijos diagnostikoje.....	15
2.4.2. Hematokrito vertė.....	15
2.4.3. Eritrocitų skaičiaus tyrimas.....	15
2.4.4. Eritrocitų indeksai, jų interpretavimas.....	16
2.4.5. Morfolginiai eritrocitų pokyčiai.....	17
2.5. Biocheminiai anemijų tyrimo rodikliai.....	19
2.5.1. Serumo geležis, jos svarba.....	19
2.5.2. Serumo feritino reikšmė anemijos patogenezėje.....	20
2.6. Lėtinių ligų anemijos diagnostika.....	20
2.6.1. C reaktyvusis baltymas.....	21
2.6.2. Eritrocitų nusėdimo greitis.....	21
2.7. Naujausia anemijų diagnostika.....	22
2.7.1. Serumo transferino receptorių tyrimas.....	22
2.7.2. CHr – hemoglobino kiekis retikuliocyte.....	22
3. TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI.....	23
3.1. Tirtų pacientų charakteristika.....	23
3.2. Hematologinių kraujo parametrų nustatymas.....	24
3.3. Serumo geležies koncentracijos nustatymas.....	25
3.4. C reaktyviojo baltymo koncentracijos nustatymas.....	25
3.5. Feritino koncentracijos nustatymas.....	26
3.6. ENG nustatymas.....	26
3.7. Statistinė analizė.....	26
4. DARBO REZULTATAI.....	27
4.1 Anemiją atspindinčių kraujo rodiklių palyginimas GSA ir LLA tiriamųjų grupėse.....	27

4.2 Anemiją atspindinčių kraujo rodiklių tarpusavio ryšys GSA ir LLA tiriamųjų grupėse.....	31
4.3 Geležies metabolizmą atspindintys rodikliai ir jų palyginimas GSA ir LLA tiriamųjų grupėse.....	36
4.4 Geležies metabolizmą atspindinčių rodiklių tarpusavio ryšys GSA ir LLA tiriamųjų grupėse.....	37
4.5 Uždegiminio proceso žymenų palyginimas GSA ir LLA tiriamųjų grupėse.....	38
4.6 Uždegiminio proceso žymenų tarpusavio ryšys GSA ir LLA grupėse.....	41
5. REZULTATŲ APTARIMAS.....	43
6. IŠVADOS.....	46
7. LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	47

## PAAIŠKINIMAI IR SANTRUMPOS

- Bcrp** – krūties vėžiui atsparus baltymas (angl. *Breast cancer resistance protein*)
- CBC** – automatizuotas kraujo tyrimas (angl. *Complete Blood Count*)
- CFU-E** – kolonijas formuojantys eritroidiniai vienetai (angl. *Colony-forming units-erythroid*)
- CHr** – hemoglobino kiekis retikuliocyte
- CRB** – C reaktyvus baltymas (angl. CRP – *C- reactive protein*)
- Dcytb** – feroreduktazė (angl. *Duodenal cytochrome b*)
- DMN** – divalenčio metalo nešėjas (angl. DMT – *Divalent metal transporter*)
- ENG** – eritrocitų nusėdimo greitis
- Er** – eritrocitai (ang. RBC - *Red Blood Cell Count*)
- ETV** – eritrocitų tūrio variacija (ang. RDW - *Red cell Distribution width* )
- FPN** – feroportinas
- GSA** - geležies stokos anemija (angl. IDA - *iron deficiency anemia*)
- Hb** – hemoglobinas
- HJV** – hemojuvelinas
- HPB** – hemą pernešantis baltymas (angl. HCP - *Heme Carrier Protein*)
- Ht** – hematokritas
- IFN** – interferonas
- IG** – nesubrendę granulocitai (ang. IG – *immature granulocytes* )
- IL**- interliukinas (citokinai –IL,TNF, IFN)
- Le** – leukocitų skaičius (ang. WBC - *white blood cells*)
- LLA** – lėtinių ligų anemija (angl. ACD - *anemia of chronic disease*)
- LRLV** - ląstelės receptoriai leukemijos virusui (angl. FLVCR – *Feline leukemia virus cell receptor*)
- MAO** – monoaminoksidazė
- SG** – serumo geležis
- sTfR** – serumo transferino receptoriai
- TNF** – tumoro nekrozės faktorius
- Tr** - trombocitai
- VEHK** – vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose (ang. MCHC - *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*)
- VET** – vidutinis eritrocitų tūris (ang. MCV - *Mean Cell Volume*)
- VHE** - vidutinis hemoglobino kiekis eritrocite (ang. MCH - *Mean Corpuscular Hemoglobin*)

## 1. ĮVADAS

Geležis yra svarbi baltymų hemoglobino, mioglobino, citochromų sudedamoji dalis ir daugelio fermentų (NADH dehidrogenazės, lipooksigenazės, superoksiddismutazės, ribonukleotidreduktazės) kofaktorius [2, 5]. Ji dalyvauja deguonies pernašoje, energijos apykaitoje, įtakoja laisvųjų radikalų susidarymą [4].

Normaliai besimaitinantis žmogus su maistu turi gauti apie 15 – 20 mg geležies per dieną, nes tik 5 – 10 % geležies rezorbuojama. Žmogaus organizme yra 3 -5 g geležies. Apie 70% visos geležies yra funkcionuojanti hemoglobine (62%), mioglobine, citochromuose bei fermentuose, o apie 30% kaupiama atsargose daugiausiai kepenyse, blužnyje bei kaulų čiulpuose [35].

Trūkstant organizme geležies, pakinta geležies apykaita, dėl to sutrinka audinių kvėpavimas, hemoglobino sintezė, sutrumpėja eritrocitų amžius. Pradžioje sumažėja geležies atsargos kepenyse, blužnyje, kaulų čiulpuose. Vėliau sumažėja hemo, o kartu ir hemoglobino sintezė – susergama geležies stokos anemija. Sumažėja aktyvumas fermentų, tarp jų ir audinių kvėpavimo grandinės, kurių kofaktorius yra geležis. Dėl to sutrinka ATP sintezė ir organizmo energijos apykaita.

Geležies stoka yra plačiai paplitusi visame pasaulyje ir yra pagrindinė priežastis mažakraujystės, ypač tarp vaikų ir suaugusių moterų. Labai svarbu sugebėti: 1) diagnozuoti geležies stokos anemiją (GSA), atsiradusią dėl geležies trūkumo maiste, blogos geležies rezorbcijos ar padidinto kraujavimo; 2) užkirsti kelią ligos komplikacijoms; 3) atskirti geležies stoką nuo lėtinių ligų anemijos (LLA) ar nuo kitų anemijų [53].

### **Darbo tikslas :**

Tirti geležies stokos ir lėtinių ligų anemiją atspindinčius klinikinius ir biocheminius laboratorinius rodiklius pacientų kraujyje, palyginti jų pokyčius bei įvertinti tiriamų rodiklių reikšmę anemijų diagnostikai.

### **Uždaviniai :**

- Įvertinti anemiją atspindinčius kraujo rodiklius asmenims, sergantiems geležies stokos ir lėtinių ligų anemija.
- Analizuoti geležies metabolizmo rodiklių pokyčius geležies stokos ir lėtinių ligų anemijų grupėse.
- Įvertinti uždegiminį procesą atspindinčių žymenų pokyčius geležies stokos ir lėtinių ligų anemijų grupėse.
- Įvertinti tirtų žymenų reikšmę geležies stokos ir lėtinių ligų anemijų diagnostikai.

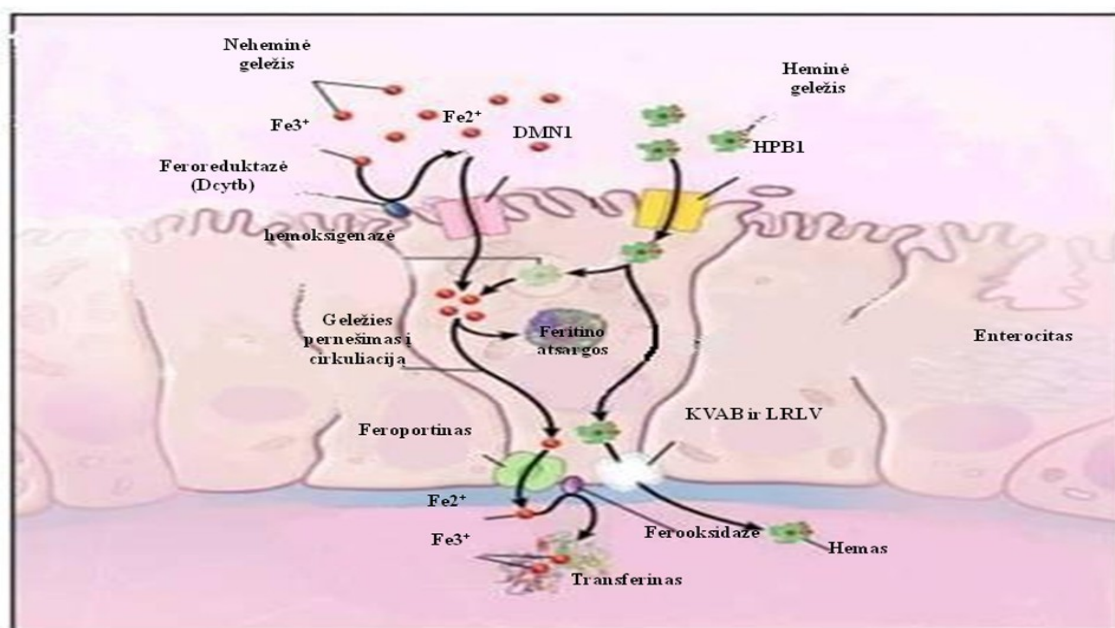
## 2. LITERATŪROS APŽVALGA

### 2.1. Geležies apykaita organizme

#### 2.1.1. Geležies rezorbcija proksimalinėje dvylikapirštės žarnos dalyje

Maistas yra vienintelis žmogaus organizmo geležies šaltinis. Maiste geležis būna dviejų formų: neheminė (apie 90 % gaunama su augaliniu maistu ir pieno produktais) ir heminė (apie 10 % gaunama su mėsa ir žuvimi) [7, 47, 62].

Heminė geležis rezorbuojama hemo pavidalu proksimalinėje plonojo žarnyno dalyje, daugiausia dvylikapirštėje žarnoje. Jos rezorbcija nėra pilnai išaiškinta. 2005 metais Shayeghi su bendraautoriais aprašė pirmą žinduolių hemą pernešantį baltymą HPB1 (HCP1 angl. *Heme Carrier Protein 1*) [47]. HPB1 yra membraninis baltymas, sintetinas proksimalinėje dvylikapirštės žarnos dalyje apikaliniame enterocitų paviršiuje, t.y., ten, kur hemo rezorbcija yra didžiausia (1 pav.).



1 pav. Heminės ir neheminės geležies rezorbcija dvylikapirštės žarnos enterocituose [4].

Atlikti heminės geležies rezorbcijos moksliniai tyrimai parodė, kad nepakitusią heminę geležį per apikalinį enterocitų paviršių į ląstelę perneša HPB1. Manoma, kad dalis heminės geležies enterocite atsilaisvinama iš protoporfirino žiedo veikiant fermentui hemoxygenazei ir patenka į enterocituose esančias geležies atsargas feritino pavidalu, iš kur patenka į kraują kaip neheminė geležis (1 pav.). Likusi heminė geležis dėka hemą pernešančių baltymų KVAB (krūties vėžiui atsparus baltymas, angl. Bcrp – *Breast cancer resistance protein*) ir LRLV (ląstelės receptoriaus leukemijos virusui angl. FLVCR – *Feline*

*leukemia virus cell receptor*) nepakitusi patenka į kraują [4]. Neišaiškinta, kuri dalis geležies atlaisvinama iš hemo kaip  $Fe^{2+}$  veikiant hemoksigenazei, o kuri dalis hemo sudėtyje patenka į kraują, nežinoma ir tolesnė heminės geležies pernaša krauju [43]. Nenustatyta, ar HPB1 veikia kituose organuose, nors išaiškinta šio baltymo ekspresija inkstuose ir kepenyse [4]. Pasirodė, jog heminės geležies rezorbcija nepriklauso nuo skrandžio sekrecinės funkcijos (druskos rūgštis, pepsino), jos nepadidina askorbo rūgštis, bet skatina amino rūgštys bei polipeptidiniai kompleksai [7]. Žarnyne rezorbuojama 20% - 25% heminės geležies.

Neheminė geležis maiste būna  $Fe^{3+}$  druskų pavidale. Šios geležies rezorbcija labai priklauso nuo jos tirpumo viršutinėje plonojo žarnyno dalyje, o tam turi įtakos ir kitos medžiagos, esančios maiste bei maisto paruošimo būdas. Maisto virimas ar kepimas padeda nuo geležies atskirti kitoms medžiagoms, maiste esantis vitaminas C redukuoja  $Fe^{3+}$  į  $Fe^{2+}$  ir taip pat palengvina jos disociaciją. Kai kurios geležį turinčios medžiagos su ja taip tvirtai susijungia, kad darosi neįmanoma geležies rezorbcija, pvz., špinatuose dalis geležies yra netirpių fitatų (inozitolio heksafosfatų) sudėtyje, o jie virškinimo trakte neskaidomi.

Skiriami tokie maistinės neheminės geležies rezorbcijos proksimalinėje dvylikapirštės žarnos dalyje etapai: a)  $Fe^{3+}$  redukcija į  $Fe^{2+}$ ;

b) geležies pernaša per apikalinį enterocitų paviršių;

c) bazolateralinė pernaša, veikiant geležies jonų nešikliui feroportinui [5].

Kad neheminė geležis būtų rezorbuota, ji turi būti redukuota iš  $Fe^{3+}$  į  $Fe^{2+}$ . Žemas skrandžio pH padeda ištirpinti geležį ir dalinai ją redukuoti. Askorbo rūgštis skrandžio sultyse ir enterocitų gaurelių feroreduktazė redukuoja  $Fe^{3+}$  į  $Fe^{2+}$  [7, 40]. Feroreduktazė Dcytb (dvylikapirštės citochromas b, angl. Dcytb – *duodenal cytochrome b*) yra nuo askorbo rūgštis priklausantis dvylikapirštės žarnos citochromas [31] (1 pav.). Rezorbciją skatina ir polipeptidiniai kompleksai bei amino rūgštys [7].

Po to dvylikapirštėje ir proksimalinėje tuščiosios žarnos dalyje divalentė geležis apikaliniame enterocito paviršiuje divalenčio metalo nešiklio DMN1 (ang. DMT1 – *divalent metal transporter*) pernešama per enterocitų membraną [5, 11, 14]. Dcytb ir DMN1 aktyvumas priklauso nuo geležies koncentracijos enterocite [10]. Įvykus geno, koduojančio DMN1 mutacijai, sutrinka geležies rezorbcija žarnyne, dėl to susergama mikrocitine mažakraujyste [9]. Rezorbuojama nuo 0,8 % (iš ryžių) iki 10% (iš sojos pupelių) neheminės geležies.

Dalis rezorbuotos geležies gali būti deponuojama enterocite feritino pavidalu, iš kur ji arba patenka į kraują ir sujungiama transferino, arba prarandama enterocitui nusilupus



(enterocitų gyvavimo trukmė 2 – 3 dienos) [11]. Enterocituose sintetinamas apoferritas prijungia tik  $\text{Fe}^{3+}$ , todėl dideli bikarbonato kiekiai, sekretuoti iš kasos, neutralizuoja skrandžio sulčių veikimą ir vėl oksiduoja geležį į  $\text{Fe}^{3+}$ . Kita dalis redukuotos geležies iš enterocitų į kraują patenka geležies nešiklio feroportino pagalba (1 pav.). Feroportinas – tai membraninis baltymas, turintis dvylika transmembraninių domenų. Jis ekspresuojamas hepatocitų, žarnų enterocitų, makrofagų (įskaitant ir Kupferio ląsteles), placentos ląstelių paviršiuje, blužnyje, kaulų čiulpuose [11, 12]. Feroportinas yra enterocito bazolateralinėje membranoje ir iki šiol yra vienintelis žinomas žinduolių organizmuose geležies nešiklis iš ląstelės [32], įtakojamas hepcidino.

Išėjusi iš enterocito divalentė geležis ( $\text{Fe}^{2+}$ ) oksiduojama į trivalentę ( $\text{Fe}^{3+}$ ), katalizuojant ferooksidazei hefaestinui, esančiai bazolateraliniame enterocitų membranos paviršiuje [5]. Hefaestinas ne tik oksiduoja geležį, bet ir lengvina jos atsiskyrimą nuo enterocito [11] (1 pav.).

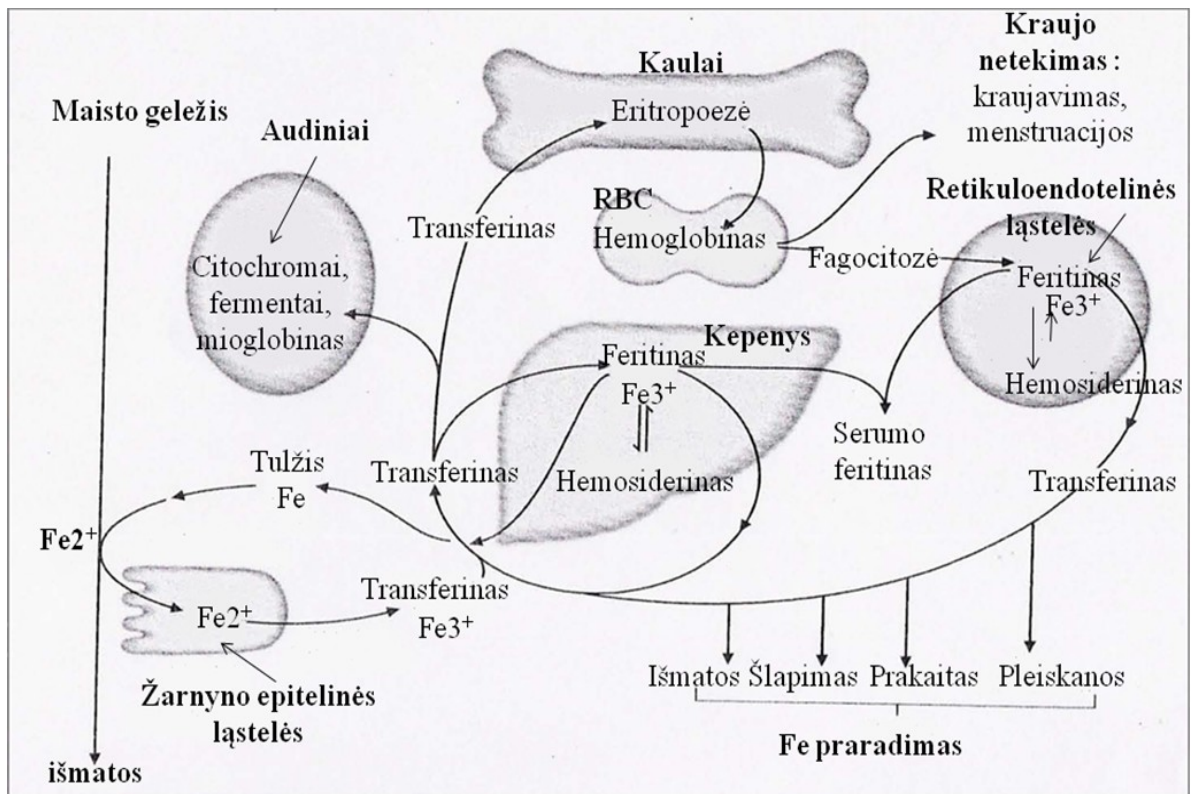
### 2.1.2. Geležies homeostazės reguliavimo mechanizmas

Kraujyje  $\text{Fe}^{3+}$  įjungiami į transferino sudėtį ir yra pernešama į naudojimo ir kaupimo vietas (2 pav.). Transferinas yra kraujo plazmos glikoproteinas, sintetinamas kepenyse, turintis dvi geležies sujungimo vietas. Žmogaus kraujo serume būna apotransferino (be geležies), monoferinio transferino (su 1  $\text{Fe}^{3+}$ ) ir diferinio transferino (su 2  $\text{Fe}^{3+}$ ) [7, 11, 62] santykiu atitinkamai 4/9 : 4/9 : 1/9. Kaip geležis pasiekia transferiną nėra visiškai aišku, manoma, kad ši ferooksidazės oksiduota geležis būna greta kurios nors transferino formos, kuri ir prisijungia geležį [48].

Transferinas jungiasi su audinių plazminių membranų paviršiuje esančiais transferino receptoriais ir receptorinės endocitozės būdu patenka į ląsteles [3]. Ląstelėse vezikulės pavirsta rūgštinėmis endosomomis, kuriose  $\text{Fe}^{3+}$  redukuojama į  $\text{Fe}^{2+}$  ir atsiskiria nuo transferino [6, 62]. Transferino receptorių yra audiniuose, kurie naudoja daug geležies – placentoje, kepenyse, kaulų čiulpuose, blužnyje. Transferiną bei transferino receptorių raišką koduojantys genai yra trečioje chromosomoje. Kai ląstelėms geležies pakanka, transferino receptorių skaičius ląstelės membranoje sumažėja, kai trūksta geležies – transferino receptorių skaičius padidėja [62]. Daug geležies sunaudojama hemoglobino gamybai, todėl aktyvi transferino receptoriaus 1 ekspresija eritroidiniuose pirmtakuose užtikrina geležies pernašą į juos [14].

Geležies atsargos kaupiamos feritino ir hemosiderino pavidalu kepenyse, blužnyje ir kaulų čiulpuose [62]. Kaulų čiulpuose ir blužnyje geležis kaupiama mononuklearinės

fagocitinės sistemos ląstelėse, kepenyse - daugiau hepatocituose (parenchiminėse ląstelėse), o mažiau Kupferio ląstelėse.



