

**lek. Małgorzata Woźniak**

**Rozpoznanie różnicowe niedokrwistości w przebiegu  
nieswoistych chorób zapalnych jelit na podstawie analizy  
parametrów laboratoryjnych**

**ROZPRAWA DOKTORSKA**

**Promotor: dr hab. n. med. Renata Talar-Wojnarowska, prof. UM**

**Klinika Chorób Przewodu Pokarmowego**

**Uniwersytet Medyczny w Łodzi**

**Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Ewa Małecka-Wojcieszko**

**Łódź 2022**

Serdecznie dziękuję  
Pani Profesor Renacie Talar-Wojnarowskiej  
za inspirację do podjęcia badań  
oraz okazane wsparcie i cierpliwość

Dziękuję dr Annie Borkowskiej  
za pomoc i owocną współpracę.

## Spis treści

Spis skrótów .....	5
<b>1. Wstęp</b>	
1.1. Nieswoiste choroby zapalne jelit (NChZJ).....	7
1.2. Niedokrwistość w NChZJ .....	9
1.2.1. Definicja niedokrwistości .....	9
1.2.2. Epidemiologia niedokrwistości w NChZJ .....	9
1.2.3. Przyczyny niedokrwistości w NChZJ .....	10
1.2.4. Diagnostyka niedokrwistości w NChZJ.....	12
1.2.4.1. Hepcydyna .....	16
1.2.4.2. Erytroferron .....	19
1.2.4.3. Białko morfogenetyczne kości 6 .....	21
1.3. Leczenie niedokrwistości.....	23
1.3.1. Leczenie niedokrwistości z niedoboru żelaza .....	23
1.3.2. Leczenie niedokrwistości chorób przewlekłych .....	25
1.3.3. Leczenie niedokrwistości z niedoboru witaminy B12 i/lub kwasu foliowego.....	26
<b>2. Założenia i cele pracy</b>	
2.1. Założenia pracy.....	27
2.2. Cele pracy .....	28
<b>3. Metody</b>	
3.1. Dobór chorych .....	29
3.2. Metody oznaczania badanych parametrów .....	30
3.3. Stosowane skale aktywności klinicznej ChL-C i WZJG .....	32
3.3.1. Indeks aktywności ChL-C – CDAI .....	32
3.3.2. Klasyfikacja montrealaska ChL-C .....	33
3.3.3. SES-CD (Simple Endoscopic Score for Crohn Disease) .....	33
3.3.4. Klasyfikacja montrealaska WZJG .....	35
3.3.5. Skala Mayo WZJG .....	36
3.4. Metody analizy statystycznej .....	37

<b>4. Wyniki</b>	
4.1. Dane kliniczne badanej grupy chorych.....	38
4.2. Częstość występowania niedokrwistości i jej związek z danymi klinicznymi .....	40
4.3. Ocena podstawowych parametrów morfologicznych i witaminy B12.....	43
4.4. Częstość występowania poszczególnych typów niedokrwistości.....	44
4.5. Wskaźniki laboratoryjne gospodarki żelazowej.....	45
4.5.1. Hepcydyna .....	47
4.5.2. Erytroferron.....	48
4.5.3. BMP-6 .....	51
4.6. Ocena wpływu stanu zapalnego na badane parametry laboratoryjne.....	53
<b>5. Dyskusja.....</b>	<b>57</b>
<b>6. Wnioski.....</b>	<b>65</b>
<b>7. Streszczenie.....</b>	<b>66</b>
<b>8. Abstract .....</b>	<b>70</b>
<b>9. Piśmiennictwo.....</b>	<b>74</b>
<b>10. Spis rycin .....</b>	<b>85</b>
<b>11. Spis tabel.....</b>	<b>87</b>

## Spis skrótów:

- 5-ASA - kwas 5-aminosalicylowy
- BMP-6- białko morfogenetyczne kości 6 (*ang. bone morphogenetic protein 6*)
- CD - choroba Leśniowskiego-Crohna (*ang. Crohn's Disease*)
- CDAI - indeks aktywności choroby Crohna (*ang. Crohn's Disease Activity Index*)
- ChL-C - choroba Leśniowskiego-Crohna
- CRP - białko C-reaktywne (*ang. C-reactive protein*)
- ECCO - *ang. European Crohn's and Colitis Organization*
- ELISA – test immunoenzymatyczny (*ang. enzyme-linked immunosorbent assay*)
- EPO - erytropoetyna
- EPO-R- receptor erytropoetyny
- ERFE* - gen kodujący erytoferron
- Fe - żelazo
- FID - czynnościowy niedobór żelaza (*ang. functional iron deficiency*)
- HAMP* - gen peptydu przeciwdrobnoustrojowego hepcydyny (*ang. hepcidin antimicrobial peptide*)
- HCT - hematokryt
- HFE - ludzkie białko hemachromatozy (*ang. high Fe, human hemochromatosis protein*)
- HGB - hemoglobina
- HIF1 - indukowany hipoksją czynnik 1 (*ang. hypoxia-inductable factor 1*)
- HJV - hemojuwelina
- IBD - nieswoiste choroby zapalne jelit (*ang. inflammatory bowel disease*)
- JAK2 - kinaza Janusowa 2 (*ang. Janus kinase 2*)
- LDH - dehydrogenaza mleczanowa (*ang. lactate dehydrogenase*)
- MCH - średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej (*ang. mean corpuscular hemoglobin*)

MCHC- średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej (*ang. mean corpuscular hemoglobin concentration*)

MCV - średnia objętość krwinki czerwonej (*ang. mean cel volume*)

MDS - zespół mielodysplastyczny (*ang. myelodysplastic syndrome*)

NChZJ- nieswoiste choroby zapalne jelit

RBC - erytrocyty (*ang. red blood cells*)

RDW - rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów (*ang. red cel distribution width*)

RET - reticulocyty

SES-CD - *ang. Simple Endoscopic Score for Crohn Disease*

STAT5 -przebieżnik sygnału i aktywator transkrypcji 5 (*ang. signal transducer and activator of transcription 5*)

sTfR - rozpuszczalny receptor dla transferyny (*ang. soluble transferrin receptor*)

TfR1 - receptor transferyny 1 (*ang. transferrin receptor 1*)

TfR2 - receptor transferyny 2 (*ang. transferrin receptor 2*)

TfS -wysycenie transferyny (*ang. transferrin saturation*)

TGF- $\beta$  - transformujący czynnik wzrostu - $\beta$  (*ang. transforming growth factor- $\beta$* )

TID - całkowity deficit żelaza (*ang. total iron deficit*)

TPMT - metylotransferaza tiopuryny (*ang. thiopurine methyltransferase*)

UC - wrzodziejące zapalenie jelita grubego (*ang. ulcerative colitis*)

WHO - Światowa Organizacja Zdrowia (*ang. World Health Organization*)

WZJG - wrzodziejące zapalenie jelita grubego

## 1.Wstęp

### 1.1 Nieswoiste choroby zapalne jelit

Nieswoiste choroby zapalne jelit (NChZJ), do których zalicza się wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG) oraz chorobę Leśniowskiego-Crohna (ChL-C) są przewlekłymi chorobami zapalnymi o złożonej etiologii. Najwięcej zachorowań na NChZJ przypada między 20 a 40 rokiem życia, a drugi, niższy szczyt zachorowań dotyczy osób w wieku pomiędzy 60 a 70 rokiem życia [1,2]. Częstość występowania zarówno WZJG, jak i ChL-C jest porównywalna u obu płci, choć niektóre badania wykazują przewagę mężczyzn we WZJG, a kobiet w ChL-C [1,3]. Zapadalność na NChZJ w ostatnich latach wzrasta, zwłaszcza w krajach rozwijających się. W przeprowadzonej przez Molodecky i wsp. metaanalizie oceniającej lata 1920-2010 stwierdzono, że w Europie zapadalność na WZJG wynosi 24,3 na 100 000 mieszkańców/rok, a na ChL-C – 12,7 na 100 000 mieszkańców/rok [3]. W analizie z 2017 roku częstość występowania NChZJ w Europie Zachodniej wynosiła już 136,6/100 000 osób, a w Europie Wschodniej 104,5/100 000 osób [4]. W Polsce dane epidemiologiczne dotyczące NChZJ były dotychczas niedokładnie poznane. W badaniu przeprowadzonym w latach 2012-2014 na populacji polskiej wykazano, że NChZJ występują z częstością 157/100 000 osób [5]. Obserwowano także wzrastającą częstość hospitalizacji pacjentów z tym schorzeniem [6]. Najdokładniejsze dane dotyczące liczby chorych na NChZJ w Polsce przyniosło badanie prof. Zagórowicz i wsp. opublikowane w 2022 roku. Na podstawie analizy danych dostępnych w systemie Narodowego Funduszu Zdrowia w latach 2009-2020 stwierdzono, że częstość występowania ChL-C wynosiła 61,6/100 000 osób i miała tendencje wzrostowe, zwłaszcza w grupie chorych poniżej 40 roku życia. Z kolei WZJG występowało w populacji polskiej z istotnie wyższą częstością w porównaniu z ChL-C wynoszącą 191,4/100 000 osób. Co więcej, z każdym analizowanym rokiem zachorowalność na WZJG wzrastała, zwłaszcza u chorych powyżej 60 roku życia [7].

Etiopatogeneza NChZJ jest złożona i jeszcze nie do końca poznana. Przyjmuje się, że istotną rolę odgrywają w niej zaburzenia immunologiczne,

które ujawniają się u osób predysponowanych genetycznie pod wpływem czynników środowiskowych [8,9]. Obserwacje ostatnich dekad wskazują na zwiększenie częstości występowania NChZJ szczególnie w krajach rozwijających się, co może mieć związek ze zmianą trybu życia i tzw. westernizacją diety. Istotną rolę w patogenezie tych chorób odgrywa również flora jelitowa, której zaburzenia wpływają na nieprawidłowe dojrzewanie układu immunologicznego [10]. Z kolei czynniki genetyczne mają prawdopodobnie większe znaczenie w rozwoju ChL-C niż WZJG. Wykazano, że u bliźniąt jednojajowych ryzyko wystąpienia ChL-C u drugiego bliźniaka, w przypadku stwierdzenia tej choroby u pierwszego z nich, wynosi 40-50%, natomiast w przypadku WZJG około 10% [11].

NChZJ charakteryzują się przewlekłym przebiegiem, z naprzemiennie występującymi okresami zaostrzeń i remisji. Zmiany zapalne we WZJG dotyczą błony śluzowej jelita grubego, z kolei w ChL-C obejmują całą grubość ściany przewodu pokarmowego i mogą zajmować każdy jego fragment, choć najczęściej końcowy odcinek jelita krętego. Do najczęstszych objawów NChZJ należą biegunka z domieszką krwi, dolegliwości bólowe w jamie brzusznej, niezamierzony spadek masy ciała i/lub gorączka. W przeciwieństwie do WZJG krew w stolcu w ChL-C występuje stosunkowo rzadko, najczęściej w postaci z zajęciem jelita grubego. Natomiast często stwierdza się powikłania takie jak ropnie, przetoki, zwężenia lub guzy zapalne, co jest związane z intensywnością i rozległością procesu zapalnego.

Poza opisanymi powyżej typowymi objawami związanymi z przewodem pokarmowym na obraz kliniczny NChZJ składają się liczne objawy pozajelitowe, które mogą zarówno towarzyszyć zaostrzeniu choroby, jak i występować w okresach remisji. Manifestacje pozajelitowe NChZJ dotyczą prawie każdego narządu i układu, znacząco wpływając na przebieg choroby i obniżając jakość życia chorych. Najczęstszą manifestacją pozajelitową NChZJ jest niedokrwistość, która według wielu badań zwiększa częstość i wydłuża czas hospitalizacji [8,12-14]. Do innych, częstych manifestacji pozajelitowych NChZJ należą: zapalenie stawów (postać obwodowa i osiowa), osteopenia i osteoporoza, rumień guzowaty, zgorzelinowe zapalenie skóry, pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych oraz zapalenie spojówek, naczyńówki lub tęczówki.



## 1.2 Niedokrwistość w nieswoistych chorobach zapalnych jelit

### 1.2.1 Definicja niedokrwistości

Zgodnie z definicją Światowej Organizacji Zdrowia (*ang. World Health Organization, WHO*) niedokrwistością określa się zmniejszenie stężenia hemoglobiny poniżej 13 g/dl u mężczyzn oraz poniżej 12 g/dl u kobiet, natomiast u kobiet w ciąży poniżej 11 g/dl. Niedokrwistość w zależności od stężenia hemoglobiny została podzielona na łagodną, umiarkowaną i ciężką (Tabela 1) [15].

	stopień niedokrwistości [HGB g/dl]		
	łagodny	umiarkowany	ciężki
<b>mężczyźni</b>	11.0-12.9	8.0-10.9	<8.0
<b>kobiety</b>	11.0-11.9	8.0-10.9	<8.0
<b>kobiety w ciąży</b>	10.0-10.9	7.0-9.9	<7.0

Tabela 1. Podział niedokrwistości w zależności od stężenia hemoglobiny (HGB) [15].

### 1.2.2 Epidemiologia niedokrwistości w NChZJ

Częstość występowania niedokrwistości w NChZJ jest bardzo zmienna i waha się od 6% do nawet 74% [16-20]. Filmann i wsp. w metaanalizie danych 2192 pacjentów z NChZJ w krajach europejskich wykazali, że średnia częstość występowania niedokrwistości wśród tych chorych wynosi 24% i dotyczy 27% chorych na ChL-C oraz 21% na WZJG [21]. Podobnie analizując populację chorych na NChZJ leczonych ambulatoryjnie niedokrwistość stwierdzono u 13-21% badanych [22-24]. Z kolei wśród pacjentów hospitalizowanych częstość występowania niedokrwistości jest znacząco wyższa. W badaniu szkockim wykazano, że niedokrwistość u pacjentów wymagających

leczenia szpitalnego dotyczy 50% chorych na ChL-C i 35% na WZJG [25]. Szeroki zakres raportowanego występowania niedokrwistości jest związany z różnicami w badanych populacjach, analizą NChZJ o różnym stadium zaawansowania i różnych metodach przeprowadzonych badań, zwłaszcza odmiennych kryteriach stosowanych do definiowania niedokrwistości.

### 1.2.3 Przyczyny niedokrwistości w NChZJ

Etiopatogeneza niedokrwistości w NChZJ jest wieloczynnikowa, natomiast jedną z jej najczęstszych przyczyn jest niedobór żelaza. Szacuje się, że dotyczyć on może od 36% do nawet 90% chorych w przebiegu NChZJ [21,26]. Głównym powodem występowania niedoboru żelaza u chorych na NChZJ jest przewlekła utrata krwi ze zmienionej zapalnie błony śluzowej jelita, w przebiegu zarówno aktywnego, jawnego krwawienia, jak i krwawienia utajonego. Duże znaczenie w etiologii niedokrwistości z niedoboru żelaza ma również zmniejszone wchłanianie żelaza z przewodu pokarmowego, szczególnie w ChL-C, oraz stosowane przez chorych ograniczenia dietetyczne prowadzące do redukcji spożycia tego pierwiastka z posiłkami [27].

Kolejną przyczyną anemii u chorych na NChZJ jest niedokrwistość chorób przewlekłych [26]. Mimo, że patofizjologia tego rodzaju niedokrwistości jest złożona, jej główną przyczyną jest przewlekły stan zapalny towarzyszący NChZJ. Aktywacja cytokin prozapalnych, takich jak interferon alfa, interferon gamma, interleukina 1, interleukina 6 oraz czynnik martwicy nowotworów alfa, powoduje nadekspresję hepcydyny, a w konsekwencji zmniejszone wchłanianie żelaza z komórek jelita oraz komórek układu siateczkowo-nabłonkowego [28]. Co więcej, cytokiny te istotnie wpływają na proces erytropoezy zmniejszając produkcję nerkowej erytropoetyny doprowadzając do braku krwiotworzenia w szpiku w reakcji na niedotlenienie. Cytokiny prozapalne obniżają również wrażliwość prekursorów erytrocytów na działanie erytropoetyny, wywołują u nich apoptozę oraz skracają czas przeżycia erytrocytów poprzez nasilenie procesu erytrofagocytozy [29]. Co więcej, u chorych na NChZJ niedokrwistość chorób przewlekłych może współistnieć z czynnościowym niedoborem żelaza (*ang. functional iron deficiency, FID*). Do rozwoju FID dochodzi, gdy eksport żelaza z makrofagów jest zmniejszony poprzez redukcję ferroportyny w wyniku indukowanej cytokinami

nadekspresji hepcydyny, co z kolei zmniejsza nasycenie transferyny i upośledza transport żelaza do erytroblastów [30]. Wszystkie wyżej wymienione mechanizmy występują jednocześnie, przez co potęgują nasilenie niedokrwistości powstającej w wyniku przewlekłego stanu zapalnego.

Oprócz wyżej wspomnianych najczęściej stwierdzanych typów niedokrwistości w przebiegu NChZJ, jej przyczyną może być również niedobór witaminy B12 (kobalaminy). Jest on spowodowany zaburzeniami wchłaniania w wyniku nasilonego stanu zapalnego błony śluzowej jelita cienkiego lub zabiegów resekcyjnych w jego obrębie. Również duży wpływ na występowanie niedokrwistości z niedoboru witaminy B12 ma rozrost flory bakteryjnej w jelicie cienkim oraz zmniejszona podaż kobalaminy w diecie [31]. Niedobór witaminy B12 częściej stwierdzany jest u chorych na ChL-C, nawet do 22% badanych, natomiast częstość występowania niedoboru kobalaminy u chorych na WZJG jest stosunkowo niska, zbliżona do populacji ogólnej [32]. Podobnie jak niedobór witaminy B12, częściej w ChL-C rozpoznawany jest również niedobór kwasu foliowego, który także może być odpowiedzialny za rozwój niedokrwistości. W ChL-C częstość występowania niedoboru kwasu foliowego może osiągać nawet 28%, z kolei we WZJG rozpoznawany jest on w 1,4-12% [26]. Przyczyną niedoboru kwasu foliowego może być jego zmniejszone spożycie w diecie, zaburzenia wchłaniania, oraz niedobór witaminy B12, która bierze udział w procesie aktywacji kwasu foliowego w organizmie [26].

Kolejnym elementem wpływającym na pojawienie się niedokrwistości u chorych na NChZJ są działania niepożądane stosowanych leków, w tym preparatów kwasu 5-aminosalicylowego (5-ASA), tiopuryn lub metotreksatu. Zarówno preparaty mesalazyny, jak i - częściej - sulfasalazyny mogą wywoływać zaburzenia w obrazie morfologii krwi, w tym niedokrwistość hemolityczną, zwłaszcza u chorych z niedoborem dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej. Ransford i wsp. wykazali, że zaburzenia hematologiczne dotyczyły 75% ze 183 zgłoszonych przypadków działania niepożądanego sulfasalazyny, natomiast przy stosowaniu mesalazyny dotyczyły mniej niż połowy ze 124 zgłoszonych działań niepożądanych [33].

Również tiopuryny, zarówno azatiopryna, jak i 6-merkaptopuryna, mogą powodować supresję szpiku kostnego, co prowadzi do pancytopenii lub do aplazji linii krwinek czerwonych [34,35]. Supresja szpiku kostnego w trakcie stosowania

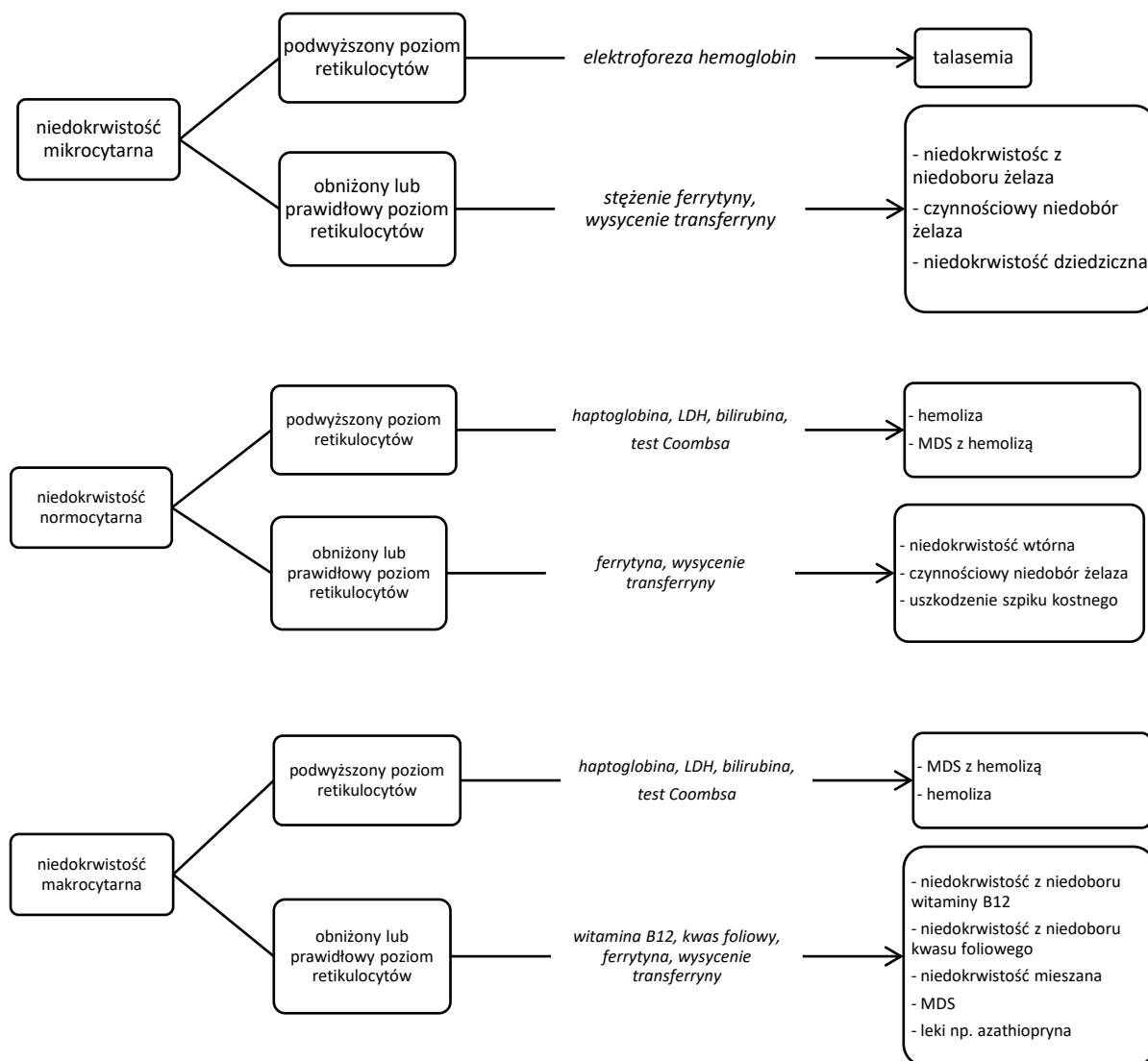
tiopuryn może wystąpić w każdym momencie leczenia, jest najczęściej odwracalna, związana z dawką leku i w pierwszej kolejności objawia się leukopenią, rzadziej małopłytkowością lub niedokrwistością [36,37]. Chorzy z wrodzonym niedoborem metylotransferazy tiopuryny (*ang. thiopurine methyltransferase, TPMT*) są podatni na supresję szpiku kostnego w krótkim czasie po rozpoczęciu terapii tiopurynami. Efekt mielosupresji może nasilać jednoczesne stosowanie leków hamujących TPMT, takich jak mesalazyna lub sulfasalazyna.

Niedokrwistość może wystąpić także w przebiegu leczenia metotreksatem. Jednym z jego działań niepożądanych jest supresja szpiku kostnego, najczęściej jest ona odwracalna i dotyczy 5-20% chorych [38]. Ryzyko wystąpienia uszkodzenia szpiku podczas leczenia metotreksatem jest większe u chorych ze współistniejącą niewydolnością nerek oraz niedoborem kwasu foliowego [38]. Co więcej, przyjmowanie metotreksatu lub sulfasalazyny hamuje wchłanianie kwasu foliowego, mogąc doprowadzić do jego niedoborów [26,39].

