

INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV LABORATORNEHO STANOVENIA SOLUBILNÉHO TRANSFERÍNOVÉHO RECEPTORU U PACIENTOV S ANÉMIOU

VLADIMÍR MELUŠ^a, JANA NETRIOVÁ^{a,b},
ZDENKA KRAJČOVIČOVÁ^a a ALŽBETA
BALÍKOVÁ^b

^a *Fakulta zdravotníctva, Trenčianska Univerzita Alexandra
Dubčeka v Trenčíne, Študentská 2, 911 01 Trenčín,*

^b *Oddelenie klinickej biochémie a hematológie, Nemocnica
Svätého Michala, a.s., Cesta na Červený most 1, 811 05
Bratislava*

vladimir.melus@tnuni.sk

Došlo 12.7.13, prijaté 29.8.13.

Kľúčové slová: anémia, solubilný transferínový receptor,
transferínový index, stredný objem erytrocytov

Úvod

Anémie predstavujú v súčasnosti závažný problém z hľadiska verejného zdravotníctva jednotlivých štátov. Prítomnosť anémie sa overuje stanovením koncentrácie hemoglobínu (Hb). Hodnoty Hb nižšie ako 135 g l⁻¹ u mužov a 120 g l⁻¹ u žien indikujú prítomnosť anémie¹. Z hľadiska morfolologickej klasifikácie sa podľa stredného objemu erytrocytov (z angl. mean cell volume, MCV) delia anémie na mikrocytové, normocytové a makrocytové². MCV je definovaný ako objem priemernej červenej krvinky v danej vzorke³. Hodnoty MCV nad 100 fl predznamenávajú makrocytové anémie, typické pre ochorenia pečene, retikulocytózu, hypotyreózu a megaloblastickú anémiu. Výsledok MCV nižší ako 80 fl signalizuje deficit železa, talasémie alebo chronické choroby, ktoré sú sprevádzané anémiou (z angl. anaemia of chronic diseases, ACD)^{3,4}. Ďalším dôležitým laboratorným parametrom je solubilný transferínový receptor (sTfR), ktorý slúži na rozlíšenie anémie z nedostatku železa od ACD⁵. sTfR je dimérový proteín zložený z dvoch identických podjednotiek, ktoré sú vzájomne spojené dvomi disulfidovými väzbami⁶. Vzniká proteolýzou transferínového receptora (TfR), čo je integrálny membránový glykoproteín⁷. C-terminálna časť každého monoméru môže viazať jednu molekulu transferínu s naviazaným atómom Fe. Koncentrácia sTfR v sére je priamo úmerná koncentrácii TfR v membránach⁸. V prípade anémie z nedostatku železa je jeho koncentrácia zvýšená. Odvodeným parametrom je TfR-index, ktorý využíva okrem koncentrácie sTfR aj koncentráciu ferritínu, pričom sa vypočítava

podľa vzťahu: TfR-index = sTfR/ log ferritin (cit.^{9,10}).

V súčasnosti sa stanovenia sTfR a TfR-indexu javia ako najspôľahlivejšie parametre, pretože ich koncentrácie nie sú ovplyvnené zápalovými procesmi^{11,12}.

Cieľom našej práce bolo analyzovať biochemické parametre sTfR a sTfR-indexu v súvislosti s diagnostikou anémii a overiť ich výpovednú hodnotu na vybranej vyšetrenej populácii v SR. Práca preto vyžadovala vyriešenie čiastkových úloh: (i) overiť význam rozdielov medzi priemernými hodnotami jednotlivých parametrov metabolizmu železa u pacientov s mikrocytovou, normocytovou a makrocytovou anémiou, (ii) porovnať rozdiely v strednej hodnote uvedených parametrov metabolizmu železa v skupine pacientov so stanovenými koncentraciami sTfR a vypočítaným TfR-indexom.