2 pav. Geležies apykaita organizme [28]

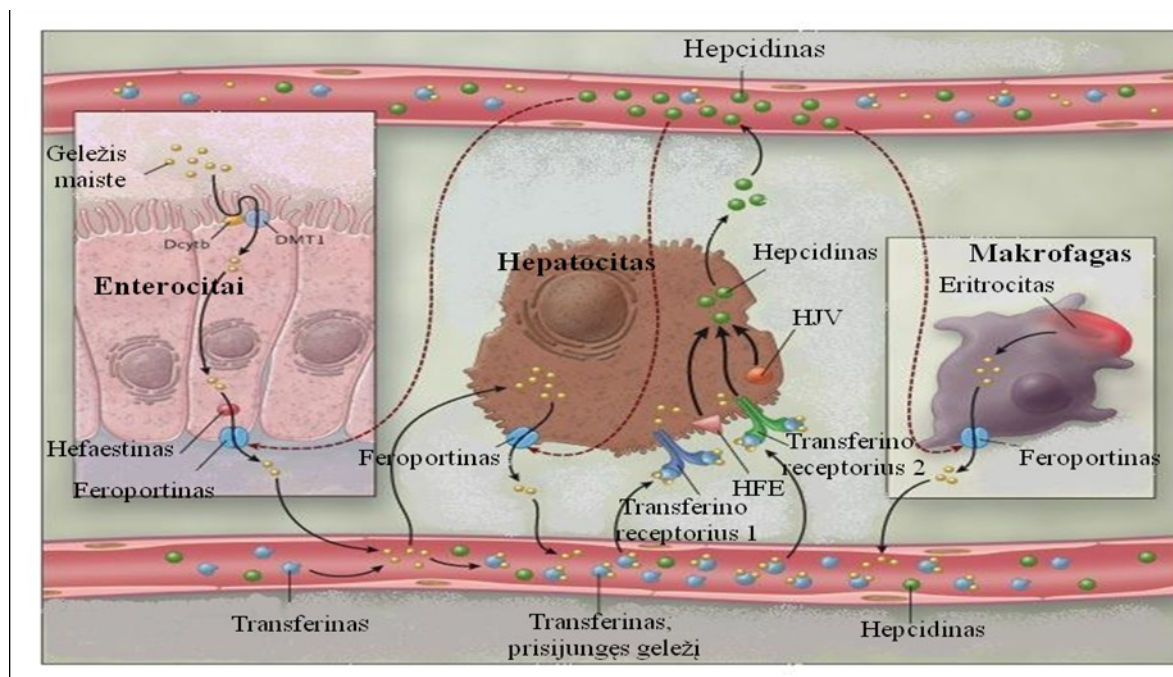
Iš deponuotų geležies atsargų, esant poreikiui, geležis grįžta į kraujotaką (2 pav.) dalyvaujant feroportinui. Feroportinas yra geležies nešiklis ne tik enterocituose, bet ir hepatocituose bei makrofaguose, kurie pakartotinai panaudoja senstančių eritrocitų geležį [24]. Tokiu būdu feroportinas palaiko geležies homeostazę enterocituose ir fagocitinėse ląstelėse ir yra svarbus geležies homeostazę lemiantis veiksnys [14].

Kepenys vaidina svarbų vaidmenį geležies apykaitoje – įtakoja jos rezorbciją dvylikapirštėje žarnoje bei geležies atsilaisvinimą iš atsargų (3 pav.) Kepenyse yra sintetinas geležies apykaitą reguliuojantis hormonas hepcidinas, kuris palaiko geležies homeostazę [11, 16]. Hecpidinas yra polipeptidas, kurį sudaro 25 aminorūgštys. Jis veikia enterocitus, retikuloendotelinius makrofagus bei hepatocitus [14].

Hecpidino sintezė kepenyse sumažėja esant geležies stokai ar aktyviai eritropoezei. Tais atvejais suaktyvėja geležies rezorbcija žarnyne ir geležis išlaisvinama iš makrofagų. Priešingai, hepcidino sintezę suaktyvina geležies perteklius [11] ar uždegimas [39]. Tada hepcidinas mažina geležies rezorbciją žarnyne ir geležies išlaisvinimą iš makrofagų [15, 45]. Visi išvardinti veiksniai (ir dar hipoksija) reguliuoja ekspresiją tam tikrų genų (HFE, TfR2, TfR1 ir HJV) raišką [23], kurie atsakingi už hepcidino sintezę (3 pav.). Hecpidinas gali vaidinti svarbų vaidmenį kovoje prieš infekciją, atimdamas iš mikroorganizmų geležį

[11]. Hecpidino padaugėjimas yra susijęs su hypoferemija [39] – sumažėja plazminės geležies koncentracija.

Daugiau negu 60 % visos organizmo geležies yra eritrocituose [11]. Makrofagams fagocituojant senstančius eritrocitus, veikiant hemoksigenazei didžioji dalis geležies gražinama į kaulų čiulpus eritroidinių pirmtakų gamybai [11, 14, 23]. Geležies pernašoje iš makrofagų, kaip ir iš enterocitų, dalyvauja feroportinas [14] (1 ir 3 pav.).



3 pav. Geležies apykaita hepatocituose ir makrofaguose [14]

Kepenys ir mononuklearinės fagocitinės sistemos makrofagai yra pagrindinės geležies saugyklos. 1-2 mg geležies yra rezorbuojama ir prarandama kiekvieną dieną. Rezorbcija dvylikapirštėje žarnoje reguliuojama (DMN1, HPB1, hepcidino), o geležies praradimas yra pasyvus procesas [23].

Geležies homeostazė priklauso nuo organizmo poreikių ir rezorbcijos žarnyne. Geležies rezorbcija žarnyne padidėja sumažėjus geležies atsargoms, suaktyvėjus eritropoezei, esant anemijai ar hipoksijai [34]. Priešingai, rezorbcija žarnyne sumažėja esant uždegimui, kuris įtakoja anemijos išsivystymą [42].

## 2.2 Geležies stokos etiologija ir patogenezė.

Geležies stokos išsivystymo priežastys pagal Begemann [17, 52]:

1) nepakankama geležies rezorbcija – mažas rūgštingumas, dalies skrandžio rezekcija, pagreintas maisto perėjimas iš skrandžio į žarnyną, vitamino C stoka;

2) nepakankamas geležies gavimas su maistu – geležies stokojanti dieta, naujagimiams - motinai nėštumo metu diagnozuota GSA. GSA atsiranda dėl sumažėjusios funkciškai aktyvių eritrocitų gamybos. Pažeidžiami jautriausi deguonies trūkumui audiniai ir organai bei fermentinės sistemos, į kurių sudėtį įeina geležis. Smegenyse sutrinka mielino susidarymas, sumažėja monoaminoksidazės (MAO) aktyvumas, padaugėja serotonino. Todėl gali sutrikti motorinis vaikų vystymasis, judesių koordinacija.

3) endogeninis perskirstymas – tumorai, infekcijos;

4) fiziologinė geležies netektis moterims – menstruacijos, nėštumai, laktacija;

5) padidintas geležies poreikis – augimo, brendimo laikotarpis, esant padidėjusiai kraujo ląstelių gamybai;

6) lėtinis kraujavimas ir patologinis geležies praradimas kitų ligų atvejais – skrandžio, žarnyno sutrikimai [52].

Geležies stoka mažina kai kurių organizmo imuninės sistemos grandžių funkcinių pajėgumą – sutrinka limfocitų (humoralinių imuniteto mediatorių), imunoglobulinų gamyba, sumažėja funkcinis fagocituojančių ląstelių (neutrofilų ir monocitų) aktyvumas ir jų kiekis organizme.

### **2.3. Lėtinių ligų anemijos etiologija ir patogenezė**

Anemija, priklausoma nuo uždegimo, infekcijos, piktybiškumo ar įvairių sisteminių ligų, vadinama uždegimo arba lėtinių ligų anemija (LLA). Maždaug pusė LLA yra susijusios su poūmėmis ar lėtinėmis infekcijomis (tuberkulioze, plaučių abscesu, bakteriniu endokarditu), likusiais atvejais LLA sukelia neoplazmos, reumatoidinis artritas, sisteminė vilkligė, lėtinės kepenų ligos [57].

LLA vystymąsi sąlygoja daugelis mechanizmų, kuriuos suaktyvina uždegimas, dėl jų veikimo:

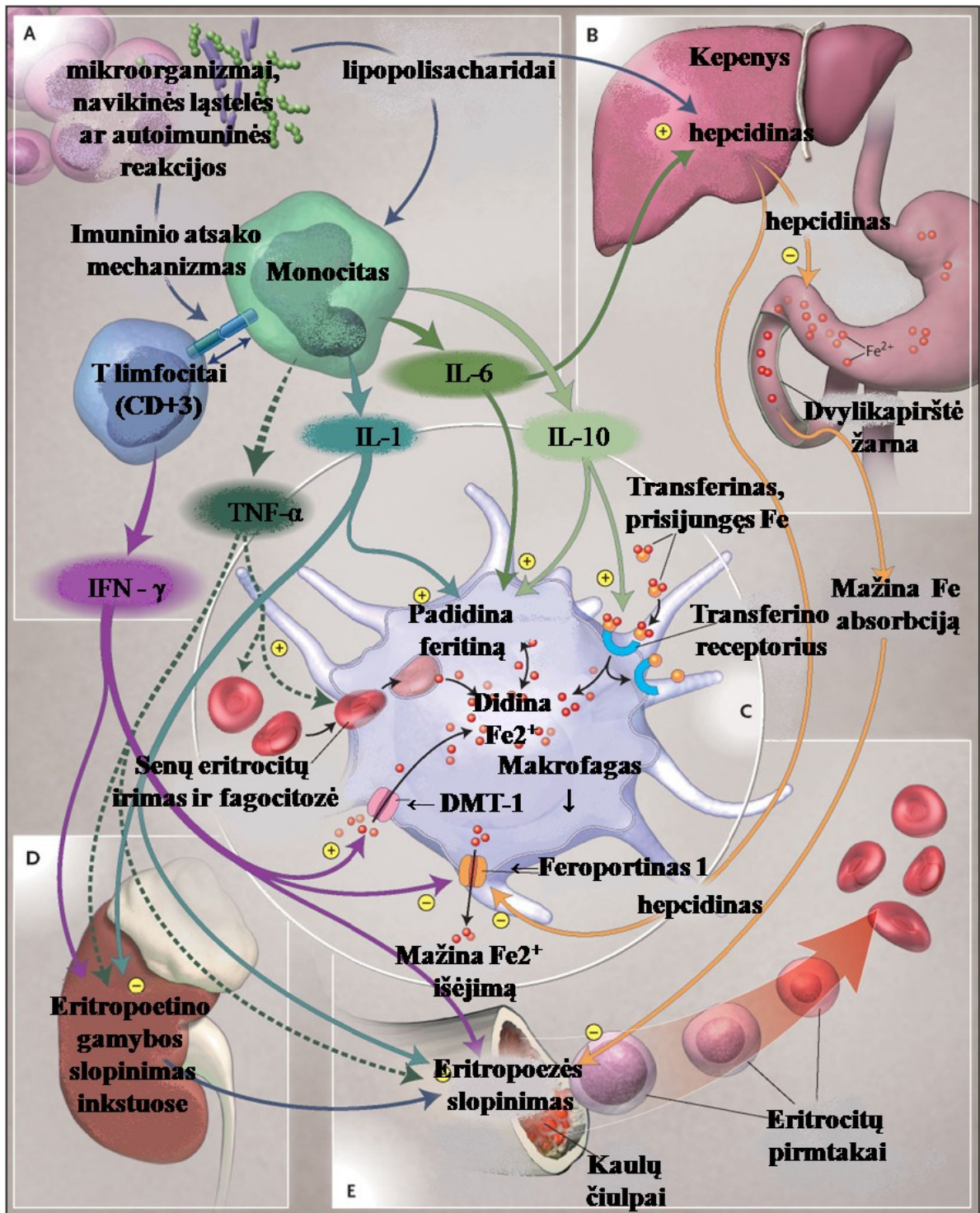
1) sumažėja geležies išėjimas iš atsargų kepenų ir blužnies mononuklearinės fagocitinės sistemos ir patekimas į kaulų čiulpus, kur ji naudojama eritropoezei [52];

2) sumažėja geležies patekimas iš virškinamojo trakto į kraują, ji sulaikoma dvylikapirštės žarnos enterocituose ir mononuklearinės fagocitinės sistemos ląstelėse, todėl transferinas mažai sujungia geležies, dėl ko nukenčia eritropoezė [14];

3) slopinama eritropoetino sintezė inkstuose. Ją slopina citokinai (TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$  ir IFN- $\gamma$ , IL-1), išskirti iš suaktyvintų monocitų. Sumažėjusi eritropoetino gamyba yra viena svarbiausių LLA išsivystymo priežasčių. IL-1 išskiriamas iš suaktyvintų monocitų bei

limfocitų ir yra specifinis atsakas karščiavimo, neutrofilijos, leukocitozės atvejais, sukeliantis ūmios fazės baltymų (CRP, haptoglobino, fibrinogeno) sintezę [56];

4) sutrumpėja eritrocitų gyvavimo trukmė, pagreitėja jų irimas.



4 pav. LLA patofiziologinis mechanizmas: A – citokinų aktyvinimas; B – hepcidino sintezės sužadinimas kepenyse; C –  $\text{Fe}^{2+}$  kaupimas makrofaguose; D – eritropoetino sintezės slopinimas inkstuose; E – eritropoezės slopinimas [57]

LLA mažina fizinę gebėjimą, gerą savijautą, neurokognityvinę (pažinimo) funkciją, blogina gyvenimo kokybę, nes skatina adaptacinius širdies ir kraujagyslių mechanizmus

palaikyti deguonies aprūpinimą audiniuose. Tai lemia kairiojo širdies skilvelio išsiplėtimą, ir miokardo išemiją [50]. Lėtinių ligų anemijos, kaip ir geležies stokos anemijos atvejais, sumažėja hemoglobino kiekis eritrocituose [53].

Išskiriami šie lėtinių ligų anemijos patofiziologinio mechanizmo etapai (4 pav.):

1) mikroorganizmai, navikinės ląstelės ar autoimuninės ligos aktyvina T limfocitus (CD3+) ir monocitus. Suaktyvinti monocitai išskiria citokinus TNF- $\alpha$ , IL-1, interleukiną-6 (IL-6), interleukiną-10 (IL-10), o T limfocitai – IFN- $\gamma$  [57] (4 pav. A).

2) IL-6 ir lipopolisacharidai skatina polipeptido hepcidino sintezę kepenyse. Hecpidinas stabdo geležies išnešimą iš makrofagų [35] bei slopina geležies rezorbciją dvylikapirštėje žarnoje [57], taip slopindamas eritropoezę (4 pav. B).

3) Makrofaguose IFN- $\gamma$  ir lipopolisacharidai didina divalenčio metalo pernešėjo (DMN-1) ekspresiją ir taip skatinamas divalentės geležies ( $Fe^{2+}$ ) kaupimasis makrofaguose. Be to, IFN- $\gamma$  kartu su hepcidinu mažina geležies išnešėjo iš ląstelės feroportino 1 sintezę ir slopina geležies išnešimą iš makrofagų. Priešuždegiminis citokinas IL-10 didina transferino receptorių skaičių, todėl padidėja geležies pernaša į makrofagus. Tuo pat metu TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 [46] ir IL-10 skatina feritino sintezę bei geležies kaupimąsi makrofaguose [54, 57]. TNF- $\alpha$  pažeidžia eritrocitų membranas ir skatina jų fagocitozę. Makrofagai intensyviai fagocituoja senstančius eritrocitus (4 pav. C).

4) Inkstuose TNF- $\alpha$  bei IFN- $\gamma$  slopina eritropoetino gamybą ir kartu su IL-1 tiesiogiai mažina eritroidinių pirmtako ląstelių diferenciaciją ir proliferaciją [57] (4 pav. D).

5) Šie veiksniai įtakoja geležies koncentracijos sumažėjimą kraujyje ir tokiu būdu sumažėja geležies tiekimas eritroidinėms ląstelėms. Sumažėjęs geležies kiekis kraujyje ir sumažėjusi eritropoetino sintezė apsprendžia eritropoezės susilpnėjimą ir LLA išsivystymą [57] (4 pav. E).

Atlikti moksliniai tyrimai parodė, kad esant hepcidino trūkumui uždegimas nepaskatino hipoferemijos. Tačiau hepcidinas svarbus geležies pernašai LLA atveju [38], nes geležis nukreipiama iš kraujotakos į kepenų ir blužnies mononuklearinę fagocitinę sistemą ir eritroidinėms pirmtako ląstelėms ima trūkti geležies bei sutrikdoma eritropoezė [57].

#### **2.4. Klinikiniai anemijų tyrimo rodikliai**

Vienas informatyviausių tyrimų diagnozuojant anemiją yra automatizuotas kraujo tyrimas hematologiniu analizatoriumi (ang. CBC – *Complete Blood Count*), pateikiantis daugybę duomenų apie visas tris hemopoezinės sistemos rūšis: eritropoezę, leukopoezę ir trombocitopoezę [30].

### 2.4.1. Hemoglobino reikšmė anemijų diagnostikoje

Hemoglobinas (Hb) – pagrindinis eritrocitų baltymas, kurį sudaro baltymas globinas ir prostetinė grupė hemas [1, 30]. Hemoglobino sintezė vyksta kaulų čiulpų eritroidinėse ląstelėse (normoblastuose). Transferinui per transferino receptorius patekus į normoblastų viduje esančias endosomas, jose esanti rūgšti terpė (pH <5,5) redukuoja  $Fe^{3+}$  į  $Fe^{2+}$  ir atlaisvina ją nuo apotransferino [44]. Fermentas hemsintazė prijungia  $Fe^{2+}$  prie protoporfirino IX, sudarydamas hemą. Baltymą globiną sudaro 4 polipeptidinės grandinės. Hemoglobino molekulė susidaro kiekvienai globino polipeptidinei grandinei prisijungus po hemą [20, 21, 35]. Suaugusio žmogaus eritrocituose yra trijų tipų hemoglobino: 96 % HbA ( $2\alpha, 2\beta$ ), 1,5 – 3 % HbA<sub>2</sub> ( $2\alpha, 2\delta$ ) ir 0,5 – 0,8 % HbF ( $2\alpha, 2\gamma$ ) [35].

Hemoglobino koncentracija yra vienas iš patikimiausių kraujo tyrimo rodiklių, išskyrus tuos atvejus, kai bandinyje yra kitų medžiagų, taip pat sugeriančių šviesą (triacilglicerolių, bilirubino) [29].

Pasaulio sveikatos organizacija (PSO) siūlo anemiją diagnozuoti pagal Hb koncentraciją. Anemija kaip patologija apibrėžiama, kai hemoglobino koncentracija vaikams ir moterims iki menopauzės yra < 120 g/l, o vyrams ir moterims po menopauzės – < 130 g/l [30].

### 2.4.2. Hematokrito vertė

Tradiciniai hematologiniai analizatoriai hematokritą matuoja netiesiogiai. Dažniausiai jį apskaičiuoja daugindami eritrocitų skaičių iš vidutinio eritrocitų tūrio (VET arba ang. MCV). Tokiu būdu tyrimo rezultatai įtakoja veiksniai, veikiantys eritrocitų skaičiaus ar jų vidutinio tūrio apskaičiavimą [29].

### 2.4.3. Eritrocitų skaičiaus tyrimas

Suaugusio žmogaus eritrocitai gaminami kaulų čiulpuose iš branduolius turinčių kamieninių ląstelių, kurios sugeba sudaryti kolonijas (CFU-E angl. *colony forming unit*), veikiant kolonijas skatinantiems veiksniams (CSF angl. *colony stimulating factors*), eritropoetinui ir interleukinui-3 (IL-3). Subrendę eritrocitai neturi branduolio, jų forma primena iš abiejų pusių įgaubtą diską. Apie 1/3 eritrocito masės sudaro hemoglobinas, kuris nudažo kraują raudonai. Eritrocitų skaičius kraujo tūrio vienetu žymimas RBC (angl. *Red Blood Cell Count*). SI sistemoje rezultatai pateikiami milijardais litre ( $10^{12}/l$ ) [29].

Periferiniame kraujyje eritrocitų skaičius vyrams vidutiniškai yra  $5,21 \times 10^{12}/l$ , moterims –  $4,6 \times 10^{12}/l$  [33]. Vidutinė eritrocitų gyvenimo trukmė – 120 parų. Pasenusius eritrocitus suardo makrofagai, dažniausiai blužnyje, taip pat kepenyse ir kaulų čiulpuose.

Šiuolaikiniai kraujo analizatoriai ne tik suskaičiuoja eritrocitą atitinkančias ląsteles, bet ir brėžia histogramas, apibūdinančias ląstelių dydį, išveda indeksus, kurie suteikia išsamią informaciją apie kraujo būklę. RBC rodiklis turi būti interpretuojamas atsižvelgiant į kitų rodiklių (hematokrito, hemoglobino, histogramų ir kt.) duomenis [29].

#### 2.4.4. Eritrocitų indeksai, jų interpretavimas

Citomorfologinis kraujo tepinėlio tyrimas ir eritrocitų indeksų įvertinimas yra svarbus bet kokios neišaiškintos anemijos tyrime. Šiuolaikiniai automatizuoti aparatai skaičiuoja eritrocitus, jų apimtį, vidutinį hemoglobino kiekį atskirame eritrocite, hemoglobino koncentraciją eritrocituose ir kitus kintamuosius (ETV – eritrocitų tūrio variaciją), taip gaunama informacija, kuri anksčiau galėjo būti gauta tikrai iš kraujo tepinėlio [6].

Kai geležies stoka organizme sutrikdo hemoglobino sintezę, kinta įprastiniai kraujo parametrai, nustatomi hematologiniais analizatoriais: vidutinis eritrocito tūris (VET), vidutinis hemoglobino kiekis eritrocite (VHE) [22].

**Vidutinis eritrocitų tūris** (VET, angl. MCV - *Mean Cell Volume*) – tai rodiklis leidžiantis įvertinti eritrocitų patologijos mechanizmus. Jis apskaičiuojamas dalijant hematokrito vertę iš eritrocitų skaičiaus. Šiuolaikiniai hematologiniai analizatoriai VET įvertina tiesiogiai, matuodami eritrocitų tūrį ir apskaičiuodami jo vidurkį [30].

Pagal šį rodiklį eritrocitai skirstomi į mikrocitus, normocitus ir makrocitus. Mikrocitozės priežastis beveik visada yra sutrikusi hemoglobino sintezė. Šį indeksą gali iškreipti dideli trombocitai ir eritrocitų agregatai (pvz., šalčio agliutininiai). VET gali padidinti ryški retikuliocitozė, nes retikuliocitai yra didesni nei subrendę eritrocitai. Bandinio laikymas daugiau kaip 24 val. VET padidina 7 % [29].