#### 1.2.4 Diagnostyka niedokrwistości w NChZJ

Prawidłowo przeprowadzona diagnostyka, mająca na celu określenie rodzaju niedokrwistości i zaburzeń leżących u jej podłoża, ma kluczowe znaczenie w ustaleniu dalszego schematu postępowania i kolejnych decyzji terapeutycznych. Z kolei systematyczne monitorowanie i skuteczne leczenie niedokrwistości w przebiegu NChZJ pozwala na optymalizację stanu chorych i obniżenie całkowitych kosztów terapii. Przy obniżonym stężeniu hemoglobiny i rozpoznaniu niedokrwistości, w celu diagnostyki różnicowej zaleca się analizę wykładników czerwonych, takich jak średnia objętość krwinek czerwonych (*ang. mean corpuscular volume – MCV*), rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów (*ang. red cell distribution width – RDW*) oraz liczba retikulocytów. Dodatkowo w różnicowaniu etiologii niedokrwistości ważny jest poziom wykładników stanu zapalnego oraz gospodarki żelazowej – stężenie białka C-reaktywnego (CRP), liczba leukocytów i rozkład poszczególnych linii białych krwinek oraz stężenie ferrytyny i wysycenie transferyny (*ang. transferrin saturation, TfS*) [30].

Analizując przyczynę przewlekłej niedokrwistości w pierwszej kolejności ocenia się MCV dokonując podziału anemii na mikrocytową, makrocytową i normocytową. Niedokrwistość mikrocytowa sugeruje przyczynę związaną z niedoborem żelaza, makrocytowa natomiast z niedoborem witaminy B12 i/lub kwasu foliowego. Z kolei niedokrwistość normocytowa przemawia za występowaniem niedokrwistości chorób przewlekłych [29]. Kolejnym etapem diagnostyki różnicowej niedokrwistości jest ocena retikulocytów. Klasyfikację niedokrwistości w oparciu o MCV i liczbę retikulocytów na podstawie wytycznych European Crohn's and Colitis Organization (ECCO) przedstawia Rycina 1.



Rycina 1. Klasyfikacja niedokrwistości w oparciu o MCV i liczbę retikulocytów na podstawie wytycznych ECCO z 2015 roku [30]. *MDS* -zespół mielodysplastyczny; *LDH* – dehydrogenaza mleczanowa.

Niedokrwistość z niedoboru żelaza można rozpoznać po ocenie laboratoryjnych parametrów gospodarki żelazem. Podstawowym parametrem powszechnie stosowanym jest stężenie żelaza w surowicy, natomiast nie pozwala ono na pełną diagnostykę różnicową niedokrwistości. U chorych bez stanu zapalnego najdokładniejszym

wskaźnikiem zapasów żelaza w organizmie jest ferrytyna oznaczana w surowicy [40]. Jednak ferrytyna jest białkiem ostrej fazy, więc jej stężenie może być prawidłowe lub podwyższone w stanach zapalnych, nawet przy niedoborze żelaza. Zgodnie z wytycznymi ECCO kryterium rozpoznania niedokrwistości z niedoboru żelaza u pacjentów bez klinicznych, biochemicznych oraz endoskopowych cech aktywnych NChZJ jest stężenie ferrytyny w surowicy poniżej 30 ug/L. Natomiast w przypadku stwierdzenia obecności stanu zapalnego poziom ferrytyny w surowicy nawet do 100 µg/L może sugerować niedobór żelaza [26]. Innym ważnym parametrem w diagnostyce różnicowej niedokrwistości u chorych na NChZJ jest oznaczenie wysycenia transferryiny, która jest markerem dostępności żelaza dla hematopoezy. Poziom TfS w granicach 16–50% uważa się za odzwierciedlenie prawidłowych zapasów żelaza, a poziom TfS poniżej 16% odpowiada niedoborowi żelaza w organizmie [41].

Z kolei niedokrwistość chorób przewlekłych najczęściej jest łagodnego lub umiarkowanego stopnia, rzadko stwierdza się stężenie hemoglobiny poniżej 8g/dl. W przypadku stwierdzenia klinicznych lub biochemicznych cech stanu zapalnego kryterium diagnostycznym anemii chorób przewlekłych, zgodnie z wytycznymi ECCO, są stężenie ferrytyny w surowicy powyżej 100 ug/L i TfS poniżej 20%. Jeżeli natomiast stężenie ferrytyny w surowicy znajduje się w przedziale od 30 do 100 ug/L może to świadczyć o współistnieniu niedoboru żelaza i niedokrwistości chorób przewlekłych [26]. Diagnostyka różnicowa niedokrwistości z niedoboru żelaza i chorób przewlekłych jest przedstawiona w Tabeli 2.

Oceniane parametry	Niedokrwistość z niedoboru żelaza	Niedokrwistość chorób przewlekłych
stężenie hemoglobiny	obniżone	obniżone
MCV	obniżony	w normie lub nieco obniżony
stężenie żelaza	obniżone	obniżone
TfS	obniżona	obniżona
stężenie ferrytyny	obniżone	w normie lub podwyższone
sTfR	podwyższone	w normie
sTfR/log ferrytyny	>2	<1
stężenie hepcydyny	obniżone	podwyższone

MCV – średnia objętość krwinek czerwonych, TfS – wysycenie transferryny, sTfR – stężenie rozpuszczalnego receptora dla transferryny

Tabela 2. Diagnostyka różnicowa niedokrwistości z niedoboru żelaza i niedokrwistości chorób przewlekłych [42,43].

Diagnostyka różnicowa niedokrwistości z niedoboru żelaza z niedokrwistością chorób przewlekłych jest trudna, zwłaszcza w okresie zaostrzenia NChZJ. Poszukiwane są nowe parametry laboratoryjne, które mogłyby ułatwić postawienie pewnego rozpoznania. Podkreśla się rolę hepcydyny, a wstępne obiecujące dane dotyczą także erytroferronu i białek morfogenetycznych krwi, choć białka te nie były dotychczas badane u chorych na NChZJ.

#### 1.2.4.1 Hepcydyna

Hepcydyna jest hormonem regulującym gospodarkę żelaza, odpowiedzialnym głównie za jego hemostazę. Dominująca forma hepcydyny to 25-aminokwasowy peptyd o długim łańcuchu, bogaty w cysteinę i zawierający cztery wiązania dwusiarczkowe [44]. Hormon ten został odkryty niezależnie w dwóch laboratoriach w 2000 roku przez Krause i wsp. oraz w 2001 roku przez zespół Parka i wsp. [44]. Gen peptydu przeciwdrobnoustrojowego hepcydyny (*HAMP*, ang. *Hepcidin antimicrobial peptide*)



znajduje się na chromosomie 19q13, ma długość 2637 par zasad i składa się z dwóch intronów i trzech eksonów. Gen *HAMP* koduje białko wykazujące ekspresję w komórkach w mózgu, wątrobie, rdzeniu kręgowym, płucach, sercu, mięśniach szkieletowych, jelicie, żołądku, trzustce, a także w adipocytach i makrofagach [44]. Aktywna cząsteczka hepcydyny krąży w osoczu w postaci niezmienionej lub połączonej z alfa-2-makroglobuliną [45].

Hepcydyna oddziałuje na komórki organizmu poprzez łączenie się z ferroportyną, białkiem, które kontroluje wypływ żelaza z komórki. Po połączeniu z ferroportyną hepcydyna powoduje jej fosforylację i internalizację, a poprzez takie działanie w enterocytach zatrzymuje żelazo w komórkach nabłonka jelit i sprzyja jego usuwaniu wraz z procesem złuszczenia się nabłonka jelitowego [44,45]. Ferroportyna jest obecna również w makrofagach, a dzięki mechanizmowi ujemnego sprzężenia zwrotnego uwalnianie żelaza z makrofagów do osocza również jest zahamowane przez hepcydynę [44]. Oba stany skutkują obniżeniem stężenia żelaza w surowicy. Z kolei przy niedoborze hepcydyny następuje zwiększone wchłanianie jelitowe żelaza i jego zwiększone uwalnianie z makrofagów [46]. Poza internalizacją ferroportyny hepcydyna może również bezpośrednio hamować proliferację i przeżycie komórek erytroidalnych [47].

Znanych jest wiele białek biorących udział w szlaku sygnałowym pobudzającym lub hamującym syntezę hepcydyny, spośród nich najlepiej poznane to: białko HFE (*ang. high Fe, human hemochromatosis protein*), receptor transferyny 1 i 2, białko morfogenetyczne kości 6 (BMP-6), hemojuwelina (HJV) i transferyna [44]. Receptory transferyny 1 (TfR1) występują na powierzchni większości komórek i są odpowiedzialne za przenoszenie żelaza z puli krążącej we krwi do wnętrza komórek. Z kolei receptory transferyny 2 (TfR2) zlokalizowane są głównie na powierzchni hepatocytów i wykazują niemal 30-krotnie mniejsze powinowactwo do transferyny niż TfR1 [48]. TfR1 jest połączone z białkiem HFE, natomiast TfR2 jest białkiem bardzo nietrwałym i dopiero połączenie z transferyną wysyconą żelazem daje mu stabilizację. Zwiększone stężenie krążącego żelaza w organizmie, a tym samym wyższe stężenie żelaza związanego z transferyną powoduje rozpad kompleksu HFE i TfR1 i połączenie uwolnionego białka HFE z kompleksem TfR2-transferyna [49]. Powstały kompleks HFE-TfR2-transferyna przenosi sygnał do wnętrza komórki, co skutkuje pobudzeniem syntezy hepcydyny [50].

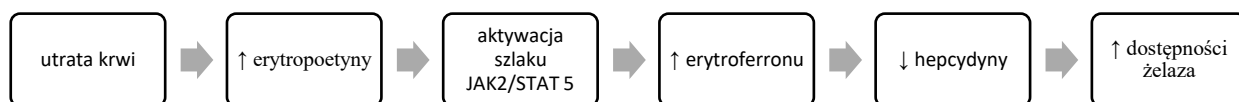
Na zmienność ekspresji hepcydyny może wpływać wiele czynników wpływających na stan ustrojowej gospodarki żelaza. W sytuacji nadmiaru żelaza w organizmie komórki wątrobowe produkują hepcydynę, która powoduje zahamowanie wchłaniania żelaza w enterocytach i zapobiega jego dalszemu gromadzeniu się. Z kolei w niedokrwistości z niedoboru żelaza, bądź w stanach z nasilonym procesem erytropoezy i zwiększonego zapotrzebowania na żelazo stężenie hepcydyny w surowicy jest bardzo niskie, co zwiększa wchłanianie żelaza [44]. Ponadto na jej regulację wpływa również erytropoetyna (EPO), niedotlenienie oraz obecność stanu zapalnego. Zaobserwowano, że po podaniu nawet pojedynczej dawki czynnika stymulującego erytropoezę następuje wyraźny spadek stężenia hepcydyny w surowicy. Wiąże się ona z receptorem EPO-R na powierzchni hepatocytów, przez co hamuje ekspresję hepcydyny w tych komórkach [44]. Część badaczy uważa jednak, że erytropoetyna nie wywiera bezpośredniego wpływu na syntezę hepcydyny, a działa poprzez zmniejszenie osoczowego stężenia żelaza, które wynika z nasilonej erytropoezy w szpiku kostnym [51]. W sytuacji niedotlenienia również dochodzi do zahamowania syntezy hepcydyny w komórce wątrobowej, poprzez indukowany hipoksją czynnik 1 (*ang. hypoxia-inductable factor 1, HIF1*). W stanach, gdy prężność tlenu spada dochodzi do zahamowania rozpadu HIF1, a przez to do jego kumulacji i przesunięcia do jądra komórkowego, gdzie wpływa na transkrypcję wielu genów, w tym hepcydyny [52].

Z kolei do czynników powodujących wzrost syntezy hepcydyny należy przewlekły stan zapalny. Wzrost stężenia hepcydyny wpisuje się w nieswoistą strategię obronną organizmu, ograniczona zostaje dostępność żelaza również dla komórek mikroorganizmów [44,53]. Ponadto wykazano, że syntezę hepcydyny pobudzają także lipopolisacharydy z błon komórkowych bakterii Gram ujemnych oraz interleukina 6, cytokina prozapalna [54,55]. Wzrost stężenia hepcydyny w przewlekłych chorobach zapalnych dodatkowo nasila zaburzenia metabolizmu żelaza, a co za tym idzie może przyczyniać się do rozwoju niedokrwistości [44].

#### 1.2.4.2 Erytoferron

Erytoferron, cytokina złożona z 354 aminokwasów, po raz pierwszy opisana została przez Kautza i wsp. w 2014 roku, a kodowana jest przez gen *ERFE* położony na chromosomie 2 [56]. Erytoferron został odkryty w trakcie badań nad nowymi cząsteczkami, których stężenie wzrastało podczas supresji produkcji hepcydyny w wątrobie. Uwagę badaczy zwróciło białko, produkowane przez erytroblasty, powstające podczas nieopisanego dotąd transkryptu *Fam132b*. W sekwencji dalszych badań potwierdzono, że erytoferron pochodzi z komórek prekursorowych linii erytroidalnej oraz odgrywa rolę w metabolizmie żelaza w organizmie [56]. W tym samym czasie prowadzone były inne niezależne badania nad tą cząsteczką, nazwaną przez Seldina i wsp. mionektyną, ponieważ przypuszczano, że miejscem jej syntezy są mięśnie szkieletowe [57]. W toku dalszych badań ujednolicono nomenklaturę, zostając przy pierwotnej nazwie erytoferron oraz potwierdzono funkcję odkrytego białka jako erytroidalnego regulatora metabolizmu żelaza [58].

W celu lokalizacji miejsca syntezy erytoferronu oceniano ekspresję *Fam132b* u myszy przed i po podaży erytropoetyny. Przed podaniem erytropoetyny obserwowano wysoką aktywność *Fam132b* w szpiku kostnym, mięśniach, jądrach, dwunastnicy oraz w jelicie grubym, natomiast po stymulacji erytropoetyną istotnie wzrastała jego ekspresja w szpiku kostnym i śledzionie. Te wyniki pozwoliły wysnuć wnioski, że głównym narządem odpowiedzialnym za produkcję erytoferronu jest szpik kostny [56]. Dalsze badania wykazały, że erytropoetyna wpływa na ekspresję erytoferronu poprzez aktywację szlaku sygnalizacyjnego JAK2/STAT5, który pobudza proces erytropoezy [56,59]. Analizowano również ekspresję transkryptu *Fam132b* na każdym etapie trwania erytropoezy potwierdzając wzrost stężenia erytoferronu w przypadku niedoborów żelaza [56]. Natomiast w przeprowadzanych dotychczas badaniach nie zaobserwowano zmian w stężeniu erytoferronu pod wpływem uogólnionego stanu zapalnego oraz niedotlenienia [56,59].



Rycina 2. Schemat wpływu erytroferronu na gospodarkę żelaza [56].

W celu określenia wpływu erytroferronu na stężenie hepcydyny oceniano zmiany w jej syntezie w wątrobie pod wpływem utraty krwi u myszy, które podzielono na trzy grupy: *Fam132b* +/+, *Fam132b* +/- oraz *Fam132b* -/-. W pierwszej grupie stwierdzono istotne, ponad 10-krotne zmniejszenie ekspresji hepcydyny, natomiast w pozostałych dwóch grupach zmiany te były nieistotne statystycznie [56]. Podobnie udowodniono wpływ erytroferronu na hepcydynę w badaniu, w którym podano preparat zawierający rekombinowany erytroferron zdrowym myszom obserwując istotne zmniejszenie stężenia hepcydyny [60]. Ponadto udowodniono również, że myszy pozbawione transkryptu *Fam132b* wykazywały istotnie mniejsze stężenie żelaza w surowicy krwi niż myszy z grupy kontrolnej [56]. Podobnych odkryć dokonali japońscy badacze, którzy analizowali zachowanie stężenia erytropoetyny i erytroferronu u myszy z wywołaną laboratoryjnie niedokrwistością hemolityczną. Zaobserwowano, że w grupie badanych myszy nastąpił istotny wzrost stężenia erytropoetyny i erytroferronu w szpiku i śledzionie, a co za tym idzie zmniejszenie stężenia hepcydyny [61].

W badaniu Honda i wsp. przeprowadzonym u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek poddanych hemodializie, oceniano, czy erytroferron mógłby znaleźć zastosowanie w leczeniu niedokrwistości u tych chorych. Wykazano, że wzrost stężenia erytroferronu, a co za tym idzie supresja hepcydyny i zwiększenie dostępności zasobów żelaza, może być indukowany przez darbopoetynę alfa i ciągły aktywator receptora erytropoetynowego [62]. Mechanizm ten wymaga dalszych badań, ale potencjalnie mógłby znaleźć zastosowanie w leczeniu niedokrwistości u dializowanych chorych [62]. Brak jest także danych na temat oceny stężenia erytroferronu w NChZJ, według analizy dostępnego piśmiennictwa erytroferron nie był dotychczas badany w tej grupie chorych.

#### 1.2.4.3 Białko morfogenetyczne krwi 6 (BMP-6)

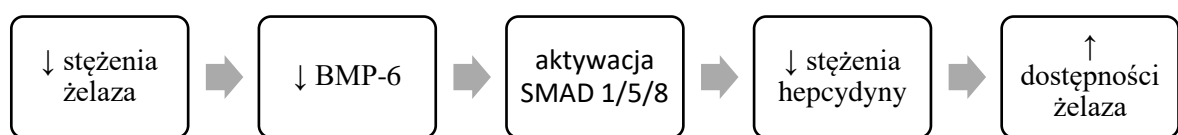
Białka morfogenetyczne kości (*ang. Bone Morphogenetic Proteins, BMP*) należą do rodziny transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) i regulują szereg procesów już podczas rozwoju zarodkowego. Po raz pierwszy zostały wykryte w tkance kostnej w 1965 roku przez M. Urista, który zaobserwował ich korzystny wpływ na proces osteogenezy [63]. W kolejnych latach wykazano, że białka morfogenetyczne kości odgrywają istotną rolę także w procesach neuro- i chondrogenetycznej oraz uczestniczą w regulacji gospodarki żelaza w organizmie [63,64].

Obecnie znanych jest ponad 20 białek BMP, jednym z nich jest BMP-6, składające się z ponad czterdziestu ligandów, które poprzez wiązanie się z kompleksem receptorów serynowo-treoninowych typu I i II inicjują wewnątrzkomórkową kaskadę sygnalizacyjną [64]. Dotychczas przeprowadzone badania dowiodły, że BMP-6 pośredniczy w regulacji ekspresji hepcydyny zależnie od zawartości żelaza w organizmie [65]. BMP-6 wiąże się z receptorem na powierzchni komórek wątrobowych powodując fosforylację białek przenoszących sygnał do jądra komórkowego - SMAD 1/5/8. W następnej kolejności białko SMAD 4 przyłącza się do wytworzonego kompleksu i migruje do jądra komórkowego, gdzie wpływa na stymulację transkrypcji genu dla hepcydyny [66]. W warunkach podwyższonego stężenia żelaza w surowicy BMP-6 ulega zwiększonej transkrypcji wyłącznie w wątrobie, w szczególności w komórkach śródbłonna zatok wątroby [67], podczas gdy w innych tkankach pozostaje niezmienione [68].

Wykazano, że szlak BMP-6 jest regulowany również przez rozpuszczalną postać hemojuweliny (HJV). HJV jest białkiem funkcjonującym jako koreceptor dla BMP-6 na powierzchni komórek wątrobowych, wzmacniając przenoszenie sygnału przez ten szlak. Z kolei rozpuszczalna postać HJV wiąże się z BMP-6 przez co uniemożliwia jego połączenie z receptorem na błonie komórkowej hepatocyta, co skutkuje zahamowaniem syntezy hepcydyny [64]. Wiadomo, że rozpuszczalna postać HJV uwalniana zostaje w wyniku niedotlenienia oraz niedoboru żelaza [45]. Innym udowodnionym regulatorem BMP-6 jest erytroferron, który powoduje zmniejszenie stężenia tego białka w wątrobie [69].

BMP-6 może mieć potencjalnie korzystne znaczenie w leczeniu niedokrwistości spowodowanej nadmiarem hepcydyny, a zastosowanie agonistów BMP-6 rozważane jest w terapii zaburzeń związanych z przeładowaniem organizmu żelazem [64]. Theurl i wsp. oceniali skuteczność inhibitorów BMP w leczeniu niedokrwistości wynikającej z przewlekłego stanu zapalnego. Zastosowano u szczurów z niedokrwistością pochodną dorsomorfiny lub rozpuszczalną formę HJV jako inhibitorów szlaku BMP-SMAD, w wyniku czego uzyskano zwiększenie mobilizacji żelaza z rezerw ustrojowych oraz zwiększenie erytropoezy. Jednak zastosowanie pochodnej dorsomorfiny jest ograniczone ze względu na jej efekty uboczne spowodowaną nioselektywnym działaniem [70].

W innym badaniu, przeprowadzonym na myszach z wyidukowanym zapaleniem jelita grubego, oceniano wpływ hamowania osi BMP-SMAD na stężenie hepcydyny. Mysiom podawano jeden z trzech czynników anty-BMP: rekombinowane białko HJV, drobnocząsteczkowy inhibitor transdukcji sygnału BMP lub przeciwciało anty-BMP-6. Wykazano, że blokowanie ekspresji hepcydyny za pomocą jednego z tych trzech inhibitorów doprowadziło we wszystkich przypadkach do znacznego wzrostu stężenia żelaza w surowicy, a co więcej, do zmniejszenia nasilenia zapalenia jelita. Mechanizm ten może być potencjalnie pomocny w leczeniu niedokrwistości związanej ze stanem zapalnym i zwiększonym stężeniem hepcydyny [71]. Dotychczas stężenie BMP-6 nie było oceniane u pacjentów z NChZJ.



Rycina 3. Schemat potencjalnego wpływu BMP-6 na gospodarkę żelaza [44,45,64].

## 1.3 Leczenie niedokrwistości

### 1.3.1 Leczenie niedokrwistości z niedoboru żelaza

U chorych z rozpoznaną niedokrwistością związaną z niedoborem żelaza wskazana jest suplementacja tego pierwiastka. Celem leczenia jest poprawa jakości życia poprzez eliminację objawów związanych z niedokrwistością oraz normalizację parametrów biochemicznych [72]. Głównym kryterium dobrej odpowiedzi na leczenie jest wzrost stężenia hemoglobiny o więcej niż 2 g/dl w przeciągu 4 tygodni od włączenia leczenia [73]. Leczenie niedokrwistości z niedoboru żelaza u chorych na NChZJ można prowadzić suplementując żelazo doustnie bądź dożylnie. Preparaty domięśniowe żelaza nie są zalecane, ponieważ sama podaż leku jest bolesna, niszczy tkanki i wiąże się z istotnymi działaniami niepożądanymi [72]. Wybór drogi leczenia jest uzależniony od szeregu czynników, takich jak obecność objawów, nasilenie niedokrwistości, szybkość narastania niedokrwistości czy możliwe niekorzystne skutki terapii [41]. Zgodnie z rekomendacjami ECCO, dożylnie podawanie żelaza powinno być leczeniem pierwszego wyboru u pacjentów z klinicznie aktywną postacią NChZJ, z hemoglobiną poniżej 10 g/dl, a także u chorych, którzy wymagają środków stymulujących erytropoezę. Natomiast doustne preparaty żelaza są zalecane u chorych z łagodną niedokrwistością, bez aktywnej postaci NChZJ oraz bez nietolerancji doustnego żelaza w przeszłości [12].

W ChL-C, w nasilonym stanie zapalnym błony śluzowej jelita cienkiego, doustne preparaty żelaza mają znacznie ograniczone wchłanianie, co jest spowodowane między innymi wysokim poziomem aktywacji hepcydyny [74]. Niewchłonięte żelazo z przewodu pokarmowego może wywierać szkodliwy wpływ na błonę śluzową jelita i zaostrzać stan zapalny [75]. Dlatego też u chorych na NChZJ zaleca się stosowanie możliwe małych dawek podczas suplementacji doustnej – nie więcej niż 100 mg elementarnego żelaza w ciągu doby [72]. Stoffel i wsp. w swojej analizie wykazali, że niskie dawki żelaza podawane co drugi dzień mogą obniżać poziom hepcydyny, zwiększając przez to wchłanianie żelaza z przewodu pokarmowego, co powoduje większą skuteczność leczenia i zarazem mniejszą ekspozycję błony śluzowej jelita

na niewchłonięte żelazo [76]. Do doustnych preparatów stosowanych w leczeniu niedokrwistości zalicza się sole żelaza takie jak siarczan, glukonian, bursztynian żelaza bądź kompleks karboksymaltozy z żelazem. Ostatnie doniesienia u chorych na NChZJ wskazują, że doustny preparat zawierający maltol żelazowy wykazuje korzystny profil bezpieczeństwa żołądkowo - jelitowego w porównaniu do innych preparatów, a co więcej zapewnia szybką i klinicznie istotną poprawę poziomu hemoglobiny – wzrost stężenia hemoglobiny o 2,25 g/dl po leczeniu przez 12 tygodni [77,78]. W przypadku braku wzrostu stężenia hemoglobiny o 2g/dl w ciągu 4 tygodni powinno rozważyć się zmianę doustnej suplementacji na dożylną. Natomiast w przypadku dobrej odpowiedzi na doustne leczenie należy dążyć do normalizacji stężenia hemoglobiny oraz zasobów żelaza [72].

