



# การศึกษาความสัมพันธ์ของเฮปซิดินและอีริโทรเฟอโรนกับภาวะซีดในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี

ศิริจันทร์ ชุณหากาญจน์ ปร.ด. (พยาธิวิทยาคลินิก)<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

\* ผู้ติดต่อ, อีเมล: sirichan@nmu.ac.th

Vajira Med J. 2021; 65 Suppl: S91-100

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2021.xx>

## บทคัดย่อ

**วัตถุประสงค์:** เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเฮปซิดินและอีริโทรเฟอโรนกับระดับของฮีโมโกลบินในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี

**วิธีดำเนินการวิจัย:** เก็บตัวอย่างซีรัมจากผู้ป่วยโรคเอสแอลอีจำนวน 42 ราย แบ่งออกเป็นกลุ่มที่มีภาวะซีดและไม่มีภาวะซีดโดยใช้ระดับของฮีโมโกลบิน กลุ่มควบคุมใช้ตัวอย่างซีรัมจากผู้บริจาคโลหิตจำนวน 40 ราย ซึ่งการเก็บซีรัมทั้งหมดจะเป็นซีรัมที่เหลือจากการตรวจในงานประจำ ตัวอย่างซีรัมจะนำมาตรวจหาระดับของเฮปซิดินและอีริโทรเฟอโรนโดยใช้วิธี enzyme-linked immunosorbent assay

**ผลการวิจัย:** ผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่มีภาวะซีดมีระดับของเฮปซิดินและอีริโทรเฟอโรนสูงที่สุดและมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะซีดและกลุ่มควบคุม และผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะซีดพบระดับของเฮปซิดินและอีริโทรเฟอโรนสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีพบว่าระดับของเฮปซิดินและอีริโทรเฟอโรนมีความสัมพันธ์เชิงลบกับระดับของฮีโมโกลบินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของระดับของเฮปซิดินและอีริโทรเฟอโรนไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**สรุป:** การเพิ่มขึ้นของระดับเฮปซิดินและอีริโทรเฟอโรนมีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะซีดในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี ในขณะที่เฮปซิดินกับอีริโทรเฟอโรนต่างเป็นอิสระต่อกันในการก่อให้เกิดภาวะซีดในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี และค่าทั้งสองยังไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดภาวะซีดในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี

**คำสำคัญ:** เฮปซิดิน, อีริโทรเฟอโรน, ภาวะซีด, โรคเอสแอลอี



# Association of Hepcidin and Erythroferrone Levels with Anemia in Systemic Lupus Erythematosus Patients

Sirichan Chunchakan PhD (Clinical Pathology)<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University, Bangkok, Thailand

\* Corresponding author, e-mail address : sirichan@nmu.ac.th

Vajira Med J. 2021; 65 Suppl: S91-100

<http://dx.doi.org/10.14456/vmj.2021.xx>

## Abstract

**Objectives:** To study the association of hepcidin and erythroferrone (ERFE) levels with hemoglobin levels in systemic lupus erythematosus (SLE) patients.

**Methods:** Forty-two serum samples collected from SLE patients were categorized into anemia and without anemia using hemoglobin levels. Forty blood donors were included as control group, all serum was collected from leftover specimen. Hepcidin and ERFE were measured in patients and control group using enzyme-linked immunosorbent (ELISA) kit.

**Results:** Hepcidin and ERFE showed the highest levels in anemic SLE patients and were statistically significantly higher than in non-anemic SLE patients and control group, while hepcidin and ERFE were statistically significantly higher in non-anemic SLE patients than control group. In SLE patients, hepcidin and erythroferrone were statistically negatively correlated with hemoglobin. There was no statistically significant correlation between hepcidin and erythroferrone levels.

**Conclusion:** Elevated serum hepcidin and erythroferrone levels were associated with anemia in SLE patients. Whereas hepcidin and erythroferrone were independent of each other in causing anemia and both values were not appropriate to be used as markers of anemia status in SLE patients.

**Keywords:** hepcidin, erythroferrone, anemia, systemic lupus erythematosus

## บทนำ

โรคเอสแอลอี (SLE: systemic lupus erythematosus) เป็นโรคออโตอิมมูนที่ส่งผลกระทบต่ออวัยวะทุกระบบในร่างกาย สาเหตุการเกิดโรคเอสแอลอียังไม่มีความชัดเจน เชื่อว่าเกิดจากหลายสาเหตุร่วมกัน เช่น พันธุกรรม ระบบภูมิคุ้มกัน ระบบต่อมไร้ท่อ และปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมของผู้ป่วย เป็นต้น โรคเอสแอลอีจะพบได้ในผู้หญิงมากกว่าผู้ชายถึง 10 เท่า พยาธิสรีรวิทยาของโรคเอสแอลอีค่อนข้างซับซ้อน ซึ่งมักจะส่งผลให้เกิดการสร้างสารไซโตไคน์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ และแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยาต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อของตนเอง ทำให้เกิดพยาธิสภาพของระบบต่าง ๆ ทั่วร่างกาย เช่น ผิวหนัง ข้อ ไต ระบบประสาท ระบบเลือด และระบบอื่น ๆ อีกทั้งเป็นโรคที่มีความหลากหลายทั้งในด้านของอาการ อาการแสดง ความรุนแรง และการดำเนินโรค ตลอดจนการตอบสนองต่อการรักษา<sup>1</sup>