VET indeksas laikomas normaliu, kai reikšmės yra nuo 80 fl iki 100 fl (vyrauja normocitai), VET < 80 fl rodo, kad populiaciją sudaro maži eritrocitai (mikrocitai), VET > 100 fl – dideli eritrocitai (makrocitai). Pagal šį rodiklį anemijos skirstomos į normocitines (be eritrocitų brendimo sutrikimų) ir su eritrocitų brendimo sutrikimais, kurios būna mikrocitinės (citoplazmos brendimo sutrikimai) bei makrocitinės (branduolio brendimo sutrikimai) [30, 33, 58]. Kai kraujyje yra dimorfinė eritrocitų populiacija – mikrocitai ir makrocitai, VET reikšmė gali būti normali [29].



Norint identifikuoti mažas patologinių eritrocitų populiacijas, reikia nustatyti anizocitozės rodiklį – eritrocitų tūrio variaciją [20] (ETV, angl. RDW - *Red Cell Distribution Width*), įvertinti eritrocitų dydžio pasiskirstymo kreivę ar ištirti kraujo tepinėlio morfologiją [30].

**Vidutinis hemoglobino kiekis eritrocite.** Vidutinio hemoglobino kiekio eritrocite (VHE, angl. MCH – *Mean Corpuscular Hemoglobin*) indekso vertė gana ribota, jis dažniausiai koreliuoja su VET (MCV) rodiklio kitimu: padidėja esant makrocitozei ir sumažėja sergant hipochrominėmis mikrocitinėmis anemijomis. Hiperlipidemija, didelis leukocitų skaičius ( $> 50,0 \times 10^9/l$ ) gali įtakoti Hb rodiklį bei klaidingai padidinti VHE vertę. VHE norma – 26 – 34 pg/ląstelėje [29].

**Vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose** – VEHK (angl. MCHC - *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*) svarbus indeksas anemijų diagnostikai. Pagal šį indeksą nustatomas bendras hemoglobinas visuose eritrocituose [29]. Juo remiantis eritrocitai skirstomi į hipochrominius, normochrominius ir hiperchrominius [33]. VEHK (MCHC) norma 310 – 370 g/l. Hipochrominiai eritrocitai (VEHK < 310 g/l) būdingi esant geležies stokai, sutrikusiam geležies panaudojimui [29].

**Eritrocitų tūrio variacija** (ETV, angl. RDW - *Red cell Distribution width*) arba eritrocitų pasiskirstymo plotis yra nuo VET statistiškai apskaičiuotas standartinis eritrocitų tūrio nuokrypis (RDW-SV) bandinyje [46]. ETV – pagrindinis eritrocitų anizocitozės, heterogeniškumo rodiklis. Pagal šį rodiklį eritrocitų populiacija klasifikuojama į homogeninę (ETV normos ribose - 11,6 - 14,6% [33]) bei heterogeninę (ETV↑). Didelis ETV yra jautrus geležies stokos rodiklis, tačiau kitų anemijų diagnostikai ETV didesnės reikšmės neturi [29].

#### 2.4.5. Morfolginiai eritrocitų pokyčiai

Anemijų diagnostikai gali būti svarbūs ne tik eritropoezės, bet ir leukopoezės rodikliai. Hematologiniu analizatoriumi aptikus nuokrypių nuo normos, būtina atlikti morfologinę kraujo tepinėlio analizę [30]. Kai kurie morfolginiai pokyčiai gali būti nustatomi tik iš kraujo tepinėlio – tai ląstelės formos pokyčiai, eritrocitų bazofilinis grūdėtumas [6].

Esant geležies stokos anemijai tepinėlyje paprastai stebima anizocitozė (eritrocitų dydžio variacija) ir poikilocitozė (eritrocitų formos variacija), hipochromija ir kiti pokyčiai. Mikroskopuojant kraujo tepinėlį, patikimai diagnozuojama tik sunki GSA, išryškėjus hipochromijos požymiams, mikrocitozei [7].

Dažytame kraujo tepinėlyje eritrocito vaizdas priklauso nuo jo formos ir hemoglobino koncentracijos, jiems kintant atitinkamai keičiasi ir eritrocito morfologija [7].

**Hipochromija** – tai eritrocitų nusidažymo intensyvumas, kuris priklauso nuo hemoglobino kiekio juose ir nuo ląstelės storio [7]. Eritrocitai, kurių centrinė prašviesėjimo zona didesnė kaip 1/3 ląstelės skersmens, vadinami hipochromiškais eritrocitais [27]. Hipochromija yra svarbus morfologinis požymis, pasireiškia sergantiems vidutinio sunkumo ir sunkia GSA. Be to, hipochromija ir mikrocitozė gali išsivystyti ligoniams, sergantiems lėtine infekcija, uždegiminėmis ligomis, piktybiniais navikais [7].

**Polichromatofilija** – tai dažytame kraujo tepinėlyje stebimas eritrocitų nuspalvinimo amfoteriškumas. Eritrocitai, kuriuos dažant išryškėja acidofilija ir bazofilija, vadinami polichromatofilais [7]. Polichromatofilija stebima kraujo ląstelėse, kurios savo sudėtyje turi daug RNR ir kurių hemoglobino sintezė nėra pilna [27]. Ryški polichromatofilija yra hiperproliferacinių anemijų požymis, rodantis eritropoezės hiperfunkciją. Eritrocitų polichromatofilija taip pat gali pasireikšti, kai aktyviai regeneruoja eritropoezė, pvz., sergančius GSA gydant geležies preparatais [7].

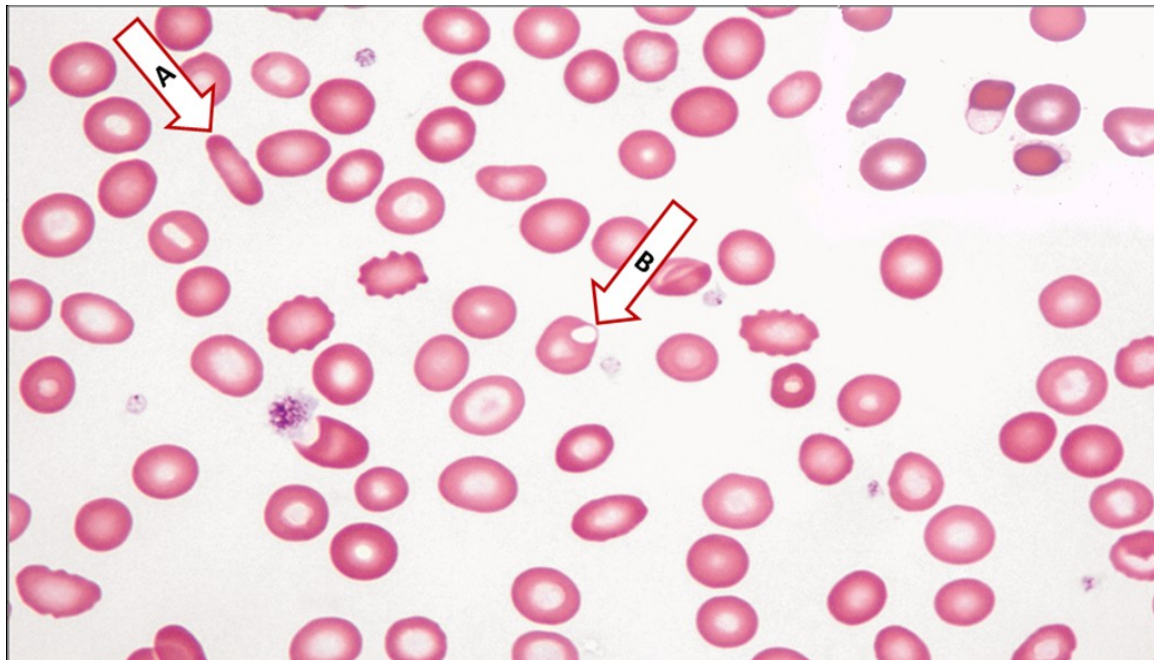
**Anizocitozė.** Normoje eritrocitų dydis svyruoja nuo 7,2 iki 7,9  $\mu\text{m}$ . Eritrocitų anizocitozę galima įvertinti subjektyviai mikroskopuojant kraujo tepinėlį, be to, anizocitozę galima įvertinti objektyviai remiantis eritrocitų apimties variacijos (ETV) indeksu [7].

**Mikrocitozė.** Mikrocitais vadinami eritrocitai, kurių diametras yra mažesnis nei 6,2  $\mu\text{m}$  [56]. Paprastai jų storis nepakitęs, tačiau skersmuo sumažėjęs, todėl Hb kiekis mikrocituose yra taip pat sumažėjęs. Mikroskopuojant tepinėlį matoma, kad Hb mikrocituose randasi periferinėje zonoje siauros juostelės pavidalu, o centrinė dalis visiškai bespalvė, todėl mikrocitai dar vadinami anulocitais. Mikrocitozė – būdingas hipochrominių anemijų hematologinis požymis, tačiau jis išryškėja kai Hb koncentracija mažesnė už 90 g/l [7, 27].

**Poikilocitozė** - tai eritrocitų formos variacija (5 pav.). Daugumos poikilocitų formos pokyčiai susiję su negrįžtamu membranų pažeidimu [7].

*Taikinio pavidalo eritrocitai (kodocitai, ang. target).* Eritrocitai, kurių viduryje susikongravęs Hb yra šviesesnės juostos atskirtas nuo periferinėje zonoje susikaupusio Hb, vadinami taikinio pavidalo eritrocitais. Geriausiai taikinio pavidalo eritrocitai matomi dažytame kraujo tepinėlyje [35]. Dažniausiai taikinio pavidalo eritrocitų randama sergant hipochrominėmis anemijomis, gali būti sergant lėtinių ligų anemija, taip pat sergant talasemijomis [19] ar po splenektomijos.

*Prekeratocitai* – tai eritrocitai, kuriems būdingas centrinis prašviesėjimas bei dominuoja viena, griežtai apibrėžta submembraninė vakuolė (5 pav.). Dažniausiai prekeratocitų randama sergant GSA, tačiau jų randama ir sergant lėtinių ligų anemija, talasemijomis [18, 19]. Manoma, kad prekeratocitai – tai keratocitų pirmtakai, kurie susidaro trūkus submembraninei vakuolei.



5 pav. Eritrocitų morfologiniai pokyčiai: A - pieštuko pavidalo eritrocitai, B - prekeratocitai [18]

*Pieštuko pavidalo eritrocitai* – tai hipochromiški eliptocitai, kurių ilgis mažiausiai tris kartus didesnis už ląstelės plotį [18] (5 pav.). Pieštuko pavidalo eritrocitai būdingi GSA, tačiau gali būti ir sergant talasemija ar LLA [19].

## 2.5. Biocheminiai anemijų tyrimo rodikliai

Biocheminiai žymenys parodo kaulų čiulpų aprūpinimą geležimi ir yra tiksliai netiesioginiai geležies ir eritropoetizės pusiausvyros indikatoriai. Standartiniai biocheminiai geležies metabolizmo žymenys yra serumo (arba plazminė) geležis (SG), transferinas (Tf), transferino įsotinimas (TfS), feritinas ir serumo Tf receptorių koncentracija (sTfR) [53].

### 2.5.1. Serumo geležis, jos svarba

Serumo geležis (SG) – tai geležis, sujungta su transferinu. Jos koncentracijos kraujo serume norma yra 50 – 150  $\mu\text{g/dL}$ . SG lygį įtakoja eritroidinių ląstelių pirmtakų proliferacija kaulų čiulpuose ir jų gebėjimas sintetinti hemoglobina. Kai SG koncentracija

sumažėja, eritroidinės ląstelės kaulų čiulpuose negali tinkamai vystytis ir eritrocitai yra nepilnai užpildyti hemoglobinu [20].

Gana dažnai hipoferemijos nebūna net visiškai išsekus geležies atsargoms, kita vertus, hipoferemiją gali imituoti piktybiniai navikai, uždegiminės ligos, miokardo išemija, todėl negalima diferencinė LLA ir GSA diagnostika remiantis tik šiuo rodikliu ir neatlikus kitų ferokinetikos tyrimų [7, 30].

### **2.5.2. Serumo feritino reikšmė anemijos patogenezėje**

Serumo feritino koncentracijos nustatymas leidžia įvertinti geležies atsargas organizme [30]. Feritinas yra sferinis baltymas, sudarytas iš 24 subvienetų: L (lengvų), H (sunkių) ir G (glikozilintų). Serumo feritiną dažniausiai sudaro L ir G subvienetai, o audinių feritinas yra daugiau L ir H tipo [20].

Daugelis anemijų yra hipochrominės, jų priežastimi dažniausiai būna įvairaus laipsnio geležies nepakankamumas. Kad atskirti geležies stoką nuo geležies pasiskirstymo sutrikimo, reikia atkreipti dėmesį į serumo geležies ir feritino žymenis [52]. Serumo feritino koncentracija yra pats specifiskiausias geležies stokos anemijos diagnostinis žymuo. Feritino koncentracija serume gana tiksliai parodo bendrą ir ypač makrofaguose deponuotos geležies kiekį, todėl serumo feritino tyrimas svarbus tiek geležies stokos, tiek geležies pertekliaus organizme diagnostikai [7]. Sveiko suaugusio žmogaus serumo feritino koncentracija yra nuo 50 iki 150  $\mu\text{g/L}$  ir tai atitinka 600 – 1000 mg geležies. Feritino koncentracija mažiau 10 – 15  $\mu\text{g/L}$  parodo geležies atsargų išsekimą. Esant geležies pertekliui feritinas gali viršyti 300  $\mu\text{g/L}$ , ar galbūt net siekti keletą tūkstančių  $\mu\text{g/L}$  [20]. Serumo feritino koncentracijos norma yra 20 – 300  $\mu\text{g/L}$  [51].

### **2.6. Lėtinių ligų anemijos diagnostika**

Lėtinių ligų anemija gana paplitusi infekcinių susirgimų, ilgalaikių uždegimų atvejais, sergant navikinėmis ligomis. Paprastai LLA būna vidutinio sunkumo ( $Ht > 25\%$ ), bet apie 20 % pacientų pasireiškia sunki anemijos forma. Eritrocitai normocitiniai, normochrominiai, apie 30 % mikrocitiniai (paprastai  $MCV - 70 - 79 \text{ fl}$ ) ir apie 50 % - hipochrominiai ( $MCHC - 26 - 32 \text{ g/l}$ ). Periferinio kraujo tepinėlyje eritrocituose stebima nežymi poikilocitozė ir anizocitozė, bet smulkių eritrocitų, būdingų geležies stokai, gali nebūti. Sergant LLA serumo feritino koncentracija yra apie 300  $\mu\text{g/L}$  ar net žymiai aukštesnė (sergant GSA yra  $< 15 \mu\text{g/L}$ ) [55].

Remiantis įvairiais tyrimais nustatyta, kad LLA paplitusi tarp pagyvenusių žmonių, nes vyresni žmonės dažniau serga įvairiomis ligomis. LLA pradžia gali būti besimptomė, mikrocitozė aptinkama 30 % atvejų. Viena iš ligos priežasčių – pablogėjusi geležies pernaša iš kaulų čiulpų makrofagų į plazmą [55]. LLA būdinga ir funkcinė geležies stoka (kai staiga suaktyvėjusią eritropoezę nebeatpajėgia aprūpinti normalios geležies sandėlika), tačiau pagrindinį vaidmenį atlieka citokinų slopinamasis poveikis eritropoezei ir geležies mobilizacijai retikuloendotelinėje sistemoje, todėl sudėtingesniais klinikiniais atvejais, diferencijuojant anemijos priežastį, eritrocitų ir retikulocitų rodikliai yra papildoma diagnostikos priemonė, bet ne biocheminiai geležies apykaitos tyrimai [22].

Lėtinių ligų anemiją charakterizuoja nepakankama eritropoetino gamyba, sulėtėjusi eritroidinių progenitorinių (pirmtakinių) ląstelių proliferacija kaulų čiulpuose ir sutrikęs geležies pasiskirstymas. LLA pasireiškia dėl imuninės ir uždegiminės sistemos suaktyvinimo, pagreitėja uždegiminių citokinų gamyba, kurie savo ruožtu didina C-reaktyvaus baltymo koncentraciją (CRB) [49].

### **2.6.1. C reaktyvusis baltymas**

Tai ūmios fazės baltymų tyrimas, leidžiantis įvertinti, ar paciento organizme nėra aktyvių uždegimo židinių. Esant uždegimui tiek feritino, tiek transferino koncentracija padidėja ir tai gali iškreipti šių rodiklių reikšmę diagnozuojant GSA, uždegimui įvertinti svarbu nustatyti C reaktyvaus baltymo (CRB) koncentraciją. Lėtinių ligų anemiją geriausiai apibūdina: hipoproliferacinė anemija, ↑ CRB (↑ ENG) ir ↑ feritinas [29, 57].

### **2.6.2. Eritrocitų nusėdimo greitis**

Eritrocitų nusėdimo greitis (ENG) – tai nespecifinis mėginys uždegimui nustatyti. Matuojamas kraujo forminių elementų nusėdimas per laiko tarpą nekrešančiame dėl antikoagulianto kraujyje. Pirmas šį tyrimą aprašė A. Westergrenas 1921 metais. ENG gali įtakoti daugelis veiksnių - nėštumas, diabetas, inkstų ligos. Hematokrito rodiklio mažėjimas lemia ENG didėjimą. Esant uždegiminiams procesams ar augliams, ENG gali padidėti daug kartų [8].

## 2.7. Naujausia anemijų diagnostika

### 2.7.1. Serumo transferino receptorių tyrimas

Serumo transferino receptorių (sTfR) tyrimas naudojamas siekiant įvertinti, ar neužblokuotas geležies atsipalaidavimas iš vidinių atsargų dėl uždegimo. Kartu su serumo feritinu šis rodiklis tinka diferencijuoti GSA ir LLA. Normalios sTfR vertės svyruoja nuo 5 µg/dl iki 9 µg/dl. sTfR gali padidėti sergant GSA, o pacientams, sergantiems LLA, sTfR koncentracija beveik nepadidėja, nes geležies netrūksta, tik užslopinamas jos atsipalaidavimas iš atsargų kaulų čiulpuose ir vyrauja hipoproliferaciniai procesai. sTfR ir serumo feritino santykio logaritmas  $\log(\text{sTfR}/\text{feritinas})$  yra geriausias LLA ir GSA diferenciacijos indeksas, kurio mažos vertės ( $< 2,5$ ) būdingos LLA, o didelės vertės ( $> 2,5$ ) – GSA [30]. sTfR koncentracijos tyrimu gana tiksliai nustatoma geležies stoka net ir sergant lėtinėmis ligomis, tačiau transferino receptorių kiekis padidėja ir esant labai aktyviai eritropoezei (hemolizių metu) [22, 53].

### 2.7.2. CHr – hemoglobino kiekis retikuliocite

Absoliučioji arba klasikinė geležies stoka, kai vyksta lėtinis kraujavimas ir (ar) sutrikęs geležies pasisavinimas iš virškinamojo trakto, diagnostinių sunkumų paprastai nekelia [25].

Raudonųjų kraujo ląstelių hipochromijos įvertinimas svarbus funkcinės geležies stokos būklės vertinime. Kadangi eritrocitai cirkuliuoja 120 dienų, tai jų hipochromija parodo jau anksčiau sumažėjusią Hb sintezę, o hipochrominiai retikuliocitai ( $< \text{CHr}$ ) momentinį Hb sintezės nepakankamumą. Hemoglobino kiekis retikuliocite (CHr) yra ankstyvas žymuo įvertinti funkcinę GSA, nes retikuliocitai išbūna cirkuliacijoje tik 1-2 dienas. Taip pat CHr padeda greitai nustatyti ligonio atsaką į pradėtą gydymą geležies preparatais [53].

Funkcinė geležies stoka - kai normalios organizmo sankaupos nepajėgia aprūpinti eritropoezės dėl staiga padidėjusios Hb sintezės ir (arba) slopinamo geležies mobilizavimo iš mononuklearinės fagocitinės sistemos (sergant kai kuriomis lėtinėmis ligomis, gydant eritropoetinu). Šiais atvejais tradiciniai biocheminiai geležies apykaitos rodikliai dažniausiai nėra informatyvūs, o tai geriausiai rodo hemoglobino kiekio retikuliocite vidurkis (CHr – angl. *Cellular Hemoglobin reticulocyte*). CHr – parodo eritrocitų pirmtakų, t.y. retikulocitų, kurie kraujyje cirkuliuoja tik 18 – 36 val., hemoglobinizaciją [25].

### 3. TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

#### 3.1. Tirtų pacientų charakteristika

Tirti geležies stokos ir lėtinių ligų anemijas atspindintys laboratoriniai rodikliai ligonių kraujyje. Atrinkta 60 ligonių, gydytų Klaipėdos universitetinėje ligoninėje ar konsultuotų ambulatoriniame konsultaciniame skyriuje nuo 2007 metų spalio mėnesio iki 2009 metų kovo mėnesio. Atlikus hematologinį kraujo tyrimą, nustatčius ENG bei atlikus biocheminį kraujo tyrimą (nustatčius feritino, serumo geležies ir CRB koncentracijas) 40 pacientų diagnozuota GSA, o 20 pacientų nustatyta LLA.

Tiriamųjų grupei hematologiniu analizatoriumi nustatyti šie kraujo rodikliai:

- hemoglobino koncentracija (Hb);
- eritrocitų skaičius (RBC);
- hematokritas (Ht);
- leukocitų skaičius (WBC) bei jų diferenciacija – vertintas IG rodiklis (nesubrendusių granulocitų frakcija, angl. IG - *Immature granulocyte*)
- trombocitų skaičius (PLT);
- eritrocitų indeksai: vidutinis eritrocitų tūris (VET, angl. MCV – *Mean Cell Volume*), vidutinis hemoglobino kiekis eritrocite (VHE, angl. MCH – *Mean Corpuscular Hemoglobin*), vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocituose (VEHK, angl. MCHC- *Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration*)

Visiems tirtiems pacientams nustatytas ENG, CRB, serumo geležies ir feritino koncentracijos.

Sergantys GSA grupės asmenys gydyti šiuose skyriuose:

- Vidaus ligų diagnostikos skyriuje – 32,5 %;
- Reumatologijos skyriuje – 22,5 %;
- Ambulatoriniame konsultaciniame skyriuje – 15 %;
- Kardiologijos skyriuje – 7 %;
- Reanimacijos ir intensyvios terapijos skyriuje - 5 %;
- Vertebroneurologijos skyriuje - 5 %;
- Endokrinologijos skyriuje – 2,5 %;
- Galvos smegenų insultų skyriuje – 2,5 %;
- Gastroenterologijos skyriuje – 2,5 %;
- Traumatologiniame skyriuje – 2,5 %;
- Nėštumo patologijos skyriuje – 2,5 %.

