

## Originalni rad

ACTA FAC.MED.NAISS. 2002; 19 (2), 111-119

Mirjana Tijanić<sup>1</sup>/Ivan Tijanić<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dom Zdravlja Niš,

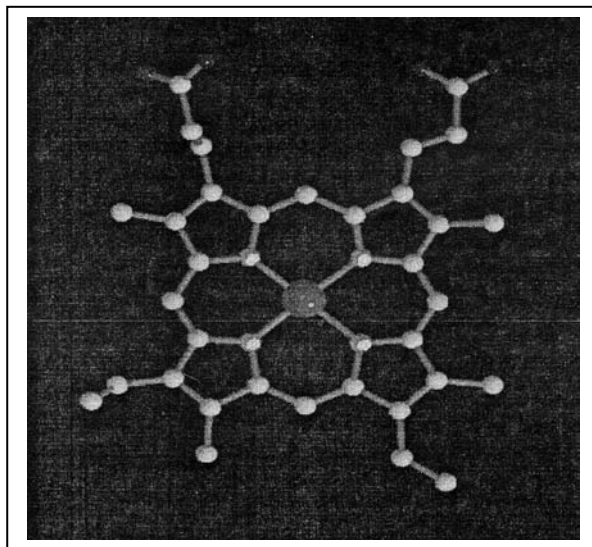
<sup>2</sup> Klinika za hematologiju Niš

# ORALNI TEST OPTEREĆENJA GVOŽDEM KOD SIDEROPENIJSKE ANEMIJE SA I BEZ ASKORBINSKE KISELINE

## UVOD

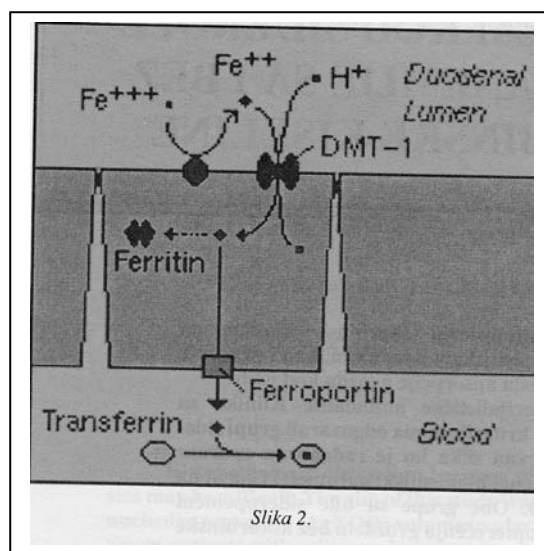
Gvožđe deficitne, sideropenijske anemije su najčešće anemije kao i najrasprostranjenije oboljenje deficita ishrane. Uzroci im mogu biti brojni, mada najčešće su u pitanju neadekvatna ishrana i krvarenje. Gvožđe se dnevno unosi uobičajenom ishranom u količini od 10 do 20 mg, ali se od toga apsorbuje manje od 10%.

Postoje dva načina apsorpcije gvožđa unetog hranom. Hem (slika 1) iz hemoglobina i moiglo-bina, biva oslobođen kompleksa sa proteinima u toku želudačne faze varenja hrane. U tankom crevu ulazi u ćelije mukoze nepromenjen i tek se u ente-rocitima oslobađa porfirinskog prstena. Nehem gvožđe koje se hranom obično unosi u obliku ferihidroksida, u želucu disosuje u slobodni feri jon, a re-dukujuće supstance ga prevode u fero jon.



Apsorpcija gvožđa vrši se pretežno u duodenumu i u prvom delu jejunuma. Počev od srednjeg dela jejunuma pa naniže apsorpcija je sve slabija.

Znači, gvožđe se resorbuje najviše u vilusima enterocita proksimalnog dela duodenuma. Efikasna apsorpcija zahteva kiselu sredinu. Trovalentno gvožđe u duodenalnom lumenu se redukuje u fero formu pomoću ferireduktaze iz "brush border" ćelija. Fe se transportuje "zajedno sa protonom u enterocit pomoću dvovalentnog transportera metala DMT1 (divalent metal transporter) (Slika 2).



Slika 2.

Ovaj transporter nije specifičan za Fe već transportuje i druge divalentne jone metala.