ภาวะซีด (anemia) เป็นอาการที่พบได้บ่อยในโรคเอสแอลอี โดยจากการวิจัยที่ผ่านมาพบความชุกอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 60-90 และพบว่าภาวะซีดในโรคเอสแอลอีมีสาเหตุเกิดจากภาวะซีดจากการอักเสบ (anemia of inflammation) หรืออีกชื่อหนึ่งเรียกว่าภาวะซีดจากโรคเรื้อรัง (anemia of chronic disease: ACD) มากถึงร้อยละ 40 – 70 ส่วนสาเหตุอื่น ๆ ที่ส่งผลให้เกิดภาวะซีดในโรคเอสแอลอี เช่น โรคซีดจากการขาดธาตุเหล็ก (iron deficiency anemia) หรือภาวะเม็ดเลือดแดงแตกจากภูมิคุ้มกันตนเอง (autoimmune hemolytic anemia, AIHA) เป็นต้น<sup>2-5</sup> ภาวะซีดจากการอักเสบมีสาเหตุเกิดจากความผิดปกติของการควบคุมสมดุลธาตุเหล็กในร่างกาย โดยกลไกที่มีบทบาทสำคัญ คือ การควบคุมสมดุลธาตุเหล็กในร่างกายผ่านโปรตีนที่มีชื่อว่า เฮปซิดิน (hepcidin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ถูกสร้างมาจากเซลล์ตับเป็นหลัก และส่วนน้อยยังสร้างได้จากไตและแมโครฟาจ ระดับการสร้างเฮปซิดินมีความสัมพันธ์กับปริมาณเหล็กที่ผ่านเข้าสู่พลาสมา โดยการศึกษาการออกฤทธิ์ของเฮปซิดินพบว่า เฮปซิดินมีหน้าที่ลดปริมาณเหล็กในพลาสมาโดยยับยั้งการดูดซึมเหล็กที่ลำไส้เล็กผ่านช่องทางที่มีชื่อว่า ferroportin และยับยั้งการขนส่งเหล็กจากเซลล์แมโครฟาจไปให้กับเม็ดเลือดแดงในไขกระดูก ดังนั้นถ้ามีการสร้างเฮปซิดินเพิ่มมากขึ้น จะทำให้ร่างกายไม่สามารถ

นำเหล็กมาสร้างฮีโมโกลบินซึ่งเป็นส่วนประกอบของเม็ดเลือดแดงและทำให้เกิดภาวะซีดได้<sup>6-7</sup> การสร้างเฮปซิดินจะถูกกระตุ้นในภาวะที่ร่างกายมีการอักเสบ ซึ่งเป็นผลจากฤทธิ์ของไซโตไคน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอินเตอร์ลิวคิน 6 (IL-6) ซึ่งทำหน้าที่เป็นกลไกหลักในการเหนี่ยวนำการสร้างเฮปซิดินผ่านทาง JAK-STAT pathway<sup>8-9</sup> จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ามีการศึกษาที่แสดงถึงระดับเฮปซิดินที่เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม<sup>10</sup> และมีหลายการศึกษาที่แสดงถึงระดับอินเตอร์ลิวคิน 6 มีการเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเช่นเดียวกัน<sup>11-13</sup>

อีริโทรเฟอริน (erythroferrone: ERFE) เป็นฮอร์โมนที่เพิ่งถูกค้นพบเมื่อปี พ.ศ.2557 และควบคุมผ่านยีนที่ชื่อว่า *FAM132B* ฮอร์โมนนี้สร้างมาจากเซลล์ตัวอ่อนของเม็ดเลือดแดงในไขกระดูก ซึ่งจะตอบสนองต่อภาวะที่มีความต้องการในการสร้างเม็ดเลือดแดงเพิ่มมากขึ้นหรือภาวะซีดโดยการกระตุ้นของฮอร์โมนอีริโทรพอยอิติน (erythropoietin) อีริโทรเฟอรินทำหน้าที่ในการควบคุมการสร้างเม็ดเลือดแดง<sup>14</sup> และสามารถไปยับยั้งการสร้างเฮปซิดินให้ลดลง ทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณเหล็กเข้าสู่ร่างกายและนำเหล็กไปใช้ในการสร้างเม็ดเลือดแดงเพิ่มมากขึ้น<sup>15</sup> แต่ถ้าเกิดความผิดปกติในการสร้างอีริโทรเฟอริน เช่น กรณีสร้างมากขึ้นผิดปกติ ทำให้ไปยับยั้งให้สร้างเฮปซิดินลดลง ส่งผลให้ร่างกายรับเหล็กเพิ่มมากขึ้นและเกิดภาวะเหล็กเกินซึ่งพบได้ในผู้ป่วยโรคเบาธาลัสซีเมียและโรค sickle cell anemia<sup>16-17</sup> ในทางตรงกันข้าม ผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังซึ่งเป็นโรคที่เกิดภาวะซีดจากการอักเสบและมีการสร้างเฮปซิดินสูงขึ้น พบว่ามีการสร้างอีริโทรเฟอรินลดลงเช่นกัน ทำให้ไม่สามารถไปยับยั้งการสร้างเฮปซิดินที่เพิ่มขึ้นได้<sup>18-19</sup>

ในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาในระดับของอีริโทรเฟอรินและความสัมพันธ์ของอีริโทรเฟอรินและเฮปซิดินกับภาวะซีดในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีมาก่อน ดังนั้นเพื่อให้เข้าใจกลไกการเกิดภาวะซีดในผู้ป่วยเอสแอลอีมากขึ้น การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับของอีริโทรเฟอรินและเฮปซิดินในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอีริโทรเฟอรินและเฮปซิดินกับภาวะซีดในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี ซึ่งจะช่วยให้เข้าใจบทบาทของอีริโทรเฟอรินและเฮปซิดินต่อการเกิดภาวะซีดในผู้ป่วย