Sergantys LLA asmenys gydyti šiuose skyriuose:

- Reumatologijos skyriuje – 45 %;
- Ambulatoriniame konsultaciniame skyriuje – 30 %;
- Vidaus ligų diagnostikos skyriuje – 15 %;
- Kardiologijos skyriuje – 10 %;

Sergančiųjų GSA grupėje buvo 34 (85%) moterys ir 6 (15%) vyrai, sergančiųjų LLA grupėje – 17 (85%) moterų bei 3 (15%) vyrai. Pagal amžių tiriamieji suskirstyti į tris grupes: iki 40 metų, nuo 40 – 60 metų ir virš 60 metų amžiaus. GSA grupėje buvo 30 % iki 40 metų, 32,5 % - nuo 40 – 60 metų ir 37,5 % - virš 60 metų amžiaus pacientų. LLA grupėje - 25 % - iki 40 metų, 10 % - nuo 40 iki 60 metų ir 65 % - virš 60 metų ligonių.

### 3.2. Hematologinių kraujo parametrų nustatymas

Hematologiniam tyrimui kraujas imtas į vakuuminį mėgintuvėlį su antikoagulantu EDTA (etilendiamintetraacetatu) bei tirtas hematologiniu analizatoriumi Sysmex XE-2100.

Hematologiniu analizatoriumi Sysmex XE-2100 nustatomi šie parametrai: leukocitai (diferencijuojami į 6 populiacijas – eozinofilus, bazofilus, neutrofilus, limfocitus, monocitus bei nesubrendusius granulocitus (promielocitus, mielocitus, metamielocitus)), hemoglobinas, hematokritas, eritrocitai bei jų indeksai, trombocitų skaičius, retikulocitai. Sysmex XE-2100 analizatorius paremtas tėkmės citometrijos ir fluorescencijos principais.

Citometro skysčio sraute tekančios ląstelės apšviečiamos lazerio spinduliu: remiantis tiesine šviesos sklaida - nustatomas ląstelės dydis, šonine šviesos sklaida - intraląsteliniai pokyčiai (granulės, branduolys), fluorescencija - DNR, RNR.

Hemoglobinas nustatomas becianidiniu Sysmex SLS (*Sodium lauryl sulphate*) metodu, kuris koreliuoja su referentiniu metodu. Hemoglobinas nustatomas atskirame kanale, todėl rodiklis patikimas esant leukocitozei ar lipemijai [41].

Leukocitai skaičiuojami WBC/BASO kanale, ląstelės įvertinamos pagal dydį (tiesine šviesos sklaida – *forward scattered light*) ir sandaros skirtumus (šonine šviesos sklaida – *side scattered light*). Šiame kanale rūgštinis reagentas *Stromatolyser FB* lizuoja eritrocitus, trombocitus ir priverčia susitraukti leukocitus (lieka tik jų branduoliai), o bazofilai nepaveikiami. Remiantis tiesinės šviesos sklaidos bei šoninės šviesos sklaidos informacija bazofilai išskiriami į atskirą populiaciją [41].

Leukocitai diferencijuojami DIFF kanale - išskiriamos 4 leukocitų populiacijos: limfocitai, monocitai, eozinofilai, neutrofilai+bazofilai. Reagentas *Stromatolyser-4DS* lizuoja eritrocitus ir trombocitus, o fluorescencinis dažas, esantis reagento sudėtyje,



jungiasi prie nukleino rūgščių ir ląstelių organoidų, esančių leukocituose. Ląstelės diferencijuojamos remiantis fluorescenciniu intensyvumu bei šonine šviesos sklaida [41].

IMI kanalas aptinka nesubrendusių granulocitų ląsteles, paveikus *Stromatolyser – IM*, subrendusių ląstelių membranos pažeidžiamos (dėl jų sudėtyje esančio cholesterolio) bei išplaunami viduląsteliniai komponentai, o nesubrendusiose ląstelėse cholesterolio nedaug, daugiau fosfolipidų, prieš viduląstelinių komponentų išplovimą į ląsteles patekęs reagentas sutvirtina ląstelės membraną ir viduląstelinius komponentus. Šiame kanale tiesinės šviesos ir radio dažnio detekcijos metodu atskiriamos blastų ląstelės, nesubrendę granulocitai (promielocitai, mielocitai, metamielocitai) bei lazdeliniai neutrofilai į atskirą populiaciją. Šis kanalas taip pat jautrus nustatant trombocitų sankaupas. Dėka IG-kameros (*IG-Master*) išskiriami nesubrendę granulocitai: promielocitai, mielocitai, metamielocitai, nes jie daugiau turi DNR ir RNR t.y. daugiau fluorescuoja lyginant su segmentuotais neutrofilais [41].

IG indeksas padidėja bakterinių infekcijų, ūmių uždegiminių reakcijų, navikų, audinių nekrozės atveju [9].

Citomorfologiškai nesubrendę granulocitai nustatyti kraujo tepinėlį fiksuojant May-Grunvaldo fiksažu ir dažant Gimzos–Romanovskio dažais.

### **3.3. Serumo geležies koncentracijos nustatymas**

Serumo geležies koncentracija nustatyta ARCHITECT® c 8000 analizatoriumi spektrofotometriniu metodu (reagentai FERENE, Abbott diagnostics, JAV).

Kraujo serume geležis būna susijungusi su baltymu transferinu, todėl pirmiausiai rūgštinio reagento pagalba trivalentė geležis atlaisvinama iš transferino. Veikiant hidroksilamino hidrochloridui  $Fe^{3+}$  verčiama į  $Fe^{2+}$ , kuri reaguoja su FERENE, susidaro spalvoti geležies – FERENE kompleksai. Šie kompleksai sugeria 604 nm šviesos bangas. Pagal šviesos sugertį nustatytas jų kiekis yra proporcingas geležies koncentracijai [59].

### **3.4. C reaktyviojo baltymo koncentracijos nustatymas**

CRB koncentracija kraujo serume nustatyta biocheminiu analizatoriumi ARCHITECT® c 8000 (reagentai CRP Vario®, Abbott diagnostics, Italija). imunoturbidimetriniu metodu.

Reaguojant CRB mėginyje su anti-CRB antikūnais, kuriais padengtos latekso dalelės, įvyksta agliutinacija. Agliutinacijos pasekoje atsiranda drumstumas, drumstumo intensyvumas yra proporcingas CRB koncentracijai [61].

### **3.5. Feritino koncentracijos nustatymas**

Feritino koncentracija kraujo serume nustatyta biocheminiu analizatoriumi ARCHITECT® c 8000 (reagentas Qantia Ferritin, Abbott diagnostics, Ispanija).

Qantia Ferritin reagentą sudaro buferis ir polistirolu latekso dalelių suspensija, dalelės padengtos triušio IgG prieš žmogaus feritiną. Kai mėginyje esantis feritinas sumaišomas su reagentu įvyksta agliutinacija, drumstumas išmatuojamas turbidimetriniu metodu [60].

### **3.6. ENG nustatymas**

ENG nustatytas SEDISYSEM™ – automatizuotu uždaru ENG analizatoriumi. Sedisystem - tai modifikuotas automatizuotas ENG matavimo būdas, pagrįstas standartiniu Westergren'o metodu. Kraujas imamas iš venos į vakuuminį specialų Seditainer® 1,8 ml mėgintuvėlį (100 mm ilgio ir 6 mm pločio), užpildytą antikoagulianto citrato. ENG užrašomas po 20 min.

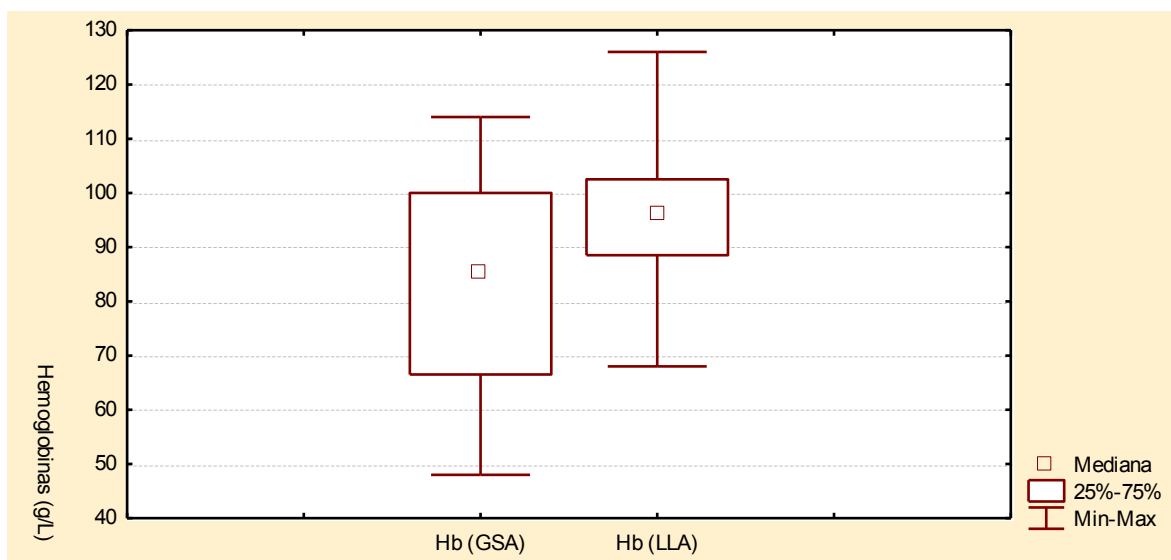
### **3.7. Statistinė analizė**

Statistinių duomenų apskaičiavimui bei grafiniam pavaizdavimui atlikti naudota kompiuterinė programa STATISTICA 7 (*StatSoft, Inc. 2004*) ir Microsoft Office Excel 2007. Duomenys išreikšti vidurkiu  $\pm$  standartine paklaida, nurodytas minimumas bei maksimumas. Skirtumai tarp grupių įvertinti neporiniu Stjudent'o t-testu. Rezultatai laikomi statistiškai patikimais, kai  $p$  vertė  $< 0,05$ . Buvo skaičiuojamas Pearson'o koreliacijos koeficientas ( $r$ ), koreliacinis ryšys vertinamas kaip silpnas, kai  $r$  vertė 0,01-0,29, vidutinis, kai  $r$  vertė buvo 0,3-0,69, stiprus, jei  $r$  vertė 0,7-0,99.

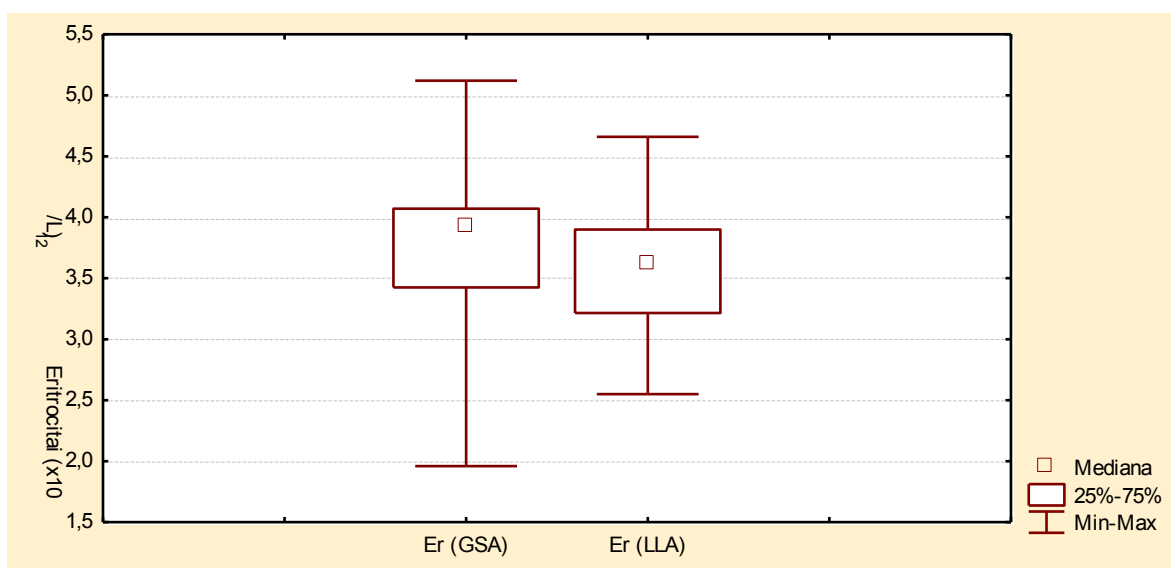
## 4. DARBO REZULTATAI

### 4.1 Anemiją atspindinčių kraujo rodiklių palyginimas GSA ir LLA tiriamųjų grupėse

Visiems tirtiems pacientams nustatyta sumažinta hemoglobino koncentracija (13 pav.). Šio rodiklio koncentracijos pasiskirstymas tirtose grupėse pavaizduotas 6 paveiksle.



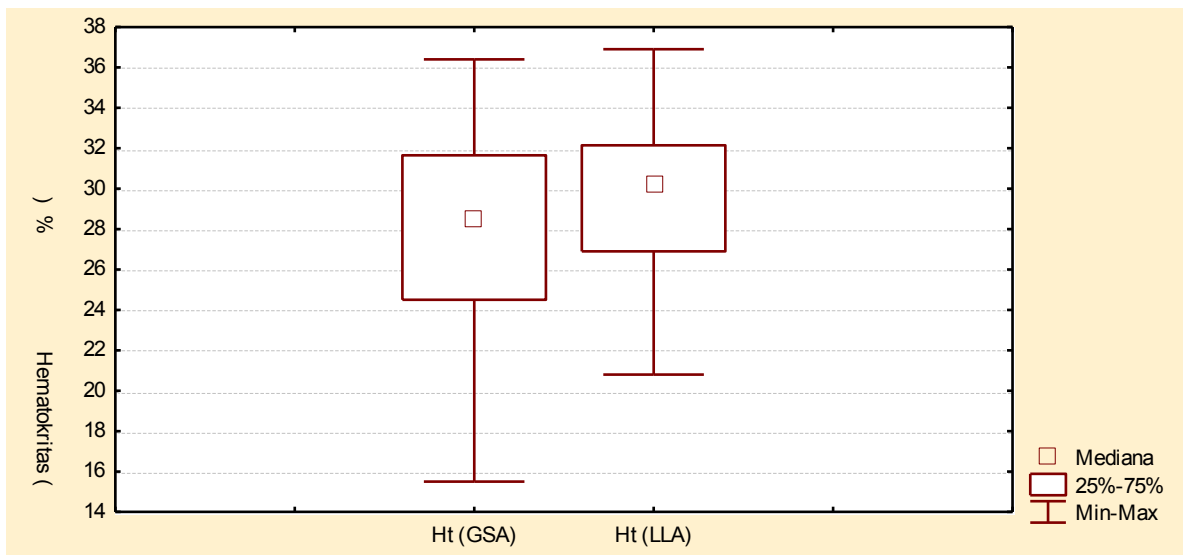
6 pav. Hemoglobino koncentracijos pasiskirstymas GSA ir LLA tiriamųjų grupėse



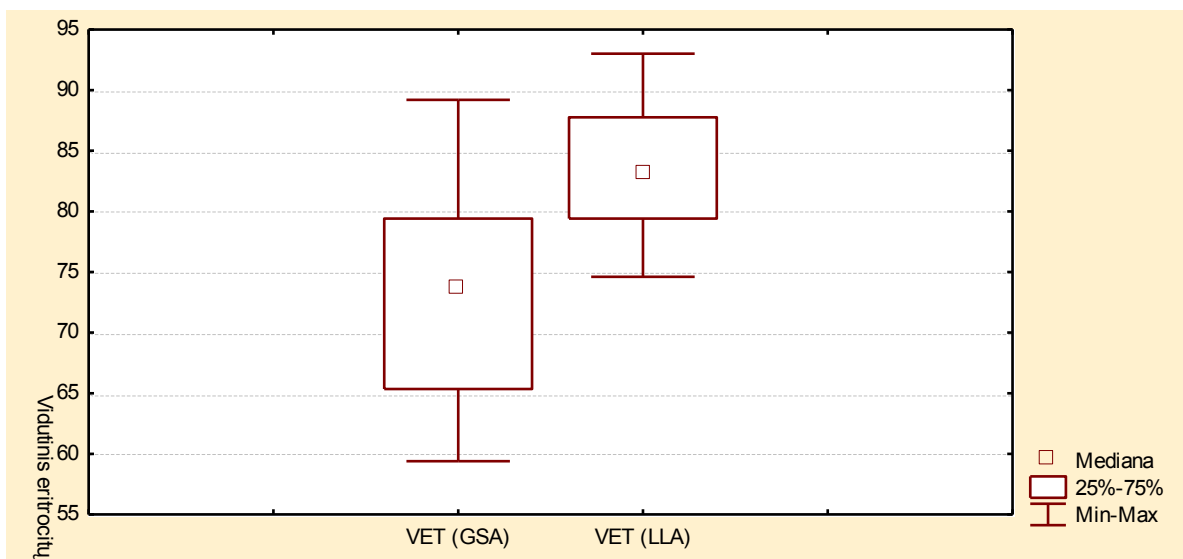
7 pav. Eritrocitų skaičiaus pasiskirstymas GSA ir LLA tiriamųjų grupėse

Sumažėjęs eritrocitų skaičius nustatytas 77,5% pacientų, kuriems buvo diagnozuota GSA ir 90% pacientų, kuriems diagnozuota LLA (13 pav). Eritrocitų skaičiaus pasiskirstymas tirtiems pacientams pavaizduotas 9 paveiksle.

Sumažintas hematokrito rodiklis nustatytas 97,5 % tiriamųjų GSA grupėje ir 100 % pacientų LLA grupėje (8, 13 pav.).

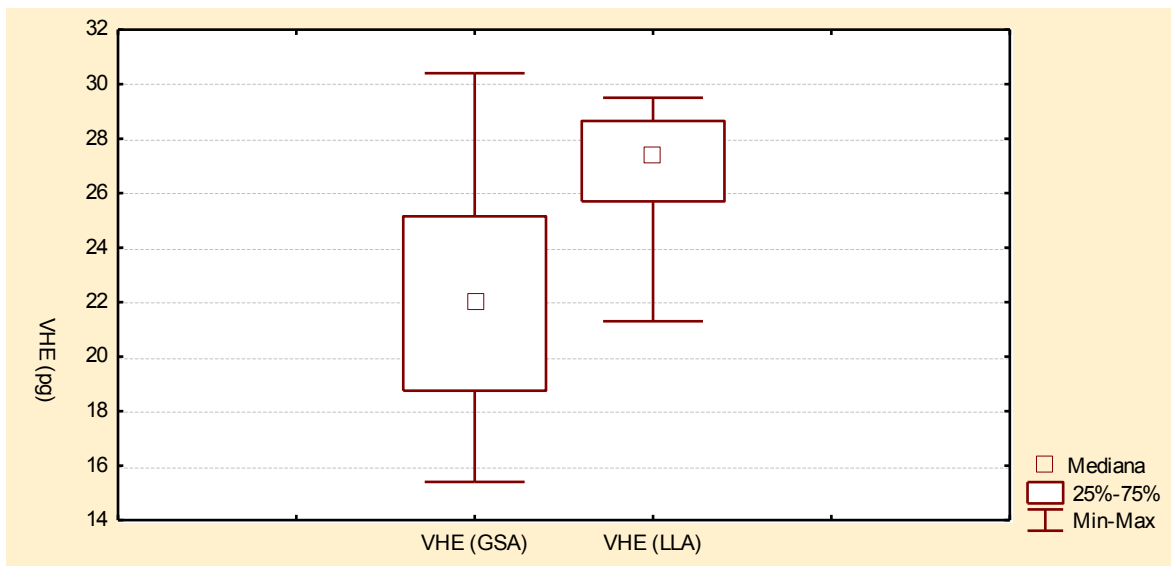


8 pav. Hematokrito pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse

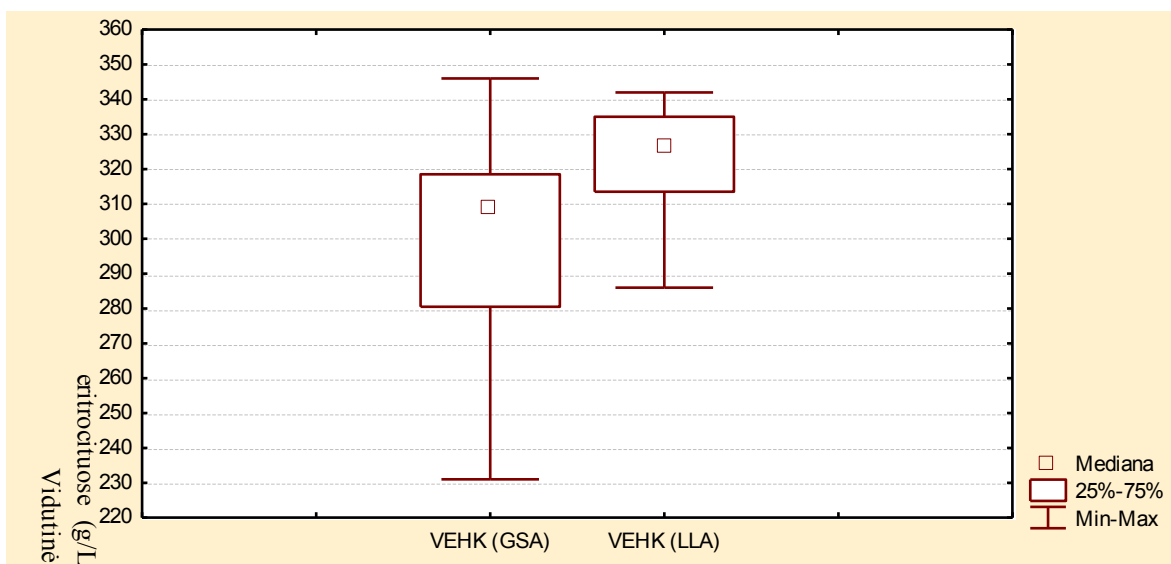


9 pav. VET indekso pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse

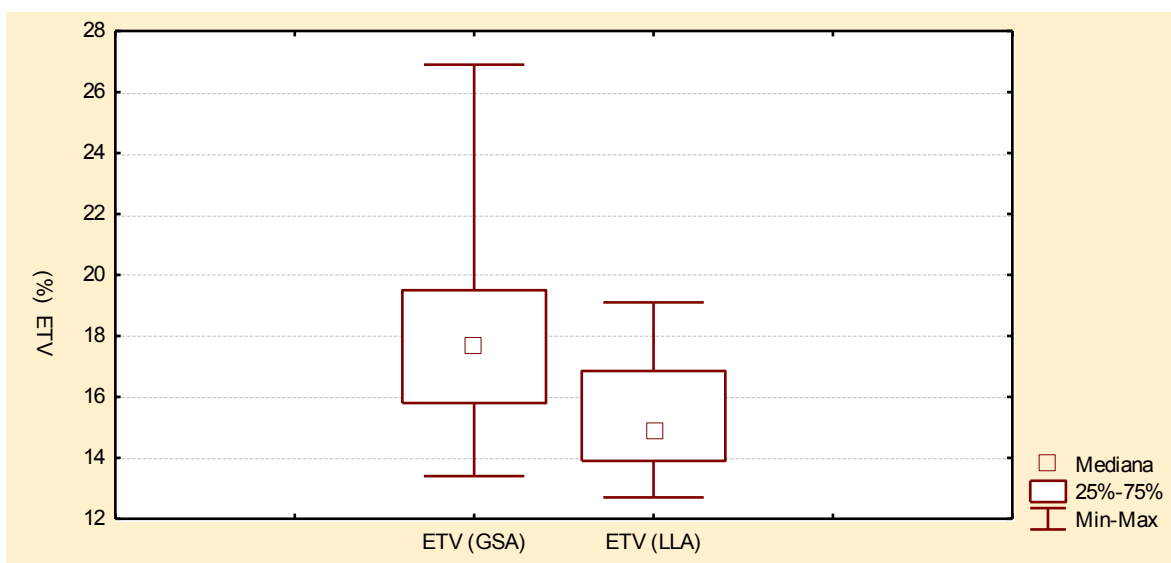
VET indeksas nustatytas sumažintas 30 % pacientų, kuriems diagnozuota LLA ir 85% pacientų, kuriems diagnozuota GSA. Vidutinis eritrocitų tūris normos ribose buvo rastas 70 % pacientų LLA grupėje ir 15 % pacientų GSA grupėje (9, 13 pav.). VHE indeksas nustatytas sumažėjęs 50 % pacientų LLA grupėje ir 90 % pacientų GSA grupėje (10, 13 pav.). Vertinant VEHK rodiklį, šis eritrocitų indeksas nustatytas sumažėjęs 15 % pacientų LLA grupėje ir 57,5 % pacientų GSA grupėje. VEHK rodiklis normos ribose nustatytas 85 % tiriamųjų, kuriems diagnozuota LLA ir 42,5 % pacientų, kuriems diagnozuota GSA (11, 13 pav.). Vertinant šiuos eritrocitų indeksus LLA grupėje 60 % pacientų nustatyta normocitinė normochrominė anemija ir 5 % tiriamųjų mikrocitinė hipochrominė anemija. 25% tiriamųjų šioje grupėje eritrocitai mikrocitinai normochrominiai bei 10 % normocitiniai hipochrominiai.