Experimentálna časť

K dispozícii sme mali súbor 425 pacientov vyšetrených za štvrtročné obdobie. Údaje pacientov boli hodnotené retrospektívne, pričom numerické údaje boli z databázy spracované tak, aby bola zaručená anonymita osobných údajov. Okrem vyšetrení, ktoré boli požadované a objednané ordinujúcimi lekármi neboli na vzorkách vykonané žiadne iné úkony ani vyšetrenia. Základné parametre metabolizmu Fe boli stanovené u všetkých 425 pacientov, z ktorých bolo 280 žien a 145 mužov. Vyšetrované parametre boli: MCV, MCH, foláty, vitamín B12, ferritín, väzbová kapacita železa (VKFe), transferín a retikulocyty. Následne sme štatisticky zhodnotili podsúbor 111 pacientov, u ktorých bol stanovený aj sTfR a vypočítaný TfR-index.

Rozdiely medzi súbormi pacientov v stredných hodnotách dvoch parametrov sme overovali neparametrickým Mann-Whitneyovým testom, v prípade vzájomného porovnávania troch a viac parametrov sme využili Kruskal-Wallisovu analýzu ako neparametrickú alternatívu analýzy rozptylu. Za hladinu významnosti výsledku testu, pri ktorej sme rozdiely považovali za štatisticky významné, sme zvolili $P=0,05$ (cit.^{13,14}).

Výsledky a diskusia

Súbor 425 pacientov so základnými parametrami metabolizmu Fe sme rozdelili podľa koncentrácie Hb (prítomnosť/nepítomnosť anémie) a pohlavia na štyri podsúbory. Z 280 žien malo anémiu 92 (Hb pod 120 g l⁻¹). Z mužov malo anémiu 61 jedincov, pričom biologickou medznou hodnotou bola koncentrácia Hb pod 135 g l⁻¹. Z celkového počtu 153 pacientov s anémiou bolo podľa morfolologickej klasifikácie anémii zistených 45 prípadov mikrocytovej anémie, 85 prípadov normocytovej anémie a 23 pacientov malo makrocytovú anémiu (tab. I). Súbor pacientov bol delený iba podľa dvoch kritérií: prítomnosti anémie (podľa koncentrácie Hb) a typu anémie podľa MCV. Ďalšie logické delenie (napr. podľa pohlavia) už

Tabuľka I
Hematologické parametre u jednotlivých typov anémii

Parameter	n	X	SD	P
MCH, pg	45 ^a	23,13	2,34	<0,001
	85 ^b	29,08	1,78	
	23 ^c	32,89	1,15	
RTC, 10 ⁹ · l ⁻¹	33 ^a	1,71	1,10	0,35
	55 ^b	1,39	0,65	
	16 ^c	1,41	0,46	
VKFe, μmol l ⁻¹	45 ^a	62,68	21,40	<0,001
	85 ^b	47,77	15,71	
	23 ^c	38,9	15,60	
TRF, g l ⁻¹	45 ^a	3,50	2,12	<0,001
	85 ^b	2,71	0,56	
	23 ^c	2,51	0,65	
FER, μg l ⁻¹	36 ^a	53,75	92,67	<0,001
	73 ^b	118,10	220,05	
	22 ^c	187,80	166,00	
B12, pmol l ⁻¹	36 ^a	370,39	200,42	0,34
	72 ^b	436,87	264,36	
	17 ^c	508,02	433,64	
Folaty, nmol l ⁻¹	38 ^a	12,35	12,76	0,32
	72 ^b	33,47	124,02	
	17 ^c	18,84	20,11	

^a Mikrocytová anémia, ^b normocytová anémia, ^c makrocytová anémia

nebolo možné pre príliš nízky počet pacientov v jednotlivých podsúboroch.

Výsledky v tab. I ukazujú, že priemerné hodnoty väzbovej kapacity železa štatisticky významne klesajú v poradí: mikrocytová anémia (X = 62,68; n = 45) – normocytová anémia (X = 47,77; n = 85) – makrocytová anémia (X = 38,9; n = 23). Rovnakú povahu má aj koncentrácia transferínu. Ferritín sa javí opačne. V prípade mikrocytových anémií je jeho koncentrácia najnižšia (X = 53,75; n = 36), vyššia je u normocytových anémií (X = 118,10; n = 73), najvyššia u makrocytových anémií (X = 187,8; n = 22). Všetky tri kategórie sa líšia aj v MCH, čo vyplýva z povahy parametra.