U pacjentów z ciężką postacią niedokrwistości oraz niewystarczającą odpowiedzią lub nietolerancją doustnych preparatów żelaza postępowaniem z wyboru jest terapia dożylna [72]. Najważniejszym czynnikiem przemawiającym na korzyść dożylnych preparatów żelaza jest ich skuteczność i szybkość działania, a także dobra tolerancja przez chorych [79]. Należy jednak pamiętać o ryzyku wystąpienia reakcji anafilaktycznej związanej z przyjmowaniem tych preparatów. Wytyczne ECCO zalecają korzystanie z uproszczonego szacowania zapotrzebowania na żelazo, które opiera się na wyjściowym poziomie hemoglobiny oraz masie ciała (Tabela 3) [72]. Taka metoda jest znacznie łatwiejsza, a co więcej równie skuteczna w szacowaniu dawki żelaza u chorych na NChZJ w porównaniu do tradycyjnego wzoru Ganzoniego (Rycina 4). Formuła Ganzoniego jest rzadziej stosowana w codziennej praktyce klinicznej, może też sprzyjać niedokładnemu oszacowaniu niedoborów w magazynach żelaza, zwłaszcza u mężczyzn [79]. Z kolei ograniczenia uproszczonego schematu zapotrzebowania na żelazo dotyczą ciężkiej niedokrwistości, z hemoglobina poniżej 7g/dl. Przyjmuje się, że chorzy ci mogą potrzebować dodatkowej dawki 500 mg żelaza [72]. W praktyce klinicznej najczęściej stosowanymi dożylnymi preparatami żelaza są glukonian lub dekstran żelaza oraz żelazo w kompleksie z karboksymaltozą [36]. Ryzyko przeciążenia żelazem u pacjentów z przewlekłym krwawieniem, jak w NChZJ, jest małe, natomiast przyjmuje się jako górną granicę terapii poziom wysycenia transferyny powyżej 50%, a ferrytyny w surowicy powyżej 800 µg /L [26].



HEMOGLOBINA [G/DL]	MASA CIAŁA <70KG	MASA CIAŁA ≥70KG
10-12 [KOBIECY]	1000mg	1500mg
10-13 [MĘŻCZYŹNI]		
7-10	1500mg	2000mg

Tabela 3. Uproszczony schemat szacowania zapotrzebowania na żelazo w NChZJ [72].

$$\text{TID [mg]} = \text{masa ciała [kg]} \times (\text{optimalna HGB} - \text{aktualna HGB}) [\text{g/dl}] \times 0,24 + 500\text{mg}$$

TID - całkowity deficyt żelaza, HGB hemoglobina

Rycina 4. Wzór Ganzoniego [36].

### 1.3.2 Leczenie niedokrwistości chorób przewlekłych

Duże znaczenie w terapii niedokrwistości chorób przewlekłych odgrywa prawidłowe leczenie choroby podstawowej. Obecność tego typu anemii jest wyraźnym wskaźnikiem aktywnej choroby, dlatego optymalizacja leczenia powinna być działaniem z wyboru. W dużych randomizowanych badaniach oceniających wpływ stosowania infliksymabu na poziom hemoglobiny w niedokrwistości chorób przewlekłych w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów i zeszywniającego zapalenia stawów kręgosłupa wykazano istotny wzrost stężenia hemoglobiny w grupie leczonej infliksymabem w porównaniu do placebo [80,81]. Zgodnie z wytycznymi ECCO pacjenci z niedokrwistością chorób przewlekłych z niewystarczającą odpowiedzią na dożylną suplementację żelaza i na intensywną terapię NChZJ mogą mieć rozważane włączenie leczenia stymulującego erytropoezę. Erytropoetynę należy zawsze stosować łącznie z dożylną suplementacją żelaza, aby uniknąć rozwoju czynnościowego niedoboru tego pierwiastka [36]. W celu zminimalizowania ryzyka wystąpienia działań niepożądanych po erytropoetynie, takich jak zakrzepica żylna lub niekorzystne zdarzenia sercowo-

naczyniowe, leczenie preparatami erytropoetyny stosuje się do uzyskania stężenia hemoglobiny wynoszącego maksymalnie 12 g/dl [72].

### 1.3.3 Leczenie niedokrwistości z niedoboru witaminy B12 i/lub kwasu foliowego

U chorych, u których stwierdzono niedobór witaminy B12 konieczna jest jej suplementacja, aż do czasu ustąpienia niedokrwistości megaloblastycznej i normalizacji stężenia witaminy B12 w surowicy [82]. Chorzy z ciężkim niedoborem witaminy B12, u których występują objawy kliniczne jej deficytu, powinni otrzymywać pozajelitowo 1000 µg witaminy B12 co drugi dzień przez tydzień, następnie 1 raz w tygodniu aż do poprawy klinicznej, a następnie co miesiąc do końca życia. Wzrost odsetka retikulocytów powinien być widoczny po 7–10 dniach [82]. Jeżeli nie uzyskuje się spodziewanej poprawy biochemicznej może to sugerować nakładanie się innej przyczyny niedokrwistości i wymaga dalszej diagnostyki.

Również u pacjentów z niedokrwistością megaloblastyczną wynikającą z niedoboru kwasu foliowego, zawsze należy wykluczyć niedobór witaminy B12 [26]. Suplementację kwasu foliowego należy rozpocząć od dawki 5 mg dziennie przez 4 miesiące, a w sytuacjach zaburzonego wchłaniania z przewodu pokarmowego zaleca się dawkę do 15 mg kwasu foliowego dziennie przez 4 miesiące [26].

## 2. Założenia i cele pracy

### 2.1 Założenia pracy

Niedokrwistość jest najczęstszą manifestacją pozajelitową NChZJ i wiąże się z pogorszeniem jakości życia, a w części badań także z wydłużeniem czasu hospitalizacji. Według danych epidemiologicznych jej częstość występowania waha się w szerokim przedziale od 6 do 74%. Ze względu na wieloczynnikową etiopatogenezę diagnostyka różnicowa typu niedokrwistości u chorych z zaostrzeniem NChZJ stanowi istotny problem kliniczny. Wyzwaniem jest zwłaszcza różnicowanie niedokrwistości z niedoboru żelaza i niedokrwistości chorób przewlekłych, wynikającej z niekorzystnego wpływu cytokin prozapalnych na erytropoezę.

Patomechanizm rozwoju niedokrwistości chorób przewlekłych nie jest do końca znany, nie wszyscy chorzy z zaostrzeniem NChZJ manifestują niedokrwistość w badaniach laboratoryjnych. Z drugiej strony niedokrwistość może być także stwierdzana u chorych w remisji klinicznej i bez wzrostu markerów stanu zapalnego. Oznaczanie ferrytyny może nie być wiarygodne w tej grupie chorych, gdyż – jako białko ostrej fazy – wzrasta w zaostrzeniu NChZJ, maskując niedobór żelaza. W regulowaniu prawidłowej gospodarki żelazowej podkreśla się rolę hepcydyny, a wstępne dane z badań eksperymentalnych, dotyczą także erytoferronu i białek morfogenetycznych krwi, zwłaszcza BMP-6. Erytoferron i BMP-6 to niedawno zidentyfikowane cytokiny uczestniczące na różnych etapach w procesie wzmożonej erytropoezy w niedokrwistości o różnym patomechanizmie. Białka te nie były dotychczas badane u chorych na NChZJ.

Prezentowane wyniki mają potencjalne implikacje kliniczne, zwrócenie uwagi na wysoką częstość występowania niedokrwistości w przebiegu NChZJ jest ważne z punktu widzenia monitorowania chorych, także w praktyce ambulatoryjnej. Wiadomo także, że ocena powszechnie oznaczanych wskaźników gospodarki żelazowej nie odpowiada jednoznacznie na pytanie o przyczynę niedokrwistości w tej grupie chorych. Stąd poszukiwanie nowych parametrów laboratoryjnych, takich jak erytoferron lub BMP-6, których znaczenie kliniczne u chorych na NChZJ wymaga dalszej weryfikacji.

## 2.2 Cele pracy

1. Ocena częstości występowania i związku niedokrwistości zdanymi klinicznymi w badanej grupie chorych.
2. Analiza podstawowych parametrów laboratoryjnych w diagnostyce różnicowej niedokrwistości u chorych na NChZJ.
3. Ocena znaczenia klinicznego hepcydyny w niedokrwistości w badanej grupie chorych.
4. Analiza roli niedawno wykrytych białek: erytoferronu i BMP-6 w niedokrwistości u chorych na NChZJ.
5. Ocena wpływu stanu zapalnego na badane parametry laboratoryjne w niedokrwistości w przebiegu NChZJ.

### 3. Metody

#### 3.1 Dobór chorych

Do badania kwalifikowano kolejnych chorych na NChZJ hospitalizowanych w Klinice Chorób Przewodu Pokarmowego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, w latach 2016-2018. Przy przyjęciu do Kliniki od każdego pacjenta, wyrażającego zgodę na udział w badaniu, został zebrany wywiad chorobowy, przeprowadzono badanie przedmiotowe oraz badania laboratoryjne. W ramach prowadzonego badania pobierano dodatkową próbkę krwi obwodowej (5 ml) podczas rutynowo pobieranej krwi do badań laboratoryjnych. Inne procedury diagnostyczno-terapeutyczne wykonywano niezależnie od udziału pacjenta w prowadzonym badaniu naukowym. W zależności od wyniku morfologii wykonywanej w dniu przyjęcia do szpitala chorzy kwalifikowani byli do grupy z niedokrwistością lub bez niej. Z badania wyłączono chorych z wywiadem leczenia niedokrwistości w okresie ostatnich 3 miesięcy. Wszyscy pacjenci otrzymywali standardowe leczenie farmakologiczne stosowane w leczeniu ich choroby podstawowej.

Do grupy badanej włączono 118 pacjentów z NChZJ, w tym 63 z ChL-C i 55 z WZJG. W analizowanej grupie chorych u 73 (61,85%) rozpoznano niedokrwistość, w tym u 42 na ChL-C (66,7%) i 31 (56,4%) na WZJG. Rozpoznanie niedokrwistości postawione zostało zgodnie z aktualną definicją WHO, tzn. stężenie hemoglobiny poniżej 13 g/dl u mężczyzn i 12 g/dl u kobiet. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 30 zdrowych ochotników bez niedokrwistości w badaniach laboratoryjnych, bez chorób przewlekłych, u których obraz jelita grubego w wykonanej z innych wskazań kolonoskopii był prawidłowy. Każdy pacjent zakwalifikowany do badania wyraził świadomą zgodę na udział w badaniu i podpisał stosowny formularz.

Kryteria włączenia do badania:

- wiek powyżej 18 r.ż.
- rozpoznane WZJG lub ChL-C
- świadoma zgoda na udział w badaniu

Kryteria wykluczenia z badania:

- przetoczenie preparatów KKCz w okresie 3 miesięcy przed aktualną hospitalizacją
- suplementacja preparatami żelaza, kwasu foliowego lub witaminy B12 w okresie 3 miesięcy przed aktualną hospitalizacją
- inne choroby towarzyszące mogące mieć wpływ na gospodarkę żelazem, takie jak hemochromatoza, porfiria lub talasemia
- choroby szpiku kostnego, w tym zespół mielodysplastyczny i hipoplazja szpiku kostnego
- brak zgody na udział w badaniu.

### 3.2 Metody oznaczania badanych parametrów

Każdy hospitalizowany chory z grupy badanej w dniu przyjęcia wykonywane miały następujące badania laboratoryjne: pełna morfologia krwi obwodowej, CRP, żelazo, ferrytyna i transferyna.

Zakres wartości prawidłowych dla oznaczanych parametrów wynosił:

- HGB dla kobiet: 12,0-16,0 g/dl; dla mężczyzn: 13,5-18,0g/dl,
- RBC dla kobiet: 3,90 – 5,60 T/l; dla mężczyzn: 4,50 – 6,50 T/l,
- HCT dla kobiet: 37,0 – 47,0 %; dla mężczyzn: 40,0-54,0%,
- MCV 80,0 – 98,0 fl,
- MCH 27,0 – 34,0 pg,
- MCHC 31,0 – 37,0 g/dl,
- stężenie retikulocytów 0,020 – 0,100 T/l,
- odsetek retikulocytów 0,6 – 2,1%,
- stężenie żelaza w surowicy 70 – 180 µg/dl,
- stężenie ferrytyny 30,0 – 400,0 ng/ml,
- stężenie transferyny 2,00 – 3,60 g/l,

- CRP < 0,5 mg/l,
- witamina B12 0,4 – 40 ng/ml.

U chorych zakwalifikowanych do badania pobierano dodatkowo 5 ml krwi w celu oznaczenia stężenia hepcydyny, witaminy B12, erytroferronu i BMP-6. Krew była odwirowywana przez 20 minut w wirówce z prędkością 1000xg, a następnie zamrażana do dalszych oznaczeń w temperaturze -80°C. Stężenia BMP-6 i erytroferronu oznaczane były przy pomocy testu immunoenzymatycznego ELISA zestawami firmy WuHanEIAab Science Co., stężenie hepcydyny zestawami firmy R&D Systems, a witaminy B12 firmy Demeditec. Minimalne wykrywane stężenie dla badanych parametrów wynosiło odpowiednio: dla BMP-6 – 0,156 ng/ml; dla erytroferronu – 0,156ng/ml; dla hepcydyny – 0,446 ng/ml; dla witaminy B12 – 0,3 ng/ml.

### 3.3. Stosowane skale aktywności klinicznej ChL-C i WZJG

#### 3.3.1 Indeks aktywności ChL-C –CDAI (Crohn's Disease Activity Index)

<b>Analizowane dane kliniczne</b>	<b>Punkty</b>
Liczba luźnych stolców (suma odpowiedzi z 7 dni)	x 2
Ból brzucha w skali 0-3 (suma odpowiedzi z 7 dni)	x 5
Ogólne samopoczucie w skali 0-4 (suma odpowiedzi z 7 dni)	x 7
Obecność powikłań (1 pkt za każde z niżej wymienionych)*	x 20
Stosowanie leków przeciwbiegunkowych w ciągu ostatniego tygodnia (0 – nie; 1 – tak)	x 30
Guz w jamie brzusznej (0 – brak; 2 – wątpliwy; 5 – pewny)	x 10
Deficyt hematokrytu (47% u mężczyzn; 42% u kobiet)	x 6
Procentowy deficyt masy ciała (% poniżej masy należnej)	x 1
<b>Wskaźnik aktywności choroby Leśniowskiego-Crohna</b>	<b>Suma pkt</b>
* Powikłania: <ul style="list-style-type: none"><li>- ból stawów lub zapalenie stawów</li><li>- zapalenie tęczówki lub naczyńówki oka</li><li>- obecność rumienia guzowatego, piodermii zgorzelinowej lub owrzodzeń aftowych</li><li>- obecność szczelin, przetok lub ropni odbytu</li><li>- obecność innych przetok</li><li>- temperatura &gt; 37,8 stopni C w ciągu ostatniego tygodnia</li></ul>	

Tabela 4. Indeks aktywności ChL-C (CDAI) [83].

Ocena aktywności ChL-C na podstawie obliczonego CDAI:

<150 punktów – remisja,

150-219 punktów - łagodna postać ChL-C,

220-449 punktów – umiarkowana postać ChL-C,

>450 punktów – ciężka postać ChL-C



### 3.3.2 Klasyfikacja montrealaska ChL-C

Klasyfikacja montrealaska ChL-C określa fenotyp choroby na podstawie wieku pacjenta w momencie rozpoznania choroby, lokalizacji i przebiegu ChL-C.

Wiek w momencie rozpoznania	A1	≤ 16 lat
	A2	16 – 40 lat
	A3	> 40 lat
Lokalizacja zmian chorobowych	L1	Jelito kręte
	L2	Okrężnica
	L3	Jelito kręte i okrężnica
	L4	Górny odcinek przewodu pokarmowego
Przebieg	B1	Bez zwężeń i przetok
	B2	Postać zwężająca
	B3	Postać przetokowa

Tabela 5. Klasyfikacja montrealaska ChL-C [84].

### 3.3.3 SES-CD (Simple Endoscopic Score for Crohn Disease)

	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
Obecność i rozmiar owrzodzeń	Brak	Owrzodzenia <0,5 cm	Owrzodzenia 0,5-2,0 cm	Owrzodzenia, >2,0 cm
Zasięg powierzchni z owrzodzeniami	0%	<10%	10-30%	>30%
Zasięg zmienionej zapalnie powierzchni	0%	<50%	50-75%	>75%
Obecność i rodzaj zwężeń	Brak	Pojedyncze, możliwe do przejścia	Liczne, możliwe do przejścia	Brak możliwości przejścia

Tabela 6. Skala punktacji endoskopowej oceny ChL-C [85].

	Odbytnica	Esica i zstępnicą	Poprzecznicą	Wstępnicą	Jelito kręte	Suma
Obecność i rozmiar owrzodzeń (0-3)						
Zasięg powierzchni z owrzodzeniem (0-3)						
Zasięg zmienionej zapalnie powierzchni (0-3)						
Obecność i rodzaj zwiężeń (0-3)						
Suma czynników						Suma
Ilość zajętych segmentów						N
Suma – 1,4 x n						SES-CD

Tabela 7. Sposób obliczania SES-CD [85].

Ocena aktywności ChL-C na podstawie SES-CD:

< 3 punktów - remisja endoskopowa

3 - 6 punktów - łagodne nasilenie zmian endoskopowych

7 -15 punktów – umiarkowane nasilenie zmian endoskopowych

> 15 punktów – ciężkie nasilenie zmian endoskopowych.

### 3.3.4. Klasyfikacja montrealaska WZJG

Określenie	Rozmieszczenie	Opis
E1	Wrzodziejące zapalenie odbytnicy	Zmiany ograniczone do odbytnicy
E2	Lewostronne (dystalne) WZJG	Zajęcie jelita grubego od odbytnicy do zagięcia śledzionowego
E3	Rozległe WZJG (pancolitis)	Zmiany rozciągają się proksymalnie od zagięcia śledzionowego, mogą obejmować całą okrężnicę

Tabela 8. Klasyfikacja montrealaska WZJG z określeniem zasięgu zmian chorobowych [84].

### 3.3.5 Skala Mayo WZJG

Parametr	Ocena kliniczna	Wynik
Częstość wypróżnień	Prawidłowa liczba wypróżnień dla pacjenta	0
	1-2 wypróżnienia / dobę powyżej normy dla pacjenta	1
	3-4 wypróżnienia / dobę powyżej normy dla pacjenta	2
	≥ 5 wypróżnień / dobę powyżej normy dla pacjenta	3
Krwawienie z odbytu	Krew niewidoczna	0
	Ślad krwi ze stolcem w mniej niż połowie wypróżnień	1
	Krew w stolcu w większości wypróżnień	2
	Wypróżnienie samą krwią	3
Ocena endoskopowa	Prawidłowa błona śluzowa	0
	Zmiany o łagodnym nasileniu – przekrwienie błony śluzowej, zatarta siatka naczyniowa	1
	Zmiany o umiarkowanym nasileniu – zaczerwienienie błony śluzowej, niewidoczna siatka naczyniowa, krwawienie kontaktowe, nadżerki	2
	Zmiany o dużym nasileniu – samoistne krwawienie, owrzodzenia	3
Ocena ogólna lekarza	Stan prawidłowy	0
	Łagodna postać choroby	1
	Umiarkowana postać choroby	2
	Ciężka postać choroby	3

Tabela 9. Skala aktywności choroby – skala Mayo WZJG [86].

Ocena aktywności WZJG na podstawie skali Mayo:

< 3 punkty - remisja

3-5 punktów - łagodna postać WZJG

6-9 punktów - umiarkowana postać WZJG

>9 punktów - ciężka postać WZJG

### 3.4 Metody analizy statystycznej

W celu opracowania statystycznego zgromadzonych danych dla cech mierzalnych podano ich zakres minimalny i maksymalny, obliczono średnie arytmetyczne oraz miary wewnętrznego zróżnicowania (odchylenia standardowe). Dla cech mierzalnych oceniono częstość występowania poszczególnych kategorii, obliczając procentowy udział tych kategorii w grupach. Dla porównania zmiennych ciągłych, w zależności od rozkładu i jednorodności badanych zmiennych zastosowano test t-studenta lub test U Manna-Whitney'a. Dla wszystkich wykorzystanych testów statystycznych przyjęto poziom istotności statystycznej  $p < 0,05$ . Analizy statystycznej dokonano przy użyciu programu Statistica firmy StatSoft, Inc.

## 4. Wyniki

### 4.1 Dane kliniczne badanej grupy chorych

Badaniem objęto 118 chorych na NChZJ, w tym 55 (46,61%) na WZJG i 63 (53,39%) na ChL-C. W badanej grupie pacjentów z NChZJ było 67 kobiet (56,78%) i 51 mężczyzn (43,22%). Nie obserwowano istotnych różnic statystycznych odnośnie płci zarówno w grupie chorych na ChL-C, jak i na WZJG ( $p > 0,05$ ). Średnia wieku pacjentów w momencie kwalifikacji do badania wynosiła 42,51 lat (38,75 lat u chorych na ChL-C i 46,82 lat u chorych na WZJG;  $p=0,005$ ), bez istotnej różnicy w odniesieniu do płci (Tabela 9). Nie stwierdzono istotnych różnic w zakresie płci i wieku także w grupie kontrolnej ( $p > 0,05$ ).

U pacjentów z ChL-C najczęściej stwierdzano postać choroby obejmującą jelito kręte i okrężnicę (25 pacjentów, 43,1%). Lokalizacja zmian w końcowym odcinku jelita krętego dotyczyła 16 chorych (27,59%), a postać obejmująca jedynie okrężnicę – 17 chorych (29,31%). Zaobserwowano również przewagę postaci zapalnej, przebiegającej bez zwężeń i bez zmian penetrujących poza ścianę jelita (32 chorych, 54,24%). Postać zwężająca ChL-C dotyczyła 21 pacjentów (35,59%), natomiast postać penetrująca 6 chorych (10,17%). Zarówno w ocenie klinicznej, jak i endoskopowej dominowały umiarkowana i ciężka postać choroby. Z kolei wśród pacjentów z WZJG w badaniu endoskopowym u 18 chorych (33,96%) stwierdzono zajęcie całej okrężnicy, a u 10 (18,87%) postać lewostronną choroby (18,87%). Zapalenie odbytnicy występowało jedynie u 6 (11,32%) chorych, zaś remisję endoskopową stwierdzono u kolejnych 19 (35%). Dokładne dane kliniczne analizowanych pacjentów z ChL-C i WZJG zostały przedstawione w Tabeli 10.

Tabela 10. Charakterystyka badanych chorych na NChZJ.