10 pav. VHE pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse



11 pav. VEHK pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse

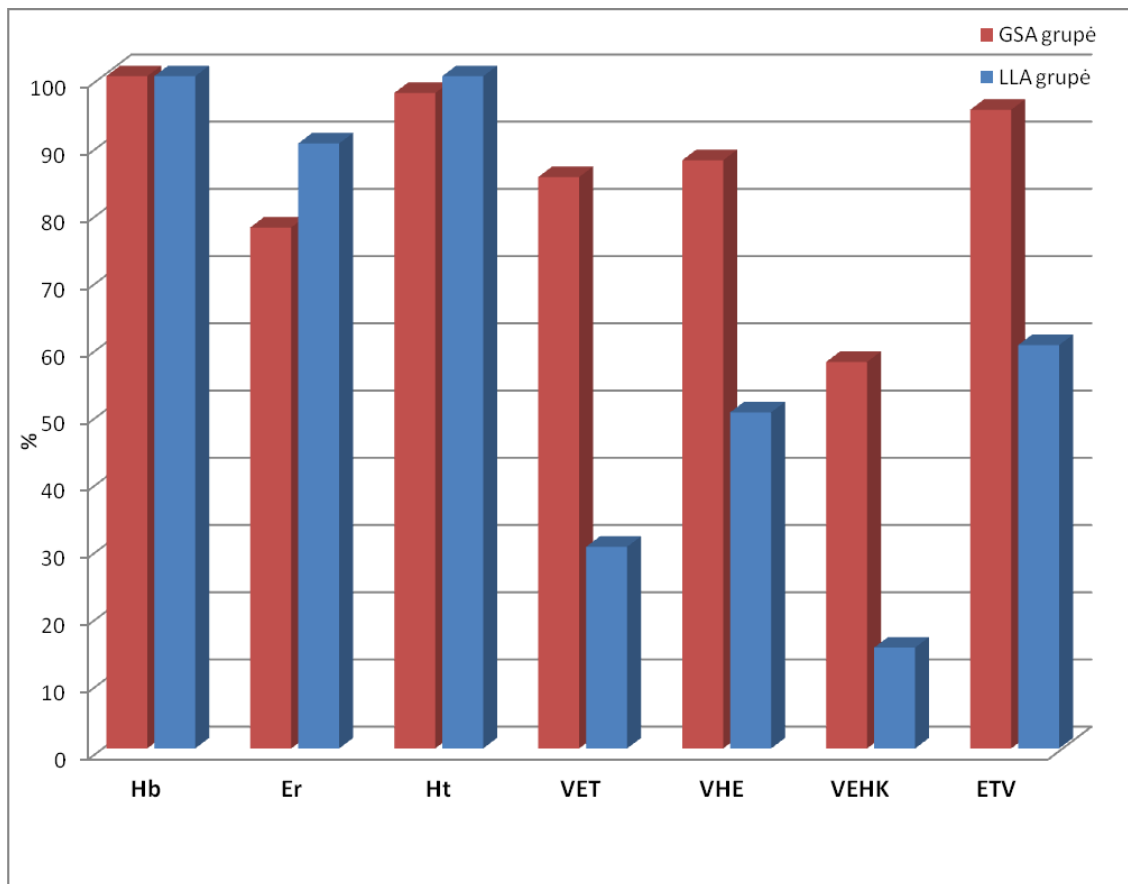


12 pav. ETV indekso pasiskirstymas sergantiems GSA ir LLA

Vertinant šiuos eritrocitų mikrocitozę ir hipochromiją atspindinčius rodiklius GSA atveju 52,5 % pacientų nustatyta mikrocitinė hipochrominė anemija, 10 % - normocitinė

normochrominė anemija, 32,5 % ligonių - eritrocitai mikrocitinai normochrominiai ir 5% normocitiniai hipochrominiai.

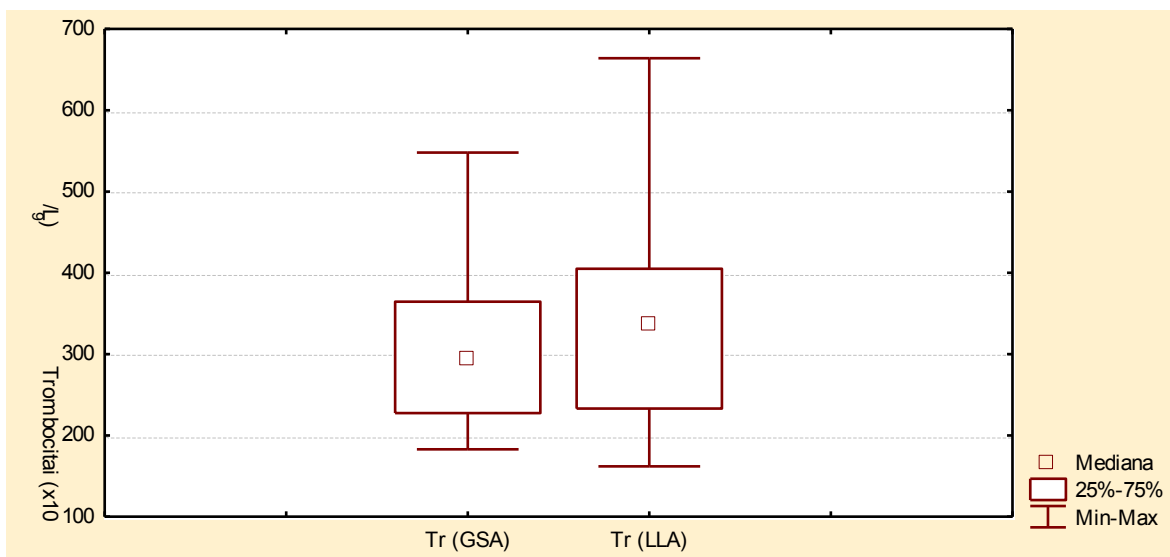
95 % pacientų GSA grupėje ir 60 % tiriamųjų LLA grupėje nustatytas padidėjęs eritrocitų anizocitozė atspindintis ETV rodiklis (13 pav.). Eritrocitų tūrio variacijos pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse pavaizduotas 12 paveiksle.



13 pav. Pacientų skaičius (%) GSA ir LLA grupėse, kuriems hemoglobinas, eritrocitai, hematokritas, VET, VHE, VEHK rodikliai nustatyti sumažinti, bei ETV indeksas viršijantis normos ribas.

Padidėjęs trombocitų skaičius nustatytas 15 % pacientų LLA grupėje ir 7,5 % tirtų ligonių GSA grupėje. Sumažintas trombocitų skaičius nustatytas 5% tiriamųjų LLA grupėje. Trombocitų skaičiaus pasiskirstymas tirtose grupėse pavaizduotas 14 paveiksle.

Lyginat hematologiniu analizatoriumi nustatytus kraujo rodiklius tarp tiriamųjų grupių nustatyta, kad hemoglobino koncentracijos bei eritrocitų indeksų VET, VHE, VEHK vidurkiai buvo statistiškai patikimai didesni LLA tiriamųjų grupėje, o ETV vidurkis statistiškai patikimai didesnis sergantiems GSA (1 lentelė).



14 pav. Trombocitų skaičiaus pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse

1 lentelė. Hematologiniu analizatoriumi nustatytų raudonojo kraujo rodiklių ir trombocitų vidutinių reikšmių palyginimas GSA ir LLA grupėse

Rodiklis	Vienetai	Sergančių GSA grupė (n=40)	Sergančių LLA grupė (n=20)
Hb	g/L	84,32*±19,94 (48-114)	96,1*±14,15 (68-126)
Er	$\times 10^{12}/L$	3,79±0,61 (1,96-5,12)	3,56±0,52 (2,55-4,66)
Ht	%	27,59±5,04 (15,5-36,4)	29,64±3,9 (20,8-36,9)
VET (MCV)	fL	73,01**±8,2 (59,4-89,2)	83,51**±5,35 (74,6-93)
VHE (MCH)	pg	22,1**±4,1 (15,4-30,4)	27,05**±2,02 (21,3-29,5)
VEHK (MCHC)	g/L	300,87**±27,37 (231-346)	323,9**±14,5 (286-342)
ETV (RDW)	%	17,85**±2,7 (13,4-26,9)	15,29**±1,94 (12,7-19,1)
Tr	$\times 10^9/L$	306,42±95,63 (183-548)	337,15±128,38 (162-664)

Duomenys išreikšti vidurkiais ± standartinė paklaida (minimumas - maksimumas)

\* statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,05$ )

\*\* statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,01$ )

#### 4.2 Anemiją atspindinčių kraujo rodiklių tarpusavio ryšys GSA ir LLA tiriamųjų grupėse

Analizuojant anemiją atspindinčių raudonojo kraujo rodiklių tarpusavio ryšį nustatytos statistiškai patikimos koreliacijos tarp hemoglobino koncentracijos ir eritrocitų skaičiaus (15, 16 pav.), hemoglobino koncentracijos ir hematokrito (17, 18 pav.), eritrocitų skaičiaus ir hematokrito abiejose tirtose grupėse (19, 20 pav.). Nustatytos koreliacijos GSA ir LLA grupėse pateiktos 2 ir 3 lentelėse.

2 lentelė. GSA atspindinčių hematologinių rodiklių tarpusavio ryšys

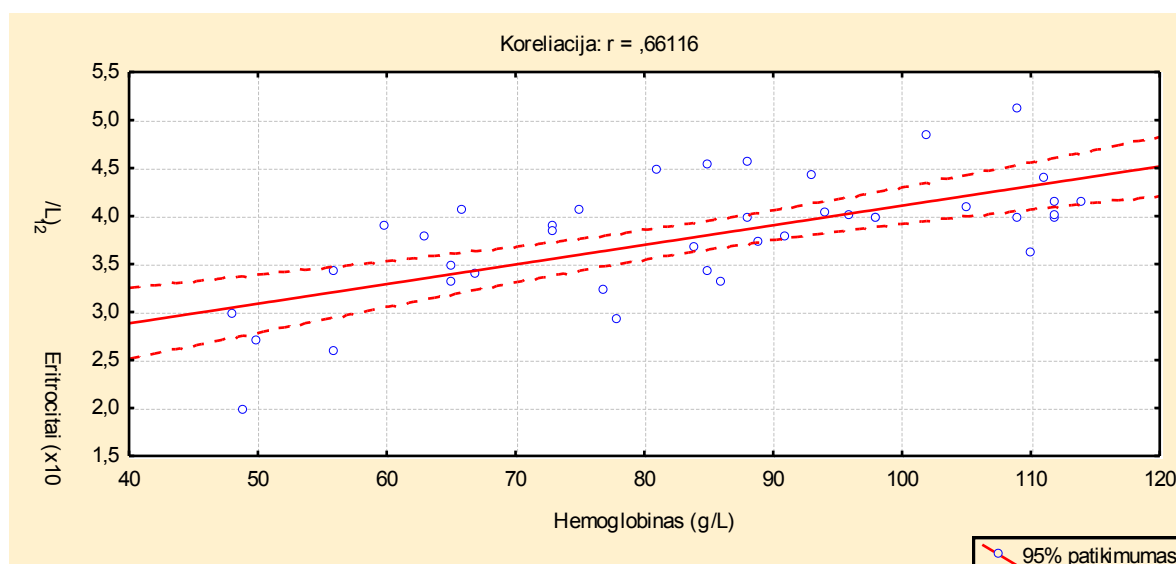
Rodikliai	Hemoglobinas	Eritrocitai	Hematokritas	VET	VEHK
Eritrocitai	0,66***				
Hematokritas	0,96***	0,79***			
VET	0,61***	-0,15	0,49**		
VEHK	0,57**	0,1	0,38*	0,5**	
ETV	-0,45**	-0,03	0,37*	-0,55***	-0,35*

Duomenys išreikšti Pearson'o koreliacijos koeficientu (r), \* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,05$ ), \*\* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,01$ ), \*\*\* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,001$ )

3 lentelė. LLA atspindinčių hematologinių rodiklių tarpusavio ryšys

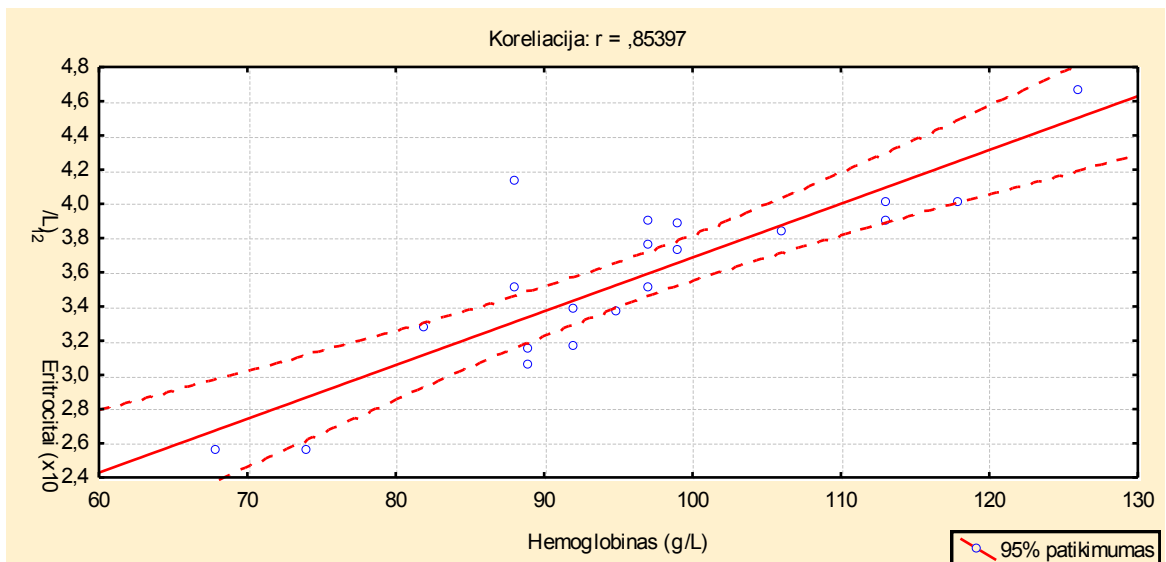
Rodikliai	Hemoglobinas	Eritrocitai	Hematokritas	VET	VEHK
Eritrocitai	0,85***				
Hematokritas	0,95***	0,9***			
VET	-0,01	-0,43	0,01		
VEHK	0,28	0,45*	0,35	-0,05	
ETV	-0,04	0,2	0,05	-0,29	-0,31

Duomenys išreikšti Pearson'o koreliacijos koeficientu (r), \* -  $p < 0,05$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$

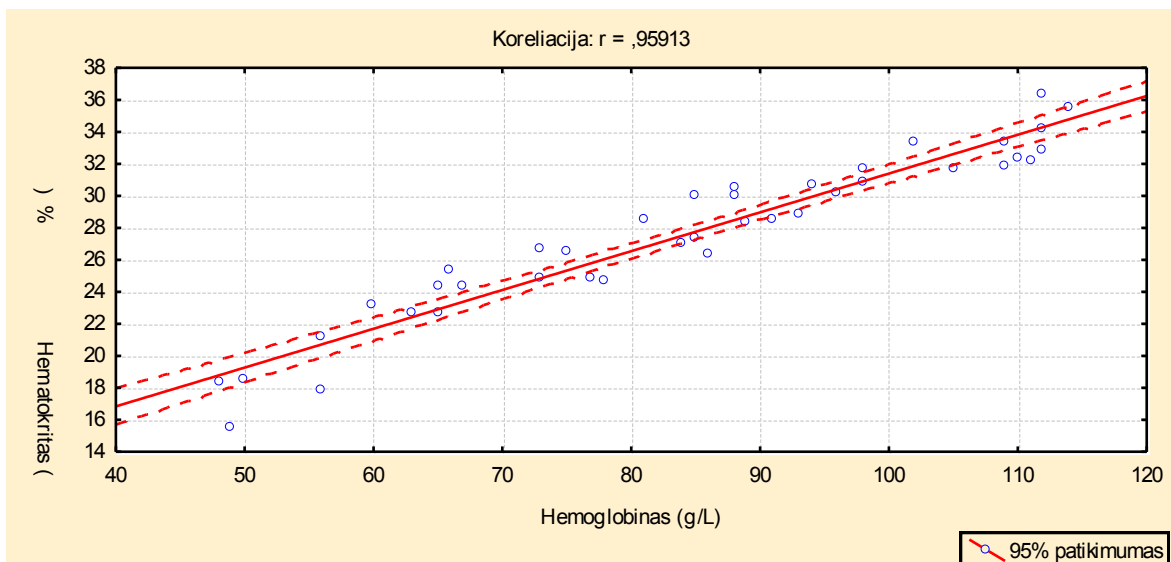


15 pav. Koreliacija tarp hemoglobino ir eritrocitų skaičiaus sergant GSA

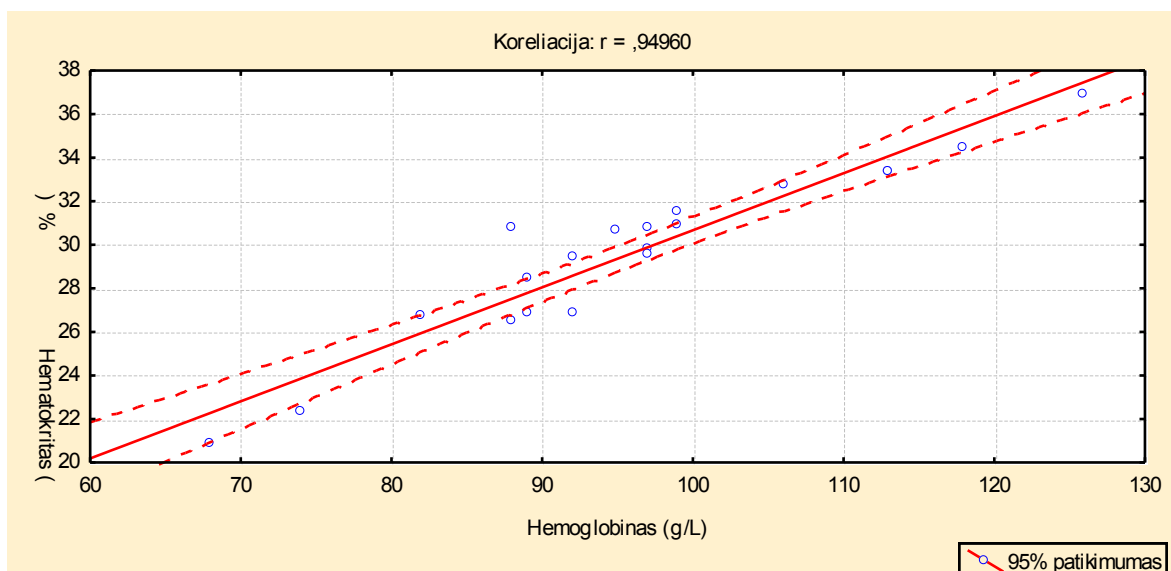




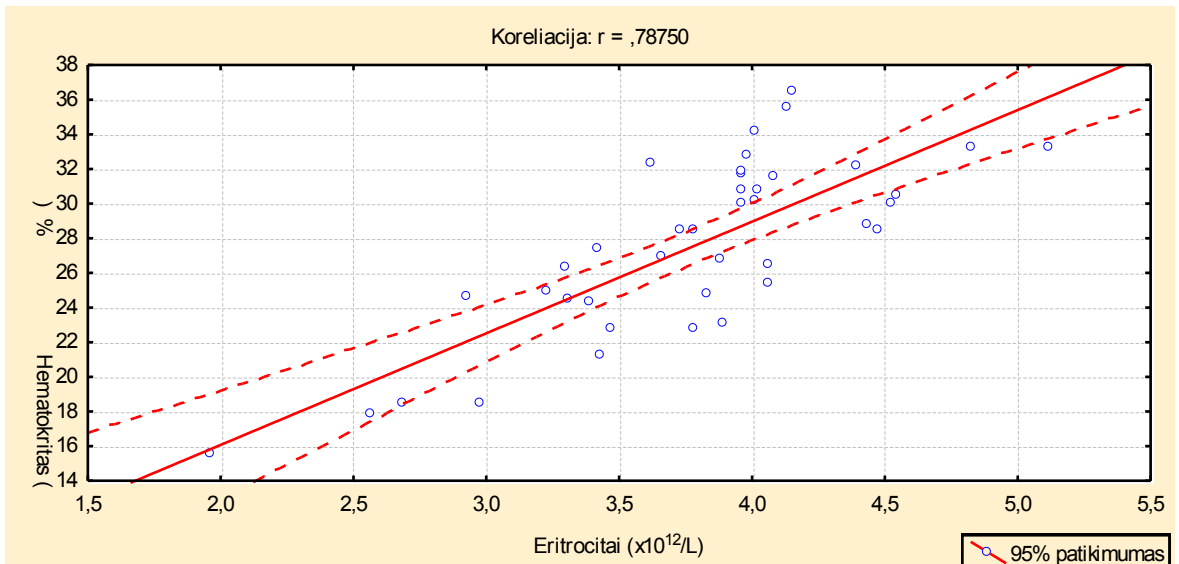
16 pav. Koreliacija tarp hemoglobino ir eritrocitų skaičiaus LLA grupėje