เอสแอลไอมากขึ้น และอาจนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดสำหรับดูภาวะซีดของผู้ป่วยโรคเอสแอลไอในอนาคตได้

### วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอีริโทรเฟอรินและเฮปซิดินกับระดับของฮีโมโกลบินในผู้ป่วยโรคเอสแอลไอ

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### รูปแบบการวิจัย

การวิจัยแบบตัดขวางแบบพรรณนาร่วมกับการศึกษาข้อมูลย้อนหลังจากเวชระเบียน

เก็บตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเอสแอลไอและเหลือจากการส่งตรวจ antinuclear antibody (ANA) ที่ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก ตั้งแต่เดือนกันยายน พ.ศ.2563 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2564 และตัวอย่างซีรัมที่เหลือจากการตรวจในงานประจำจากผู้บริจาคโลหิตที่หน่วยธนาคารเลือด ฝ่ายชั้นสูตโรคกลางและธนาคารเลือด ช่วงเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม พ.ศ.2564 โดยจะเก็บตัวอย่างไว้ในตู้เย็น - 30 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดสอบ และงานวิจัยนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยแล้ว (COA 065/2564)

การวัดระดับของอีริโทรเฟอรินจะใช้ชุดทดสอบ human protein FAM132B (FAM132B) ELISA kit (Cusabio, China) และการวัดระดับของเฮปซิดินจะใช้ชุดทดสอบ human hepcidin 25 (Hepc25) ELISA Kit (Cusabio, China) ซึ่งวิธีการจะทำตามคู่มือของชุดทดสอบในส่วนของการอ่านค่าระดับฮีโมโกลบินในผู้ป่วยโรคเอสแอลไอ สืบค้นจากเวชระเบียนของผู้ป่วย และระดับฮีโมโกลบินของกลุ่มควบคุมสืบค้นจากฐานข้อมูลของธนาคารเลือด

#### เกณฑ์การคัดเข้า และเกณฑ์การคัดออก

เกณฑ์การคัดเข้า: -เลือดผู้ป่วยที่ส่งตรวจ antinuclear antibody (ANA) ซึ่งให้ผลตรวจเป็นบวก และได้ส่งตรวจ complete blood count (CBC) เพื่อดูระดับของฮีโมโกลบินจากการเจาะเลือดครั้งเดียวกัน และต้องเป็นผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคเอสแอลไอ โดยสืบค้นผลการวินิจฉัยโรคจากเวชระเบียนของผู้ป่วย ทั้งนี้ผู้ป่วยจะต้องมีอายุตั้งแต่

18 ปีบริบูรณ์ขึ้นไป ซึ่งผู้ป่วยเอสแอลไอที่มีภาวะซีดจะต้องมีระดับฮีโมโกลบินต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานขององค์การอนามัยโลก คือ ต่ำกว่า 12 กรัมต่อเดซิลิตรในเพศหญิง และต่ำกว่า 13 กรัมต่อเดซิลิตรในเพศชาย

- เลือดกลุ่มควบคุม คือ เลือดของผู้บริจาคโลหิตที่หน่วยธนาคารเลือด ซึ่งเหลือใช้จากงานประจำ โดยมีผลการตรวจระดับฮีโมโกลบินผ่านเกณฑ์มาตรฐาน คือ มากกว่า 12.5 กรัมต่อเดซิลิตร และมีผลตรวจการติดเชื้อเป็นลบ ทั้งนี้ผู้บริจาคจะต้องมีอายุตั้งแต่ 18 ปีบริบูรณ์ขึ้นไป

เกณฑ์การคัดออก: - เลือดผู้ป่วยที่ส่งตรวจ antinuclear antibody (ANA) ที่พบภาวะ hemolysis หรือ lipemia หรือ icteric ในซีรัม

- เลือดของผู้บริจาคโลหิตที่พบภาวะ hemolysis หรือ lipemia หรือ icteric ในซีรัม

- เลือดของผู้ป่วยเอสแอลไอที่มีซีดจากภาวะอื่น ๆ ที่ไม่ได้มาจากการอักเสบของโรคเอสแอลไอโดยตรง ซึ่งจะสืบค้นข้อมูลจากเวชระเบียนของผู้ป่วย

#### จำนวนตัวอย่าง

จากสูตรคำนวณเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของตัวแปร 2 ตัวแปร<sup>20</sup>

$$N = [(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) / C]^2 + 3$$

$$C = 0.5 \times \ln [(1+r) / (1-r)]$$

$$\alpha = 0.05, Z_{\alpha} = 1.96, Z_{\beta} = 1.28, C = 0.618, r = 0.55$$

$$\text{ดังนั้น } N = [(1.96 + 1.28) / 0.618]^2 + 3 = 30 \text{ ราย}$$

และสำรองตัวอย่างวิจัยเพื่อป้องกันโอกาสที่ข้อมูลจะสูญหายอีก 10 ราย

ดังนั้นขนาดตัวอย่าง (N) คือ กลุ่มละ 40 ราย รวมทั้งหมด 80 ราย

- ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยโรคเอสแอลไอ จำนวน 40 ราย

- ตัวอย่างเลือดของผู้บริจาคโลหิตที่หน่วยธนาคารเลือด จำนวน 40 ราย

ข้อมูลอ้างอิงจากการศึกษาของ El-Shafrey และคณะ<sup>23</sup> เมื่อปี พ.ศ.2563 พบว่าระดับของเฮปซิดินมีความสัมพันธ์กับระดับของฮีโมโกลบินที่ค่า  $r = 0.55$  จึงใช้ค่า  $r = 0.55$  แทนในสูตร