		<b>NChZJ</b>	<b>ChL-C</b>	<b>WZJG</b>	<b>p*</b>
<b>N (%)</b>		118	63	55	0,148
	mężczyźni	51 (43,22)	27 (43,86)	24 (42,64)	0,534
	kobiety	67 (56,78)	36 (57,14)	38 (56,36)	0,912
<b>Wiek (lata)</b> [średnia, (SD; zakres)]		42,51(15,57;18-78)	38,75 (14,11;20-78)	46,82 (16,15;18-78)	<b>0,005</b>
	mężczyźni	42,10(14,82;20-78)	38,78 (13,68;23-76)	45,83(15,44;20-78)	0,072
	kobiety	42,82 (16,22;18-78)	38,72(14,62;20-78)	47,58(16,90;18-78)	<b>0,025</b>
<b>Długość hospitalizacji (dni)</b> [średnia, (SD; zakres)]		7,33 (4,83;1-31)	6,64 (3,77;1-16)	8,27 (5,91;1-31)	0,255
	mężczyźni	7,41 (5,62;1-31)	6,95 (4,51;1-16)	8,00 (6,91;2-31)	0,955
	kobiety	7,26 (3,95;1-19)	6,35 (2,98;2-14)	8,56 (4,84;1-19)	0,107
<b>Lokalizacja zmian(%)</b>	L1	-	16 (27,59)	-	-
	L2	-	17 (29,31)	-	-
	L3	-	25 (43,10)	-	-
	L4	-	0 (0)	-	-
<b>Przebieg choroby(%)</b>	B1	-	32 (54,24)	-	-
	B2	-	6 (10,17)	-	-
	B3	-	21 (35,59)	-	-
<b>Wiek w czasie rozpoznania (%)</b>	A1	-	2 (3,39)	-	-
	A2	-	43 (72,88)	-	-
	A3	-	14(23,73)	-	-
<b>Zasięg zmian(%)</b>	E1	-	-	6 (11,32)	-
	E2	-	-	10 (18,87)	-
	E3	-	-	18 (33,96)	-
	remisja	-	-	19 (35,85)	-
<b>CDAI (%)</b>	remisja	-	11 (18,03)	-	-
	łagodna	-	8 (13,11)	-	-
	umiarkowana	-	22 (36,07)	-	-
	ciężka	-	20 (32,79)	-	-
<b>SES-CD (%)</b>	remisja	-	12 (21,82)	-	-
	łagodna	-	10 (18,18)	-	-
	umiarkowana	-	17 (30,91)	-	-
	ciężka	-	16 (29,09)	-	-
<b>Mayo(%)</b>	remisja	-	-	9 (16,67)	-
	łagodna	-	-	13 (24,07)	-
	umiarkowana	-	-	18 (33,33)	-
	ciężka	-	-	14 (25,93)	-
<b>Mayo endoskopowa (%)</b>	Mayo 0	-	-	19 (35,19)	-
	Mayo 1	-	-	6 (11,11)	-
	Mayo 2	-	-	14 (25,92)	-
	Mayo 3	-	-	15 (27,78)	-

L – lokalizacja choroby: L1 – jelito kręte, L2 – okrężnica, L3 – jelito kręte i okrężnica, L4 – górny odcinek przewodu pokarmowego – zachowanie choroby: B1 – postać nie zwężająca i nie penetrująca, B2 – postać zwężająca, B3 – postać penetrująca; E – zasięg zmian: E1 – zapalenie odbytnicy, E2 – lewostronne WZJG, E3 – rozległe WZJG; \* porównując WZJG i ChL-C

Wszyscy chorzy na NChZJ biorący udział w badaniu przyjmowali preparaty 5-ASA, zaś steroidoterapię stosowano u 53 (44,91%) chorych, w tym u 24 pacjentów z WZJG i 29 z ChL-C. Pacjenci z towarzyszącą niedokrwistością istotnie częściej byli leczeni steroidami w porównaniu do chorych bez niedokrwistości (dla WZJG: 21 chorych vs 3 chorych; dla ChL-C: 27 chorych vs 2 chorych;  $p < 0,05$ ). Azatioprynę stosowano u 46 (38,98%) chorych, w tym u 16 pacjentów z WZJG i 30 z ChL-C. Pacjenci z towarzyszącą niedokrwistością istotnie częściej byli leczeni preparatami azatiopryny w porównaniu do chorych bez niedokrwistości (dla WZJG: 13 chorych vs 3 chorych; dla ChL-C: 22 chorych vs 8 chorych;  $p < 0,05$ ). U 1 chorego z niedokrwistością i WZJG stosowano 6-merkaptopurynę, a kolejny taki chory był leczony cyklosporyną. W analizowanej grupie chorych leczenie biologiczne otrzymywało 6 chorych (2 chorych na WZJG i 4 chorych na ChL-C), z czego niedokrwistość stwierdzono u 4 z nich (2 pacjentów z WZJG i 2 pacjentów z ChL-C).

#### 4.2 Częstość występowania niedokrwistości i jej związek z danymi klinicznymi

W analizowanej grupie chorych niedokrwistość stwierdzono istotnie częściej u pacjentów z ChL-C - 42 (66,7%) w porównaniu z 31 (56,4%) chorymi na WZJG ( $p=0,033$ ). W grupie chorych z niedokrwistością było 39 (53,42%) kobiet i 34 (46,58%) mężczyzn. Nie stwierdzono istotnych różnic pod względem płci zarówno u pacjentów z ChL-C, jak i WZJG ( $p>0,05$ ). Średni wiek chorych na NChZJ z niedokrwistością wynosił 43,46 lat (40,02 lat u chorych na ChL-C i 48,13 lat u chorych na WZJG) i był zbliżony do wieku pacjentów z NChZJ bez anemii ( $p>0,05$ , Tabela 11).

Częstość występowania niedokrwistości zwiększała się istotnie wraz z nasileniem choroby i zakresem zmian zapalnych w badaniu endoskopowym zarówno u pacjentów z ChL-C, jak i z WZJG (Tabela 11). Dodatkowo, w analizowanej grupie było 13 chorych ze świeżo postawionym rozpoznaniem NChZJ – u 5 (38,54%) zdiagnozowano ChL-C, a u 8 (61,46%) WZJG. Wszyscy chorzy ze świeżym rozpoznaniem NChZJ mieli współistniejącą niedokrwistość, najczęściej w stopniu umiarkowanym.



Średni czas trwania NChZJ wynosił  $8,14 \pm 6,17$  lat u pacjentów z ChL-C i  $8,13 \pm 5,22$  lat z WZJG ( $p > 0,05$ ). Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w długości trwania choroby u chorych z niedokrwistością i bez niej. U pacjentów z NChZJ średni czas trwania hospitalizacji wynosił  $7,33 \pm 4,83$  dni, bez istotnej różnicy pomiędzy ChL-C i WZJG ( $8,27 \pm 5,91$  dni vs  $6,64 \pm 3,77$  dni). Czas hospitalizacji u chorych z NChZJ był istotnie dłuższy u pacjentów z niedokrwistością w porównaniu do osób bez niedokrwistości, zwłaszcza w grupie osób chorych na WZJG (Tabela 11).

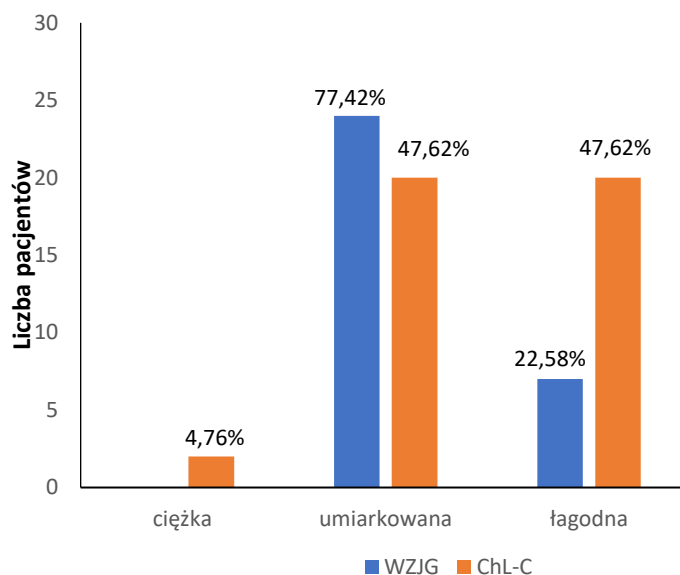
Tabela 11. Charakterystyka chorych na NChZJ z niedokrwistością i bez niedokrwistości.

		NChZJ		P	ChL-C		P	WZJG		p
		anemia	bez anemii		anemia	bez anemii		anemia	bez anemii	
N		73	45	<0,01	42	21	<0,01	31	24	0,09
	mężczyźni	34	17	<0,01	19	8	<0,01	15	9	0,04
	kobiety	39	28	0,03	23	13	0,01	16	15	0,40
Wiek(lata) (SD)		41,4 (16,5)	40,9 (12,5)	0,70	40,0 (15,9)	36,2 (9,5)	0,67	43,0 (17,2)	45,1 (13,5)	0,45
	mężczyźni	44,5 (17,1)	37,2 (6,9)	0,17	40,2 (15,7)	35,4 (6,4)	0,71	50,0 (17,6)	38,9 (7,4)	0,09
	kobiety	38,7 (14,6)	43,2 (14,6)	0,19	39,9 (16,3)	36,7 (11,2)	0,79	46,4 (18,8)	48,1 (15,1)	0,68
Długość hospitalizacji (dni) (SD)		8,00 (4,9)	3,67 (2,4)	<0,01	6,79(3,7)	4,0 (2,4)	0,08	9,58(5,9)	3,43(2,6)	<0,01
	mężczyźni	8,45 (5,8)	3,38 (2,4)	<0,01	7,68 (4,4)	2,33 (1,1)	0,02	9,67 (7,5)	4,00 (2,8)	0,04
	kobiety	7,60 (3,9)	4,25 (2,7)	0,10	6,33 (3,1)	6,5 (0,7)	0,66	9,50 (4,4)	2,00 (1,4)	0,04
Lokalizacja zmian (%)	L1	-	-	-	6 (15,4)	10 (52,6)	0,07	-	-	-
	L2	-	-	-	13 (33,3)	4 (21,1)	<0,01	-	-	-
	L3	-	-	-	20 (51,3)	5 (26,3)	<0,01	-	-	-
	L4	-	-	-	0 (0)	0 (0)	-	-	-	-
Postać choroby(%)	B1	-	-	-	22 (55,0)	10 (51,6)	<0,01	-	-	-
	B2	-	-	-	3 (7,5)	3 (15,8)	0,50	-	-	-
	B3	-	-	-	15 (37,5)	6 (31,6)	<0,01	-	-	-
Wiek w czasie rozpoznania(%)	A1	-	-	-	2 (5,1)	0 (0,0)	<0,01	-	-	-
	A2	-	-	-	25 (64,1)	18 (90,0)	0,06	-	-	-
	A2	-	-	-	12 (30,8)	2 (10,0)	<0,01	-	-	-
Zasięg zmian (%)	E1	-	-	-	-	-	-	5 (16,7)	1 (4,3)	<0,01
	E2	-	-	-	-	-	-	8 (26,7)	2 (8,7)	<0,01
	E3	-	-	-	-	-	-	14 (46,6)	4(17,4)	<0,01
	remisja	-	-	-	-	-	-	3 (10,0)	16 (69,6)	<0,01
CDAI (%)	remisja	-	-	-	1 (2,4)	10 (50,0)	<0,01	-	-	-
	łagodna	-	-	-	4 (9,8)	4 (20,0)	0,05	-	-	-
	umiarkowana	-	-	-	16 (30,0)	6 (30,0)	<0,01	-	-	-
	ciężka	-	-	-	20 (48,8)	0 (0,0)	<0,01	-	-	-
SES-CD (%)	remisja	-	-	-	4 (10,8)	8 (44,4)	0,04	-	-	-
	łagodna	-	-	-	6 (16,2)	4 (22,2)	0,18	-	-	-
	umiarkowana	-	-	-	12 (32,4)	5 (5,6)	<0,05	-	-	-
	ciężka	-	-	-	15 (40,6)	1 (27,8)	<0,01	-	-	-
Mayo (%)	remisja	-	-	-	-	-	-	0 (0,0)	9 (39,1)	<0,01
	łagodna	-	-	-	-	-	-	5 (16,2)	8 (34,8)	0,11
	umiarkowana	-	-	-	-	-	-	13 (41,9)	5 (21,7)	<0,05
	ciężka	-	-	-	-	-	-	13 (41,9)	1 (4,4)	<0,01
Mayo endoskopowa (%)	Mayo 0	-	-	-	-	-	-	3 (9,7)	16 (69,6)	<0,01
	Mayo 1	-	-	-	-	-	-	4 (12,9)	2 (8,7)	0,11
	Mayo 2	-	-	-	-	-	-	11 (35,5)	3 (13,0)	<0,01
	Mayo 3	-	-	-	-	-	-	13 (41,9)	2 (8,7)	<0,01

L – lokalizacja choroby: L1 – jelito kręte, L2 – okrężnica, L3 – jelito kręte i okrężnica, L4 –górny odcinek przewodu pokarmowego; B – zachowanie choroby: B1 – postać nie zwięzająca i nie penetrująca, B2 – postać zwięzająca, B3 – postać penetrująca; E – zasięg zmian: E1 – zapalenie odbytnicy, E2 – lewostronne WZJG, E3 – rozległe WZJG;

Niedokrwistość w stopniu ciężkim występowała u 2 (2,74%) chorych i stwierdzono ją wyłącznie u pacjentów z rozpozną ChL-C. Najczęściej stwierdzano niedokrwistość w stopniu umiarkowanym – u 44 (60,27%) chorych, w tym u 24 (77,42%) chorych na WZJG i 20 (47,62%) na ChL-C (p = 0,01). Rzadziej obserwowano

niedokrwistość łagodnego stopnia – 27 pacjentów (36,99%), w tym u 7 (22,58%) chorych na WZJG i 20 (47,62%) na ChL-C ( $p = 0,029$ ; Rycina 5).



Rycina 5. Częstość występowania poszczególnych stopni niedokrwistości u chorych na ChL-C i WZJG.

#### 4.3. Ocena podstawowych parametrów morfologicznych i witaminy B12

Średnie stężenie HGB w grupie chorych z rozpozną niedokrwistością było podobne zarówno u pacjentów z WZJG, jak i ChL-C i wynosiło odpowiednio  $10,2 \pm 1,3$  g/dl i  $10,5 \pm 1,4$  g/dl ( $p = 0,14$ ). W analizowanych grupach nie stwierdzono również istotnych statystycznie różnic w stężeniu HGB pod względem płci. Z kolei średnie stężenie MCV i MCH było istotnie niższe u chorych na WZJG w porównaniu z chorymi na ChL-C. Oznaczone parametry morfologii u analizowanych chorych z rozpozną niedokrwistością przedstawiono w Tabeli 12.

Stężenie witaminy B12 poniżej wartości prawidłowych stwierdzono u 7 chorych na NChZJ, w tym u 3 chorych na WZJG i 4 na ChL-C ( $p > 0,05$ ). W każdym przypadku

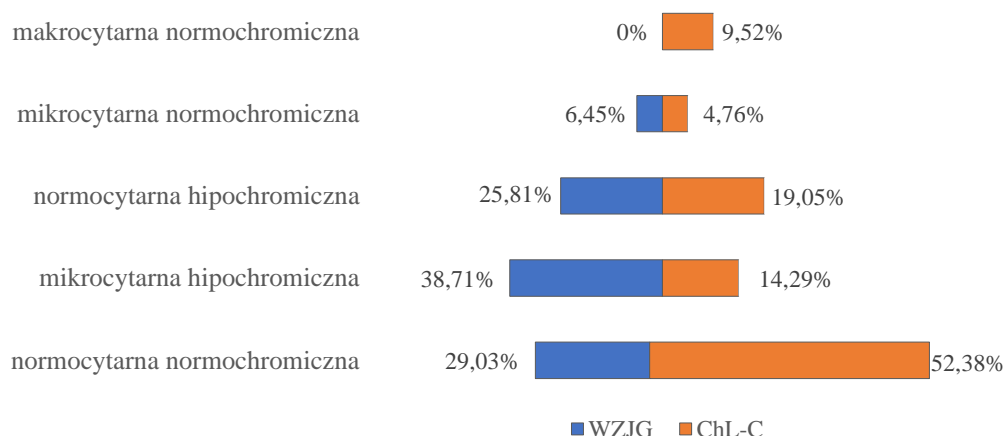
stwierdzonego niedoboru witaminy B12 występowała niedokrwistość, w stopniu łagodnym u 3 chorych i umiarkowanym u 4 chorych.

		<b>WZJG</b>	<b>ChL-C</b>	<b>P</b>
HGB (g/dl)	Kobiety	10,02 ± 1,00	10,15 ± 1,19	0,658
	Mężczyźni	10,39 ± 1,50	10,97 ± 1,50	0,165
RBC (T/l)	Kobiety	3,63 ± 0,46	3,83 ± 0,51	0,339
	Mężczyźni	4,10 ± 0,57	4,12 ± 0,50	0,945
HCT (%)	Kobiety	30,57 ± 3,57	31,83 ± 3,57	0,362
	Mężczyźni	32,96 ± 4,77	33,89 ± 3,60	0,349
MCV (fl)	Kobiety	78,88 ± 6,65	85,17 ± 8,39	<b>0,029</b>
	Mężczyźni	79,45 ± 7,20	86,32 ± 8,14	<b>0,015</b>
MCH (pg)	Kobiety	26,28 ± 1,87	27,91 ± 2,41	<b>0,029</b>
	Mężczyźni	25,17 ± 3,50	27,72 ± 3,25	<b>0,036</b>
MCHC (g/dl)	Kobiety	32,17 ± 2,15	32,07 ± 1,26	0,867
	Mężczyźni	31,51 ± 1,89	32,72 ± 1,41	<b>0,040</b>
Ret (%)	Kobiety	1,59 ± 0,69	1,68 ± 0,97	0,815
	Mężczyźni	1,97 ± 1,38	1,46 ± 0,56	0,411
RET (T/l)	Kobiety	0,058 ± 0,026	0,065 ± 0,038	0,815
	Mężczyźni	0,074 ± 0,044	0,059 ± 0,022	0,366

Tabela 12. Profil hematologiczny chorych na WZJG lub ChL-C z towarzyszącą niedokrwistością.

#### 4.4. Częstość występowania poszczególnych typów niedokrwistości

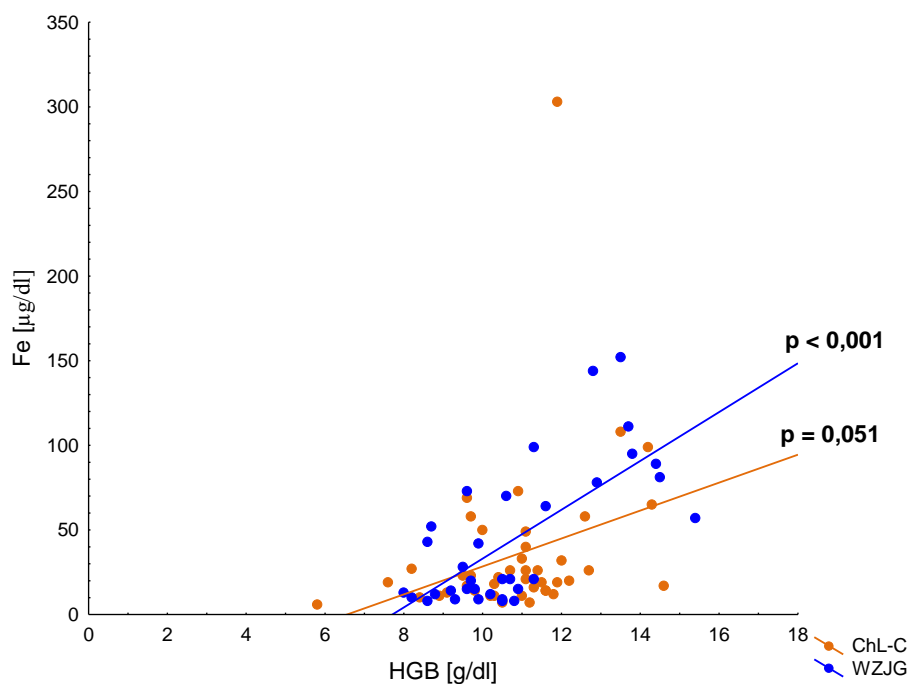
Najczęściej stwierdzanym typem niedokrwistości w analizowanej grupie pacjentów z NChZJ była niedokrwistość normocytarna normochromiczna (31 chorych, 42,46%,  $p < 0,05$ ). Kolejnym co do częstości typem anemii była niedokrwistość mikrocytarna hipochromiczna (18 chorych, 24,66%), a następnie normocytarna hipochromiczna (16 chorych, 21,92%). Natomiast analizując poszczególne grupy chorych stwierdzono przewagę anemii mikrocytarnej hipochromicznej u pacjentów z WZJG (12 chorych, 38,71%), a chorych na ChL-C niedokrwistości normocytarnej normochromicznej (22 chorych, 52,38%). Pełny rozkład typów niedokrwistości przedstawia Rycina 6.



Rycina 6. Częstość występowania poszczególnych typów niedokrwistości u chorych na WZJG i ChL-C.

#### 4.5. Wskaźniki laboratoryjne gospodarki żelazowej

Średnie stężenie żelaza w surowicy u chorych na NChZJ z niedokrwistością wynosiło  $30,58 \pm 41,28 \mu\text{g/dl}$ , nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy stężeniem żelaza u pacjentów z WZJG ( $29,08 \pm 30,83 \mu\text{g/dl}$ ) w porównaniu do ChL-C ( $31,55 \pm 47,20 \mu\text{g/dl}$ ;  $p = 0,6$ ). Nie stwierdzono także istotnych statystycznie różnic w stężeniu żelaza w surowicy w zależności od płci chorych ( $p > 0,05$ ). Obserwowaną zależność pomiędzy żelazem i hemoglobiną u chorych na WZJG i ChL-C przedstawia Rycina 7.



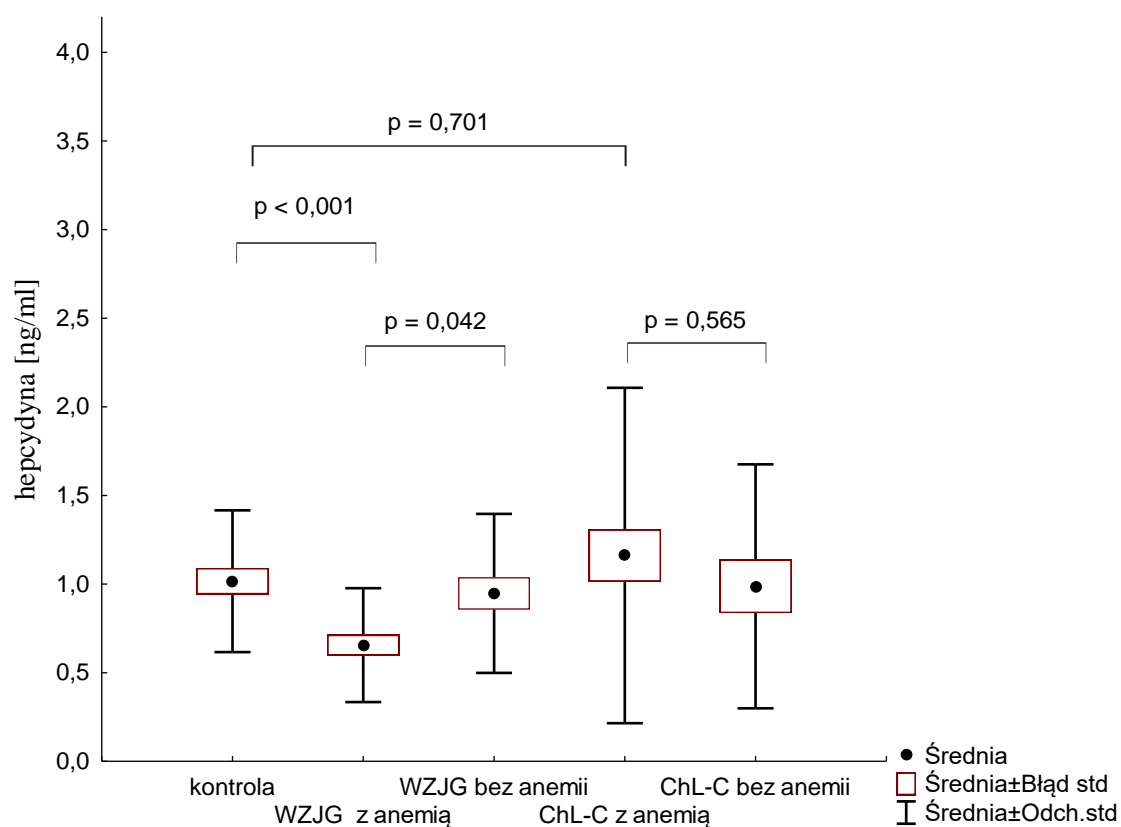
Rycina 7. Wykres zależności stężenia HGB od stężenia żelaza (Fe) w surowicy u chorych na WZJG lub ChL-C.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w średnim stężeniu ferrytyny u chorych z niedokrwistością i WZJG lub ChL-C ( $280,09 \pm 304,39$  ng/ml vs  $384,25 \pm 329,74$  ng/ml,  $p = 0,222$ ), także w porównaniu do grupy kontrolnej ( $347,25 \pm 291,99$  ng/ml;  $p > 0,05$ ). Stężenie ferrytyny  $< 30$  ng/ml stwierdzono u 15 (20,55%) chorych z NChZJ - u 9 pacjentów z WZJG i 6 z ChL-C, z kolei stężenie ferrytyny  $< 100$  ng/ml przy współistniejącym stanie zapalnym, biorąc pod uwagę wytyczne ECCO, stwierdzono u 22 (30,14%) chorych - równie często u pacjentów z WZJG, jak i ChL-C (11 chorych vs 11 chorych,  $p > 0,05$ ).