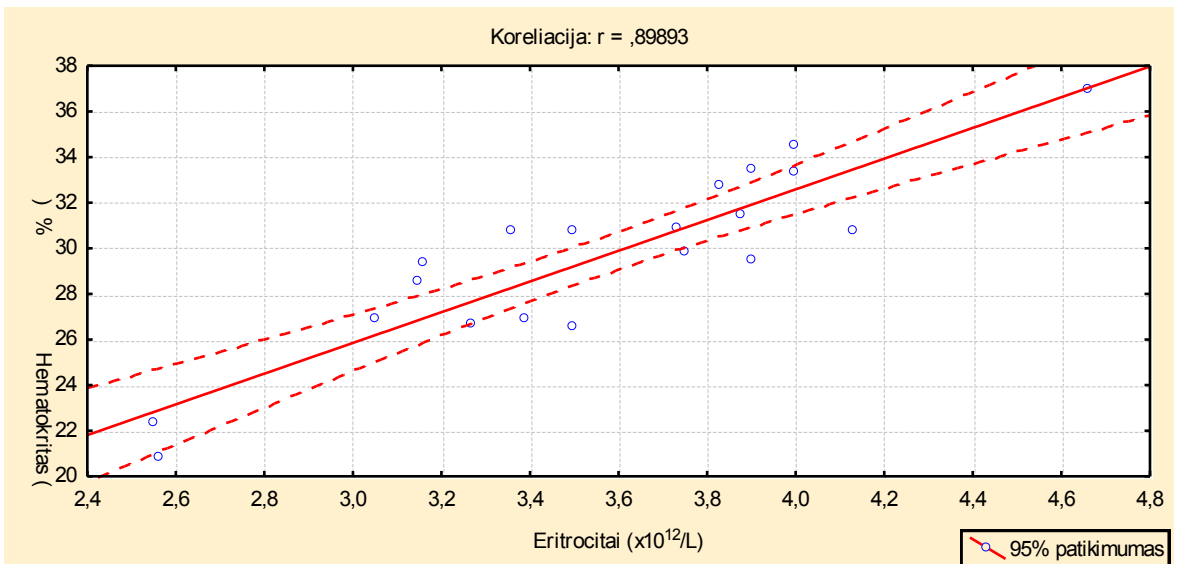
17 pav. Koreliacija tarp hemoglobino koncentracijos ir hematokrito GSA grupėje



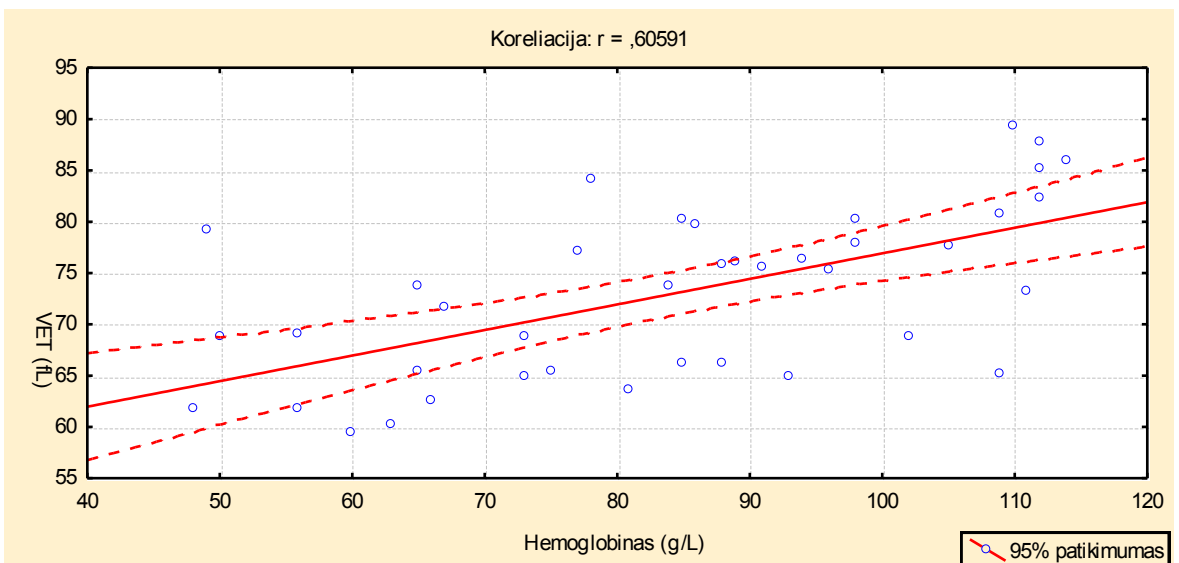
18 pav. Koreliacija tarp hemoglobino koncentracijos ir hematokrito LLA tiriamųjų grupėje



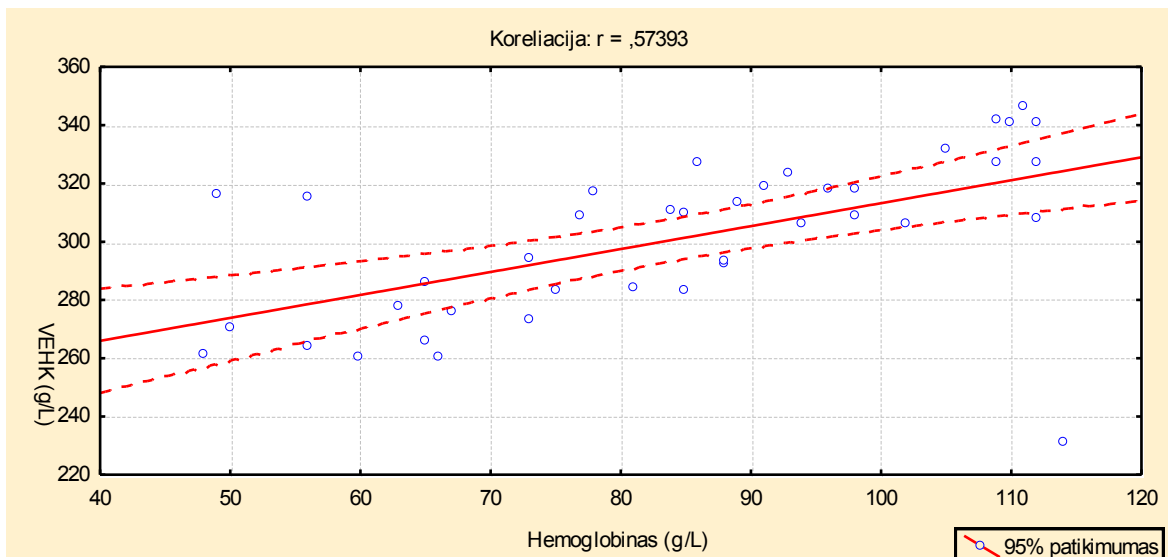
19 pav. Koreliacija tarp eritrocitų skaičiaus ir hematokrito GSA grupėje



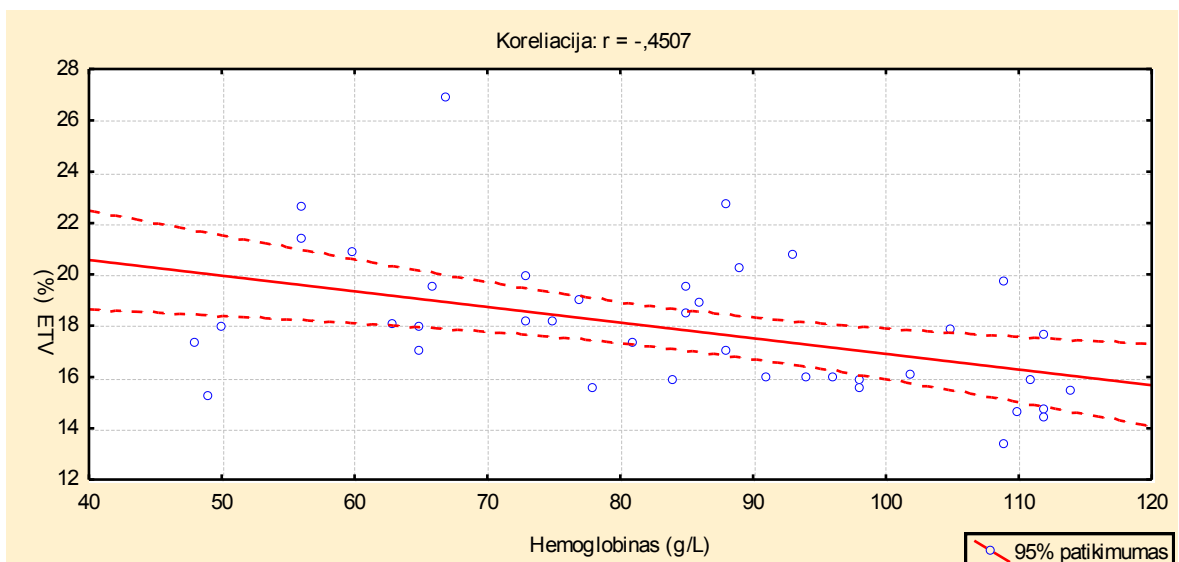
20 pav. Koreliacija tarp eritrocitų skaičiaus ir hematokrito LLA grupėje



21 pav. Koreliacija tarp hemoglobino ir vidutinio eritrocitų tūrio GSA grupėje



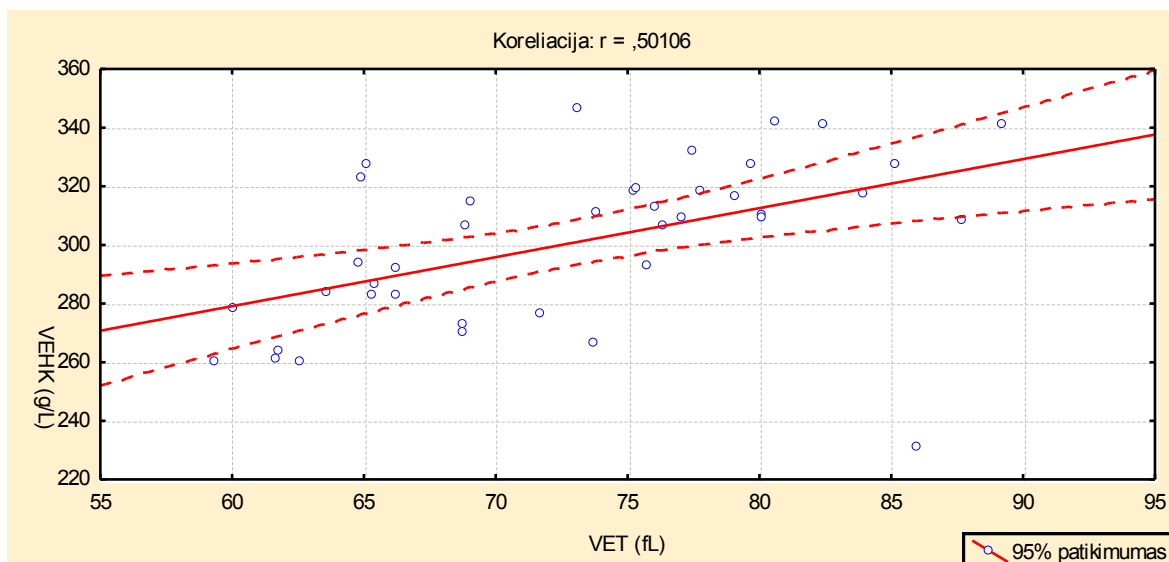
22 pav. Koreliacija tarp hemoglobino koncentracijos ir vidutinės hemoglobino koncentracijos eritrocituose GSA tiriamųjų grupėje



23 pav. Koreliacija tarp hemoglobino ir eritrocitų tūrio variacijos asmenims, sergantiems GSA

GSA grupėje nustatyta koreliacija tarp hemoglobino ir eritrocitų indeksų – vidutinio eritrocitų tūrio (VET), vidutinės hemoglobino koncentracijos eritrocituose (VEHK) bei eritrocitų tūrio variacijos (ETV) pateiktos 21, 22 ir 23 paveiksluose.

Vertinant rodiklių, atspindinčių mikroцитozę ir hipochromiją, tarpusavio ryšį nustatyta vidutinio stiprumo patikima koreliacija tarp VET ir VEHK pacientams GSA grupėje (24 pav.).



24 pav. Vidutinio eritrocitų tūrio koreliacija su vidutine hemoglobino koncentracija eritrocituose GSA tiriamųjų grupėje

#### 4.3 Geležies metabolizmą atspindintys rodikliai ir jų palyginimas GSA ir LLA tiriamųjų grupėse

Vertinant geležies metabolizmą atspindinčių rodiklių skirtumus tirtose grupėse, pažymėtina, kad serumo geležies ir feritino koncentracijų vidurkiai buvo statistiškai patikimai didesni LLA grupėje (4 lentelė).

4 lentelė. Geležies metabolizmo pokyčius atspindinčių rodiklių palyginimas GSA ir LLA grupėse

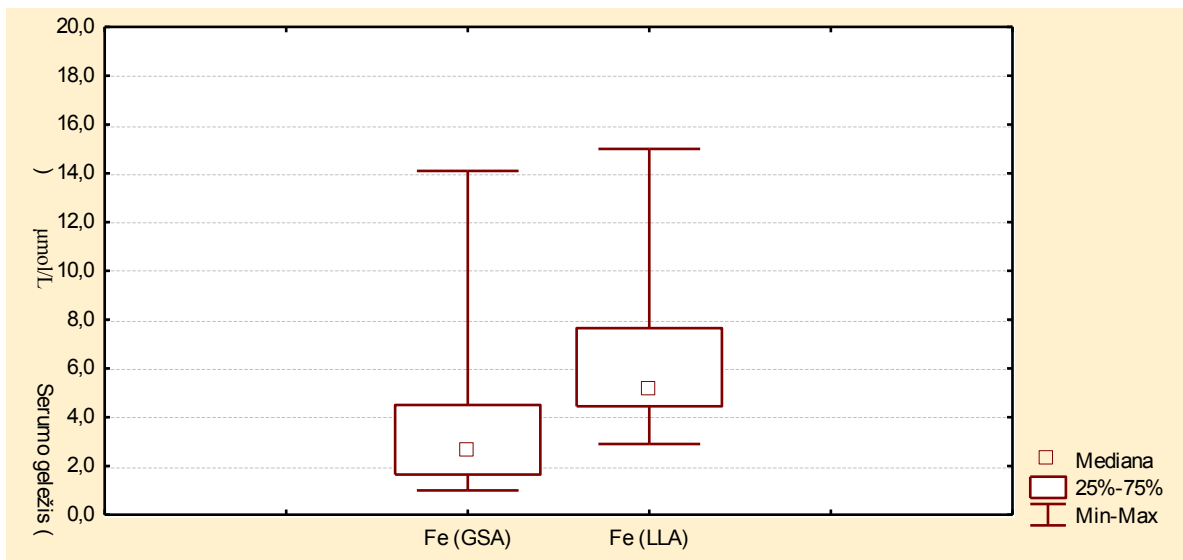
Rodiklis	Vienetai	Sergančių GSA grupė (n=40)	Sergančių LLA grupė (n=20)
Serumo geležis	μmol/L	4,0**±3,46 (1,0-14,1)	6,56**±3,36 (2,9-15,0)
Feritinas	μg/L	9,58***±4,26 (0,0-18,5)	280,6***±275,16 (70,8-1352,3)

Duomenys išreikšti vidurkiais ± standartine paklaida (minimumas - maksimumas)

\*\* statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,01$ )

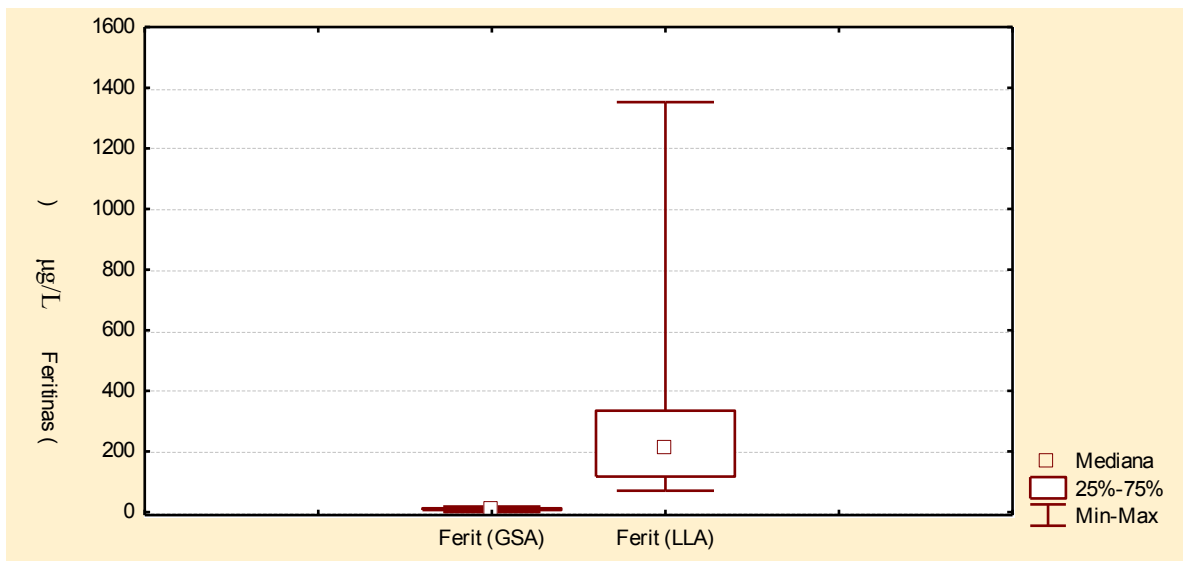
\*\*\* statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,001$ )

Vertinant rezultatus grupėse sumažėjusi serumo geležies koncentracija nustatyta 72,5% pacientų, kuriems buvo diagnozuota GSA ir 30 % pacientų LLA grupėje. Serumo geležies koncentracija normos ribose buvo nustatyta 27,5 % pacientų sergančių GSA ir 70 % LLA. Serumo geležies koncentracijos pasiskirstymas sergančiųjų GSA ir LLA grupėse pavaizduotas 25 paveiksle.



25 pav. Serumo geležies koncentracijos pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse

Vertinant geležies atsargas organizme sumažinta feritino koncentracija nustatyta 100 % pacientų, kuriems diagnozuota GSA, o LLA grupėje feritino koncentracija viršijo normos ribas 45% tiriamųjų (>300 µg/L), virš 100 µg/L nustatyta 50 % pacientų ir 5 % feritino koncentracija nustatyta mažesnė nei 100 µg/L. Feritino koncentracijos pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse pavaizduotas 26 paveiksle.



26 pav. Feritino koncentracijos pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse

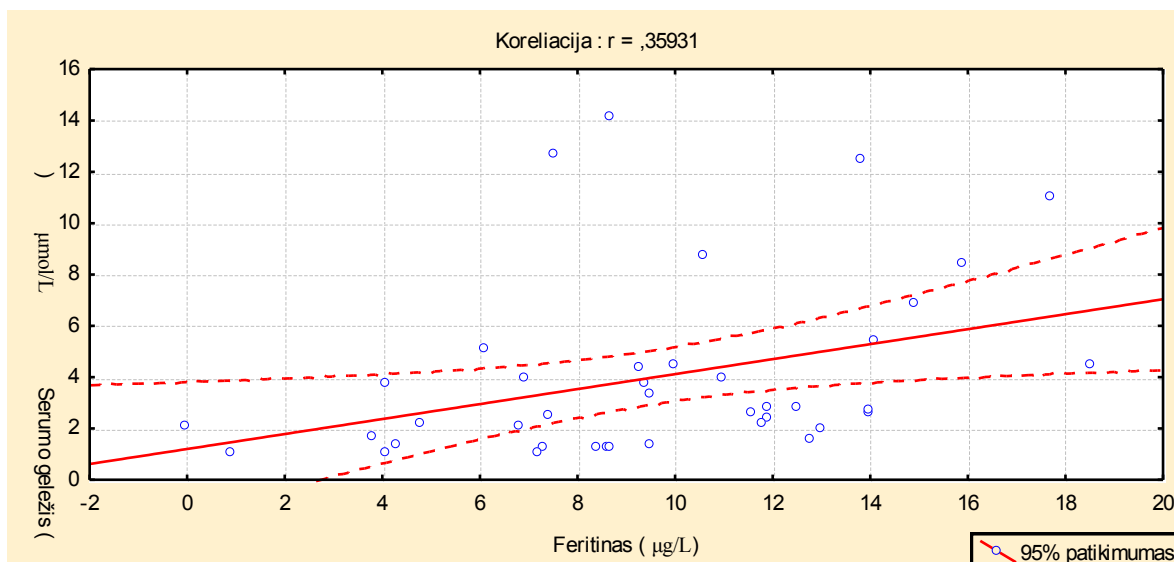
#### 4.4 Geležies metabolizmą atspindinčių rodiklių tarpusavio ryšys GSA ir LLA tiriamųjų grupėse

Analizuojant geležies metabolizmą atspindinčių rodiklių tarpusavio ryšį, nustatyta statistiškai patikima silpna koreliacija tarp serumo geležies ir feritino GSA grupėje (5 lentelė, 27 pav.).