Kada uđe u enterocit Fe sledi dva glavna puta. Kojim će krenuti, zavisi od stanja Fe u ćeliji i od unosa hranom. Prvi put je stanje zasićenosti gvoždem, gde je gvožđe u enterocitu zarobljeno inkorporacijom u feritin te se ne transportuje u krvotok. Kada enterocit umre i odlubi se, Fe se gubi. Drugi put je gvožđe limitirajuće stanje gde se Fe eksportuje iz enterocita transporterom (feroportin) lokalizovanim u bazolateralnoj membrani, zatim se vezuje za nosač Fe apotransferin da bi se transportovao kroz organizam.<sup>(1,20)</sup>

Znači da bi ušlo u organizam, Fe mora da prođe epitel mukoze i stigne u submukoznu mrežu kapilara. Izgleda da nema limfatičnog unosa gvožđa. Veći deo hema koga je preuzela intestinalna mukoza se razgrađuje do slobodnog Fe i tetrapirola pomoću hem razlažućeg enzima hemoksigenaze koji konvertuje hem u bilirubin, ugljenmonoksid i neorgansko Fe.

Želućadni sokovi stabilizuju hranom uneto Fe sprećavajući njegovu precipitaciju u nesolubilni gvožđe hidroksid. Ovo delimićno zbog heliranja tro-valentnog Fe malim molekulima u samom želućadnom soku, kao sto su aminokiseline i keto šećeri. Hlorovodonićna kiselina koju sekretuje ga-strićni epitel stabilizuje nehem Fe koje je uglavnom u feri formi. Lekovi koji smanjuju želućadnu sekreciju zato smanjuju i apsorpciju nehem Fe unetog hranom.

Gvožđe se transportuje od mucina do proteina na površini epitelne ćelije mukoze. Prema jednoj grupi studija ovaj receptor gvožđa, je izgleda P3 in-tegrin Mm 240000, dimer, polipeptidnog lanca od 150000 i 90000.<sup>(6)</sup> U drugim studijama se veruje da je membranski vezujući protein priblićne Mm 160000, trimer sa subjedinicama od po 54 000.

Gvožđe se transportuje preko membrane ćelije do citozola gde se vezuje za transportni protein citozola tzv. mobil ferin. On je protein Mm 56000, ho-molog kalretikulinu, koji je u bliskoj vezi sa integri-nom. Kompleks Fe- mobilferin zatim prelazi iz mu-kozne ćelije u mrežu kapilara, gde se Fe oksidiše u trovalentno i vezuje za apotransferin. NO povećava celularni uptake Fe od strane transferina.<sup>(19)</sup>

Transferin je glikoprotein od 678 aminok-iselinskih ostataka Mm 79570 koji putuje sa p frakcijom pri elektroforezi. Gen za apoferitin je na 3 hro-mozomu vezan za gen za transferinski receptor. Normalno, priblićno trećina Fe vezujućih mesta je zasićena gvoždem. Apotransferin sintetišu hepato-citi i ćelije monocitno makrofagnog sistema. Raz-mena gvožđa između helata i serumskog transferina odigrava se istim generalnim mehanizmom. Priroda helata koji daju Fe je jedino vaćna za prvi korak raz-mene koji moće biti usporen do te mere da limitira razmenu Fe.

Iz mreže kapilara gvožđe se onda transportuje transferinom do hemopoetskih i drugih tkiva.

Ceruloplazmin je plazma feroksidaza koja utiće na konverziju divalentnog u trovalentno gvožđe kada gvožđe prihvati transferin.

Davanje rekombinantnog eritropoetina povećava nivo apsorpcije Fe i kod zdravih i kod Fe de-ficijentnih osoba.<sup>(21)</sup>

Pošto je ekskrecija gvožđa relativno fiksna, organizam reguliše nivo gvožđa menjajući kolićninu

apsorbovanog Fe i to mehanizmom tzv. "mukozne inteligencije". Ovaj mehanizam podrazumeva povećanu apsorpciju Fe kod deficita Fe i često sniženu apsorpciju kada postoji višak Fe.

Nivo apsorpcije Fe je uslovljen mnogim faktorima. Jedan je količina Fe u intestinalnoj mukozi. Neke studije ukazuju na to da postoji fiziološki mehanizam u mukoznoj ćeliji za zarobljavanje Fe čime se sprečava njegova apsorpcija kada su popunjeni depoi. Ako je nizak nivo u depoima, nema ili je vrlo malo zarobljavanje Fe i ono skoro direktno ide iz in-testinalnog lumena kroz ćelije u plazmu. Vremenom, mukozna ćelija napreduje od baze do vrha vi-lusa, te se otkaçi i izbacuje fecesom zajedno sa zarobljenim Fe. Dodatno, neka količina Fe iz plazme može preći u mukoznu ćeliju te se tu zadržati i vremenom izgubiti.