## นิยามตัวแปร

ตัวแปรต้น คือ ระดับของอีริโทรพอยโรนและเฮปซิดิน ในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี

ตัวแปรตาม คือ ระดับของฮีโมโกลบินในผู้ป่วยโรค เอสแอลอี

## การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ ได้แก่ ระดับของอีริโทรพอยโรน ระดับของเฮปซิดิน และระดับของฮีโมโกลบิน นำเสนอโดยใช้ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และร้อยละ เกณฑ์ปกติและไม่ปกติ ตามความเหมาะสมของข้อมูล โดยจะเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่มีภาวะชดและกลุ่มที่ไม่มีภาวะชด และเปรียบเทียบกับกลุ่มคนที่มีสุขภาพดี โดยจะทดสอบความสัมพันธ์ทางสถิติโดยใช้ Mann-Whitney test (U test) และทดสอบหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับของอีริโทรพอยโรน ระดับของเฮปซิดิน และระดับของฮีโมโกลบิน โดยใช้ค่า Spearman rank correlation coefficient (Spearman's rho) และประเมินประสิทธิภาพในการเป็นตัวชี้วัดสำหรับดูภาวะชดของอีริโทรพอยโรนและเฮปซิดินโดยใช้ ROC (Receiver Operating Characteristic) curve analysis จะถือว่า มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อค่า P-value น้อยกว่า 0.05 โปรแกรมที่ใช้คือ SPSS เวอร์ชัน 16.0

## ผลการวิจัย

### ข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างในงานวิจัยประกอบด้วย ผู้ป่วยโรคเอสแอลอี 42 ราย และกลุ่มควบคุม 40 ราย กลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอี แบ่งเป็นเพศหญิง 39 ราย (ร้อยละ 93) เพศชาย 3 ราย (ร้อยละ 7) อายุอยู่ในช่วงระหว่าง 19-81 ปี ค่าเฉลี่ยอยู่ที่  $43.01 \pm 16.61$  ปี

กลุ่มควบคุมแบ่งเป็นเพศหญิง 36 ราย (ร้อยละ 90) เพศชาย 4 ราย (ร้อยละ 10) อายุอยู่ในช่วงระหว่าง 19-81 ปี ค่าเฉลี่ยอยู่ที่  $38.44 \pm 11.20$  ปี จากการวิเคราะห์ข้อมูลของกลุ่มตัวอย่างทั้งสองกลุ่มพบว่า เพศและอายุของกลุ่มตัวอย่าง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.71$ ,  $p = 0.31$  ตามลำดับ) โดยข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มตัวอย่าง แสดงผลดังตารางที่ 1

### ระดับของฮีโมโกลบิน เฮปซิดิน และอีริโทรพอยโรนในกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มผู้ป่วยเอสแอลอีจำนวน 42 ราย เมื่อแบ่งกลุ่มตามระดับฮีโมโกลบินโดยใช้เกณฑ์มาตรฐานขององค์การอนามัยโลกจะแบ่งได้กลุ่มที่มีภาวะชดจำนวน 24 ราย (ร้อยละ 57.14) และกลุ่มที่ไม่มีภาวะชดจำนวน 18 ราย (ร้อยละ 42.86) ผลการวิเคราะห์ระดับของฮีโมโกลบินพบว่า กลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่มีภาวะชดมีค่าต่ำกว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ไม่มีภาวะชดและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$  ตามลำดับ) ผลการวิเคราะห์ระดับของเฮปซิดินพบว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่มีภาวะชดมีค่าสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ไม่มีภาวะชดและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.009$ ,  $p < 0.001$  ตามลำดับ) และกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ไม่มีภาวะชดมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = < 0.001$ ) และผลการวิเคราะห์ระดับของอีริโทรพอยโรนพบว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่มีภาวะชดมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) และกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ไม่มีภาวะชดมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = < 0.001$ ) เช่นเดียวกัน รายละเอียดของกลุ่มตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 2

### ตารางที่ 1:

#### ข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร

	ผู้ป่วยโรคเอสแอลอี (N = 42)	กลุ่มควบคุม (N = 40)	P-value
อายุ (ปี) Mean $\pm$ SD	43.01 $\pm$ 16.61	38.44 $\pm$ 11.20	0.709
เพศ, จำนวน (ร้อยละ)			
- ชาย	3 (ร้อยละ 7)	4 (ร้อยละ 10)	0.307
- หญิง	39 (ร้อยละ 93)	36 (ร้อยละ 90)	

ตารางที่ 2:

ระดับของฮีโมโกลบิน และอีริโทรเฟอรินในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีและกลุ่มควบคุม

ฮีโมโกลบิน (กรัมนต่อเดซิลิตร) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	อีริโทรเฟอริน (พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร) ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	P-value		
		กลุ่มควบคุม (40 คน)	ผู้ป่วยโรคเอสแอลอี ที่ไม่มีภาวะซีด (18 คน)	ผู้ป่วยโรคเอสแอลอี ที่มีภาวะซีด (24 คน)	กลุ่มที่ 1 และ กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 1 และ กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 2 และ กลุ่มที่ 3
13.34 ± 0.56	13.42 ± 1.13	9.99 ± 1.53	0.712	< 0.001†	< 0.001†	< 0.001†	
11.88 (8.61-20.92)	39.52 (25.78-55.68)	86.59 (49.24-168.65)	< 0.001*	< 0.001†	< 0.001†	0.009#	
39.95 (35.26-56.88)	109.33 (69.85-135.05)	140.12 (84.30-243.35)	< 0.001*	< 0.001†	< 0.001†	0.134	

\* ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ไม่มีภาวะซีดกับกลุ่มควบคุม  
 † ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่มีภาวะซีดกับกลุ่มควบคุม  
 # ค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ไม่มีภาวะซีด

**ความสัมพันธ์ระหว่างระดับของเฮปซิดินและอีริโทรเฟอรินกับระดับของฮีโมโกลบินในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี**

ในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีพบว่าระดับของเฮปซิดินและระดับของอีริโทรเฟอรินมีความสัมพันธ์เชิงลบกับระดับของฮีโมโกลบินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับของเฮปซิดินและระดับของอีริโทรเฟอรินไม่มีความสัมพันธ์กัน รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 3

**ประสิทธิภาพในการเป็นตัวชี้วัดภาวะซีดของเฮปซิดินและอีริโทรเฟอรินในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี**

จากการประเมินพบว่าประสิทธิภาพในการเป็นตัวชี้วัดภาวะซีดของเฮปซิดินมีพื้นที่ใต้กราฟ (Area Under Curve: AUC) เท่ากับ 0.74 และเมื่อเลือกใช้ระดับของเฮปซิดินที่ 63 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวชี้วัดภาวะซีดจะมีค่าความไวเท่ากับร้อยละ 62.50 ค่าความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 83.33 ค่าทำนายการเกิดภาวะซีด (Positive Predictive Value: PPV) เท่ากับร้อยละ 83.33 ค่าทำนายการไม่เกิดภาวะซีด (negative predictive value: NPV) เท่ากับร้อยละ 62.50 และค่าความถูกต้องของตัวชี้วัด (accuracy) เท่ากับร้อยละ 71.43

ส่วนประสิทธิภาพในการเป็นตัวชี้วัดภาวะซีดของอีริโทรเฟอรินมีพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) เท่ากับ 0.64 และเมื่อเลือกใช้ระดับของอีริโทรเฟอรินที่ 142 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวชี้วัดภาวะซีดจะมีค่าความไวเท่ากับร้อยละ 55.56 ค่าความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 80.00 ค่าทำนายการเกิดภาวะซีด (PPV) เท่ากับร้อยละ 83.33 ค่าทำนายการไม่เกิดภาวะซีด (NPV) เท่ากับร้อยละ 50.00 และค่าความถูกต้องของตัวชี้วัด (accuracy) เท่ากับร้อยละ 64.29 รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4

**วิจารณ์ผลการวิจัย**

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับของอีริโทรเฟอรินและเฮปซิดินในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีโดยเฉพาะในกลุ่มที่มีภาวะซีด และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอีริโทรเฟอรินและเฮปซิดินกับภาวะซีดในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี จากข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีพบว่าเป็นผู้หญิงถึงร้อยละ 92.86 ซึ่งสอดคล้องกับอุบัติการณ์ของโรคนี้ที่จะพบในผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย<sup>1</sup> และการกระจายตัวของเพศและอายุในกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีและกลุ่มควบคุมมีความคล้ายคลึงกัน จึงไม่น่าจะส่งผลกระทบต่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

**ตารางที่ 3:**

ความสัมพันธ์ระหว่างระดับของอีริโทรพอยโรนและเฮปซิดินกับระดับของฮีโมโกลบินในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี

	เฮปซิดิน		อีริโทรพอยโรน	
	r	P-value	r	P-value
ฮีโมโกลบิน (Hb)	-0.45	0.003*	-0.38	0.014†
เฮปซิดิน	-	-	0.19	0.238
อีริโทรพอยโรน	0.19	0.238	-	-

\* มีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.01

† มีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ P-value < 0.05

**ตารางที่ 4:**

การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการเป็นตัวชี้วัดภาวะซีดของเฮปซิดินและอีริโทรพอยโรนในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีด้วย ROC curve analysis

ค่าของ ROC	ตัวชี้วัด	
	เฮปซิดิน	อีริโทรพอยโรน
พื้นที่ใต้กราฟ (AUC)	0.74	0.64
ค่าความคลาดเคลื่อน (SE)	0.08	0.09
ช่วงความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 (95% CI)	0.58 – 0.90	0.47 – 0.81
P-value (เทียบกับ AUC = 0.50)	0.009	0.134
ระดับของตัวชี้วัด (Cutoff)*	63 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร	142 พิโคกรัมต่อมิลลิลิตร
ค่าความไว (Sensitivity)	ร้อยละ 62.50	ร้อยละ 55.56
ค่าความจำเพาะ (Specificity)	ร้อยละ 83.33	ร้อยละ 80.00

ROC: receiver-operating characteristic, AUC: area under the curve, SE: standard error, 95% CI: 95% confidence interval, (\*) การพิจารณาจุดตัดที่เหมาะสมด้วยวิธี Youden's index

ผลวิจัยในกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีพบว่ามีความซีดร้อยละ 57.14 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาที่ผ่านมา<sup>2-5</sup> และระดับของเฮปซิดินในกลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่มีภาวะซีดมีค่าสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ไม่มีภาวะซีดและกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังพบว่าระดับของเฮปซิดินมีความสัมพันธ์เชิงลบกับระดับของฮีโมโกลบินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอีกด้วย จากผลวิจัยนี้เป็นการยืนยันว่าการเพิ่มขึ้นของเฮปซิดินมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดภาวะซีดที่พบในโรคเอสแอลอี โดยการสร้างเฮปซิดินที่เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ร่างกายไม่สามารถนำเหล็กมาสร้างฮีโมโกลบินและส่งผลให้ระดับฮีโมโกลบินลดลงจนเกิดภาวะซีดได้<sup>6-7</sup> ผลวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่พบว่าระดับเฮปซิดินเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม<sup>10</sup> และในงานวิจัยนี้กลุ่มผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ไม่มีภาวะซีด

พบระดับของเฮปซิดินมีค่าที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีกลุ่มนี้มีการกระตุ้นให้สร้างเฮปซิดินเพิ่มมากขึ้นจริงและอาจจะส่งผลให้เกิดการลดลงของฮีโมโกลบินแต่อาจจะยังไม่ทำให้เกิดภาวะซีดได้ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างเฮปซิดินคืออินเตอร์ลิวคิน 6 (IL-6) ซึ่งในหลายการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการสร้างอินเตอร์ลิวคิน 6 เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม<sup>11-13</sup> จากการศึกษาของ El-Shafrey และคณะเมื่อปี พ.ศ.2563<sup>21</sup> พบว่าในโรคเอสแอลอีมีระดับของเฮปซิดินและอินเตอร์ลิวคิน 6 สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าการลดลงของระดับของฮีโมโกลบินมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของระดับเฮปซิดินและอินเตอร์ลิวคิน 6 อย่างมีนัยสำคัญอีกด้วย แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของเฮปซิดินและอินเตอร์ลิวคิน 6 เป็นกลไกสำคัญที่ส่งผลให้เกิดภาวะซีด

จากการอักเสบในโรคเอสแอลอี นอกจากนี้โรคคอโตอิมมูนอื่น ๆ ที่เกิดภาวะชืดจากการอักเสบ เช่น โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) ได้มีการศึกษาพบว่า มีระดับอินเตอร์ลิวคิน 6 และเฮปซิดินสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ<sup>22-23</sup> และพบความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของระดับของฮีโมโกลบินและการเพิ่มขึ้นของระดับเฮปซิดินอย่างมีนัยสำคัญอีกเช่นเดียวกัน<sup>24</sup>

ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับอิริโทรพอยโรนในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีมาก่อน ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับอิริโทรพอยโรนที่สูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับการลดลงของระดับฮีโมโกลบินในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี และระดับอิริโทรพอยโรนในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีทั้งกลุ่มที่มีภาวะชืดและกลุ่มที่ไม่มีภาวะชืดมีค่าที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ระดับอิริโทรพอยโรนและระดับของเฮปซิดินไม่พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งตรงข้ามกับสมมติฐานที่คาดว่าค่าทั้งสองจะมีความสัมพันธ์เชิงลบต่อกัน โดยผลการศึกษานี้มีความคล้ายคลึงกับผลจากการศึกษาของ Youssef และคณะ เมื่อปี พ.ศ.2564<sup>25</sup> ที่ศึกษาในผู้ป่วยโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ซึ่งเป็นกลุ่มโรคคอโตอิมมูนที่เกิดภาวะชืดจากการอักเสบเหมือนกับโรคเอสแอลอี พบว่าระดับของเฮปซิดินและอิริโทรพอยโรนมีค่าที่สูงกว่าในกลุ่มควบคุมและค่าทั้งสองก็ยังเป็นอิสระต่อกันอีกด้วย ในทางตรงกันข้าม การศึกษาในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังพบว่าการสร้างอิริโทรพอยโรนลดลงส่งผลให้ไม่สามารถไปยับยั้งการสร้างเฮปซิดินที่เพิ่มขึ้นได้ และทำให้เกิดภาวะชืดจากการอักเสบ ทั้งนี้ยังมีการศึกษาเพิ่มเติมในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังพบว่ามีสาเหตุมาจากการสร้างฮอริโมนอิริโทรพอยอีตินลดลง<sup>18-19</sup> จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่าบทบาทของอิริโทรพอยโรนในกลุ่มโรคที่เกิดภาวะชืดจากการอักเสบอาจจะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพยาธิสรีรวิทยาในแต่ละโรคที่จะส่งผลต่อระดับอิริโทรพอยโรนและอาจจะยังมีปัจจัยอื่น ๆ อีกที่ส่งผลกระทบต่อภาวะชืดจากการอักเสบด้วย ดังเช่นการศึกษาในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่พบความผิดปกติในการตอบสนองต่อฮอริโมนอิริโทรพอยอีตินลดลง และพบแอนติบอดีต่อฮอริโมนอิริโทรพอยอีตินและแอนติบอดีต่อตัวรับฮอริโมนอิริโทรพอยอีติน<sup>26-27</sup> ดังนั้นการที่พบอิริโทรพอยโรนที่สูงขึ้นในการศึกษานี้ จึงอาจจะไม่ได้มีผลมาจากฮอริโมนอิริโทรพอยอีตินโดยตรงแต่น่าจะมาจากสาเหตุอื่น จากการทบทวน