5 lentelė. Geležies metabolizmą atspindinčių rodiklių tarpusavio ryšys grupėse

Rodikliai	Feritinas	
	LLA grupė	GSA grupė
Serumo geležis	0,01	0,36*

Duomenys išreikšti Pearson'o koreliacijos koeficientu (r),  $p^* < 0,05$



27 pav. Koreliacija tarp serumo geležies koncentracijos ir feritino koncentracijos GSA grupėje

GSA ir LLA tiriamųjų grupėse analizuojant hemoglobino koncentracijos ryšį su serumo geležies ir feritino rodikliais statistiškai patikimos koreliacijos nusta-tyta.

#### 4.5 Uždegiminio proceso žymenų palyginimas GSA ir LLA tiriamųjų grupėse

Sergančių GSA ir LLA pacientų kraujyje buvo nustatyti uždegimą atspindintys žymenys (6 lentelė), kurie svarbūs GSA ir LLA diagnostikai.

6 lentelė. GSA ir LLA sergančių asmenų uždegimą atspindintys žymenys

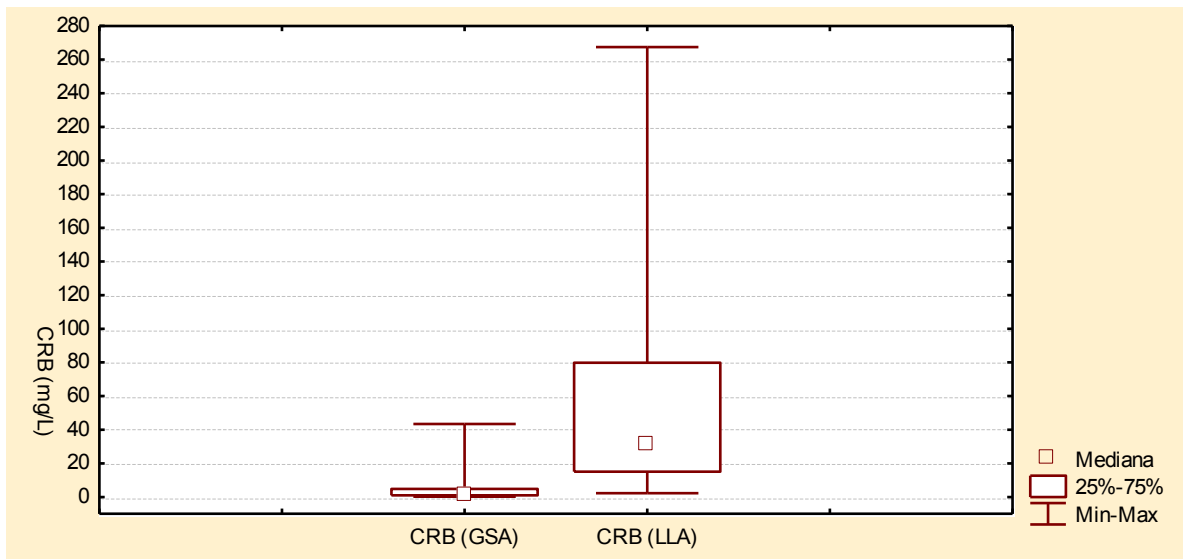
Rodiklis	Vienetai	Sergantieji GSA (n=40)	Sergantieji LLA (n=20)
CRB	mg/L	5,22***±8,77 (0,2-43,44)	65,57***±76,35 (2,3-267,44)
ENG	mm/h	27,42***±18,66 (7-102)	63,85***±24,62 (18-105)
Le	$\times 10^9/L$	6,87**±2,12 (2,9-11,7)	8,73**±2,9 (5,0-16,18)
IG	%	0,29*±0,2 (0,0-0,9)	0,48*±0,49 (0,1-2)
Feritinas	µg/L	9,58***±4,26 (0,0-18,5)	280,6***±275,16 (70-1352,3)

Duomenys išreikšti vidurkiais ± standartinė paklaida (minimumas - maksimumas)

\* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,05$ ), \*\* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,01$ ), \*\*\* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,001$ )

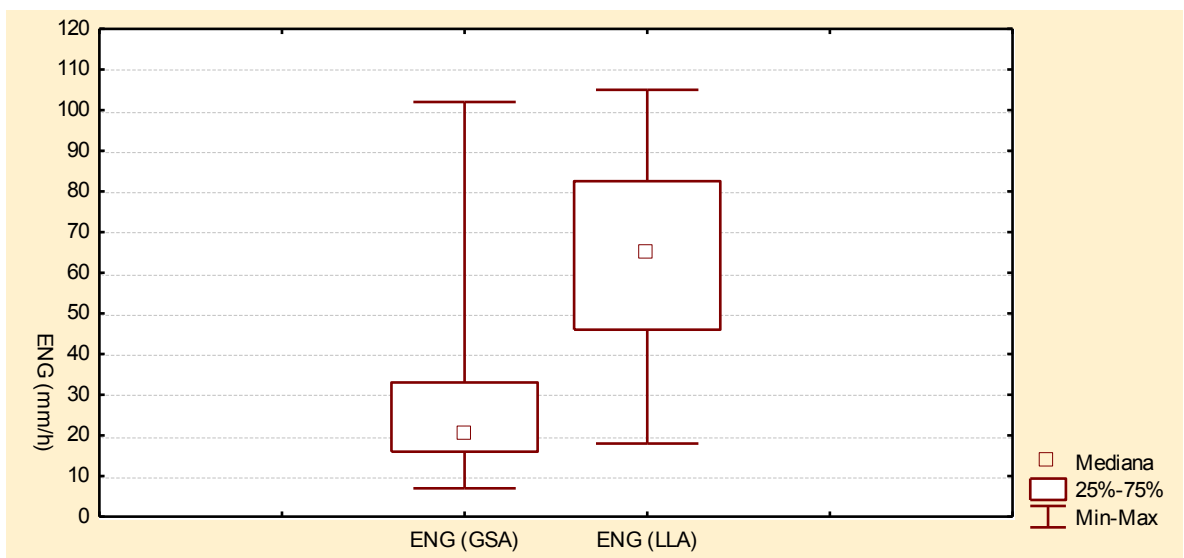
Feritino koncentracija kraujyje gali padidėti vykstant uždegiminiam procesui, esant piktybiniam navikui, sergant kepenų ligomis ir kitų ūmių reakcijų metu, o tada sunku nustatyti geležies stoką. Vertinant uždegiminį procesą atspindinčių žymenų CRB, feritino koncentracijos, ENG, leukocitų skaičiaus ir IG pokyčius tarp sergančių GSA ir LLA asmenų, visi jie buvo statistiškai patikimi (6 lentelė).

Neviršijanti normos ribų CRB koncentracija buvo nustatyta 77,5 % tiriamųjų GSA grupėje ir tik 5 % LLA grupėje. C reaktyvaus baltymo koncentracijų pasiskirstymas tiriamųjų pacientų kraujo serume pavaizduotas 28 paveiksle.



28 pav. CRB koncentracijos pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse

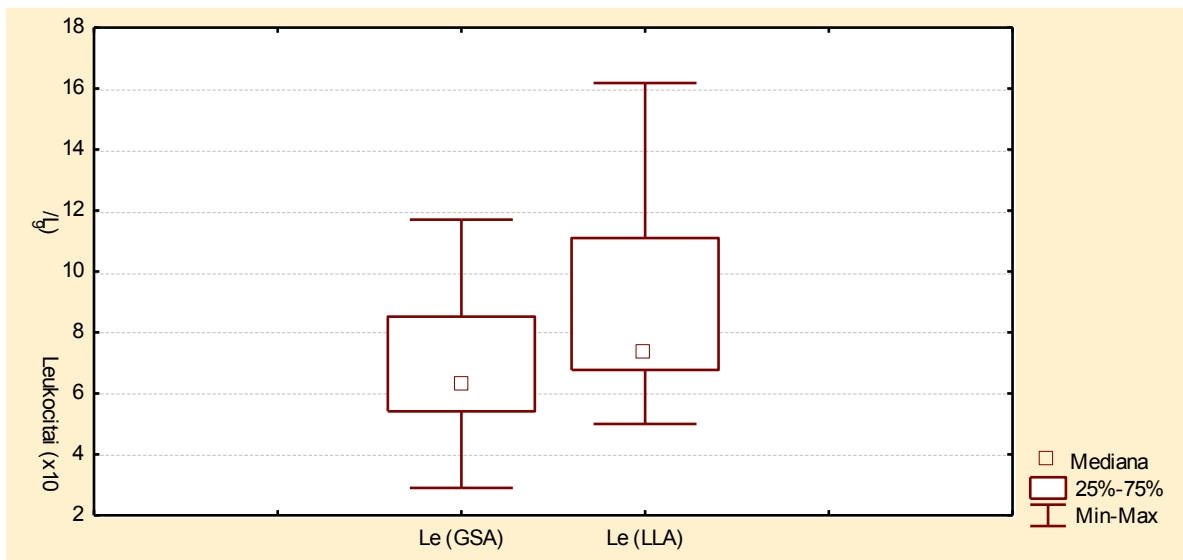
ENG normos ribose buvo nustatyta 67,5 % tiriamųjų GSA grupėje ir tik 10 % tiriamųjų LLA grupėje (29 pav.)



29 pav. ENG pasiskirstymas grupėse, tiriant GSA ir LLA

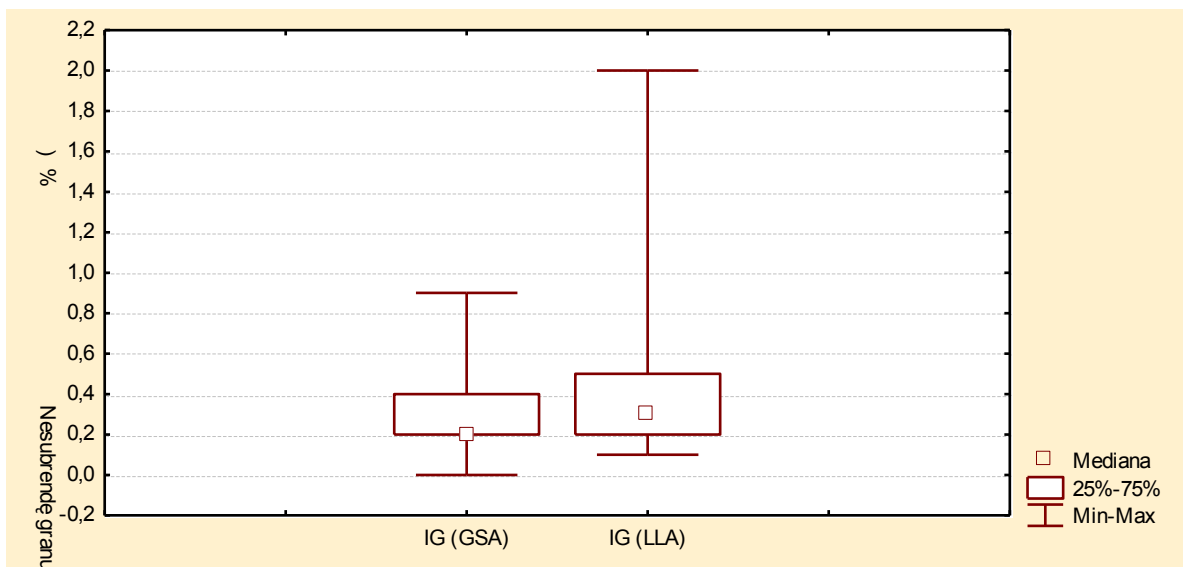
Leukocitų skaičius neviršijantis normos ribų buvo nustatytas 87,5 % tiriamųjų GSA grupėje, o 10 % tiriamųjų šioje grupėje nustatyta leukopenija. LLA pacientų grupėje

leukocitų skaičius neviršijantis normos buvo nustatytas 80 % tiriamųjų. Šio rodiklio reikšmių pasiskirstymas tirtose grupėse pavaizduotas 30 paveiksle.



30 pav. Leukocitų skaičiaus pasiskirstymas sergančiųjų GSA ir LLA grupėse

IG rodiklis, neviršijantis 1 %, nustatytas 80 % pacientų LLA grupėje ir 100 % pacientų GSA grupėje. Hematologiniu analizatoriumi nustatytas nesubrendusių granulocitų reikšmių pasiskirstymas pavaizduotas 31 paveiksle.



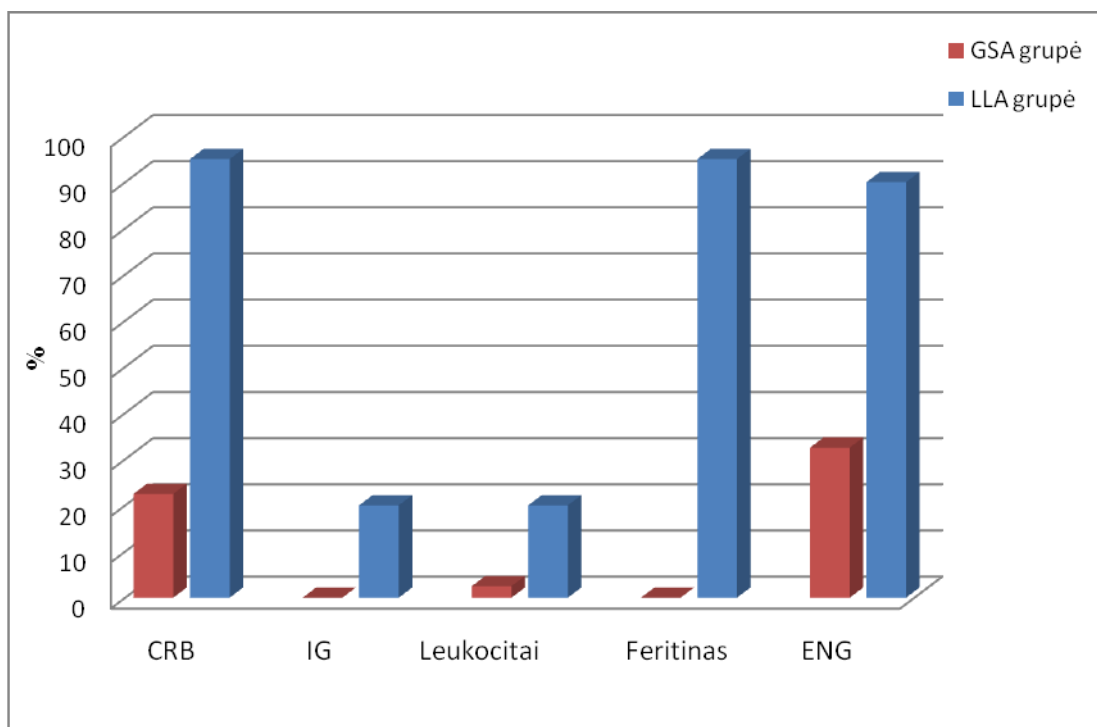
31 pav. IG pasiskirstymas GSA ir LLA grupėse

Analizuojant feritino koncentraciją, nustatyta, kad 100 % GSA grupės pacientų feritino koncentracija sumažėjusi, nors kiti uždegimą rodantys žymenys ENG (32,5 % tiriamųjų), CRB (22,5 % tiriamųjų) buvo padidėję. Feritino koncentracijos pasiskirstymas tirtų pacientų serume pavaizduotas 26 paveiksle.

Lyginant uždegiminį procesą atspindinčių žymenų pokyčius tarp sergančiųjų GSA ir LLA, nustatyta, kad CRB koncentracija buvo padidėjusi 22,5 % tiriamųjų GSA grupėje bei 95 % pacientų LLA grupėje, leukocitų skaičius ir IG reikšmės viršijo normos ribas 20 % sergančiųjų LLA. Feritino koncentracija virš 100  $\mu\text{g/L}$  nustatyta 95 % tiriamųjų LLA



grupėje. Padidėjęs ENG nustatytas 90 % pacientų LLA grupėje bei 32,5 % pacientų GSA grupėje (32 pav.).



32 pav. Sergančių GSA ir LLA asmenų skaičius (%) su uždegiminio proceso žymenų pokyčiais.

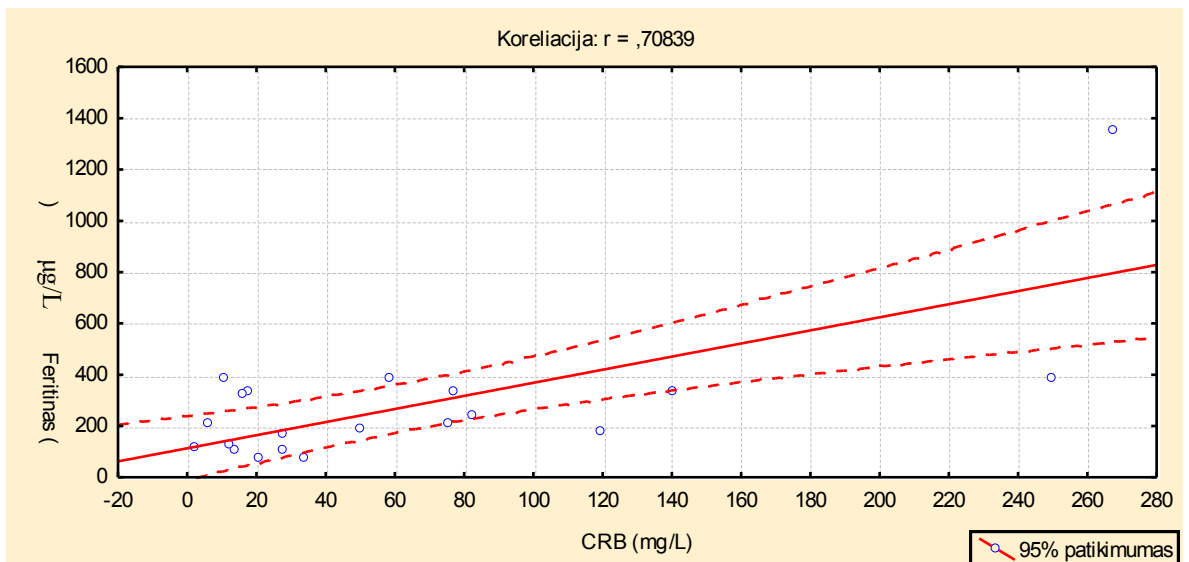
#### 4.6 Uždegiminio proceso žymenų tarpusavio ryšys GSA ir LLA grupėse

Įvertinus uždegimą atspindinčių žymenų tarpusavio ryšį sergančiųjų LLA grupėje, gautos koreliacijos tarp CRB ir feritino, CRB ir ENG, CRB ir leukocitų, leukocitų ir ENG, ENG ir IG, leukocitų ir feritino (7 lentelė 33, 34, 35 pav.). Tuo tarpu GSA grupės pacientams nustatyta tik silpna koreliacija tarp IG ir citomorfologinio kraujo tepinėlio tyrimo, išskiriant nesubrendusius granulocitus (mielocitus, metamielocitus) į vieną grupę. Statistiškai patikimos koreliacijos pateiktos 7 lentelėje.

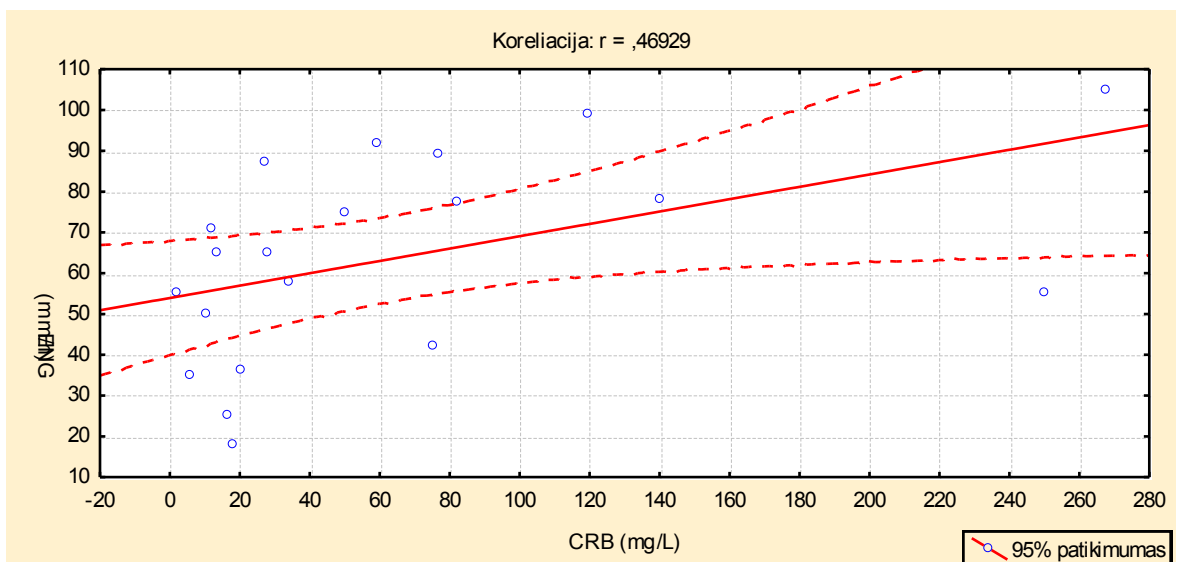
7 lentelė. Uždegimą atspindinčių žymenų ryšys GSA ir LLA grupėse

Rodiklis	LLA grupė				GSA grupė
	CRB	IG	ENG	leukocitai	IG
Feritinas	0,71***			0,59**	
ENG	0,47*	0,62**			
Leukocitai	0,57**		0,51*		
IG citomorfologiškai rasti		0,42			0,49**

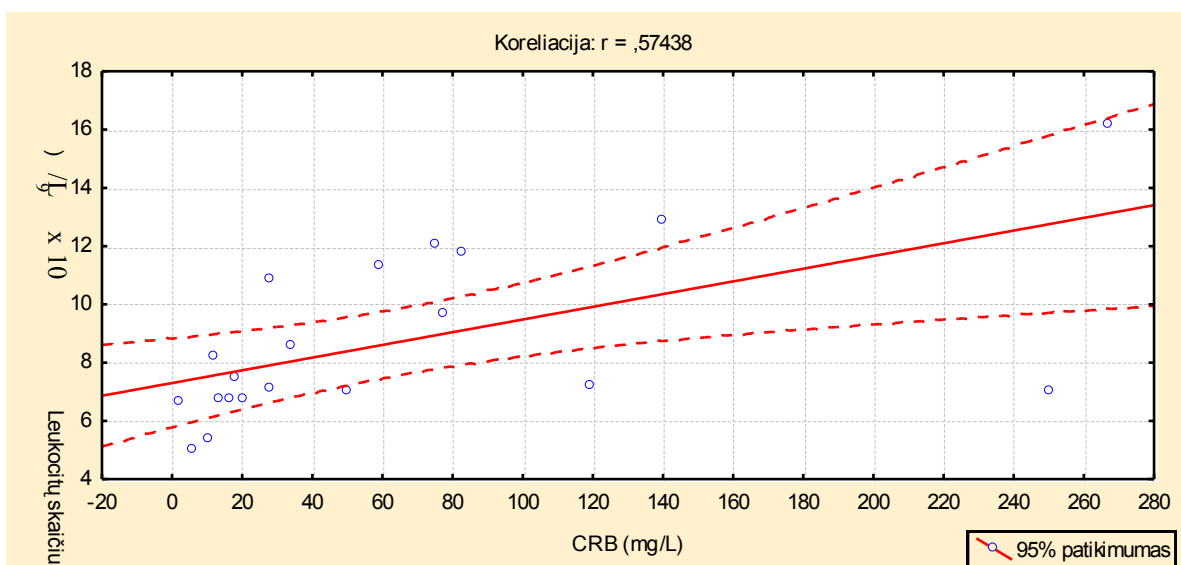
Duomenys išreikšti Pearson'o koreliacijos koeficientu (r), \* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,05$ ), \*\* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,01$ ), \*\*\* - statistiškai patikimas rezultatas ( $p < 0,001$ )



33 pav. Feritino koreliacija su CRB tiriamiesiems LLA grupėje



34 pav. ENG koreliacija su CRB tiriamiesiems LLA grupėje



35 pav. Leukocitų skaičiaus koreliacija su CRB tiriamiesiems LLA grupėje

## 5. REZULTATŲ APITARIMAS

Šio darbo tikslas buvo tirti geležies stokos ir lėtinių ligų anemiją atspindinčius biocheminius ir klinikinius laboratorinius rodiklius pacientų kraujyje, įvertinti tiriamų rodiklių reikšmę anemijų diagnostikai. Tyrimo metu ištirta 40 asmenų, sergančių GSA, ir 20 asmenų, sergančių LLA. Tiek GSA, tiek LLA sergančiųjų grupę sudarė 85 % moterų ir 15 % vyrų. GSA grupėje amžiaus vidurkis  $53,6 \pm 20$  metų, LLA grupėje amžiaus vidurkis  $59,1 \pm 22,9$  metai. Sergančių GSA grupėje buvo 30 % iki 40 metų, 32,5 % - nuo 40 – 60 metų ir 37,5 % - virš 60 metų amžiaus asmenų. Sergančių LLA grupėje - 25 % asmenų buvo iki 40 metų, 10 % - nuo 40 iki 60 metų ir 65 % - virš 60 metų, t.y. lėtinių ligų anemija daugiau serga vyresnio amžiaus žmonės [55].