Neki makrofagi,<sup>(4)</sup> natovareni Fe mogu takođe naći svoj put do intesticijalnog lumena. Ova fleksibilna shema podrazumeva i ekskreciju Fe, ali ona je jako ograničena.

Feritin koga ima praktično u svim ćelijama organizma se nalazi i u ćelijama intestinalne mukoze inkorporiran u F telašcima Feritin (slika 3) je sferna partikula u kojoj se deponuje 2000 do 4500 atoma Fe u trovalentnom obliku. Zavisno od organizma (bakterije, biljke, životinje), feritinske partikule su dijametra od 8 do 12 nm sa nekoliko kanala kroz koje se izgleda vrši transport Fe.<sup>(13)</sup> Svi feritini se sastoje od 24 apoferitinskih monomera. Kod sisara postoje dve vrste monomera H i L tip. Feritinske subjedinice su savijene u 4 paralelna heliksa sa petim heliksom pod uglom od približno 60 stepeni. Biosinteza feritina je kontrolisana koncentracijom Fe u ćeliji i to na nivou translacije. IRP (iron responsive protein) služi kao Fe vezujući protein i senzor za citoplazmatski nivo Fe. Kada je koncentracija Fe mala, IRP se ne vezuje za gvožđe i sposobno je da se veže za 5' kraj feritinskog mRNK za lokus zvan, gvožđe regulatorni element (IRE), što dovodi do blokade translacije mRNK. Kada je visoka koncentracija Fe, ćeliji je potreban feritin da se zaštiti, IRP vezuje Fe te je nesposobno da veže feritin mRNK omogućavajući mu da izvrši translaciju.<sup>(5)</sup>



Slika 3.

Na apsorpciju hem Fe ne utiče mnogo sastav hrane, dok su efekti na apsorpciju nehem Fe veliki. Biološka vrednost hrane u Fe je različita. Zavisno od različitih kombinacija stimulišućih i inhibirajućih faktora apsorpcija Fe može drastično varirati. Dva glavna faktora koja podstiču apsorpciju Fe su askorbati i meso. Askorbinska kis. ispoljava svoje dejstvo redukujući feri Fe u fero formu, kada može da se apsorbuje. Oni takođe formiraju solubilne gvožđe helate koji ostaju solubilni i pri promeni pH u duodenumu. Efekat askorbinske kiseline je doznno zavistan. Glavni efekat se postiže sa prvih 25 do 50 mg askorbinske kiseline u obroku, dok je efekat dodavanja veće količine askorbata slabiji. Drugi redukujući agensi kao što su cistein pokazuju slične efekte. Različita mesa značajno povećavaju apsorpciju nehem Fe. Prava priroda "faktora mesa" nije poznata, ali ona može biti sadržana u nekim nisko molekularnim intermedijer-ima proteolitičke digestije koji vezuju Fe u solubilne komplekse. Meso ispoljava dva dobra efekta u apsorpciji gvožđa. Prvo, meso sadrži hem gvožđe koje se bolje iskorišćava, a drugo, proteini mesa podstiču uptake nehem gvožđa iz hrane. Ne podstiču svi proteini apsorpciju Fe. npr. biljni proteini

ne pokazuju takvo dejstvo, npr. iz soje. Proteini iz belanca i kravljeg mleka inhibiraju apsorpciju, dok majčino mleko pospešuje.

Među faktorima koji utiču na apsorpciju, a koji su van alimentarnog trakta, povećanu apsorpciju mogu izazvati hipoksemia, anemia, deplecija depoa Fe i povećana eritropoeza.

#### CILJ RADA

1. Utvrđivanje uticaja askorbinske kiseline na apsorpciju gvožđa kod osoba sa sideropenijskom anemijom.
2. Praćenje drugih hematoloških parametara pre i posle testa apsorpcije Fe kod osoba sa sideropenijskom anemijom.

#### MATERIJAL I METODE

Ispitali smo 50 pacijenata specijalističke ambulante (Klinike za hematologiju Niš). Bilo je 45 žena i 5 muškaraca. Starost pacijenata se kretala od 25 do 72 godine, prosečne starosti 48 godina. Izabrani su pacijenti koji se prvi put javljaju zbog opisane simptomatologije i oni kojima je ovo recidiv anemije. Svima je na osnovu anamneze, pregleda i HCT kod žena 39 i manje, a 40 i manje kod muškaraca, kao i pregledom razmaza periferne krvi sa nalazom hipohromije, mikrocitoze, anizocitoze i poi-kilocitoze postavljena dijagnoza sideropenijske anemije. Da bi se isključilo postojanje anemije druge etiologije (sekundarne, hemolitičke, megaloblastne) korišćeni su, osim anamneze i pregleda i sledeći biohemijski parametri: totalni proteini, AST, ALT, LDH, AF, urea i kreatinin.