วรรณกรรมพบว่าอิริโทรพอยโรนสามารถสร้างมาจากเซลล์กล้ามเนื้อได้ โดยปกติการสร้างอิริโทรพอยโรนจากเซลล์ตัวอ่อนของเม็ดเลือดแดงจะอาศัยการกระตุ้นจากฮอริโมนอิริโทรพอยอีติน แต่กลไกการสร้างอิริโทรพอยโรนจากเซลล์กล้ามเนื้อยังไม่มีข้อสรุปและยังมีหลายทฤษฎีที่ยังคงขัดแย้งกันอยู่<sup>28</sup> อย่างไรก็ตาม มีการอ้างถึงทฤษฎีที่ว่า การสร้างอิริโทรพอยโรนจากเซลล์กล้ามเนื้อมาจากการออกแรงต้านการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อหรือข้อต่าง ๆ ในร่างกาย<sup>29</sup> ดังเช่นในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี มักจะพบว่ามีอาการปวดข้อ ข้ออักเสบ หรือปวดกล้ามเนื้อ ถ้ามีการออกแรงเคลื่อนไหวข้อหรือกล้ามเนื้อที่มีการอักเสบเหล่านี้ อาจจะส่งผลให้เกิดการสร้างอิริโทรพอยโรนเพิ่มขึ้นได้ แต่ทั้งนี้ยังคงไม่มีหลักฐานเพียงพอที่จะมาสนับสนุนซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป ถึงแม้ว่าบทบาทของอิริโทรพอยโรนจะทำหน้าที่ในการยับยั้งการสร้างเฮปซิดิน ซึ่งในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่มีการสร้างอิริโทรพอยโรนเพิ่มสูงขึ้นน่าจะยังคงแสดงบทบาทในการยับยั้งการสร้างเฮปซิดินแต่อาจจะมีส่วนแปรอื่นในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีที่ส่งผลต่อการสร้างเฮปซิดินที่มากกว่าการยับยั้งของอิริโทรพอยโรนเพียงอย่างเดียว เช่น ภาวะการอักเสบของระบบต่าง ๆ ทั่วร่างกายที่กระตุ้นให้มีการสร้างอินเตอร์ลิวคิน 6 เพิ่มมากขึ้นในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี<sup>23</sup> เป็นต้น และในการศึกษานี้ระดับอิริโทรพอยโรนยังมีความสัมพันธ์กับระดับฮีโมโกลบินแสดงว่าอิริโทรพอยโรนยังคงมีบทบาทในการเกิดภาวะชืดในโรคเอสแอลอีแต่อาจจะยังมีปัจจัยอื่น ๆ มาเกี่ยวข้องในขบวนการนี้ด้วย ดังนั้นจึงควรที่จะทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต

ในส่วนการประเมินประสิทธิภาพในการเป็นตัวชี้วัดภาวะชืดของเฮปซิดินและอิริโทรพอยโรนในผู้ป่วยโรคเอสแอลอีพบว่าทั้งสองค่ามีพื้นที่ใต้กราฟที่ค่อนข้างต่ำ (น้อยกว่า 0.75)<sup>30</sup> และเมื่อกำหนดระดับของตัวชี้วัดที่ดีที่สุดเพื่อประเมินภาวะชืดแล้วยังพบว่ามีความถูกต้อง ค่าความไว และค่าความจำเพาะที่ค่อนข้างต่ำอีกด้วย ดังนั้นทั้งสองค่าจึงยังมีคุณสมบัติไม่เหมาะสมที่นำมาเป็นตัวชี้วัดภาวะชืดในผู้ป่วยโรคเอสแอลอี

ข้อจำกัดของงานวิจัยนี้ คือการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยโรคเอสแอลอีซึ่งในการศึกษานี้จะเป็นการเก็บตัวอย่างซีรัมที่เหลือจากการใช้งานแล้วมาสืบค้นข้อมูลการวินิจฉัยโรคย้อนหลังจากเวชระเบียน ซึ่งอาจจะทำให้ไม่สามารถคัดเลือกผู้ป่วยที่มีภาวะชืดจากการอักเสบอย่างเดียวได้อย่างสมบูรณ์

หากมีการศึกษาเพิ่มเติมควรจะเป็นการศึกษาไปข้างหน้า เพื่อให้ได้กลุ่มตัวอย่างที่เหมาะสมมากขึ้น

## Conflict of interests

ผู้วิจัยไม่มี conflict of interest ในการวิจัยครั้งนี้

## กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก “กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช” (Navamindrathiraj University Research Fund) ผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก และหน่วยธนาคารเลือด ฝ่ายชันสูตรโรคกลางและธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช ที่ให้ความร่วมมือในการทำวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างดี