Įvertinus anemiją atspindinčius laboratorinius diagnostinius rodiklius GSA ir LLA tiriamųjų grupėse statistiškai patikimai skyrėsi hemoglobino koncentracijos bei raudonojo kraujo indeksų – VET, VHE, VEHK ir ETV vidutinės reikšmės. Hemoglobino koncentracijos, VET, VEH, VEHK rodiklių reikšmės statistiškai patikimai didesnės LLA sergantiems asmenims, VET indeksas statistiškai patikimai didesnis GSA sergantiems asmenims. Tyrimo metu gauti rezultatai sutampa su mokslinėje literatūroje aprašytais atvejais, kad pacientai, sergantys GSA yra labiau anemiški lyginant su LLA pacientais [19].

Vertinant eritrocitų mikrocitozę ir hipochromiją atspindinčius indeksus (VET, VEHK), GSA grupėje 52,5 % pacientų nustatyta mikrocitinė hipochrominė anemija, o sergantiems LLA 5 % tiriamųjų. Literatūroje aprašyta, kad LLA paprastai yra normocitinės normochrominės, tačiau asmenims ilgai sergantiems reumatoidiniu artritu ar lėtine infekcija gali būti ir mikrocitinė hipochrominė anemija [13]. Įvertinus eritrocitų indeksus LLA grupėje normocitinė normochrominė anemija nustatyta 60 % pacientų, 25 % tiriamųjų šioje grupėje eritrocitai mikrocitiniai normochrominiai ir 10 % normocitiniai hipochrominiai. GSA pasireiškia eritrocitų hipochromija ir mikrocitoze, tačiau tai išryškėja tik tuomet, kai anemija sunki, ir prieš tyrimą ligoniai nebuvo gydyti geležies preparatais. GSA pradžioje yra normocitinė normochrominė [7]. Atlikto tyrimo metu GSA grupėje 10% pacientų nustatyta normocitinė normochrominė anemija, 32,5 % ligonių - eritrocitai mikrocitiniai normochrominiai ir 5 % normocitiniai hipochrominiai. Remiantis literatūros duomenimis [13] galėtume paaiškinti, kad galbūt 47,5 % ligonių GSA pasireiškė neseniai, be to 95 % pacientų GSA grupėje nustatytas padidėjęs eritrocitų anizocitozę atspindintis ETV rodiklis. Literatūroje rašoma, kad ankstyvu GSA evoliucijos laikotarpiu vienintelis morfologinis požymis gali būti eritrocitų anizocitozė [7]. Taip pat tyrimo metu nebuvo tirti

kiti veiksniai, įtakojantys tyrimo rezultatus. Literatūroje rašoma, kad rūkymas didina hemoglobino koncentraciją, eritrocitų skaičių, padidėja VET, taip pat VET reikšmės didina ilgalaikis alkoholio vartojimas [36].

Analizuojant anemiją atspindinčių raudonojo kraujo rodiklių tarpusavio ryšį, nustatytos statistiškai patikimos vidutinio stiprumo ir stiprios koreliacijos tarp hemoglobino koncentracijos ir eritrocitų skaičiaus bei tarp hemoglobino koncentracijos ir hematokrito tiek GSA, tiek LLA sergantiems asmenims. GSA tiriamųjų grupėje nustatytas statistiškai patikimas neigiamas koreliacinis ryšys tarp hemoglobino koncentracijos ir ETV ( $r = -0,45$ ,  $p < 0,01$ ), bei VET ir ETV ( $r = -0,55$ ,  $p < 0,001$ ). Tai rodo, kad kuo mažesnė hemoglobino koncentracija bei ryškesnė eritrocitų mikrocitozė, tuo labiau išryškėja eritrocitų anizocitozė pacientams, sergantiems GSA.

Vertinant geležies metabolizmą atspindinčių rodiklių skirtumus tirtose grupėse, pažymėtina, kad serumo geležies ir feritino koncentracijų vidutinės reikšmės buvo statistiškai patikimai didesnės LLA grupėje. GSA tiriamųjų grupėje nustatytos sumažintos vidutinės koncentracijos tiek serumo geležies ( $4,0 \pm 3,46$ ), tiek feritino ( $9,58 \pm 4,26$ ) ir hemoglobino ( $84,92 \pm 19,94$ ) lyginant su LLA sergančių asmenų serumo geležies ( $6,56 \pm 3,36$ ), feritino ( $280,6 \pm 275,16$ ) ir hemoglobino ( $96,1 \pm 14,15$ ) koncentracijomis. Sumažėjusi serumo geležies koncentracija nustatyta 72,5 % pacientų, kuriems buvo diagnozuota GSA ir 30 % pacientų, kuriems diagnozuota LLA. Serumo geležies koncentracija normos ribose buvo nustatyta 27,5 % asmenų, sergančių GSA ir 70 % - sergančių LLA. Literatūroje rašoma, kad hipoferemija yra būdingas, tačiau nepakankamai specifiškas ir palyginti vėlyvas geležies stokos požymis [7], o feritino koncentracija serume tiksliai parodo bendrą bei makrofaguose deponuotos geležies kiekį ir yra patikimas geležies stokos bei pertekliaus rodiklis [7]. Sergant karcinoma ar limfoma geležies koncentracija serume g.b. normos ribose ar net padidėjusi [26]. Paprastai serumo geležies koncentracija mažesnė moterims premenopauzėje, lyginant su vyrais, ir šis skirtumas išnyksta vyresniems nei 65 metų asmenims. Taip pat serumo geležies koncentracija kinta priklausomai nuo paros laiko - geležies koncentracija aukštesnė ryte, o žemesnė vakare [37].

Analizuojant geležies metabolizmą atspindinčių rodiklių tarpusavio ryšį, nustatyta statistiškai patikima silpna koreliacija tarp serumo geležies ir feritino GSA grupėje.

Tyrimo metu nustatyti statistiškai patikimi uždegiminį procesą atspindinčių žymenų (CRB, feritino koncentracijos, ENG, leukocitų skaičiaus ir IG) pokyčiai tarp sergančių GSA ir LLA asmenų.

Lyginant uždegiminį procesą atspindinčius žymenų pokyčius tarp sergančiųjų GSA ir LLA, nustatyta padidėjusi CRB koncentracija 22,5 % tiriamųjų GSA grupėje, bei 95 % pacientų LLA grupėje, o padidėjęs ENG nustatytas 32,5 % pacientų GSA grupėje bei 90 % pacientų LLA grupėje. GSA tiriamųjų grupėje nustatyta sumažinta serumo feritino koncentracija visiems tiriamiesiems, nors uždegiminiai žymenys (CRB, ENG) viršijo normos ribas. LLA grupėje leukocitų skaičius ir IG reikšmės viršijo normos ribas 20 % pacientų, bei nustatyta padidėjusi feritino koncentracija 45% tiriamųjų (>300 µg/L), virš 100 µg/L nustatyta 50 % pacientų ir 5 % feritino koncentracija nustatyta mažesnė nei 100 µg/L. Literatūroje rašoma, kad esant feritino koncentracijai daugiau 100 µg/L diagnozuojama LLA [57].

Nors LLA grupėje visiems pacientams diagnozuota anemija, tačiau padidėję uždegiminį procesą atspindintys žymenys (CRB, ENG, Le, IG) apsunkina LLA diagnostiką. Literatūroje rašoma, kad feritino koncentracija gali padidėti uždegiminių reakcijų metu ir apsunkinti GSA ir LLA diferencinę diagnostiką.

Kadangi feritinas yra ŪFB ir uždegiminiai citokinai skatina jo sintezę, todėl vykstant uždegiminiam procesui, esant piktybiniam navikui, sunku nustatyti geležies stoką [26, 58]. Diagnozuoti anemiją gali padėti serumo transferino receptorių (sTfR) tyrimas, kurio vertės padidėja GSA atveju, bet, skirtingai nei feritinas, esant uždegimui ar infekcijai sTfR nepadidėja ar net sumažėja [26], nes geležies netrūksta, o tik slopinamas jos atsipalaidavimas iš atsargų kaulų čiulpuose [30]. Todėl esant uždegimui tikslinga būtų tirti ir sTfR, nes literatūros duomenys nurodo [30], kad sTfR ir feritino santykio logaritmas  $\log(sTfR/feritinas)$  yra geriausias LLA ir GSA diferenciacijos indeksas. Esant feritino koncentracijai mažiau 100 µg/L bei  $\log(sTfR/feritino) < 1$ , diagnozuojama LLA su geležies deficitu [57].

Įvertinus uždegimą atspindinčių žymenų tarpusavio ryšį sergančiųjų LLA grupėje gauta statistiškai patikima stipri koreliacija tarp CRB ir feritino parodo, kad didėjant CRB reikšmėms didėja ir feritino koncentracija. Taip pat nustatytos statistiškai patikimos koreliacijos tarp leukocitų ir ENG, ENG ir IG, leukocitų ir feritino.

Kitas naujas rodiklis svarbus GSA ir LLA diferencinei diagnostikai serumo hepcidinas, kurio didelės koncentracijos būdingos LLA, o mažos – GSA [23].

## 6. IŠVADOS

- Įvertinus anemiją atspindinčius kraujo rodiklius asmenims, sergantiems geležies stokos ir lėtinių ligų anemija nustatyta, kad hemoglobino koncentracijos bei eritrocitų indeksų VET, VHE, VEHK vidutinės vertės buvo statistiškai patikimai didesnės LLA tiriamųjų grupėje, o ETV indeksas statistiškai patikimai didesnis sergantiems GSA. GSA grupėje dominavo mikrocitinė hipochrominė anemija, o LLA grupėje – normocitinė normochrominė anemija.
- Įvertinus geležies metabolizmo rodiklių pokyčius geležies stokos ir lėtinių ligų anemijų grupėse, nustatytos statistiškai patikimai didesnės geležies metabolizmą atspindinčių rodiklių reikšmės LLA grupėje.
- Palyginus uždegiminį procesą atspindinčių žymenų pokyčius geležies stokos ir lėtinių ligų anemijų grupėse nustatytos statistiškai patikimai didesnės uždegiminių žymenų reikšmės LLA tiriamųjų grupėje.
- Įvertinus uždegimą atspindinčių žymenų tarpusavio ryšį LLA grupėje gauta statistiškai patikima stipri koreliacija tarp CRB ir feritino. Tai parodo, kad uždegiminiai citokinai galėjo skatinti feritino sintezę, todėl būtų tikslinga tirti ir sTfR, nes sTfR ir feritino santykio logaritmas  $\log(sTfR/feritinas)$  svarbus LLA ir GSA diferenciacijos indeksas.

## 7. LITERATŪROS ŠARAŠAS

1. Aixala MT, Sarandria CN. Microspherocytosis. Erythroid profile and its relation with different laboratory test. *Medicina* 2001; 61 (4): 417-23
2. Anderson GJ, Frazer DM, McKie AT, Vulpe CD, Smith A. Mechanisms of haem and non-haem iron absorption: lessons from inherited disorders of iron metabolism. *Bio-Metals* 2005; 18: 339–48
3. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *The New England Journal of Medicine* 1999; 341(26): 187
4. Andrews NC. Understanding heme transport. *The New England Journal of Medicine* 2005; 353( 23): 2508-9
5. Atanasiu V, Manolescu B, Stoian I. Heparin – central regulator of iron metabolism. *European Journal of Haematology* 2007; 78: 1-10
6. Bain BJ, Path FR. Diagnosis from the Blood Smear. *The New England Journal of Medicine* 2005; 353: 498-507
7. Balsys J. Anemijos. Vilnius: Vilniaus universiteto leidykla, 1999; 38-49, 78-81
8. Brigden ML. Clinical utility of the erythrocyte sedimentation rate. *American Family Physician* 1999; 60: 1443-50
9. Buttarello M and Plebani M. Automated blood cell counts. *American Journal of Clinical Pathology* 2008; 130: 105-110
10. Chen H, Su T, Attieh ZK, Fox TC, McKie AT, Anderson GJ, et al. Systemic regulation of hephaestin and Ireg1 revealed in studies of genetic and nutritional iron deficiency. *Blood* 2003; 102: 1893–99
11. Deicher R and Hörl WH. New insights into the regulation of iron homeostasis. *European Journal of Clinical Investigation* 2006; 36: 301–309
12. Donovan A, Lima CA, Pinkus JK, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, Andrews NC. The iron exporter ferroportin/ Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab* 2005; 1:191–200
13. Fauci AS, Harrison TR. Harrison's principles of internal medicine. 17<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Professional, 2008; 633
14. Fleming R. E. and Bacon B.R. Orchestration of iron homeostasis. *The New England Journal of Medicine* 2005; 352: 1741-3
15. Ganz T. Heparin a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102: 783-8

16. Ganz T. Hcpidin in iron metabolism. *Current Opinion in Hematology* 2004; 11: 251–4
17. Haferlach T, Rastetter J, Begemann H. Atlas of clinical hematology. 6<sup>th</sup> ed. Springer, 2004; 31-35, 80
18. Harrington AM and Kroft SH. Pencil cells and preceratocytes in iron deficiency anemia. *American Journal of Hematology* 2008; 83: 927
19. Harrington AM, Ward PCJ, Kroft SH. Iron deficiency anemia,  $\beta$ -thalassemia minor, and anemia of chronic disease. *American Journal of Clinical Pathology* 2008;129:466-71
20. Hillman RS, Ault KA, Rinder HM, et al. Hematology in clinical practice. 4<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill, 2005; 2-3, 14-23
21. Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH, Essential Haematology. Blackwell Publishing, 2001; 15-17
22. Jurgutis M. Raudonojo kraujo rodiklių reikšmė vertinant geležies poreikį eritropoezei. *Laboratorinė medicina* 2004; 1(21): 26-28
23. Kemna EHJM, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Hcpidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 2008; 1(93): 90-97
24. Knutson MD, Vafa MR, Haile DJ, Wessling-Resnick M. Iron loading and erythrophagocytosis increase ferroportin 1 (FPN1) expression in J774 macrophages. *Blood* 2003; 102: 4191–7
25. Kotisaari S, Romppanen J, et al. The Advia 120 redblood cell and reticulocyte indices are useful in diagnosis of iron – deficiency anemia. *European Journal of Haematology* 2002; 68: 150-6
26. Lichtman MA, Williams WJ, Beutler E, Kaushansky K, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal J. Williams Hematology. 7<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Professional, 2005; 567-8
27. Löffler H, Rastetter J, Haferlach T. Atlas of clinical hematology. Spriger, 2005; 31-32
28. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Basic medical biochemistry – a clinical approach. Williams & Wilkins, 1996; 627-30
29. Matuzevičienė R, Jurgutis R. Raudonojo kraujo tyrimas ir jo interpretacija. *Laboratorinė medicina* 1999; 4: 25-30
30. Matuzevičienė R. Šiuolaikinė laboratorinė anemijos sindromo diagnostika. *Laboratorinė medicina* 2007; 4(36): 200-210
31. McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, et al. An iron regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* 2001; 291: 1755–9



32. McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D, et al. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Molecular Cell* 2000; 5: 299–309
33. McPherson RA, Pincus MR, Henry JB. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. 21<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007
34. Miret S, Simpson RJ, McKie AT. Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. *Annual Review of Nutrition* 2003; 23: 283-301
35. Munker R, Hiller E, Glass J, Paquette R. Modern hematology – biology and clinical management. Humana Press, 2007; 5-7
36. Narayanan S. Preanalytical issues in hematology. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 2003; 27: 243-4
37. Narayanan S. The Preanalytical phase an important component of laboratory medicine. *American Journal of Clinical Pathology* 2000; 113: 431
38. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *The Journal of Clinical Investigation* 2004; 113: 1271-6
39. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003; 101: 2461–3
40. Oldenburg B, Koningsberger JC, Van Berge Henegouwen GP, Van Asbeck BS & Marx JJM. Review Article: Iron and inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 2001; 15: 429-38
41. Operators manual automated hematology analyser Sysmex XE – 2100. Japan: Sysmex corporation, 2006.
42. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis - a new look at an old disease. *New England Journal of Medicine* 2004; 350: 2383-97
43. Quigley JG, Yang Z, Orthington MT, et al. Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis. *Cell* 2004; 118: 757-66
44. Ragelienė L. Vaikų hematologija. Vilnius: Vaistų žinios, 2002; 65-75
45. Roy CN, Andrews NC. Anemia of inflammation: the hepcidin link. *Current Opinion in Hematology* 2005; 12: 107–111
46. Sandhaus LM, Mayer P. How useful are CBC and reticulocyte reports to clinicians? *American Journal of Clinical Pathology* 2002; 118: 789-91
47. Shayeghi M, Latunde-Dada GO, Oakhill JS, et al. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 2005; 122: 789-801

48. Simovich MJ, Conrad ME, Umbreit JN, Moore EG, Hainsworth LN, Smith HK. Cellular location of proteins related to iron absorption and transport. *American Journal of Hematology* 2002; 69: 164-70
49. Spivak JL. The blood in systemic disorders. *Lancet* 2000; 355: 1707–12
50. Strippoli GFM, Craig JC, Manno C and Schena FP. Hemoglobin targets for the anemia of chronic kidney disease: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Journal of the American Society of Nephrology* 2004; 15: 3154–65
51. Tefferi A. Primary Hematology. Humana Press, 2000; 8 – 11
52. Thempl H, Diem H, Haferlach T. Color atlas of hematology – practical microscopic and clinical diagnosis. Thieme, 2004; 128 -135
53. Thomas C and Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clinical Chemistry* 2002; 48(7): 1066–1076
54. Tilg H, Ulmer H, Kaser A, Weiss G. Role of IL-10 for induction of anemia during inflammation. *Journal of Immunology* 2002; 169: 2204-9
55. Tkachuk DC, Hirschmann JV, Wintrobe MM. Wintrobe’s atlas of clinical hematology. Lippincott Williams and Wilkins, 2006; 1-6
56. Turgeon ML. Clinical hematology – theory and procedures. Lippincott Williams and Wilkins, 2004; 132-7
57. Weis G, Goodnough TL. Anemia of chronic disease. *The New England Journal of Medicine* 2005; 10 (352): 1011-23
58. Wintrobe MM, Greer JP, Arber DA, Foerster J, Glader BE, Means BC. Wintrobe’s Clinical Hematology. 12<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008; 785-93
59. [www.abbottdiagnostics.com/webapp/index.cfm?event=getPDF&controlNumber=303079](http://www.abbottdiagnostics.com/webapp/index.cfm?event=getPDF&controlNumber=303079)
60. [www.abbottdiagnostics.com/webapp/index.cfm?event=getPDF&controlNumber=38003666](http://www.abbottdiagnostics.com/webapp/index.cfm?event=getPDF&controlNumber=38003666)
61. [www.abbottdiagnostics.com/webapp/index.cfm?event=getPDF&controlNumber=303915](http://www.abbottdiagnostics.com/webapp/index.cfm?event=getPDF&controlNumber=303915)
62. Ziegler EE, Filer LJ. International life sciences institute - nutrition foundation. Present knowledge in nutrition. 7<sup>th</sup> ed. ILSI Press: International Life Sciences Institute, 1996; 277-89

## **PADĖKA**

Nuoširdžiai dėkoju dr. doc. R. Budrionienei už vertingas pastabas, galimybę tobulėti ir nuoširdų bendradarbiavimą ruošiant magistro darbą.

Dėkoju visiems dėstytojams, kurie pasidalino savo patirtimi, suteikė vertingų teorinių ir praktinių žinių.