Svi pacijenti su podeljeni u dve grupe: prvu (I) kojoj je rađen test opterećenja gvožđem, i drugu (II) kojoj je uz gvožđe, u sklopu testa opterećenja dat i 1 gr askorbinske kiseline.

#### METODE

Er, iTe, Tr, HCT, MCV, MCHC, Hb rađeni su na aparatu Coulter MDII. Ovaj aparat tačno prebrojava i premerava ćelije određivanjem promena u električnoj rezistenciji partikula (kao što je ćelija) i to pri njenom prolazu kroz konduktivnu tečnost, kroz mali otvor. Kako koja pojedinačna ćelija prolazi kroz otvor ona menja postojeći i izaziva merljivi impuls. Broj impulsa signalizira broj partikula. Veličina impulsa je proporcionalna zapremini te partikule.<sup>(12)</sup>

Coulter MD II određuje hematološke parametre na sledeći način:

#### *MCV*

Je prosečna zapremina individualnih zapremina dobijena iz Er histograma.

#### *HCT*

Je izračunata vrednost relativne zapremine Er izražene u % .

#### *MCH*

Je izračunata vrednost težine hemoglobina u prosečnom Er izražena u procentima.

#### *MCHC*

Je izračunata vrednost težine Hb u mernom rastvoru izražena u gr Hb po decilitru Er.

#### *Hb*

Se određuje iz apsorbanca izračunate iz odnosa slepe probe sa uzorkom, broj se množi sa konstantom i izražava u gr Hb po decilitru krvi.<sup>(14)</sup>

Naredni parametri su rađeni na aparatu ILAB 900~.

#### *Gvožđe*

Radili smo end point bihromatsku analizu koja se bazira na formiranju plavo obojenog kompleksa gvožđa i Ferens~Sa u kiselom rastvoru. Formiranje boje je proporcionalno koncentraciji Fe u uzorku. Apsorbanca se meri kod ILAB 900 na 700 nm.

### *TIBC*

Je merenje maksimalne koncentracije Fe koje transferin može da veže. Uzorak se tretira sa trovalentnim Fe da se zasite nevezana mesta, višak Fe se odvaja precipitacijom Mg karbonat hidroskopom. Ukupno Fe u supernatantu se meri IL testom Iron reagen-som, i predstavlja totalni kapacitet vezivanja Fe.

### *UIBC*

Latentni, kapacitet vezivanja gvožđa se dobija kada se od TIBC a oduzme serumsko Fe.

### *Saturacija transferina*

Saturacija transferina se dobija kao odnos serumskog gvožđa/TIBC puta 100(%)

### *Alkalna fosfataza*

Princip metode se bazira na metodi prvenstveno predloženoj od Bowersa i Me Comba koju je usavršio Tietz, sa p nitrofenilfosfatom i jonima Mg u puferu.

### *LDH*

Princip metode bazira se na sledećoj reakciji Piruvat + NADH<sub>2</sub>= laktat + NAD Nivo porasta apsorpcije zbog oksidacije NADH u NAD je direktno proporcionalan aktivnosti LDH(na 340 nm).

### *AST*

Princip metode se zasniva na reakcijama L aspartat + 2 oksoglutarat= Lglutamat +ok-salacetat Oksalacetat+NADH<sub>2</sub>= L malat + NAD Nivo povećanja apsorpcije na 340 nm je proporcionalan aktivnosti AST u uzorku.

### *ALT*

Princip metode se zasniva na reakcijama Lalanin + L oksoglutarat= piruvat + glutamat Piruvat + NADH<sub>2</sub>=L laktat + NAD Nivo povećanja apsorpcije shodno oksidaciji NADH<sub>2</sub> u NAD je direktno proporcionalan ALT aktivnosti. Merenje na 340 nm.

### *Urea*

Određivali smo ureu enzimatskom metodom koja se zasniva na hidrolizi uree u prisustvu vode pod dejstvom ureaze na amonijak i ugljen dioksid. Amonijak reaguje sa alfa oksoglutaratom i NADH u prisustvu glutamat dehidrogenaze te se dobija glutamat, NAD i voda.

### *Totalni proteini*

Totalne proteine smo radili end point, bihromatskom analizom po modifikovanoj Biuret metodi. Polipeptidi koji sadrže najmanje dve polipeptidne veze, reaguju sa bakar sulfatom iz Biuret reagensa te stvaraju stabilni kompleks. Koncentracija ovog kompleksa je proporcionalna koncentraciji ukupnih proteina u uzorku. Apsorpcija se meri na ILAB 900 na 540 nm.