Zaobserwowano istotnie wyższe stężenie transferrytyny u chorych z niedokrwistością z rozpoznaniem WZJG w porównaniu do ChL-C ( $2,58 \pm 0,90$  g/l vs  $2,15 \pm 0,82$  g/l,  $p = 0,037$ ) i do grupy kontrolnej. Dodatkowo u chorych na WZJG poziom wysycenia transferrytyny był niższy w porównaniu z pacjentami z ChL-C, ale różnica ta nie osiągnęła istotności statystycznej ( $11,09 \pm 10,51$  % vs  $19,68 \pm 19,41$ %,  $p = 0,09$ ). Wysycenie transferrytyny  $< 16$ %, które według wytycznych ECCO przemawia za niedokrwistością z niedoboru żelaza, stwierdzono u 13 chorych na WZJG i 12 chorych na ChL-C ( $p > 0,05$ ).

#### 4.5.1 Hepcydyna

Średnie stężenie hepcydyny u chorych na WZJG ze stwierdzoną niedokrwistością wynosiło  $0,656 \pm 0,321$  ng/ml i było istotnie niższe w porównaniu do chorych na WZJG bez niedokrwistości ( $0,945 \pm 0,449$  ng/ml;  $p = 0,042$ ) oraz do grupy kontrolnej ( $1,016 \pm 0,400$  ng/ml;  $p < 0,001$ ). Z kolei nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w stężeniu hepcydyny u pacjentów z ChL-C z niedokrwistością i bez niej ( $1,16 \pm 0,946$  ng/ml vs  $0,987 \pm 0,688$ ,  $p = 0,565$ ), podobnie jak w grupie kontrolnej ( $p = 0,701$ ). Porównując jedynie grupy z niedokrwistością wykazano, że stężenie hepcydyny u chorych na ChL-C było istotnie wyższe niż u chorych na WZJG ( $1,16 \pm 0,946$  ng/ml vs  $0,656 \pm 0,321$  ng/ml,  $p = 0,004$ ) (Rycina 8).



Rycina 8. Wykres przedstawiający stężenie hepcydyny u chorych na ChL-C i WZJG z niedokrwistością lub bez niej w odniesieniu do grupy kontrolnej.

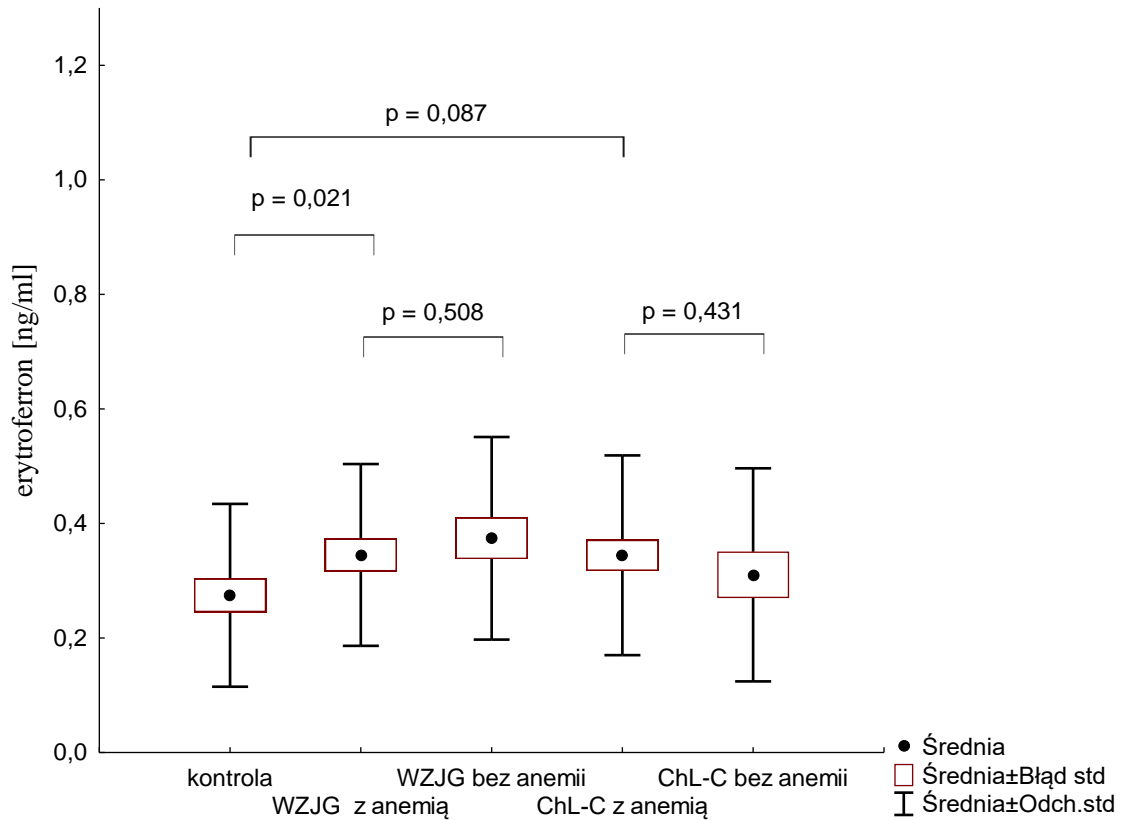
Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu hepcydyny w zależności od stopnia nasilenia choroby oraz lokalizacji zmian zarówno we WZJG,

jak i w ChL-C ( $p > 0,05$ ). U pacjentów z WZJG zaobserwowano dodatnią korelację stężenia hepcydyny od poziomu żelaza ( $p = 0,012$ ), w grupie chorych na ChL-C takiej zależności nie stwierdzono ( $p = 0,429$ ).

#### 4.5.2. Erytroferron

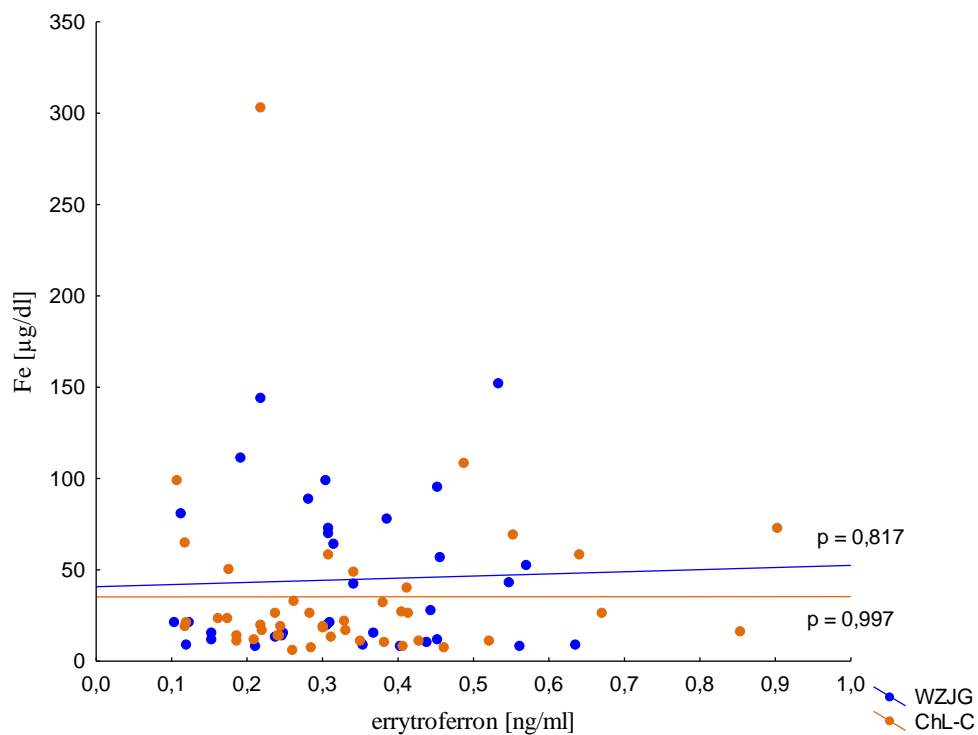
Średnie stężenie erytroferronu w grupie chorych na NChZJ z niedokrwistością było istotnie statystycznie wyższe niż w grupie kontrolnej i wynosiło odpowiednio  $0,345 \pm 0,167$  ng/ml i  $0,275 \pm 0,160$  ng/ml ( $p=0,009$ ). Pacjenci z WZJG zarówno z niedokrwistością, jak i bez niej, mieli wyższe stężenie erytroferronu w porównaniu z grupą kontrolną (odpowiednio;  $0,345 \pm 0,159$  ng/ml vs  $0,275 \pm 0,160$  ng/ml,  $p = 0,021$  i  $0,374 \pm 0,177$  ng/ml vs  $0,275 \pm 0,160$  ng/ml,  $p = 0,018$ ). Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy stężeniem erytroferronu u chorych na WZJG w porównaniu do ChL-C, bez względu na obecność niedokrwistości ( $p=0,759$ ). W grupie chorych na ChL-C również nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między chorymi z rozpoznaną niedokrwistością i bez niej ( $0,344 \pm 0,174$  ng/ml vs  $0,310 \pm 0,186$  ng/ml,  $p = 0,431$ ) (Rycina 9).



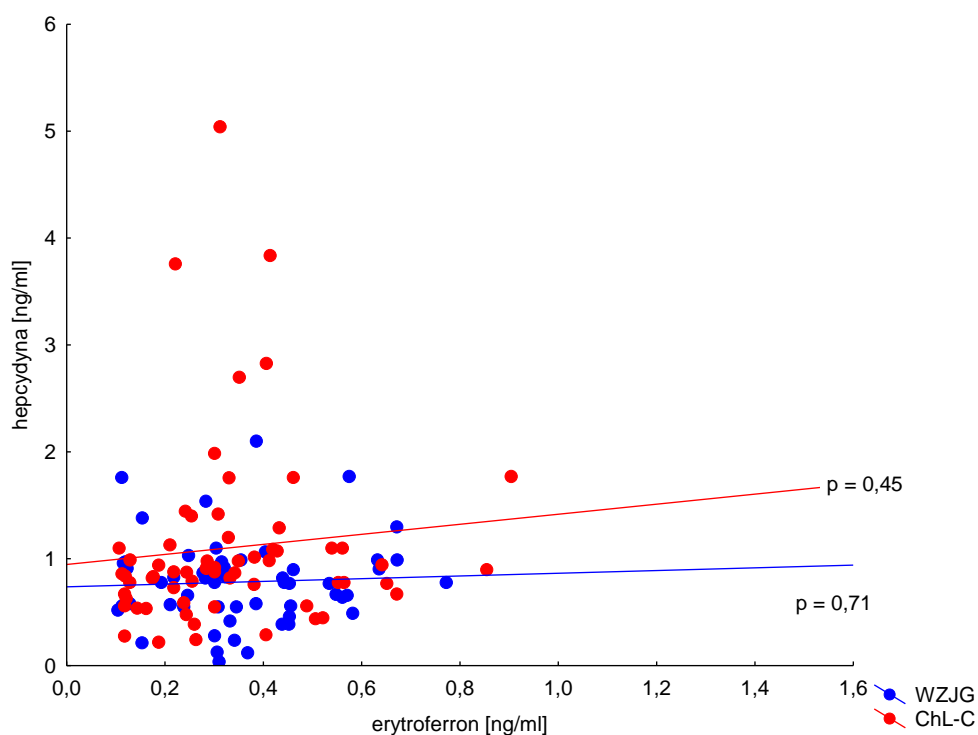


Rycina 9. Wykres przedstawiający stężenie erytroferronu w analizowanych grupach chorych w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Nie zaobserwowano istotnie statystycznej zależności pomiędzy stężeniem erytroferronu a stężeniem żelaza zarówno u pacjentów z WZJG, jak i ChL-C ( $p > 0,05$ ) – Rycina 10. Nie stwierdzono także istotnej statystycznie korelacji pomiędzy stężeniem erytroferronu a hepcydyną ( $p > 0,05$ ) – Rycina 11.



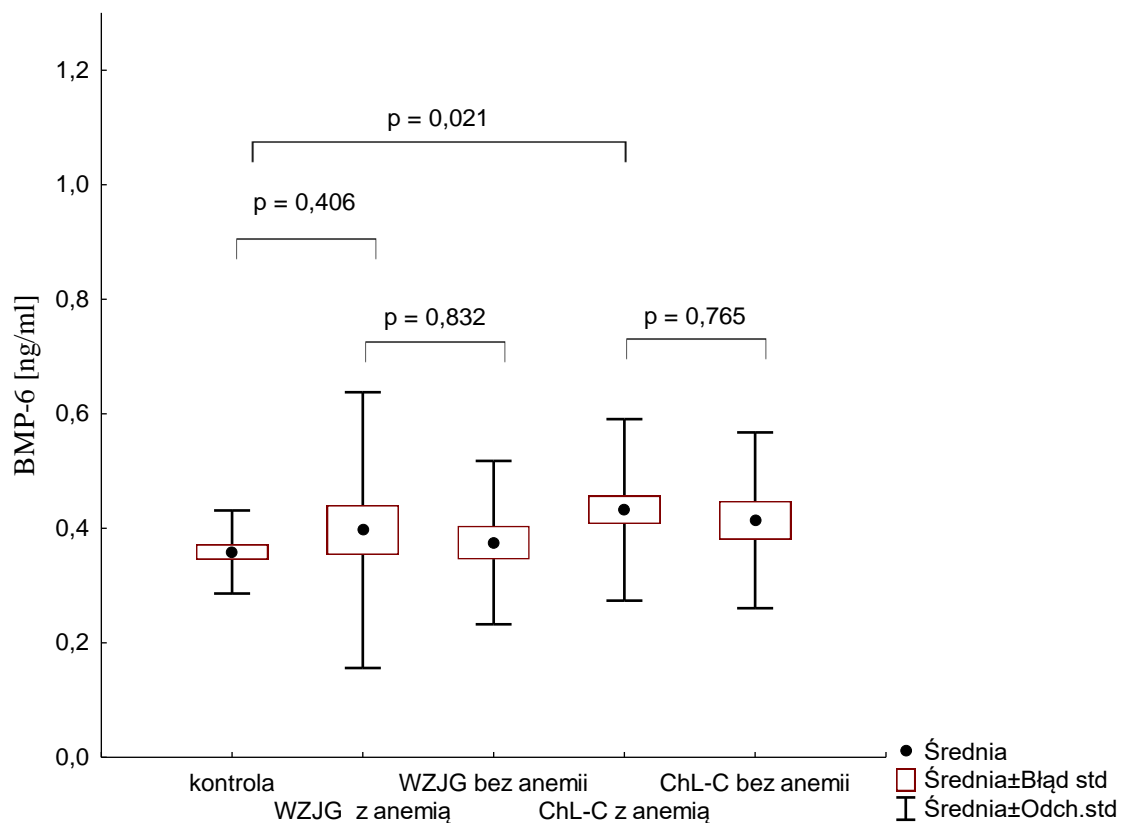
Rycina 10. Wykres zależności między stężeniem erytroferronu a stężeniem żelaza u chorych na WZJG i na ChL-C.



Rycina 11. Wykres zależności między stężeniem erytroferronu a stężeniem hepcydyny u pacjentów z WZJG i ChL-C.

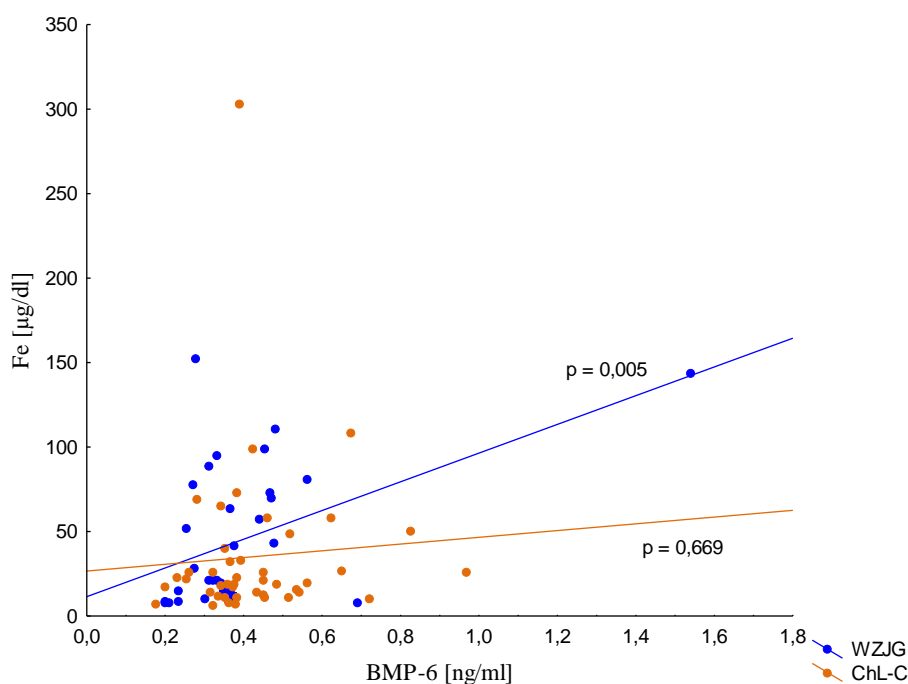
#### 4.5.3. BMP-6

Wśród chorych na ChL-C obserwowano istotnie wyższe stężenie BMP-6 w grupie ze stwierdzoną niedokrwistością w porównaniu do grupy kontrolnej ( $0,432 \pm 0,158$  ng/ml vs  $0,359 \pm 0,072$  ng/ml,  $p = 0,021$ ). Takiej różnicy nie wykazano w stosunku do pacjentów na ChL-C bez niedokrwistości. Podobnie u chorych na WZJG nie obserwowano żadnych istotnych różnic w zakresie stężenia BMP-6, także w odniesieniu do grupy kontrolnej i ChL-C (Rycina 12).

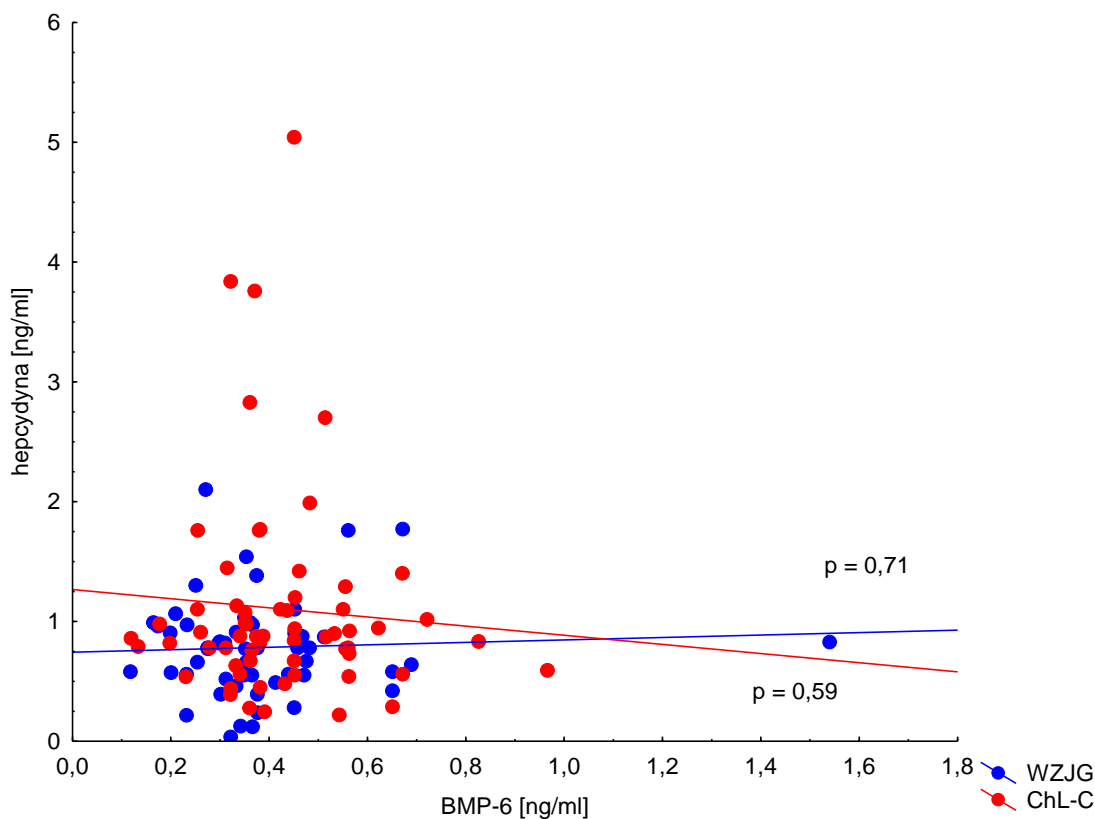


Rycina 12. Wykres przedstawiający stężenie BMP-6 w analizowanych grupach pacjentów w odniesieniu do grupy kontrolnej.

Natomiast analizując zależność stężenia BMP-6 od stężenia żelaza uwidoczniło dodatnią korelację zachodzącą między tymi parametrami u chorych na WZJG ( $p=0,005$ ). Takiej zależności natomiast nie uwidoczniło u chorych na ChL-C ( $p = 0,669$ ; Rycina 13). Nie stwierdzono również istotnej statystycznie korelacji pomiędzy BMP-6 a hepcydyną ( $p > 0,05$ ; Rycina 14).



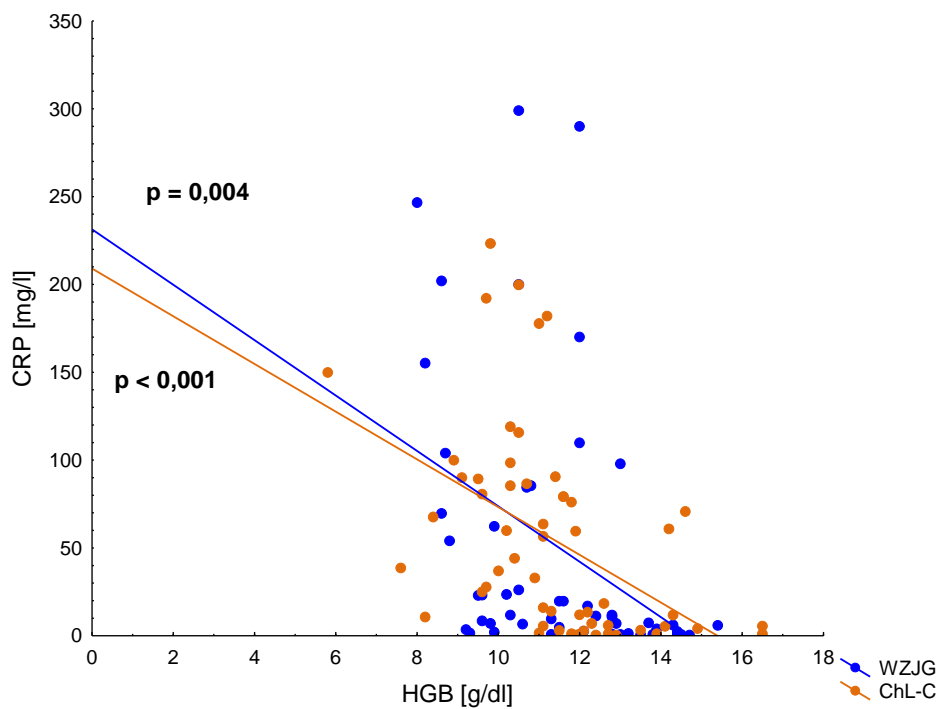
Rycina 13. Wykres zależności między stężeniem BMP-6 a stężeniem żelaza u chorych na WZJG i na ChL-C.



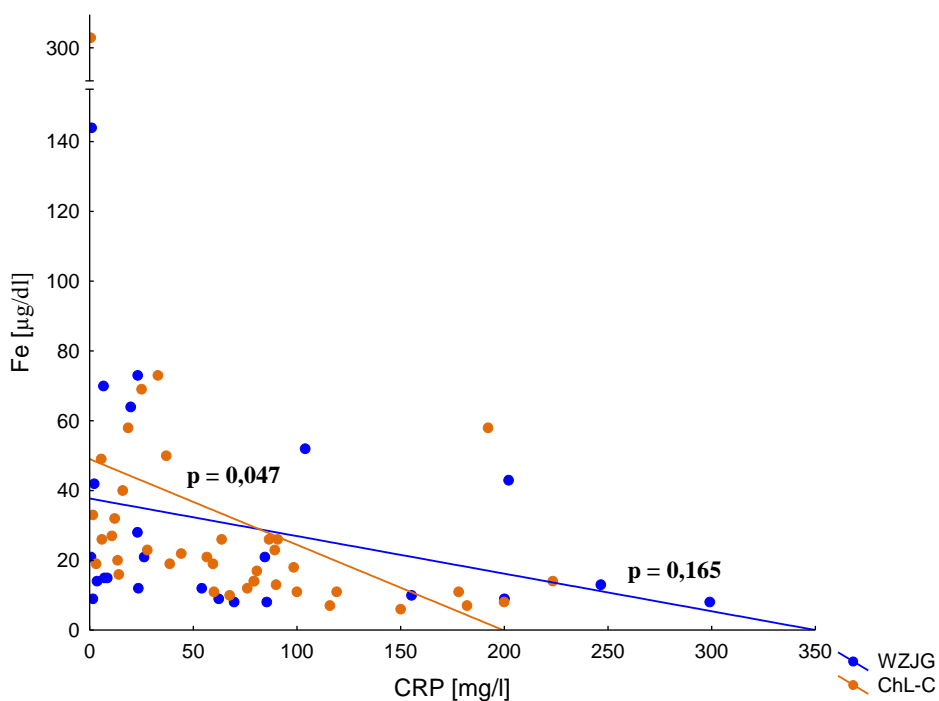
Rycina 14. Wykres zależności między BMP-6 a stężeniem hepcydyny u pacjentów z WZJG i ChL-C.