## เอกสารอ้างอิง

1. Justiz Vaillant AA, Goyal A, Bansal P, Varacallo M. Systemic Lupus Erythematosus. [Updated 2020 Nov 20]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan. [cited 2021 Feb 15] Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535405/>
2. Shaikh MA, Memon I, Ghorri RA. Frequency of anaemia in patients with systemic lupus erythaematosus at tertiary care hospitals. *J Pak Med Assoc* 2010;60(10):822-5.
3. Sasidharan PK, Bindya M, Sajeeth Kumar KG. Haematological manifestations of SLE at initial presentation: is it underestimated? *ISRN Haematol* 2012;2012:961872. doi: 10.5402/2012/961872.
4. Mittal S, Agarwal P, Wakhlu A, Kumar A, Mehrotra R, Mittal S. Anaemia in systemic lupus erythematosus based on iron studies and soluble transferrin receptor levels. *J Clin Diagn Res* 2016;10(6): EC08-11. doi: 10.7860/JCDR/2016/17930.7961.
5. Beyan E, Beyan C, Turan M. Haematological presentation in systemic lupus erythaematosus and its relationship with disease activity. *Haematology* 2007;12(3):257-61.
6. Fraenkel PG. Anemia of inflammation: A review. *Med Clin North Am* 2017; 101(2): 285-96.
7. Ganz T. Anemia of Inflammation. *N Engl J Med* 2019; 381(12):1148-57.
8. Girelli D, Nemeth E, Swinkels DW. Heparin in the diagnosis of iron disorders. *Blood* 2016; 127(23):2809-13.
9. Wrighting DM, Andrews NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood* 2006; 108:3204-9.
10. Dagli M, Yilmaz S, Sivrikaya A, Cehk G, Vatansev H. The role of prohepcidin and hepcidin in anemia associated with systemic lupus erythematosus. *World Appl Sci J* 2011;13(9):2032-6.
11. Chun HY, Chung JW, Kim HA, Yun JM, Jeon JY, Ye YM, et al. Cytokine IL-6 and IL-10 as biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol* 2007;27(5):461-6.
12. Hu S, Xiao W, Kong F, Ke D, Qin R, Su M. Regulatory T cells and their molecular markers in peripheral blood of the patients with systemic lupus erythematosus. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2008;28(5):549-52.
13. Wu Y, Cai B, Zhang J, Shen B, Huang Z, Tan C, et al. IL-1 $\beta$  and IL-6 are highly expressed in RF+ IgE+ systemic lupus erythematosus subtype. *J Immunol Res* 2017;2017:5096741. doi:10.1155/2017/5096741.
14. Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet* 2014;46(7):678-84.
15. Pasricha SR, McHugh K, Drakesmith H. Regulation of Heparin by Erythropoiesis: The Story So Far. *Annu Rev Nutr* 2016;36:417-34.

16. El-Gamal RAE, Abdel-Messih IY, Habashy DM, Zaiema SEG, Pessar SA. Erythroferrone, the new iron regulator: evaluation of its levels in Egyptian patients with  $\beta$  thalassemia. *Ann Hematol* 2020; 99:31-9.
17. Mangaonkar AA, Thawer F, Son J, Ajebo G, Xu H, Barrett NJ, et al. Regulation of iron homeostasis through the erythroferrone-hepcidin axis in sickle cell disease. *Br J Haematol* 2020;189(6): 1204-9.
18. Hanudel MR, Rappaport M, Chua K, Gabayan V, Qiao B, Jung G, et al. Levels of the erythropoietin-responsive hormone erythroferrone in mice and humans with chronic kidney disease. *Haematologica* 2018;103(4):e141-2. doi: 10.3324/haematol.2017.181743.
19. Srole DN, Ganz T. Erythroferrone structure, function, and physiology: Iron homeostasis and beyond. *J Cell Physiol* 2021;236(7): 4888-901.
20. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady DG, Newman TB. *Designing clinical research: an epidemiologic approach*. 4<sup>th</sup>ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. Appendix 6C, p. 79.
21. El-Shafey AM, Kamel LM, Fikry AA, Nasr MM, Abdel Galil SM. Serum hepcidin and interleukin-6 in systemic lupus erythematosus patients: crucial factors for correction of anemia. *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation* 2020;47:14. doi: 10.1186/s43166-020-00006-5
22. Ali ET, Jabbar AS, Mohammed AN. A Comparative Study of interleukin 6, inflammatory markers, ferritin, and hematological profile in rheumatoid arthritis patients with anemia of chronic disease and iron deficiency anemia. *Anemia* 2019;2019: 3457347. doi: 10.1155/2019/3457347
23. Chen Y, Xu W, Yang H, Shao M, Xu S, Deng J, et al. Serum levels of hepcidin in rheumatoid arthritis and its correlation with disease activity and anemia: A meta-analysis. *Immunol Invest* 2021;50(2-3):243-58.
24. Demirag MD, Haznedaroglu S, Sancak B, Konca C, Gulbahar O, Ozturk MA, et al. Circulating hepcidin in the crossroads of anemia and inflammation associated with rheumatoid arthritis. *Intern Med* 2009;48(6):421-6.
25. Youssef SR, Hassan EH, Morad CS, Elazab Elged AA, El-Gamal RA. Erythroferrone Expression in Anemic Rheumatoid Arthritis Patients: Is It Disordered Iron Trafficking or Disease Activity? *J Inflamm Res* 2021;14:4445-55.
26. Voulgarelis M, Kokori SI, Ioannidis JP, Tzioufas AG, Kyriaki D, Moutsopoulos HM. Anaemia in systemic lupus erythematosus: aetiological profile and the role of erythropoietin. *Ann Rheum Dis* 2000;59(3):217-22.
27. Luo XY, Yang MH, Peng P, Wu LJ, Liu QS, Chen L, et al. Anti-erythropoietin receptor antibodies in systemic lupus erythematosus patients with anemia. *Lupus* 2013;22:121-7.
28. Seldin MM, Peterson JM, Byerly MS, Wei Z, Wong GW. Myonectin (CTRP15), a novel myokine that links skeletal muscle to systemic lipid homeostasis. *J Biol Chem* 2012;287(15):11968-80.
29. de Oliveira Dos Santos AR, de Oliveira Zanuso B, Miola VFB, Barbalho SM, Santos Bueno PC, Flato UAP, et al. Adipokines, myokines, and hepatokines: crosstalk and metabolic repercussions. *Int J Mol Sci* 2021;22(5):2639. doi: 10.3390/ijms22052639.
30. Ray P, Le Manach Y, Riou B, Houle TT. Statistical Evaluation of a Biomarker. *Anesthesiology* 2010;112(4):1023-40.