### *Test oralnog opterećenja Fe*

Posle pregleda Fe u serumu našte, bolesniku se da oralno 200 mg Fe u obliku ferosulfata. Nakon 3 sata ponovi se pregled Fe. Razlika između vrednosti Fe našte i posle opterećenja podeli se sa vrednošću Fe našte, te pomnoži sa 100.

U slučaju normalne snabdevenosti organizma Fe rezultat je ispod 200%.

Ukoliko postoji deficit Fe rezultat je preko 200%.

Ukoliko svi ostali rezultati ukazuju na to da je u pitanju hiposideremijska anemija a rezultat ovog testa iznosi manje od 200%, tada postoji poremećaj apsorpcije Fe i treba tražiti njegov uzrok.

Test se na identičan način radi i sa askorbinskom kis., s tim što se uz oralnu dozu ferosulfata od 200 mg, daje i 1 gr askorbinske kis.<sup>(8,17,22)</sup> Test se radi i u cilju diferencijalne dijagnoze, kada treba isključiti druga stanja sa hipohromnom tj. sideropenijskom anemijom, kao što su talasemija minor, anemija hroničnog afekta, anemija u hroničnoj bubrežnoj bolesti, maligne bolesti, te aplastične anemije.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Brojne studije su pokazale da postoji razlika između HCT dobijenog sa automatskog brojača i onog dobijenog centrifugiranjem. Dokazano je daje automatizovana metoda preciznija. MCV i MCHC sa automatskog brojača nisu pod uticajem hemodi-lucije (anemije) ili hemokoncentracije (eritocitoza). čak više od trećine uzoraka rađeno centrifugiranjem, pokazalo se kao normalno, iako je objektivno bilo mikrocitno. Nestalnost manualnog MCV-a i nelinearnost centrifugalnog HCT objašnjava se nejednakom centrifugalnom silom duž kivete tj. Er blizu distalnom kraju bivaju podvrgnuti duplo većoj centrifugalnoj sili nego oni koji su pri vrhu. Pošto je ste-pen pakovanja Er zavistan od jačine centrifugalne sile, zarobljena međućelijska plazma je veća kada postoji eritocitoza ili anemija kod centrifugalno rađenog HCT.<sup>(10)</sup>

MCV (u fl) srednja vrednost zapremine eritrocita je bila u prvoj grupi 77, 25, a u drugoj 80, 12 fl. Kada su vrednosti ispod 83 fl, smatra se da su u pitanju mikrociti, međutim, manjak hemoglobina se osim u gvožđe deficitnih anemija javlja i u anemijama kod hroničnih bolesti, pa je čak 25% ovih anemija mikrocitno. Flynn<sup>(n)</sup> nalazi prosečne vrednosti MCV-a kod gvožđe deficitne anemije od 68, 2 fl sa rasponom od 50,9 do 79,2. Vrednosti ispod 70 fl ukazuju skoro sigurno na deficit Fe, ali to se realno dešava u 10 do 20% slučajeva. Puno pacijenata sa deficitom Fe ima normalne ili čak povišene vrednosti MCV-a.

MCH (u pg) srednja vrednost količine hemoglobina u jednom eritocitu. Vrednosti ispod 28 pg

*Tabela 1. Prosečne vrednosti nekih hematoloških parametara (po grupama)*

grupa	Er* 10 <sup>6</sup> /l	Hgb g/dl	HCT	McfM		HHSiiHKippJ !«
I	4,028	9,63	0,351	77,25	23,30	30,05
II	4,085	9,65	0,317	80,12	23,6	30,28

Prosečne vrednosti Er u prvoj grupi su bile 4,028, a u drugoj 4, 085, sa poljem varijacije za obe grupe od 3, 37 do 4, 73.

Srednje vrednosti hemoglobina u gramima na decilitar u prvoj grupi je bila 9, 63, a u drugoj 9, 65 sa poljem varijacije od 6, 3 do 13, 5.