#### 4.6. Ocena wpływu stanu zapalnego na analizowane parametry laboratoryjne.

Średnie stężenie CRP w grupie chorych na WZJG wynosiło  $49,35 \pm 78,35$  mg/l i było porównywalne do stężenia CRP u chorych na ChL-C –  $54,53 \pm 58,60$  mg/l ( $p = 0,149$ ). Zarówno we WZJG, jak i ChL-C wykazano ujemną korelację pomiędzy stężeniem HGB a CRP (Rycina 15), co jest zgodne z oceną kliniczną badanej grupy i częstszym występowaniem niedokrwistości w ciężkiej postaci NChZJ. U pacjentów z ChL-C wykazano korelację pomiędzy stężeniem żelaza i CRP w surowicy ( $p = 0,047$ ), zależności takiej nie obserwowano u chorych na WZJG ( $p = 0,165$ ), co przedstawiono na Rycinie 16.

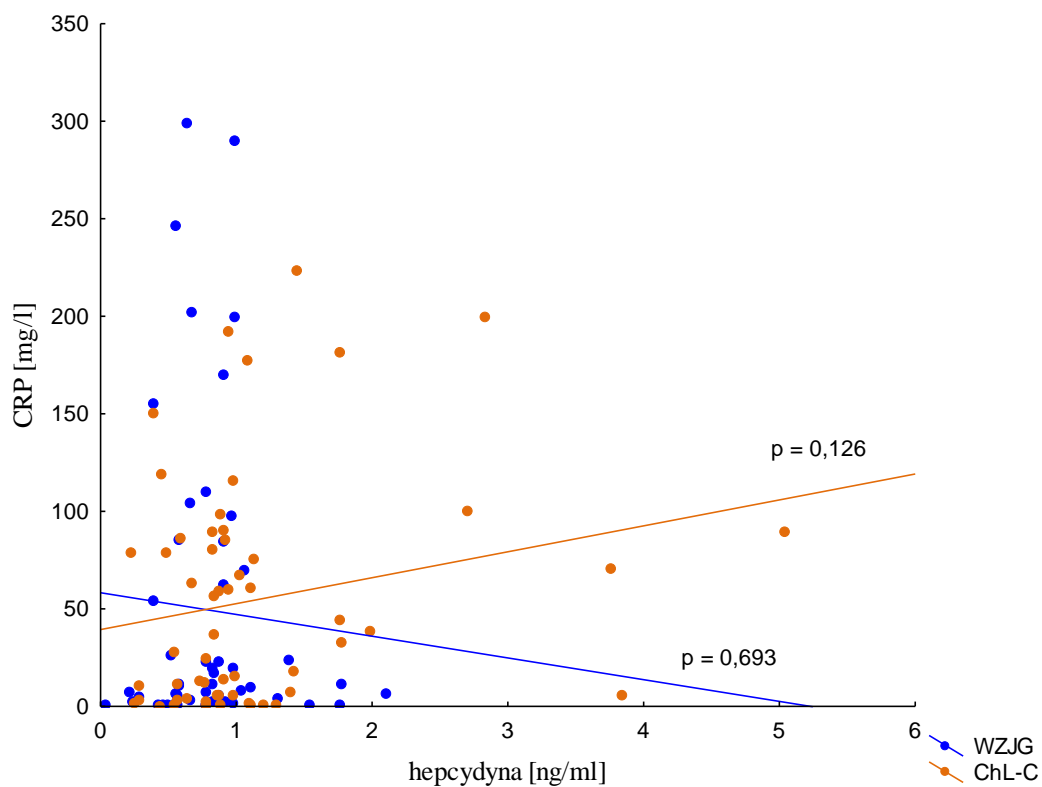


Rycina 15. Wykres zależności stężenia HGB od stężenia CRP u chorych na WZJG i ChL-C.



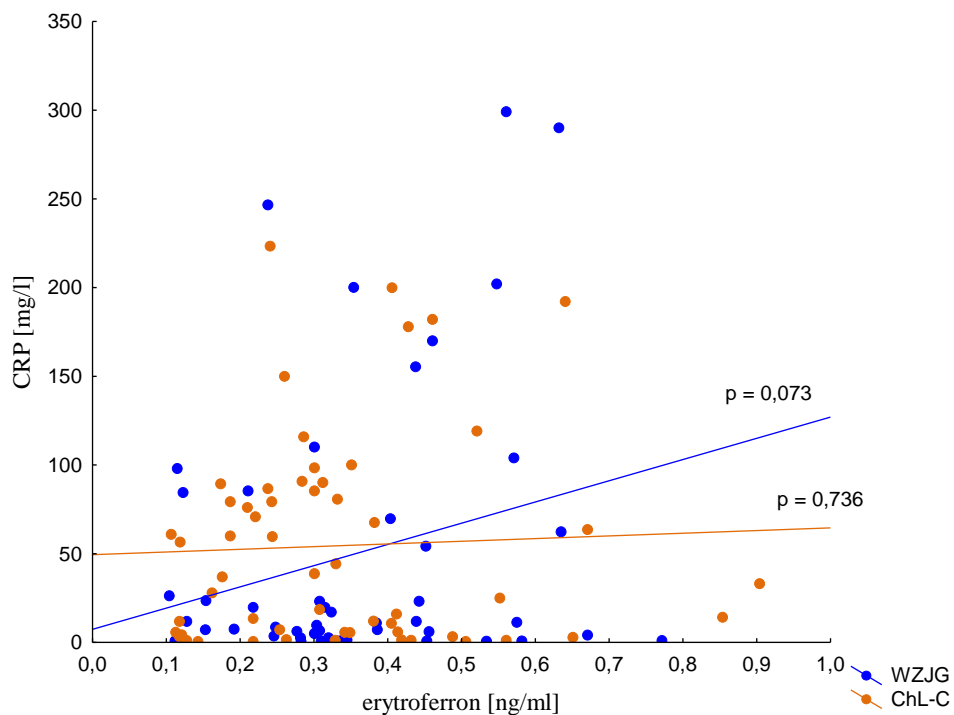
Rycina 16. Wykres zależności stężenia żelaza od stężenia CRP u chorych na WZJG i ChL-C.

Nie stwierdzono z kolei istotnej zależności między stężeniem hepcydyny a CRP zarówno u chorych z WZJG ( $p = 0,693$ ), jak i ChL-C ( $p = 0,126$ ) (Rycina 17).

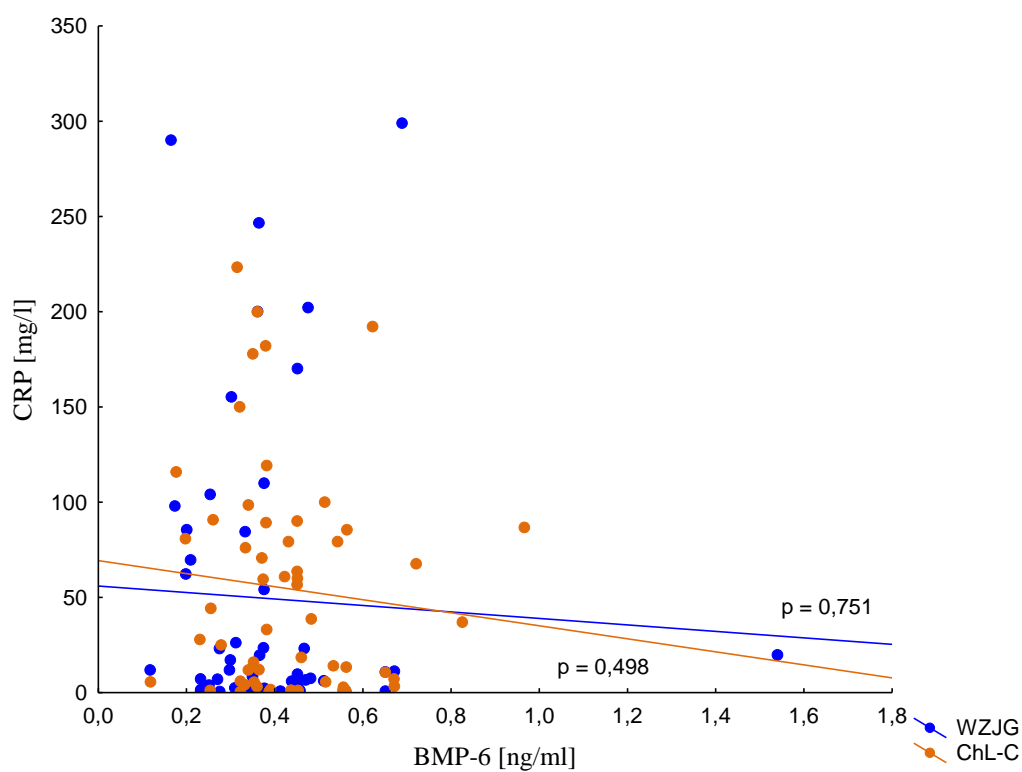


Rycina 17. Wykres zależności między stężeniem hepcydyny a poziomem CRP u chorych na WZJG i na ChL-C.

Nie obserwowano również istotnie statystycznej zależności pomiędzy stężeniem erytroferronu lub BMP-6 a stężeniem CRP (odpowiednio Ryciny 18 i 19).



Rycina 18. Wykres zależności między stężeniem erytroferronu a stężeniem CRP u chorych na WZJG i na ChL-C.



Rycina 19. Wykres zależności między stężeniem BMP-6 a stężeniem CRP u chorych na WZJG i na ChL-C.



## 5. Dyskusja

W ostatnich latach obserwowany jest stały wzrost zachorowalności na NChZJ, a niedokrwistość jest jedną z ich najczęstszych manifestacji pozajelitowych. W przeprowadzonym badaniu potwierdzono ją u 66,7 % pacjentów z ChL-C i 56,4% z WZJG, a uzyskane wyniki wpisują się w szeroki przedział raportowanej w innych pracach częstości jej występowania. Według danych z piśmiennictwa niedokrwistość była rozpoznawana u 6-74% chorych na NChZJ, może być stwierdzana już w momencie rozpoznania NChZJ, czasem jest jednym z wiodących objawów poprzedzających to rozpoznanie [17-20]. W naszym wcześniej opublikowanym badaniu, w którym przeanalizowano dane chorych hospitalizowanych z powodu pierwszego zaostrzenia NChZJ, również potwierdziliśmy wysoką częstość występowania niedokrwistości – u 57,3% chorych na WZJG i 42,7% na ChL-C [31]. Z kolei w jednym z ostatnio opublikowanych badań greccy naukowcy wykazali, że niedokrwistość u 6,5% pacjentów poprzedzała o ponad rok rozpoznanie NChZJ [87]. Dlatego też zawsze istotna jest ocena przyczyn niedokrwistości, a później monitorowanie laboratoryjne chorych od momentu rozpoznania NChZJ. Parra i wsp. wykazali, że pełną analizę laboratoryjną, z oceną gospodarki żelazem, miało jedynie 35,5% z 529 badanych chorych z niedokrwistością w przebiegu NChZJ [88].

W prezentowanym badaniu wykazano, że niedokrwistość u pacjentów z NChZJ istotnie wpływa na przebieg choroby wydłużając czas hospitalizacji, zwłaszcza w przebiegu WZJG, co znajduje potwierdzenie w większości wcześniej opublikowanych doniesień. W kilkunastoletniej obserwacji kanadyjskiej grupy pacjentów z NChZJ również wykazano, że średnia długość hospitalizacji u chorych na WZJG wzrastała w przypadku towarzyszącej niedokrwistości z 10,1 do 12,2 dni [89]. Średni czas hospitalizacji chorych w naszym badaniu był krótszy, ale chorzy na WZJG z niedokrwistością także wymagali istotnie dłuższej hospitalizacji w porównaniu do pacjentów bez niedokrwistości. Z kolei w innych badaniach obserwowano dłuższy czas hospitalizacji jedynie u chorych na ChL-C z towarzyszącą niedokrwistością [6,90]. Różnice te prawdopodobnie wynikają z odmiennych badanych populacji i różnego stadium zaawansowania ChL-C w analizowanych grupach chorych.

Większość dotychczas publikowanych badań potwierdza związek między aktywnością NChZJ, a obecnością niedokrwistości [89,91,92]. Podobne wyniki uzyskano w prezentowanej pracy wykazując, że częstość występowania niedokrwistości zwiększa się wraz z nasileniem choroby i zakresem zmian zapalnych w badaniu endoskopowym, zarówno u pacjentów z ChL-C, jak i z WZJG. Obserwowano również częstsze występowanie anemii w ChL-C o lokalizacji L2 i L3 według klasyfikacji montrealskiej. Z kolei w wielośrodkowym badaniu w populacji hiszpańskiej wykazano, że niedokrwistość w ChL-C była częściej stwierdzana w przypadku postaci z przetokami (B3) w porównaniu do postaci niepenetrujących choroby. Nie wykazano zaś różnic w częstości występowania niedokrwistości u pacjentów z ChL-C w zależności od lokalizacji choroby [92]. Natomiast w grupie chorych na WZJG Lucendo i wsp, podobnie jak w tym badaniu, wykazali, że odsetek występowania niedokrwistości istotnie zwiększa się wraz z zakresem stwierdzanych zmian w badaniu endoskopowym [92]. Powiązanie występowania niedokrwistości z zasięgiem zmian endoskopowych, szczególnie widoczne we WZJG, sugeruje, że w tej grupie chorych jest ona głównie konsekwencją jawnego lub utajonego krwawienia ze zmienionej zapalnie błony śluzowej.

Występowanie niedokrwistości wiąże się z gorszym rokowaniem, cięższym przebiegiem choroby i częstszym występowaniem powikłań [87,93]. Chorzy z niedokrwistością w przebiegu NChZJ, zwłaszcza hospitalizowani, wymagają intensyfikacji leczenia. W obecnym badaniu wykazano, że pacjenci z towarzyszącą niedokrwistością częściej byli leczeni glikokortykosteroidami lub preparatami immunosupresyjnymi. Doniesienia te są podobne do większości wyników innych badań. W pracy węgierskich badaczy oceniającej wpływ manifestacji pozajelitowych, w tym niedokrwistości, na przebieg NChZJ również wykazano, że chorzy z niedokrwistością częściej byli leczeni steroidami lub tiopurynami, zarówno w przypadku ChL-C, jak i WZJG [94].

Ze względu na wieloczynnikową etiopatogenezę diagnostyka różnicowa typu niedokrwistości u chorych z zaostrzeniem NChZJ stanowi istotny problem kliniczny. Wyzwaniem jest zwłaszcza różnicowanie niedokrwistości z niedoboru żelaza i niedokrwistości chorób przewlekłych, wynikającej z niekorzystnego wpływu cytokin prozapalnych na erytropoezę. Patomechanizm rozwoju niedokrwistości chorób przewlekłych nie jest do końca znany, nie wszyscy chorzy z zaostrzeniem NChZJ manifestują niedokrwistość w badaniach laboratoryjnych. Z drugiej strony

niedokrwistość może być także stwierdzana u chorych w remisji klinicznej i bez wzrostu markerów stanu zapalnego.

W prezentowanej pracy wykazano, że najczęstszym typem niedokrwistości u chorych na NChZJ jest anemia normocytarna normochromiczna, a w następnej kolejności mikrocytarna hipochromiczna. Podobnie w badaniu Lee i wsp. również najczęstszym typem niedokrwistości była niedokrwistość normocytarna normochromiczna zarówno u pacjentów z ChL-C (65,3% u kobiet i 64,4% u mężczyzn), jak i u pacjentów z WZJG (71,9% u kobiet i 79,3% u mężczyzn) [95]. Według przedstawianych wyników niedokrwistość ta dominuje w grupie pacjentów na ChL-C, z kolei we WZJG przeważała niedokrwistość mikrocytarna hipochromiczna. Takie wyniki mogą sugerować przewagę niedokrwistości z niedoboru żelaza we WZJG, zaś niedokrwistości chorób przewlekłych w ChL-C, często jednak dochodzi do nakładania się tych typów niedokrwistości, stąd potrzeba dalszych badań nad patomechanizmem niedokrwistości w NChZJ.

Jedną z przyczyn niedokrwistości u pacjentów z NChZJ jest również niedobór witaminy B12. Mimo, że dane z piśmiennictwie podają niedobór tej witaminy nawet u 22% chorych na ChL-C [32, 96], w prezentowanym badaniu obniżone stężenie witaminy B12 stwierdzono jedynie u 7 chorych, bez istotnej różnicy zarówno w ChL-C, jak i we WZJG. Wiadomo z kolei, że w grupie chorych na WZJG częstość niedoboru witaminy B12 jest niska i jest zbliżona do populacji ogólnej, z wyjątkiem chorych, którzy przeszli zabieg proktokolektomii [96]. Podobnie w analizowanej pracy odsetek występowania niedoboru witaminy B12 był niski i nie był związany z występowaniem ciężkiej postaci niedokrwistości. Wiadomo też, że niedobór witaminy B12 zwykle powoduje występowanie niedokrwistości megaloblastycznej [97,98]. Jednak w tym badaniu w grupie chorych na ChL-C z towarzyszącym niedoborem witaminy B12 dominowała niedokrwistość normocytarna normochromiczna, natomiast w grupie chorych na WZJG mimo niedoboru witaminy B12 przeważała niedokrwistość mikrocytarna hipochromiczna. Powyższe wyniki mogą sugerować, że niedobór witaminy B12 u pacjentów z NChZJ, zarówno u chorych na ChL-C, jak i WZJG, jedynie współistnieje z inną, dominującą przyczyną niedokrwistości, a typowy obraz niedokrwistości megaloblastycznej jest wyjątkowo rzadki w tej grupie chorych.

Nie zaobserwowano również istotnych różnic w średnim stężeniu ferrytyny w badanych grupach chorych. Zgodnie z wytycznymi ECCO dotyczącymi diagnostyki różnicowej niedokrwistości rozpoznanie anemii z niedoboru żelaza bez cech aktywnej choroby podstawowej można postawić jedynie przy bardzo niskim poziomie ferrytyny w surowicy (poniżej 30 ng/ml). W prezentowanej pracy takie stężenie otrzymano jedynie u niewielkiej grupy pacjentów – 9 chorych na WZJG i 6 na ChL-C. Z kolei przy współistniejącym stanie zapalnym w przebiegu NChZJ stężenie ferrytyny poniżej 100 ng/ml stwierdzono równie często u chorych z WZJG, jak i ChL-C (11 chorych vs 11 chorych). W przedstawionej pracy badawczej potwierdzono, że niskie stężenia ferrytyny, które są niezbędne do rozpoznania niedoboru żelaza, występują tylko u niewielkiego odsetka chorych na NChZJ. U większości chorych stężenie ferrytyny było prawidłowe lub podwyższone, jako białka ostrej fazy, niezależnie od potencjalnej etiologii niedokrwistości. Z kolei wysycenie transferrytyny <16%, które według wytycznych ECCO również przemawia za niedokrwistością z niedoboru żelaza, stwierdzono u 13 chorych na WZJG i 12 chorych na ChL-C, co korelowało z niskim stężeniem ferrytyny. W ostatnich latach podkreśla się jednak niewystarczającą rolę ferrytyny w postawieniu prawidłowego rozpoznania niedokrwistości z niedoboru żelaza, duży wpływ współistniejącego stanu zapalnego na ferrytynę oraz samą zmienność biologiczną zarówno ferrytyny, jak i wysycenia transferrytyny [99,100]. W badaniu przeprowadzonym na grupie ponad dwóch tysięcy chorych na NChZJ francuscy badacze wykazali, że żaden próg diagnostyczny dla ferrytyny czy wysycenia transferrytyny nie zapewnia wystarczającej czułości i swoistości w diagnostyce niedoboru żelaza ani w ogólnej populacji chorych na NChZJ, ani u pacjentów z ChL-C. Daude i wsp. podkreślają również, że progi określone w wytycznych ECCO również nie były związane z zadowalającymi wynikami prawidłowego rozpoznania niedokrwistości z niedoboru żelaza u chorych na ChL-C [101]. Z kolei w grupie chorych na WZJG kryteria obejmujące ferrytynę i wysycenie transferrytyny mogą być wystarczające dla prawidłowej diagnostyki niedokrwistości z niedoboru żelaza, natomiast autorzy ci sugerują inne wartości progowe dla tych oznaczeń. Przy niskich wartościach parametrów stanu zapalnego diagnostyczne stężenie ferrytyny i wysycenia transferrytyny powinno nie przekraczać odpowiednio 65 µg/l oraz 16%. Natomiast w przypadku pacjentów ze współistniejącym stanem zapalnym wartości progowe o najwyższej wartości diagnostycznej wynoszą 80 µg/l dla ferrytyny i 11% dla wysycenia transferrytyny [101]. Dodatkowo Daude i wsp. podkreślają, że połączenie kryteriów ferrytyny i wysycenia

transferyny nie zapewniało dodatkowej wartości diagnostycznej ani w przypadku WZJG, ani w ChL-C, stąd poszukiwanie nowych testów laboratoryjnych [101].

Potencjalnym, obiecującym parametrem laboratoryjnym w diagnostyce niedokrwistości jest hepcydyna, choć dane literaturowe na temat jej stężenia u chorych na NChZJ są sprzeczne [102-104]. W prezentowanym badaniu wykazano, że stężenie hepcydyny było istotnie niższe u pacjentów z WZJG i niedokrwistością w porównaniu do grupy kontrolnej, natomiast nie obserwowano takich zależności w stężeniu hepcydyny u chorych na ChL-C. W innych opublikowanych badaniach wykazano, że zarówno u pacjentów z WZJG, jak i z ChL-C z towarzyszącą niedokrwistością stężenie hepcydyny osiąga niższe wartości niż w grupie kontrolnej, natomiast w przeciwieństwie do obecnego badania nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy obiema jednostkami chorobowymi [102,104]. Z kolei Bergamaschi i wsp. dowodzą, że stężenie hepcydyny wzrasta u pacjentów z NChZJ i współistniejącą niedokrwistością chorób przewlekłych [105]. Co więcej, Basseri i wsp. wykazali, że w grupie chorych na ChL-C z towarzyszącą niedokrwistością chorób przewlekłych stężenie hepcydyny jest wysokie i dodatnio koreluje ze stężeniem interleukiny-6 i ferrytyny [106]. Różnice w uzyskanych wynikach mogą być związane z odmiennymi kryteriami włączenia chorych do badań i z różnych metod oznaczania stężenia hepcydyny, co utrudnia wykorzystanie jej oceny w praktyce klinicznej. W dotychczas prezentowanych pracach analizujących przyczynę niedokrwistości u chorych na NChZJ przyjmuje się, że w anemii z niedoboru żelaza stężenie hepcydyny jest obniżone, w niedokrwistości chorób przewlekłych podwyższone, natomiast w niedokrwistości mieszanej etiologii może być albo obniżone, albo prawidłowe [43,100,107]. Na podstawie tych kryteriów prezentowane badanie sugeruje przewagę niedokrwistości z niedoboru żelaza u pacjentów z WZJG, natomiast w ChL-C niedokrwistości o mieszanej, złożonej etiologii. Jednak wydaje się, że żaden pojedynczy parametr nie osiąga wystarczającej czułości i swoistości diagnostycznej dla różnicowania etiologii niedokrwistości w NChZJ.