Z výsledkov je taktiež zrejmé, že jednotlivé typy anémie (mikro-, normo- a makrocytová) klasifikované podľa MCV sa v priemerných hodnotách vzájomne štatisticky významne líšia v hodnotách VKFe, TRF i FER. Jedná sa o všeobecnú charakteristiku nezávislú od pohlavia, pretože všetky tri kategórie anemikov obsahovali pacientov oboch pohlaví.

V ďalšom kroku sme sa snažili odpovedať na otázku, či existujú odlišnosti v súbore 111 pacientov so zmeraným TfR-indexom, ak ho rozdelíme na pacientov s anémiou a

bez anémie (tab. II). Za prítomnosť anémie sme považovali stav, kedy bola u mužov koncentrácia Hb < 135 g l⁻¹ a u žien koncentrácia Hb < 120 g l⁻¹. Pretože štatisticky významné rozdiely v koncentráciách TRF (a aj FER) vyšli aj v porovnávaní mikro-, normo- a makrocytových anémií medzi sebou (tab. I, P < 0,001) nebol dôvod predpokladať štatisticky významný rozdiel medzi anémiami *an blok* versus podsúborom jedincov bez anémie. To isté platí pre TfR-index, pretože sa jedná o odvodený výpočet. Istým prekvapením je však rozdiel v koncentracii folátov medzi pacientmi bez anémie (n = 70, X = 15,82 ng ml⁻¹) a s anémiou (n = 21, X = 10,33 ng ml⁻¹).

Z výsledkov testovania 111 pacientov s TfR-indexom sa javí, že nie je vysoká korelácia medzi uvedeným indexom a parametrom MCV. Inými slovami, nie je reálna hypotéza, že so vzrastaním MCV vzrastajú, resp. klesajú ostatné parametre vrátane TfR-indexu, ktorého prítomnosť bola jediným selekčným kritériom vzniku tohto menšieho podsúboru 111 pacientov.

Na druhej strane, ak tento súbor rozdelíme podľa prítomnosti, resp. neprítomnosti anémie determinovanej na základe koncentrácie Hb (špecifickou hraničnou hodnotou podľa pohlavia), oba vzniknuté podsúbory sa štatisticky

Tabuľka II
Porovnanie súborov pacientov so stanoveným TfR-indexom

Parameter	Súbor	n	X	SD	P
MCV, fl	anémia	27	89,07	7,84	0,63
	bez anémie	84	89,27	3,66	
MCH, pg	anémia	27	29,04	3,51	0,73
	bez anémie	84	29,90	1,90	
RTC, $10^9 \cdot l^{-1}$	anémia	5	1,76	2,42	0,53
	bez anémie	7	1,21	0,58	
VKFe, $\mu\text{mol } l^{-1}$	anémia	27	42,40	15,86	0,87
	bez anémie	84	43,89	14,31	
TRF, $g l^{-1}$	anémia	27	2,54	0,58	0,02
	bez anémie	84	2,78	0,45	
sTfR, $mg l^{-1}$	anémia	27	3,21	2,81	0,02
	bez anémie	84	1,86	0,98	
FER, $\mu\text{g } l^{-1}$	anémia	27	161,01	271,02	0,35
	bez anémie	84	145,25	133,13	
Fe, $\mu\text{mol } l^{-1}$	anémia	27	13,34	9,86	0,01
	bez anémie	84	17,00	7,53	
TfR-index, (-)	anémia	27	3,21	2,81	0,02
	bez anémie	84	1,86	0,98	
B12, $\text{pmol } l^{-1}$	anémia	21	448,39	392,13	0,78
	bez anémie	69	389,38	221,26	
Foláty, $\text{nmol } l^{-1}$	anémia	21	10,33	11,39	0,02

signifikantne líšia v koncentráciách TfR, TfR-indexu a čo je prekvapivé, aj folátov (vo všetkých prípadoch $P < 0,02$).