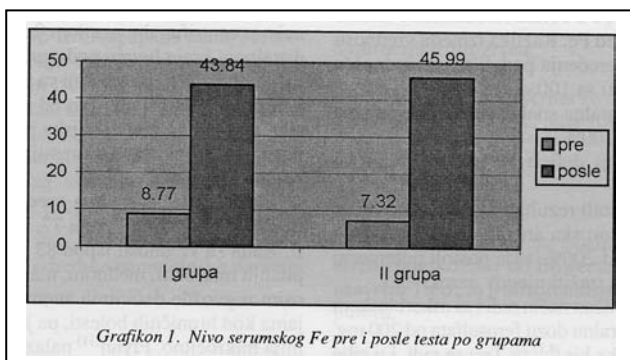
Srednje vrednosti HCT su u prvoj grupi bile 0,351, a u drugoj 0, 317, sa poljem varijacije od 0, 225 do 0, 317. Upoređivanjem automatizovanih metoda sa ručnim, studije su pokazale da su automatizovane metode na aparatima brže i preciznije od ručnih uz oprez u pojedinim slučajevima (visoki MCHC proveriti ručno, niski MCHC-treba da bude praćen niskim MCV-om, mikrocitozom i hipohromijom na razmazu.<sup>(23>7)</sup> nalaze se u svim anemijama u kojima je sinteza hemoglobina smanjena, najčešće u anemijama zbog deficita gvožđa. U prvoj grupi srednja vrednost za MCH bila je 23,30 a u drugoj 23,6. Treba imati u vidu da povišene vrednosti leukocita mogu dati lažno povećanje hemoglobina zbog zamućenosti ali i povećanje Er i HCT i MCH na Coulter aparatima.

MCHC (u gr na dl) srednja vrednost koncentracije hemoglobina u Er je u prvoj grupi bila 30,05 a u drugoj 30,28. U hipohromnim anemijama, smanjenje težine hemoglobina u 1 Er je uvek veće od smanjenja njegove zapremine, stoga je vrednost MCHC samo subnormalna.

Srednja vrednost Fe pre testa u prvoj grupi je bila 8,77 a posle testa 43,84. Razlika je bila 35,07 a polje varijacije od 3,3 do 17,5 pre i od 19,3 do 66,3 posle testa.

*Tabela 2. Vrednosti Fe pre i posle testa (po grupama)*

	X±SD		min - nia\		razlika
i-rupa	pre	posle	pre	posle	pre-posle
I	8,7±1,96	43,8±3,15	3,3-17,5	19,3-66,3	35,07
II	7,3±2,34	45,9±3,54	0,5-28,9	17,8-66,4	38,67



Srednja vrednost seruskog Fe u drugoj grupi bila je pre testa 7,32, a posle davanja oralnog ferosulfata sa askorbinskom kiselinom 45,99. Razlika je 38,67, a polje varijacije pre testa od 0,5 do 28,9 i posle od 17,8 do 66,4.

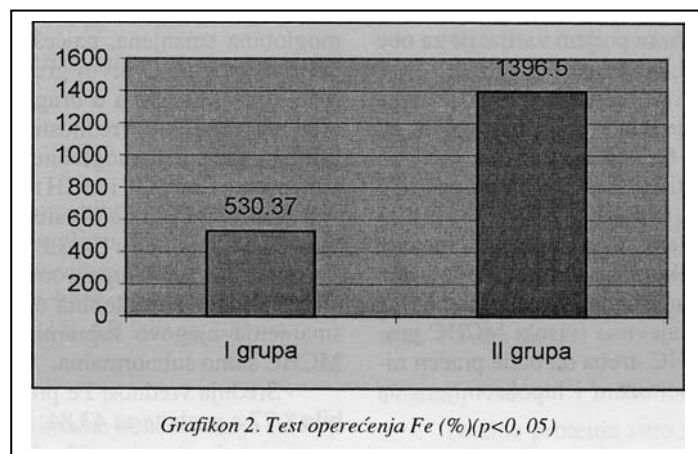
Tabela 3. Test opterećenja gvoždem (%)

grupa	X±SD	min - max	razlika I-II
I	530,371331,70	51,-1.319,5	* p<0,05 t= 2,25
II	1.396,511828,08	121,1-7.187,5*	

Test oralnog opterećenja gvoždem se koristi za utvrđivanje postojanja deficita Fe ili poremećaja apsorpcije, te vrednosti iznad 200% ukazuju na deficit gvozda. Mi smo našli daje srednja vrednost testa opterećenja gvoždem u prvoj grupi bila 530,37, sa poljem varijacije od 51,9 do 1319,5. U drugoj grupi srednja vrednost je bila 1396,55 sa poljem varijacije od 121,1 do 7187,5.

Tabela 4 t-test za Fe

pre-posle u I grupi	pre-posle u II grupi	pre-posle u I i II grupi	posle testa u I i II grupi
41,25	44,96	2,34	2,24
p<0,001	p<0,001	p<0,05	p<0,05



Razlika između srednjih vrednosti prve i druge grupe iznosi 866,13. Značajnost te razlike testirana je t-testom i dobijena je značajnost na nivou  $p < 0,05$  (t-test  $\sim 2,25$ ).