Dodatkowo postulowany jest potencjalny wpływ stanu zapalnego na stężenie hepcydyny [44,53], natomiast w mojej pracy nie obserwowałam istotnej statystycznie różnicy w korelacji stężenia hepcydyny i CRP zarówno u pacjentów z WZJG, jaki i z ChL-C. Średnie stężenie CRP było porównywalne w obu analizowanych grupach chorych, a mimo to pacjenci z WZJG i niedokrwistością mieli istotnie niższe stężenie hepcydyny w porównaniu do chorych na ChL-C. Jednak ze względu na udział hepcydyny

w regulacji metabolizmu żelaza uważa się, że hamowanie jej ekspresji może być korzystne w leczeniu niedokrwistości o złożonej etiologii w przebiegu NChZJ [108]. Podkreśla się również możliwą rolę hepcydyny jako wskaźnika odpowiedzi organizmu na doustną suplementację żelazem. Bergman i wsp. wykazali, że w przypadku pacjentów z niedokrwistością spowodowaną niedoborem żelaza i z podwyższonym stężeniem hepcydyny doustna suplementacja żelaza była nieskuteczna. Natomiast ci pacjenci dobrze zareagowali na dożylną podaż preparatów żelaza [109].

W analizowanym badaniu podwyższone stężenie kolejnego badanego parametru, erytroferronu, obserwowano w całej grupie chorych na NChZJ z towarzyszącą niedokrwistością, co przemawia za udziałem tej cytokiny w procesie erytropoezy. Według mojej wiedzy, nie przeprowadzono dotychczas badań oceniających stężenie erytroferronu u pacjentów z NChZJ, a wszystkie dane pochodzą z badań eksperymentalnych.

W prezentowanym badaniu nie wykazano również związku pomiędzy erytroferronem a stężeniem żelaza lub hepcydyny w analizowanych grupach chorych. Dotychczasowe analizy raportujące taki związek przeprowadzane były tylko na modelach zwierzęcych, co wymaga potwierdzenia w ocenie klinicznej. Na podstawie dotychczasowych doniesień wydaje się, że erytroferron może pełnić istotną rolę w procesie regulacji stężenia hepcydyny i gospodarki żelazem, a nawet może stanowić potencjalny cel terapeutyczny w niektórych chorobach z towarzyszącą niedokrwistością [110]. Zgodnie z wynikami amerykańskich badaczy stężenie erytroferronu istotnie wzrasta po upustach krwi u myszy [60]. Może on mieć też znaczenie w patomechanizmie niedokrwistości chorób przewlekłych, z nasiloną reakcją zapalną i wzrostem cytokin zapalnych [60,110]. Wykazano, że u myszy, które były pozbawione genu *ERFE* kodującego erytroferron, z eksperymentalnie wywołanym stanem zapalnym poprzez zakażenie bakteryjne, objawy niedokrwistości były bardziej nasilone i utrzymywały się dłużej w porównaniu do zwierząt z prawidłowym poziomem ekspresji erytroferronu [60]. Według innych badań na modelu zwierzęcym erytroferron może wpływać na zmniejszenie stężenia hepcydyny, a co za tym idzie zwiększać dostępność żelaza i nasilać produkcję czerwonych krwinek w procesie erytropoezy. Natomiast zwiększenie stężenia erytroferronu w przypadku niedokrwistości wynikającej z defektów syntezy hemoglobiny powoduje nieefektywny wzrost stężenia żelaza. Dodatkowe zwiększenie stężenia erytroferronu u myszy z  $\beta$ -talasemią zwiększało

wchłanianie żelaza, nie było ono jednak zużywane w procesie erytropoezy ze względu na defekt produkcji hemoglobiny i w konsekwencji było odkładane w tkankach [111]. Mechanizm działania erytoferronu, jego znaczenie i potencjalne możliwości terapeutyczne wymagają dalszych badań, zwłaszcza w aspekcie klinicznym.

W prezentowanym badaniu wykazano ponadto, że stężenie BMP-6 jest wyższe u chorych na ChL-C z niedokrwistością w porównaniu do osób zdrowych z grupy kontrolnej. Takiej zależności nie obserwowano w odniesieniu do chorych na WZJG. Mimo wcześniejszych doniesień z badań eksperymentalnych w analizowanej pracy nie potwierdzono także związku między stężeniem BMP-6 i hepcydyny u chorych na NChZJ. Dotychczas nie przeprowadzono badań nad znaczeniem klinicznym BMP-6 w NChZJ, a wszystkie doniesienia pochodzą z badań eksperymentalnych. W jednym z badań prowadzonym nad wpływem BMP-6 na mechanizmy regulacyjne stężenia żelaza u myszy udowodniono, że podawanie BMP-6 powoduje zwiększenie stężenia hepcydyny i - co za tym idzie - zmniejszenie stężenia żelaza w surowicy. Oceniano wpływ zarówno endogennego, jak i egzogennego BMP-6 na ekspresję hepcydyny i metabolizm żelaza. Badanym zwierzętom wstrzykiwano jednorazowo preparat zawierający BMP-6 w dawkach 250 i 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , uzyskując znaczące zwiększenie ekspresji hepcydyny w wątrobie, oraz zależne od dawki zmniejszenie stężenia żelaza i wysycenia transferryny w surowicy [64]. Analizowano również przeciwny mechanizm poprzez podawanie myszom przeciwciał przeciwko BMP-6 w dawce 10  $\text{mg}/\text{kg}$  przez 3 dni, co znacznie zmniejszyło ekspresję hepcydyny w wątrobie i spowodowało zwiększenie stężenia żelaza i wysycenia transferryny w surowicy krwi w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej [64]. Dodatkowo zbadano myszy pozbawione genu odpowiedzialnego za syntezę BMP-6 i wykazano u nich prawie dziesięciokrotnie zmniejszoną ekspresję hepcydyny w wątrobie oraz zwiększone stężenie żelaza w surowicy przy wysyceniu transferryny zbliżającym się do 100% [64]. Różnice między wynikami badań eksperymentalnych i klinicznych wymagają dalszych badań, w różnych jednostkach chorobowych przebiegających z niedokrwistością, w tym w NChZJ.

Wiadomo, że jedną z głównych przyczyn niedokrwistości u chorych na NChZJ jest przewlekły stan zapalny. Aktywacja cytokin prozapalnych, takich jak interferon alfa, interferon gamma, interleukina 1, interleukina 6 oraz czynnik martwicy nowotworów alfa, powoduje nadekspresję hepcydyny, a w konsekwencji zmniejszone wchłanianie żelaza z komórek jelita oraz komórek układu siateczkowo-nabłonkowego [28].

W prezentowanej pracy badawczej zarówno w ChL-C, jak i we WZJG obserwowano ujemną korelację pomiędzy stężeniem CRP a HGB, co potwierdza wpływ nasilenia stanu zapalnego na częstość występowania niedokrwistości w NChZJ. W badaniu przeprowadzonym na 200 chorych na NChZJ brazylijscy badacze wykazali, że wzrost CRP nawet o 1 mg/l może zwiększyć ryzyko wystąpienia niedokrwistości nawet o 80-90% [112]. U chorych na ChL-C, w przeciwieństwie do pacjentów z WZJG prezentowane badanie wykazało także istotną zależność pomiędzy stężeniem CRP a stężeniem żelaza. Może to przemawiać za dominującą komponentą zapalną niedokrwistości w tej grupie chorych. W prezentowanej pracy nie obserwowano z kolei istotnej zależności między stężeniem badanych nowych parametrów laboratoryjnych, takich jak erytoferron lub BMP-6, a stanem zapalnym wyrażonym stężeniem CRP. Według mojej wiedzy w aktualnym piśmiennictwie nie ma wyników badań klinicznych oceniających te zależności, choć związek ten niewątpliwie zasługuje na dalsze analizy.

Podsumowując, prezentowane wyniki potwierdzają złożony mechanizm niedokrwistości w przebiegu NChZJ. Rutynowo oznaczane parametry laboratoryjne, w tym ferrytyna, jako białko ostrej fazy, często nie są wiarygodne w diagnostyce różnicowej niedokrwistości, z kolei raportowana w badaniach eksperymentalnych rola erytoferronu i BMP-6 wymaga dalszej oceny klinicznej. Ze względu na częstość występowania niedokrwistości w przebiegu NChZJ i jej znaczenie kliniczne problem ten wart jest dalszych analiz i projektów badawczych.



## 6. Wnioski

1. Niedokrwistość dotyczy prawie 67% chorych na ChL-C oraz 56% na WZJG i jest związana ze stopniem nasilenia NChZJ oraz z wydłużeniem czasu hospitalizacji, zwłaszcza we WZJG.

2. U chorych na WZJG przeważa niedokrwistość mikrocytarna hipochromiczna, zaś w ChL-C niedokrwistość normocytarna normochromiczna. Stężenie ferrytyny, będącej też białkiem ostrej fazy, jest obniżone u niewielkiego odsetka chorych z zaostrzeniem NChZJ.

3. Stężenie hepcydyny jest najniższe u pacjentów z niedokrwistością w przebiegu WZJG, co sugeruje niedobór żelaza jako dominującą etiologię niedokrwistości w tej grupie chorych.

4. W grupie chorych z NChZJ z niedokrwistością obserwowano wzrost stężenia erytroferronu niezależnie od jednostki chorobowej, z kolei stężenie BMP-6 było podwyższone jedynie w ChL-C.

5. Nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem erytroferronu lub BMP-6 a stężeniem hepcydyny, a ich zakładany w badaniach eksperymentalnych mechanizm działania wymaga potwierdzenia w ocenie klinicznej.

6. W badanej grupie chorych nie obserwowano istotnej zależności między stężeniem CRP a stężeniem hepcydyny, erytroferronu lub BMP-6. Wykazano zaś ujemną korelację pomiędzy stężeniem CRP a HGB, co jest zgodne z obserwacją kliniczną częstszego występowania niedokrwistości w ciężkich postaciach NChZJ.

## 7. Streszczenie

W ostatnich latach obserwowany jest stały wzrost zachorowalności na nieswoiste choroby zapalne jelit (NChZJ), a niedokrwistość jest jedną z ich najczęstszych manifestacji pozajelitowych. Niedokrwistość w przebiegu NChZJ wiąże się z pogorszeniem jakości życia, a także z wydłużeniem czasu hospitalizacji. Według danych epidemiologicznych jej częstość występowania waha się w szerokim przedziale od 6 do 74%. Ze względu na wieloczynnikową etiopatogenezę diagnostyka różnicowa typu niedokrwistości u chorych z zaostrzeniem NChZJ stanowi istotny problem kliniczny. Wyzwaniem jest zwłaszcza różnicowanie niedokrwistości z niedoboru żelaza i niedokrwistości chorób przewlekłych, wynikającej z niekorzystnego wpływu cytokin prozapalnych na erytropoezę.

Patomechanizm rozwoju niedokrwistości chorób przewlekłych nie jest do końca znany, nie wszyscy chorzy z zaostrzeniem NChZJ manifestują niedokrwistość w badaniach laboratoryjnych. Z drugiej strony niedokrwistość może być także stwierdzana u chorych w remisji klinicznej i bez wzrostu markerów stanu zapalnego. Oznaczanie ferrytyny może nie być wiarygodne w tej grupie chorych, gdyż – jako białko ostrej fazy – wzrasta w zaostrzeniu NChZJ, maskując niedobór żelaza. W regulowaniu prawidłowej gospodarki żelazowej podkreśla się rolę hepcydyny, a wstępne dane z badań eksperymentalnych, dotyczą także erytoferronu i białek morfogenetycznych krwi, zwłaszcza BMP-6. Erytoferron i BMP-6 to niedawno zidentyfikowane cytokiny uczestniczące na różnych etapach w procesie wzmożonej erytropoezy w niedokrwistości o różnym patomechanizmie. Białka te nie były dotychczas badane u chorych na NChZJ.

Prezentowane wyniki mają potencjalne implikacje kliniczne, zwrócenie uwagi na wysoką częstość występowania niedokrwistości w przebiegu NChZJ jest ważne z punktu widzenia monitorowania chorych, także w praktyce ambulatoryjnej. Wiadomo także, że ocena powszechnie oznaczanych wskaźników gospodarki żelazowej nie odpowiada jednoznacznie na pytanie o przyczynę niedokrwistości w tej grupie chorych. Stąd poszukiwanie nowych parametrów laboratoryjnych, takich jak erytoferron lub BMP-6, których znaczenie kliniczne u chorych na NChZJ wymaga dalszej weryfikacji.

Cele prezentowanej pracy:

1. Ocena częstości występowania i związku niedokrwistości zdanymi klinicznymi w badanej grupie chorych.
2. Analiza podstawowych parametrów laboratoryjnych w diagnostyce różnicowej niedokrwistości u chorych na NChZJ.
3. Ocena znaczenia klinicznego hepcydyny w niedokrwistości w badanej grupie chorych.
4. Analiza roli niedawno wykrytych białek: erytoferronu i BMP-6 w niedokrwistości u chorych na NChZJ.
5. Ocena wpływu stanu zapalnego na badane parametry laboratoryjne u chorych z niedokrwistością w przebiegu NChZJ.

Metody pracy:

Do badania kwalifikowano kolejnych chorych na NChZJ hospitalizowanych w Klinice Chorób Przewodu Pokarmowego, Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, w latach 2016-2018. Przy przyjęciu do Kliniki od każdego pacjenta, wyrażającego zgodę na udział w badaniu, został zebrany wywiad chorobowy, przeprowadzono badanie przedmiotowe oraz badania laboratoryjne. W ramach prowadzonego badania pobierano dodatkową próbkę krwi obwodowej (5 ml) podczas rutynowo pobieranej krwi do badań laboratoryjnych. Inne procedury diagnostyczno-terapeutyczne wykonywano niezależnie od udziału pacjenta w prowadzonym badaniu naukowym.

Kryteria wykluczenia z badania:

- przetoczenie preparatów KKCz w okresie 3 miesięcy przed aktualną hospitalizacją
- suplementacja preparatami żelaza, kwasu foliowego lub witaminy B12 w okresie 3 miesięcy przed aktualną hospitalizacją
- inne choroby towarzyszące mogące mieć wpływ na gospodarkę żelazem, takie jak hemochromatoza, porfiria lub talasemia

- choroby szpiku kostnego, w tym zespół mielodysplastyczny i hipoplazja szpiku kostnego

- brak zgody na udział w badaniu.

Badaniem objęto 118 pacjentów z NChZJ, w tym 63 z ChL-C i 55 z WZJG. W analizowanej grupie chorych u 73 (61,85%) rozpoznano niedokrwistość, w tym u 42 na ChL-C (66,7%) i 31 (56,4%) na WZJG. Rozpoznanie niedokrwistości postawione zostało zgodnie z aktualną definicją WHO, tzn. stężenie hemoglobiny poniżej 13 g/dl u mężczyzn i 12 g/dl u kobiet. Do grupy kontrolnej zakwalifikowano 30 osób bez niedokrwistości w badaniach laboratoryjnych, u których obraz jelita w wykonanej kolonoskopii był prawidłowy. Każdy chory z grupy badanej miał wykonywane badania laboratoryjne: pełna morfologia krwi obwodowej, CRP, żelazo, ferrytyna i transferyna, stężenie hepcydyny, witaminy B12, erytroferronu i BMP-6.

Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułowano następujące wnioski:

1. Niedokrwistość dotyczy prawie 67% chorych na ChL-C oraz 56% na WZJG i jest związana ze stopniem nasilenia NChZJ oraz z wydłużeniem czasu hospitalizacji, zwłaszcza we WZJG.

2. U chorych na WZJG przeważa niedokrwistość mikrocytarna hipochromiczna, zaś w ChL-C niedokrwistość normocytarna normochromiczna. Stężenie ferrytyny, będącej też białkiem ostrej fazy, jest obniżone u niewielkiego odsetka chorych z zaostrzeniem NChZJ.

3. Stężenie hepcydyny jest najniższe u pacjentów z niedokrwistością w przebiegu WZJG, co sugeruje niedobór żelaza jako dominującą etiologię niedokrwistości w tej grupie chorych.

4. W grupie chorych z NChZJ z niedokrwistością obserwowano wzrost stężenia erytroferronu niezależnie od jednostki chorobowej, z kolei stężenie BMP-6 było podwyższone jedynie w ChL-C.

5. Nie wykazano zależności pomiędzy stężeniem erytroferronu lub BMP-6 a stężeniem hepcydyny, a ich zakładany w badaniach eksperymentalnych mechanizm działania wymaga potwierdzenia w ocenie klinicznej.

6. W badanej grupie chorych nie obserwowano istotnej zależności między stężeniem CRP a stężeniem hepcydyny, erytroferronu lub BMP-6. Wykazano zaś ujemną korelację pomiędzy stężeniem CRP a HGB, co jest zgodne z obserwacją kliniczną częstszego występowania niedokrwistości w ciężkich postaciach NChZJ.

Podsumowując, prezentowane wyniki potwierdzają złożony mechanizm niedokrwistości w przebiegu NChZJ. Rutynowo oznaczane parametry laboratoryjne, w tym ferrytyna, jako białko ostrej fazy, często nie są wiarygodne w diagnostyce różnicowej niedokrwistości, z kolei raportowana w badaniach eksperymentalnych rola erytroferronu i BMP-6 wymaga dalszej oceny klinicznej. Ze względu na częstość występowania niedokrwistości w przebiegu NChZJ i jej znaczenie kliniczne problem ten wart jest dalszych analiz i projektów badawczych.

## 8. Abstract

In recent years, a steady increase in the incidence of inflammatory bowel diseases (IBD) has been observed. Anemia is one of the most common parenteral manifestations of IBD and is associated with a deterioration in the quality of life and extended hospitalization time. According to epidemiological data, its incidence ranges widely from 6 to 74%. Due to the multifactorial etiopathogenesis, the differential diagnosis of the type of anemia in patients with exacerbation of IBD is a significant clinical problem. The challenge is to differentiate between iron deficiency anemia and anemia of chronic diseases resulting from the adverse effect of proinflammatory cytokines on erythropoiesis.

The pathomechanism of anemia of chronic diseases is not fully known, not all patients with exacerbation of IBD manifest anemia in laboratory tests. On the other hand, anemia can also be found in patients in clinical remission and without an increase in inflammatory markers. Ferritin determination may not be reliable in this group of patients, because - as an acute phase protein - it increases in exacerbation of IBD, masking iron deficiency. In regulating the proper iron metabolism, the role of hepcidin is emphasized, and preliminary data from experimental studies also concern erythroferrone and blood morphogenetic proteins, especially BMP-6. Erythroferrone and BMP-6 are recently identified cytokines involved at various stages in the process of increased erythropoiesis in anemia with various pathomechanisms. These proteins have not been studied in patients with IBD so far.

The presented results have potential clinical implications, and emphasize that high incidence of anemia in the course of IBD is important from the point of view of patient monitoring, also in outpatient practice. It is also known that commonly used iron metabolism indicators does not clearly answer the question about the cause of anemia in this group of patients. The search for new laboratory parameters, such as erythroferrone or BMP-6, and their clinical significance in patients with IBD requires further verification.

The aims of presented study:

1. Assessment of the frequency of anemia and the relationship with clinical data in the studied group of patients.
2. Analysis of basic laboratory parameters in the differential diagnosis of anemia in patients with IBD.
3. To evaluate the clinical significance of hepcidin in anemia in the studied group of patients.
4. Analysis of the role of recently detected proteins: erythroferrone and BMP-6 in anemia in patients with IBD.
5. Assessment of the influence of inflammation on the tested laboratory parameters in patients with anemia in the course of IBD.

Methods:

The study included patients with IBD hospitalized at the Department of Digestive Tract Diseases, Medical University of Lodz, in the years 2016-2018. On admission to hospital, a medical history was collected, a physical examination and laboratory tests were carried out from each patient who signed consent to participate in the study. As part of the study, an additional sample of peripheral blood (5 ml) was collected during routine blood sampling for laboratory tests. Other diagnostic and therapeutic procedures were performed regardless of the patient's participation in the study.

Exclusion criteria from the study:

- blood transfusion within 3 months before the current hospitalization
- supplementation with iron, folic acid or vitamin B12 3 months before the current hospitalization
- other accompanying diseases that may affect iron management, such as haemochromatosis, porphyria, or thalassemia

- bone marrow diseases including myelodysplastic syndrome and hypoplasia bone marrow

- refusal to participate in the study.

The study included 118 patients with IBD, including 63 patients with Crohn's disease (CD) and 55 with ulcerative colitis (UC). In the analyzed group of patients anemia was diagnosed in 73 (61.85%), including 42 with CD (66.7%) and 31 (56.4%) with UC. The diagnosis of anemia was made in accordance with the current WHO definition, i.e. hemoglobin concentration below 13 g/dl in men and 12 g/dl in women. The control group included 30 people without anemia, whose intestine was normal in colonoscopy. Each patient in the study group had laboratory tests: complete blood count, CRP, iron, ferritin and transferrin, hepcidin, vitamin B12, erythroferrone and BMP-6 levels.

Based on the study results, the following conclusions were formulated:

1. Anemia affects almost 67% of patients with CD and 56% of patients with UC and it is associated with the severity of IBD and prolonged hospitalization, especially in UC.

2. In patients with UC, hypochromic microcytic anemia predominates, and normocytic normochromic anemia predominates in CD patients. The concentration of ferritin, which is also an acute phase protein, is decreased in a small percentage of patients with exacerbation of IBD.

3. Hepcidin concentration is the lowest in patients with anemia and UC, which suggests iron deficiency as the dominant etiology of anemia in this group of patients.

4. In the group of patients with IBD and anemia, an increase in the concentration of erythroferrone was observed in both CD and UC, while the concentration of BMP-6 was elevated only in CD.

5. There was no evidence of a correlation between the concentration of erythroferrone or BMP-6 and the concentration of hepcidin, and their mechanism of action assumed in experimental studies requires confirmation in a clinical evaluation.

6. In the studied group of patients no significant correlation was observed between the CRP concentration and the concentration of hepcidin, erythroferrone or BMP-6.



However, a negative correlation was found between CRP concentration and HGB, which is consistent with the clinical observation of an increased incidence of anemia in severe forms of IBD.

In conclusion, results confirm the complex mechanism of anemia in IBD. Routine laboratory parameters, including ferritin as an acute phase protein, are often unreliable in the differential diagnosis of anemia, while the role of erythroferrone and BMP-6 reported in experimental studies requires further clinical evaluation. Due to the prevalence of anemia in IBD and its clinical significance, this problem is worth further analysis and research projects.

## 9. Piśmiennictwo

1. Cosnes J., Gower-Rousseau C., Seksik P., Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140:1785-1794.
2. Katz S., Pardi D.S. Inflammatory bowel disease of the elderly: frequently asked questions (GAQs). *Am J Gastroenterol* 2011; 106:1889-1897.
3. Molodecky N.A., Soon I.S., Rabi D.M., Ghali W.A., Ferris M., Chernoff G. i wsp. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142:46-54 e42.
4. GBD 2017 Inflammatory Bowel Disease Collaborators. The global, regional, and national burden of inflammatory bowel disease in 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2020; 5:17–30.
5. Holko P., Kawalec P., Stawowczyk E. Prevalence and drug treatment practices of inflammatory bowel diseases in Poland in the years 2012–2014. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2018; 30:456-464.
6. Jakubowski A., Zagórowicz E., Kraszewska E., Bartnik W. Rising hospitalization rates for inflammatory bowel disease in Poland. *Polish Arch Intern Med* 2014; 124: 180-190
7. Zagórowicz E., Walkiewicz D., Kucha P., Perwieniec J., Maluchnik M., Wieszczy P. i wsp Nationwide data on epidemiology of inflammatory bowel disease in Poland between 2009 and 2020. *Pol Arch Intern Med* 2022;132(5):16194.
8. Łodyga M., Eder P., Gawron-Kiszka M., Dobrowolska A., Gonciarz M., Hartleb M., Kłopocka M.i wsp. Guidelines for the management of patients with Crohn's disease. Recommendations of the Polish Society of Gastroenterology and the Polish National Consultant in Gastroenterology. *Gastroenterology Rev* 2021; 16 (4): 257–296.
9. Satsangi J., Grootcholten C., Holt H., Jewell D.P. Clinical patterns of familial inflammatory bowel disease. *Gut* 1996; 38:738-74.
10. Bonaz B.L., Bernstein C.N. Brain-gut interactions in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2013;144(1):36-49.