Záver

Pri rozdelení pacientov podľa anémie do troch skupín s mikrocytovou, normocytovou a makrocytovou anémiou sme pozorovali štatisticky významné rozdiely v MCH, VKFe, TRF a ferritíne. MCH, VKFe a TRF dosahovali najvyššie hodnoty u mikrocytových anémií a najnižšie hodnoty u makrocytových anémií. Ferritín bol najvyšší u normocytových anémií. RTC, vitamín B12 a foláty nevykazovali vo svojich koncentráciách štatisticky významné rozdiely medzi rôznymi morfológickými typmi anémie. Testovanie laboratórnych parametrov so stanoveným TfR-indexom ukázalo u pacientov s anémiou významne nižšie hodnoty transferínu ($P = 0,02$), Fe ($P = 0,01$) a folátov ($P = 0,02$). Štatisticky významne vyššie boli u pacientov s anémiou hodnoty sTfR ($P = 0,02$) a sTfR-indexu ($P = 0,02$). Rozdiely v priemerných hodnotách MCV, MCH, RTC, ferritínu a vitamínu B12 neboli medzi pacientmi s a bez anémie významné.

Zoznam symbolov

ACD	anémia chronických chorôb (z angl. anaemia of chronic diseases)
B12	vitamín B12
FER	ferritín
Hb	hemoglobín
MCV	stredný objem erytrocytov (z angl. mean cell volume)
MCH	stredná koncentrácia hemoglobínu v erytrocytoch (z angl. mean corpuscular hemoglobin)
n	počet pacientov
P	hodnota testovacieho kritéria
RTC	retikulocyty
SD	smerodajná odchýlka
sTfR	solubilný transferínový receptor
TfR-index	transferínový index
TRF	transferín
VKFe	väzbová kapacita železa
X	aritmetický priemer

LITERATÚRA

1. Kubisz P., Dobrotová M.: *Hematológia a transfuziológia*. Grada Publishing a.s., Praha 2006.
2. Hoffmann J.: *Transfuze a hematologie dnes* 4, 7 (2010).
3. Joosten E., Lioen P., Brusselmans C., Indevuyst C., Boeckx N.: *Eur. J. Int. Med.* 24, 63 (2013).
4. Davis S. L., Littlewood T. J.: *Blood Rev.* 26, 65 (2012).
5. Skikne B. S., Punnonen K., Caldron P. H., Bennett M. T., Rehu M., Gasior G. H., Chamberlin J. S., Sullivan L. A., Bray K. R., Southwick P. C.: *Am. J. Hematol.* 86, 923 (2011).
6. Kogan A., Filatov V., Gusev N., Bereznikova A., Kolosova O., Katrukha A.: *Am. J. Hematol.* 79, 281 (2005).
7. Feelders R. A., Kuiper-Kramer E. P., van Eijk H. G.: *Clin. Chem. Lab. Med.* 37, 1 (1999).
8. Infusino I., Braga F., Dolci A., Panteghini M.: *Am. J. Clin. Pathol.* 138, 642 (2012).
9. Suominen P., Punnonen K., Rajamäki A., Irjala K.: *Blood* 92, 2934 (1998).
10. Chang J., Bird R., Claque A., Carter A.: *Pathology* 39, 349 (2007).
11. Koulaouzidis A., Said E., Cottier R., Saeed A. A.: *J. Gastrointest. Liver Dis.* 18, 345 (2009).
12. Lee E. J., Oh E. J., Park Y. J., Lee H. K., Kim B. K.: *Clinical Chem.* 48, 1118 (2002).
13. Skikne B. S.: *Am. J. Hematol.* 83, 872 (2008).
14. Snedecor G. W., Cochran W. G.: *Statistical methods*. Iowa State University Press, Ames 1994.

V. Meluš^a, J. Netriová^{a,b}, Z. Krajčovičová^a, and A. Balíková^b (^a Faculty of Health care, Alexander Dubček University of Trenčín, Trenčín, ^b St. Michael Hospital, Bratislava): **Interpretation of Laboratory Determination of Soluble Transferrin Receptor in Anemia Patients**

Determination of soluble transferrin receptor (sTfR) and transferrin index (TfR-index) seem to be reliable tools in diagnostics. Data of 425 patients with different diagnoses have been examined to obtain basic parameters of their Fe metabolism. In 153 of them anemia was diagnosed. In 111 patients the TfR index was determined while anemia was diagnosed in 27 individuals. In the case of anemia diagnosis based on hemoglobin values and morphological classification of mean cell volume (MCV) the most important indicators proved to be transferrin and ferritin with Fe binding capacity. The Mann-Whitney U-test revealed that this patient group showed significantly lower average values of transferrin, Fe, folate and higher values of sTfR. The sTfR and TfR index are appropriate tools in the diagnosis of anemia in heterogeneous populations.