Srednja vrednost prve grupe je manja, kao i polje varijacije te je ona homogenija.

Standardna devijacija prve grupe iznosi 331,7, dok je u drugoj 1828,08.

Koeficijent varijacije za prvu grupu iznosi 1326,8, dok je koeficijent varijacije druge grupe 7312.

Tabela 5. Srednje vrednosti TIBC-a i UIBC pre i posle testa (po grupama)

grupa	TIBC X $\pm$ SD		UTBC X $\pm$ SD	
	pre	posle	pre	posle
I	69,16 $\pm$ 2,27	69,92 $\pm$ 2,61	59,75 $\pm$ 2,28	28,75 $\pm$ 2,96
II	69,5 $\pm$ 43,10	71,36 $\pm$ 13,04	63,52 $\pm$ 3,27	27,75 $\pm$ 13,92

Davidsson (9) nalazi takođe statistički značajni porast apsorpcije u grupi gde je data askorbinska kiselina ( $p < 0,0001$  i  $p < 0,05$  u dve studije).

TIBC i UIBC -širi dijapazon normalnih vrednosti transferina u plazmi u vidu ukupnog kapaciteta transferina za vezivanje Fe(TIBC) daje Win-trobe(23) i on je od 45 do 72 umola na l, sa najvećom učestalošću od 60,7. Nalaz TIBC-a iznad gornje granice može se smatrati sigurnim znakom njegovog povećanja u plazmi. Zbog sniženih vrednosti serumskog Fe i povišenih vrednosti TIBC-a u stanju deficita Fe povećana je vrednost slobodnog za Fe nevezanog transferina (UIBC).<sup>(16)</sup> Dodatno, transferin je negativni reaktant akutne faze tako da pri bilo kojim zapaljenskim procesima pada, tj. vrednosti TIBC-a mogu biti u granicama normale i pored prisutne Fe deficitne anemije.

Mnogo bolje merilo stanja rezervi Fe u organizmu, naročito u njegovom deficitu dobija se iz međusobnog odnosa plazmatskog Fe i TIBC-a koji predstavljaju zasićenje ili saturaciju transferina gvoždem. Smanjenje vrednosti ispod 16% prihvaćeno je kao znak loše snabdevenosti organizma gvoždem. Međutim, pošto se serumsko Fe smanjuje i u deficitu Fe i u hroničnim bolestima, saturacija gvoždem nije specifičan znak za Fe deficitnu anemiju. Vrlo niske vrednosti ispod 5% su specifične za Fe deficitne anemije, ali su ti nalazi retki.

U našem ispitivanju prva grupa je imala srednje vrednosti saturacije transferina 12,48 sa poljem varijacije od 5,8 do 25,1. Druga grupa je imala srednje vrednosti 9,057 sa poljem varijacije od 0,9 do 34.

## ZAKLJUČAK

Posledice neležene Fe deficitne anemije mogu biti brojne kao stoje neefikasnoast u radu, psihomotorna slabost, otežano učenje, dekoncentrisanost, prevremeni porodaji, učestale porođajne komplikacije i veća smrtnost novorođenčadi, kao i usporen psihomotorni razvoj dece.

Pošto se Fe deficitne anemije lako dijagnostikuju i lako leče, besmisleno je ne izbeći sve gore navedeno. Više studija je pokazalo, kao i naše ispitivanje, da se askorbinskom kis. znatno povećava apsorpcija Fe. Takođe su u toku brojne studije koje ispituju različite aspekte metabolizma Fe jer sa retkim izuzecima, opstanak svih proučenih organizama od najnižih, do čoveka, je zavistan od gvožđa. Gvožđe zavisno od života je u stalnom balansiranju između hazarda gvožđe deficijencije i gvožđe suficijencije, gde oba stanja imaju fatalne posledice. Homeostatski mehanizmi koji regulišu apsorpciju, transport, čuvanje i mobilizaciju ćelijskog Fe su zato od suštinskog značaja u metabolizmu Fe. Složeni bio-hemijski putevi leže iza ovih mehanizama i zadnjih godina se ubrzano proučavaju. Ta ispitivanja su dovela do revolucije u razumevanju molekularnih događaja u metabolizmu Fe. Od centralnog značaja je bilo pronalazanje novih proteina i regulatornih mehanizama kontrole ekspresije proteina za koje se već znalo - transferinski receptor i feritin. Novo pronađeni proteini su Fe regulatorni proteini IRP1 i IRP2, više različitih feroreduktaza, membranski transporter (DMT1 i feroportin 1) feroksidaza - bakar zavisna, uključena u izlazak Fe iz ćelije i regulaciju mitohondrijalnog balansa Fe frataksinom i MFT-om.