11. Tysk C., Lindberg E., Jarnerot G., Flodérus-Myrhed B. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut* 1988;29:990-996.
12. Gasche C., Lomer M.C., Cavill I., Weiss G.: Iron, anemia, and inflammatory bowel diseases. *Gut* 2004; 53:1190-1197.
13. Wells C.W., Lewis S., Barton J.R., Corbett S. Effects of changes in hemoglobin level on quality of life and cognitive function in inflammatory bowel disease patients. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12:123–130.
14. Ershler W.B., Chen K., Reyes E.B., Dubois R.: Economic burden of patients with anemia in selected diseases. *Value Health* 2005; 8:629–638.
15. WHO, Hemoglobin concentrations for the diagnosis of anemia and assessment of severity. Vitamin and mineral nutrition information system. Geneva. World Health Organisation, 2011 (WHO/NMH/NHD/MNM/11.1) <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>
16. Gasche C., Kulnigg S. Intravenous Iron in Inflammatory Bowel Disease. *Semin Hematol* 2006;43(Suppl 6):S18–22.
17. Danese S., Hoffman C., Vel S., Greco M., Szabo H., Wilson B., i wsp.: Anaemia from a patient perspective in inflammatory bowel disease: results from the European Federation of Crohn's and Ulcerative Colitis Association's online survey. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2014; 26:1385–1391.
18. Stein J., Bager P., Befrits R., Gasche C., Gudehus M., Lerebours E. i wsp. Anaemia management in patients with inflammatory bowel disease: routine practice across nine European countries. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25:1456–1463.
19. Blumenstein I., Dignass A., Vollmer S., Klemm W., Weber-Mangal S., Stein J.: Current practice in the diagnosis and management of IBD-associated anaemia and iron deficiency in Germany: the German AnaemIBD Study. *J Crohn Colitis* 2014; 8:1308–1314.
20. Bager P., Befrits R., Wikman O., Lindgren S., Moum B., Hjortswang H. i wsp.: The prevalence of anemia and iron deficiency in IBD outpatients in Scandinavia. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46:304–309.
21. Filmann N., Rey J., Schneeweiss S., Ardizzone S., Bager., Bergamaschi G., i wsp.: Prevalence of anemia in inflammatory bowel diseases in european

- countries: a systematic review and individual patient data metaanalysis. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20:936–945.
22. Voegtlin M., Vavricka S.R., Schoepfer A.M., Straumann A., Voegtlin J., Rogler G. i wsp. Prevalence of anaemia in inflammatory bowel disease in Switzerland: a cross-sectional study in patients from private practices and university hospitals. *J Crohns Colitis* 2010;4:642–648.
  23. Bager P., Befrits R., Wikman O., Lindgren S., Moum B., Hjortswang H., i wsp. High burden of iron deficiency and different types of anemia in inflammatory bowel disease outpatients in Scandinavia: a longitudinal 2- year follow-up study. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48:1286–1293.
  24. Bergamaschi G., Castiglione F., D’Inca R., Astegiano M., Fries W., Milla M. i wsp. Prevalence, Pathogenesis and Management of Anemia in Inflammatory Bowel Disease: An IG-IBD Multicenter, Prospective, and Observational Study. *Inflammatory Bowel Diseases* 2022, doi: 10.1093/ibd/izac054.
  25. Rejler M., Tholstrup J., Andersson-Gare B., Spangeus A. Low prevalence of anemia in inflammatory bowel disease: a population-based study in Sweden. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47:937–942.
  26. Patel D., Trivedi C., Khan N. Management of anemia in patients with Inflammatory Bowel Disease. *Curr Treat Options Gastro* 2018; 16: 112–128.
  27. Stein J., Hartmann F., Dignass A.U. Diagnosis and management of iron deficiency anemia in patients with IBD. *Nat Rev. Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 599–610.
  28. Mucke V., Mucke M.M., Raine T., Bettenworth D. Diagnosis and treatment of anaemia in patients with IBD. *AnnGastroenterol* 2017; 30:15-22.
  29. Weiss G., Goodnough L.T.: Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005; 352(10):1011-1023.
  30. Dignass A.U., Gasche C., Bettenworth D., Birgegard G., Danese S., Gisbert J.P., i wsp. European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis* 2015; 9:211–222.
  31. Woźniak M., Barańska M., Małecka-Panas E., Talar-Wojnarowska R. The prevalence, characteristics, and determinants of anaemia in newly diagnosed patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Rev* 2019; 14 (1):39–47.

32. Battat R., Kopylov U., Szilagyi A., Saxena A., Rosenblatt D.S., Warner M, i wsp. Vitamin B12 deficiency in inflammatory bowel disease: prevalence, risk factors, evaluation, and management. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20:1120–1128.
33. Ransford R.A., Langman M.J. Sulphasalazine and mesalazine: serious adverse reactions re-evaluated on the basis of suspected adverse reaction reports to the Committee on Safety of Medicines. *Gut*. 2002; 51(4):536-539.
34. Formea C.M., Myers-Huentelman H., Wu R., Crabtree J., Fujita S., Hemming A., i wsp. Thiopurine S-methyltransferase genotype predicts azathioprine-induced myelotoxicity in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2004; 4:1810–1817.
35. Agrawal A., Parrott N.R., Riad H.N., Augustine T. Azathioprine induced pure red cell aplasia: case report and review. *Transplant Proc* 2004; 36:2689–2691.
36. Radwan P., Radwan-Kwiatek K., Skrzydło-Radomańska B., Rydzewska G.: Niedokrwistość w nieswoistych zapaleniach jelit – etiopatogeneza, rozpoznawanie i leczenie. *Prz Gastroenterol* 2010;5(6):315-320.
37. Dobrowolska-Zachwieja A. Optymalizacja leczenia tiopurynami u pacjentów z nieswoistymi chorobami zapalnymi jelit. *Gastroenterol Klin* 2011; 3(2):88–93.
38. Dziurkowska-Marek A., Marek T.: Metotreksat w leczeniu nieswoistych chorób zapalnych jelit. *Prz Gastroenterol* 2011; 6(4): 225–233.
39. Taffet S.L., Das K.M. Sulfasalazine. Adverse effects and desensitization. *Dig Dis Sci* 1983; 28(9):833–842.
40. Kaniewska M., Bartnik W., Gonciarz M., Kłopočka M., Linke K., Małecka-Panas E., i wsp.: Iron deficiency anemia in patients with inflammatory bowel disease. National Consultant for Gastroenterology Working Group Recommendations. *Prz Gastroenterol* 2014; 9(5):259-263.
41. Gasche C., Berstad A., Befrits R., Beglinger C., Dignass A., Erichsen K., i wsp. Guidelines on the diagnosis and management of iron deficiency and anemia in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2007; 13(12):1545–1553.
42. Jackowska T., Wójtowicz J. Niedokrwistość chorób przewlekłych. *Post Nauk Med* 2014; XXVII(10b):33-36.
43. Jimenez K.M., Gasche C.: Management of iron deficiency anaemia in inflammatory bowel disease. *Acta Hematol* 2019; 142:30-36.
44. Filipczyk L., Król P., Wystrychowski A. Hepcydyna – hormon kontrolujący hemostazę żelaza. *Forum Nefrologiczne* 2010;3(4):233-242.

45. Krawiec P., Pat-Kożuchowska E.: Rola hepcydyny w metabolizmie żelaza w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit, *Postepy Hig Med. Dosw* 2014; 68:936-943.
46. Andrews N.C. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 2008; 112:219-230.
47. Dallaglio G., Law E., Means R.T. Jr. Hepcidin inhibits in vivo erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations. *Blood* 2006; 107: 2702–2704.
48. West A.P., Bennett M.J., Sellers V.M., Andrews N.C, Enns C.A., Bjorkman B.J. Comparison of the interactions of transferrin receptor and transferrin receptor 2 with the transferrin and the hereditary hemochromatosis protein HFE. *J. Biol. Chem.* 2000; 275:38135–38138.
49. Goswami T., Andrews N.C. Hereditary hemochromatosis protein, HFE, interaction with transferrin receptor 2 suggests a molecular mechanism for mammalian iron sensing. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 28494–28498.
50. Schmidt P.J., Toran P.T., Gianetti A.M., Bjorkman P.J., Andrews N.C. The transferrin receptor modulates HFE-dependent regulation of hepcidin expression. *Cell Metabolism* 2008; 7: 205–214.
51. Zhang An-Sheng, Enns C.A. Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2009: 207–214.
52. Peyssonnaud C., Zinkernagel A.S., Schuepbach R.A., Rankin E., Vaulont S., Haase V.H. i wsp. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *J. Clin. Invest.* 2007; 117: 1926–1932.
53. Weiss G., Goodnough L.T. Anemia of chronic disease. *N.Engl. J. Med.* 2005; 352: 1011–1023.
54. Kemna E., Pickkers P., Nemeth E., van der Hoeven H., Swinkels D. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 2005; 106:1864–1866.
55. Nemeth E., Rivera S., Gabayan V., Keller C., Taudorf S., Pedersen B.K. i wsp. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest.* 2004;113: 1271–1276.
56. Kautz L., Jung G., Valore E.V., Rivella S., Nemeth E., Ganz T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet.* 2014; 46(7):678-684.

57. Seldin M.M., Peterson J.M., Byerly M.S., Wei Z., Wong G.W. Myonectin (CTRP15), a novel myokine that links skeletal muscle to systemic lipid homeostasis. *J Biol Chem.* 2012;287(15):11968-11980.
58. Lawen A. Is erythroferrone finally the long sought-after systemic erythroid regulator of iron? *World J Biol Chemi.* 2015;6(3):78-82.
59. Łukaszczyk E., Małyшко J. Żelazo w chorobach nerek. *Kosmos.* 2014;63:367-371.
60. Kautz L., Jung G., Nemeth E., Ganz T. Erythroferrone contributes to recovery from anemia of inflammation. *Blood.* 2014; 124(16):2569-2574.
61. Jianag X., Gao M., Chen Y., Liu J., Qi S., Ma J. i wsp. EPO-dependent induction of erythroferrone drives hepcidin suppression and systematic iron absorption under phenylhydrazine-induced hemolytic anemia. *Blood Cells Mol Dis.* 2016; 58:45-51.
62. Honda H., Kobayashi Y., Onuma S., Shibagaki K., Yuza T., Hirao K. i wsp. Associations among erythroferrone and biomarkers of erythropoiesis and iron metabolism, and treatment with long-term erythropoiesis-stimulating agents in patients on hemodialysis. *PLoS One.* 2016; 11(3):e0151601.
63. Dubiel M., Lasota J., Tylko G., Osyczka AM. Rola ścieżek sygnalizacji BMP w procesach osteogenezy. *Postępy Biologii Komórki* 2015, 42(4):645-655.
64. Andriopoulos B., Corradini E., Xia Y., Faasse SA., Chen S., Grgurevic L. i wsp. BMP-6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nat Genet.* 2009; 41(4):482-487.
65. Babitt J.L., Huang F.W., Xia Y., Sidis Y., Andrews N.C., Lin H.Y. Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *J Clin Invest* 2007; 117:1933-1939.
66. Meynard D., Kautz L., Darnaud V., Canonne-Hergaux F., Coppin H., Roth MP. Lack of bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload. *Nat Genet* 2009;41(4):478-481.
67. Enns C.A., Ahmed R., Wang J., Ueno A., Worthen C., Tsukamoto H., i wsp. Increased Iron Loading Induces Bmp6 Expression in the Non-Parenchymal Cells of the Liver Independent of the BMP-Signaling Pathway. *PLoS ONE* 2013;8(4): e60534.

68. Kautz L., Besson-Fournier C., Meynard D., Latour C., Roth M.P., Coppin H. Iron overload induces BMP6 expression in the liver but not in the duodenum. *Haematologica*. 2011; 96(2):199-203.
69. Arezes J., Foy N., McHugh K., Sawant A., Quinkert D., Terraube V. i wsp. Erythroferone inhibits the induction of hepcidin by BMP6. *Blood* 2018;132(14):1473-1477.
70. Theurl I., Schroll A., Sonnwebet T., Nairz M., Theurl M., Willenbacher W. i wsp. Pharmacologic inhibition of hepcidin expression reverses anemia of chronic inflammation in rats. *Blood* 2011;118(18):4977-4984.
71. Wang L., Trebicka E., Fu Y., Ellenbogen S., Hong C.C., Babitt J.L. i wsp. The bone morphogenetic protein-hepcidin axis as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis* 2012; 18: 112-119.
72. Dignass A.U., Gasche C., Bettenworth D., Birgegard G., Danese S., Gisbert J.P., i wsp. European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis* 2015; 9: 211–222.
73. Gasche C., Waldhoer T., Feichtenschlager T., Male C., Mayer A., Mittermaier C., i wsp. Prediction of response to iron sucrose in inflammatory bowel disease-associated anemia. *Am J Gastroenterol* 2001;96: 2382–2387.
74. Murawska N., Fabisiak A., Fichna J. Anemia of chronic disease and iron deficiency anemia In inflammatory bowel diseases: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Inflamm Bowel Dis* 2016; 22(5): 1198-1208.
75. Carrier J.C., Aghdassi E., Jeejeebhoy K., Allard J.P. Exacerbation of dextran sulfate sodium – induced colitis by dietary iron supplementation; role of NF-kappaB. *Int J Colorectal Dis* 2006; 21(4), 381-387.
76. Stoffel N.U., Cercamondi C.I., Brittenham G., Zeder C., Geurts-Moespot A.J., Swinkels D.W. i wsp. Iron absorption from oral iron supplements given on consecutive versus alternate days and as single morning doses versus twice-daily split dosing in iron-depleted women: two open-label, randomised controlled trials. *Lancet Haematol* 2017; 4(11): e524–533.
77. Gasche C., Ahmad T., Tulassay Z., Baumgart D.C., Bokemeyer B., Buning C. i wsp. Ferric maltol is effective in correcting iron deficiency anemia in patients with inflammatory bowel disease: results from a phase-3 clinical trial program. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21(3): 579–588.



78. Schmidt C., Ahmad T., Tulassay Z., Baumgart D.C., Bokemeyer B., Howaldt S., i wsp. Ferric maltol therapy for iron deficiency anaemia in patients with inflammatory bowel disease: long-term extension data from a phase 3 study. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;44(3): 259–270.
79. Evstatiev R., Marteau P., Iqbal T., Khalif I., Stein J., Bokemeyer B. i wsp.: FERGIcor, a randomized controlled trial on ferric carboxymaltose for iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2012;141: 846–53, e841–42.
80. Doyle M.K., Rahman M.U., Han C., Han J., Giles J., Bingham C.O., i wsp: Treatment with infliximab plus methotrexate improves anemia in patients with rheumatoid arthritis independent of improvement in other clinical outcome measures - a pooled analysis from three large, multicenter, double-blind, randomized clinical trials. *Semin Arthritis Rheum* 2009; 39:123–131.
81. Braun J., van der Heijde D., Doyle M.K., Han C., Deodhar A., Inman R. i wsp.: Improvement in hemoglobin levels in patients with ankylosing spondylitis treated with infliximab. *Arthritis Rheum* 2009;61:1032–1036.
82. Stabler S.P. Clinical practice. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med* 2013;368: 149–160.
83. Best W.R., Beckett J.M., Singleton J.W. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 1976; 70:439-444.
84. Satsangi J., Silverberg M.S., Vermeire S., Colombel J.F. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut* 2006; 55:749-753.
85. Daperno M., van Assche G., Bulois P. Development of Crohn's disease endoscopic score (CDES): A simple index to assess endoscopic severity of Crohn's disease. *Gastroenterology* 2002; 122:A216.
86. Schroeder K.W., Tremaine W.J., Ilstrup D.M. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. *N Eng J Med* 1987; 317 (26): 1625-1629.
87. Foteinogiannopoulou K., Karmiris K., Axiaris G., Velegraki M., Gklavas A., Kapizioni C. i wsp. The burden and management of anemia in Greek patients with inflammatory bowel disease: a retrospective, multicenter, observational study. *BMC Gastroenterol* 2021; 21: 269.

88. Parra R.S., Feitosa M.R., Ferreira S.D.C., Rocha J.J.R.D., Troncon L.E.A., FÉres O. Anemia and iron deficiency in inflammatory bowel disease patients in a referral center in Brazil: prevalence and risk factors. *Arq Gastroenterol* 2020; 57(3): 272-277.
89. Bernstein C.N., Nabalamba A. Hospitalization, Surgery, and Readmission Rates of IBD In Canada: A Population-Based Study. *Am J Gastroenterol* 2006;101:110-118.
90. Vester-Andersen M.K., Vind I., Prosberg M.V. Hospitalization, surgical and medical recurrence rates in inflammatory bowej disease 2003-2011 – A Danish population-based cohort study. *Journal of Crohn's and Colitis* 2014; 8, 1675–1683.
91. Vegh Z., Kurti Z., Gonczi L., Golovics P.A., Lovasz B.D., Szita I. i wsp. Association of extraintestinal manifestations and anaemia with disease outcomes in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2016; 51(7):848-54.
92. Lucendo A.J, Arias A., Roncero O., Hervias D., Verdejo C., Naveas-Polo C. i wsp. Anemia at the Time of Diagnosis of Inflammatory Bowel Disease: Prevalence and Associated Factors in Adolescent and Adult Patients. *Digestive and Liver Disease* 2017; 49(4):405-411.
93. Koutroubakis I.E., Ramos-Rivers C., Regueiro M., Koutroumpakis E., Click B., Schoen R.E. i wsp. Persistent or recurrent anemia is associated with severe and disabling inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13:1760–1766.
94. Vegh Z., Kurti Z., Gonczi L., Golovics P.A., Lovasz B.D., Szita I. i wsp. Association of extraintestinal manifestations and anaemia with disease outcomes in patients with inflammatory bowel disease, *Scand J Gastroenterol* 2016; 51(7):848-54.
95. Lee D.S., Bang K.B., Kim J.Y., Jung Y.S., Park J.H., Cho Y.K. i wsp. Prevalence and clinical characteristic of anemia in Korean patients with inflammatory bowej disease. *Intest Res* 2016; 14(1): 43-49.
96. Patel D., Trivedi C., Khan N. Management of anemia in patients with inflammatory bowel disease (IBD). Current treatment Options in *Gastroenterology* 2018, 16. 10.1007/s11938-018-0174-2.

97. Chelstowska M., Warzocha K. Objawy kliniczne i zmiany laboratoryjne w diagnostyce różnicowej niedokrwistości. *Onkologia w praktyce Klinicznej* 2006, tom 2 nr 3: 105-116.
98. Nairz M., Theuri I., Wolf D., Weiss G. Iron deficiency or anemia of inflammation?. *Wien Med Wochenschr* 2016; 166:411-423.
99. Dignass A., Farrag K., Stein J. Limitations of Serum Ferritin in Diagnosing Iron Deficiency in Inflammatory Conditions. *International Journal of Chronic Diseases*, 2018: 2356-6981.
100. Oustamanolakis P., Koutroubakis I.E., Kouroumalis E.A. Diagnosing anemia in inflammatory bowel disease: Beyond the established markers, *Journal of Crohn's and Colitis* 2011 (5):381–391.
101. Daude S., Remen T., Chateau T., Danese S., Gastin I., Baumann C. Comparative accuracy of ferritin, transferrin saturation and soluble transferrin receptor for the diagnosis of iron deficiency in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;51:1087–1095.
102. Krawiec P., Mroczkowska-Juchkiewicz A., Pac-Kożuchowska E. Serum hepcidin in children with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2017; 23(12):2165-2171.
103. Oustamanolakis P., Koutroubakis I. E., Messaritakis I., Malliaraki N., Sfiridaki A., Kouroumalis E. A. Serum hepcidin and prohepcidin concentrations in inflammatory bowel disease. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology.* 2011;23(3):262–268.
104. Arnold J., Sangwaiya A., Bhatkal B., Geoghegan F., Busbridge M. Hepcidin and inflammatory bowel disease: dual role in host defence and iron homoeostasis. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology.* 2009;21(4):425–429.
105. Bergamaschi G., Di Sabatino A., Albertini R., Costanzo F., Guerci M., Masotti M. i wsp. Serum hepcidin in inflammatory bowel diseases: biological and clinical significance. *Inflammatory Bowel Diseases* 2013;19(10):2166–2172.
106. Basseri R.J., Nemeth E., Vassilaki M.E., Basseri B., Enayati P., Shaye O. i wsp. Hepcidin is a key mediator of anemia of inflammation in Crohn's disease. *J. Crohns Colitis* 2013; 7: e286-e291.

107. Reinish W., Staun M., Bhandari S., Munoz M. State of iron: How to diagnose and efficiently treat iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis* 2013; 7; 429-440.
108. Liu J., Sun B., Yin H., Liu S. Heparin: A promising therapeutic target for iron disorders. *Medicine* 2016; 95(14): e3150.
109. Bergman D.B., Morris D., Koch T.A., He A., Goodnough L.T.: Heparin levels predict nonresponsiveness to oral iron therapy in patients with iron deficiency anemia. *Am J Hematol*, 2013, 88. 97-101
110. Cucuinau A., Patiu M., Trifa AP., Tomuleasa C., Dima D. Redistribution of iron towards deposits in erythroblastopenic anemia as a consequence of decreased erythropoietin production. *Med Hypothesis* 2014; 83 (5); 530-532.
111. Kautz L., Jung G., Du X., Gabayan V., Chapman J. Nasoff M. i wsp. Erythropoietin contributes to heparin suppression and iron overload in mouse model of beta-thalassemia. *Blood* 2015. 126(7): 2031-2037.
112. Antunes C.V., Hallack Neto A.E., Nascimento C.R., Chebli L.A., Moutinho I.L., Pinheiro Bdo V. i wsp. Anemia in Inflammatory Bowel Disease Outpatients: Prevalence, Risk Factors, and Etiology. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 728925.

## 10. Spis rycin

- Rycina 1. Klasyfikacja niedokrwistości w oparciu o MCV i liczbę retikulocytów na podstawie wytycznych ECCO z 2015 roku.
- Rycina 2. Schemat wpływu erytoferronu na gospodarkę żelaza.
- Rycina 3. Schemat potencjalnego wpływu BMP-6 na gospodarkę żelaza.
- Rycina 4. Wzór Ganzoniego.
- Rycina 5. Częstość występowania poszczególnych stopni niedokrwistości u chorych na ChL-C i WZJG.
- Rycina 6. Częstość występowania poszczególnych typów niedokrwistości u chorych na WZJG i ChL-C.
- Rycina 7. Wykres zależności stężenia HGB od stężenia żelaza (Fe) w surowicy u chorych na WZJG i ChL-C.
- Rycina 8. Wykres przedstawiający stężenie hepcydyny u chorych na ChL-C i WZJG z niedokrwistością lub bez niej w odniesieniu do grupy kontrolnej.
- Rycina 9. Wykres przedstawiający stężenie erytoferronu w analizowanych grupach chorych w odniesieniu do grupy kontrolnej.
- Rycina 10. Wykres zależności między stężeniem erytoferronu a stężeniem żelaza u chorych na WZJG i na ChL-C.
- Rycina 11. Wykres zależności między stężeniem erytoferronu a stężeniem hepcydyny u pacjentów z WZJG i ChL-C.
- Rycina 12. Wykres przedstawiający stężenie BMP-6 w analizowanych grupach pacjentów w odniesieniu do grupy kontrolnej.
- Rycina 13. Wykres zależności między stężeniem BMP-6 a stężeniem żelaza u chorych na WZJG i na ChL-C.
- Rycina 14. Wykres zależności między BMP-6 a stężeniem hepcydyny u pacjentów z WZJG i ChL-C.

- Rycina 15. Wykres zależności stężenia HGB od stężenia CRP u chorych na WZJG i ChL-C.
- Rycina 16. Wykres zależności stężenia żelaza od stężenia CRP u chorych na WZJG i ChL-C.
- Rycina 17. Wykres zależności między stężeniem hepcydyny a poziomem CRP u chorych na WZJG i na ChL-C.
- Rycina 18. Wykres zależności między stężeniem erytroferronu a stężeniem CRP u chorych na WZJG i na ChL-C.
- Rycina 19. Wykres zależności między stężeniem BMP-6 a stężeniem CRP u chorych na WZJG i na ChL-C.

## 11. Spis tabel

- Tabela 1. Podział niedokrwistości w zależności od stężenia hemoglobiny.
- Tabela 2. Diagnostyka różnicowa niedokrwistości z niedoboru żelaza i niedokrwistości chorób przewlekłych.
- Tabela 3. Uproszczony schemat szacowania zapotrzebowania na żelazo u chorych z NChZJ.
- Tabela 4. Indeks aktywności ChL-C.
- Tabela 5. Klasyfikacja montrealaska ChL-C.
- Tabela 6. Skala punktacji endoskopowej oceny ChL-C.
- Tabela 7. Sposób obliczania SES-CD.
- Tabela 8. Klasyfikacja montrealaska WZJG z określeniem zasięgu zmian chorobowych.
- Tabela 9. Skala aktywności choroby – skala Mayo WZJG.
- Tabela 10. Charakterystyka badanych chorych na NChZJ.
- Tabela 11. Charakterystyka chorych na NChZJ z niedokrwistością i bez niedokrwistości.
- Tabela 12. Profil hematologiczny chorych na WZJG lub ChL-C z towarzyszącą niedokrwistością.