Izvestan broj patogenih bakterija se snabdeva gvožđem iz serumskog transferina interakcijom sa TBP-om koji su u vezi sa ćelijskom membranom. Zavisnost bakterija od ovog Fe je dovelo do razmišljanja o mogućnosti razvijanja vakcine koja bi imala TBP kao antigen.

Različite ugljeno hidratne rezidue vezane za molekul transferina korišćene su da se identifikuju teški alkoholičari, a promene su utvrđene i kod trudnica i starijih.

Apsorpcija Fe koja je ranije bila slabo poznata, je danas objekat ubrzanog istraživanja i blizu je potpuno razjašnjavanja. Dugo traženi gen za hemohromatozu je pronađen (mutacija HFE gena na Ch 6p) i u toku su ispitivanja kako njegovo aber-

antno funkcionisanje rezultuje bolešću. Iznenadujuća je i otkrivena veza između metabolizma Fe i Fridrihsove ataksije. Zato nije preterano reći da je razumevanje metabolizma Fe u zdravlju i bolesti imalo eksplozivan tok i da će se taj trend i dalje nastaviti.

#### LITERATURA

1. Andrews C. Disorders of iron metabolism. *New Eng J Med*, 341:1986, 1999.
2. Bessman J. New parameters on automated hematology instruments. *Lab Med* 14, 1983.
3. Bessman Ridgway G, Gardner F. Improved classification of anemias by MCV and RDW. *Am J Clin Pathol* 80:322, 1983.
4. Brock J, Muloero V. Iron metabolism in macrophages. 6<sup>th</sup> Internet World Congress for Biomedical Sciences 2000.
5. Chasten R. Mineralisation of ferritin an efficient means of iron storage. *J Struct Biol* 126:182-194, 1999.
6. Conrad M, Umbreit J, Moore E. The alternate iron transport pathway/mobilferin and integrin K 562 cells. *J Biol Chem* 269:7169, 1994.
7. Cornbleet J. Spurious results from automated hematology cell counters. *Lab Med* 14, 1983.
8. Crosby W. A small dose iron tolerance test as an indicator of mild iron deficiency. *JAMA* 251:1986, 1984.
9. Davidsson L, Walczuk T, Morris A, Hurrell R. Influence of ascorbic acid on iron absorption from an iron fortified chocolate flavored milk drink in Jamaican children. *Am J Clin Nutr* 67:15-873-7, 1998.
10. Fairbanks et al. *Hematology*, McGraw Hill, New York, 369, 1995.
11. Flynn M, Reppun T, Nadhipuran B. Limitation of red blood cell distribution width in evaluation of microcytosis. *Am J Clin Pathol* 85:445-449, 1986.
12. Coulter MD Series Analyzer, Operator manual, Coulter Corporation, 1996.
13. Harrison PM. The ferritins molecular properties, iron storage, function and cellular regulation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1275:161-203, 1996.
14. ICHC international Committee for standardization in haematology. Recommendations in hemoglobinometry 1967, 1978.
15. Linder MN. The mechanism of iron absorption and its regulation *Fed Proc* 36, 2017, 1977.
16. Stefanović S. *Hematologija*, Medicinska knjiga Beograd - Zagreb 1990.
17. Verloop M, Jacobs A. Comparison of the iron absorption test with the determination of the iron binding capacity of serum in the diagnosis of iron deficiency. *Br J Haematol* 4:70, 1958.
18. Walter I, Theil E. Iron deficiency anemia, adverse effects on infant psychomotor development. *Pediatrics*, 84:7-17, 1989.
19. Wats R, Wardrop S, Richardson D. Studies on the mechanism of action of nitrogen monoxide on iron uptake from transferrin. 6<sup>th</sup> Internet World Congress for Biomedical Sciences 2000.
20. Wessling MO. Iron transport. *Ann Rev Nutr* 20:129-151, 2000.
21. Williams et al. *Hematology* 5<sup>th</sup> edition McGraw Hill inc. Iron metabolism 373, 1990.
22. Wiltnik W, Ybema H, Lejinse B, Gerbrandy J. The iron tolerance test, measurement of absorption and utilization of therapeutic dose of iron. *Clin Chim Acta* 13:701, 1966.
23. *Wintrobe's clinical hematology*, 9<sup>th</sup> edition, Lea & Febiger, 1993.