



Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu
Dyscyplina nauk medycznych

Lek. Eryk Radosław Wacka

ROZPRAWA DOKTORSKA

Niedokrwistość jako konsekwencja przewlekłych stanów zapalnych u osób starszych

Anemia as a consequence of chronic inflammatory states in older adults

Opieka naukowa nad przygotowaniem rozprawy doktorskiej:

Prof. dr hab. Agnieszka Zembroń-Łacny

PROMOTOR

Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej

Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski

Rozprawę akceptuję:

Zielona Góra, marzec 2025 r.

PODZIĘKOWANIA

*Z całego serca pragnę podziękować Pani Prof. dr hab. Agnieszce Zembroń-Łacny,
Pani Promotor niniejszej rozprawy,
za nieocenione wsparcie, inspirację, godziny spędzone na korektach pracy oraz merytoryczne
wskazówki, które umożliwiły mi zgłębienie tak złożonego zagadnienia.
Dziękuję za cierpliwość, motywację i dzielenie się swoim czasem,
a także wiedzą i doświadczeniem.*

*Szczególne wyrazy wdzięczności kieruję do moich Rodziców,
którzy od najmłodszych lat uczyli mnie szacunku do nauki i pracy.
To dzięki ich nieustającemu wsparciu mogłem podążać ścieżką medycyny i nauki.
Bez ich troski i miłości ta rozprawa nigdy by nie powstała.*

*Dziękuję także wszystkim współpracownikom,
którzy dzieląc się swoją wiedzą
oraz stwarzając inspirujące środowisko naukowe,
wnieśli swój wkład w powstanie tej pracy.*

*Nie sposób pominąć moich Bliskich i Przyjaciół,
którzy towarzyszyli mi w tej wymagającej, lecz pięknej drodze.
Dziękuję za każdy uśmiech, który dodawał mi energii.
Ich cierpliwość, ciepłe słowa i wspólne chwile
pozwoliły mi zachować równowagę i siłę do dalszej pracy.*

Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe

Podstawą złożonego wniosku o nadanie stopnia doktora w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu w dyscyplinie nauk medycznych jest monotematyczny cykl publikacji naukowych, obejmujący **dwie prace o łącznej wartości 7,9 Impact Factor i liczbie 280 punktów** wg listy Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, pod wspólnym tytułem: „**Niedokrwistość jako konsekwencja przewlekłych stanów zapalnych u osób starszych**”, przygotowany w oparciu o badanie eksperymentalne oraz przegląd literatury.

Publikacja 1; Wacka E, Wawrzyniak-Gramacka E, Tylutka A, Morawin B, Gutowicz M, Zembroń-Łacny A. The role of inflammation in age-associated changes in red blood system. Int J Mol Sci 2023; 24: 1-13. doi: 10.3390/ijms24108944.

Publikacja 2; Wacka E, Nicikowski J, Jarmużek P, Zembroń-Łacny A. Anemia and its connections to inflammation in older adults: A review. J Clin Med 2024; 13: 1-22. doi: 10.3390/jcm13072049.

Spis treści

Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe	- 3 -
Wykaz stosowanych skrótów	- 5 -
Streszczenie	- 7 -
Abstract.....	- 8 -
I. Wstęp uzasadniający połączenie wskazanych publikacji w jeden cykl	- 9 -
II. Założenia i cel pracy	- 16 -
III. Badanie eksperymentalne z grupą kontrolną.....	- 17 -
1. Materiał i metody	- 18 -
1.1. Charakterystyka badanej grupy.....	- 18 -
1.2. Analizy laboratoryjne.....	- 19 -
1.3. Analiza statystyczna.....	- 20 -
2. Wyniki badań.....	- 21 -
2.1. Charakterystyka badanej grupy.....	- 21 -
2.2. Analiza morfologii krwi obwodowej	- 21 -
2.3. Wskaźniki biochemiczne	- 23 -
2.4. Wskaźniki zapalenia	- 23 -
2.5. Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej	- 25 -
IV. Praca przeglądowa	- 27 -
IV. Podsumowanie i wnioski	- 35 -
V. Piśmiennictwo	- 37 -
VI. Prace stanowiące rozprawę doktorską.....	- 46 -
VII. Opinie Komisji Bioetycznych.....	- 82 -
VIII. Oświadczenia współautorów prac	- 84 -

Wykaz stosowanych skrótów

AUC – pole pod krzywą (ang. *area under the curve*)

BMI – wskaźnik masy ciała (ang. *body mass index*)

CD – markery różnicowania powierzchniowego (ang. *cluster of differentiation*)

CHIP – hematopoeza klonalna o nieokreślonym potencjale (ang. *clonal hematopoiesis of indeterminate potential*)

CI – przedział ufności (ang. *confidence interval*)

CKD – przewlekła choroba nerek (ang. *chronic kidney disease*)

CRP – białko C reaktywne (ang. *C-reactive protein*)

CV – współczynnik zmienności (ang. *coefficient of variation*)

DM – cukrzyca (ang. *diabetes mellitus*)

EDTA – kwas wersenowy (ang. *ethylenediaminetetraacetic acid*)

ELISA – test immunoenzymatyczny (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*)

EPO – erytropoetyna (ang. *erythropoietin*)

EPOR – receptor erytropoetyny (ang. *erythropoietin receptor*)

GFR – wskaźnik filtracji kłębuszkowej (ang. *glomerular filtration rate*)

Hb – hemoglobina (ang. *hemoglobin*)

Hct – hematokryt (ang. *hematocrit*)

HDL – lipoproteiny o wysokiej gęstości (ang. *high density lipoprotein*)

HPC – hepcydyna (ang. *hepcidin*)

IL – interleukina (ang. *interleukin*) np. IL-1 β – interleukina 1 β

IL-1ra – antagonist receptoru dla interleukiny 1 (ang. *interleukin-1 receptor antagonist*)

LDL – lipoproteiny o niskiej gęstości (ang. *low density lipoprotein*)

LPS – lipopolisacharyd (ang. *lipopolysaccharide*)

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 corpuscular volume*)

Me – mediana (ang. *median*)

MPV – średnia objętość płytki krwi (ang. *mean platelet volume*)

NF- κ B – jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*)

NK – komórki „naturalni zabójcy” (ang. *natural killers*)

NPT – neopteryna (ang. *neopterin*)
OR – iloraz szans (ang. *odds ratio*)
oxLDL – utlenione lipoproteiny o niskiej gęstości (ang. *oxidized low density lipoprotein*)
RBC – erytrocyty (ang. *red blood cells*)
RDW – rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów (ang. *red blood cell distribution width*)
ROC – krzywa oceny jakości klasyfikatora (ang. *receiver operating characteristic curve*)
ROS – reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*)
 r_s – współczynnik korelacji rang Spearmana (ang. *Spearman's rank correlation coefficient*)
SD – odchylenie standardowe (ang. *standard deviation*)
TC – cholesterol całkowity (ang. *total cholesterol*)
Tf – transferyna (ang. *transferrin*)
TfS – procent wysycenia transferyny żelazem (ang. *transferrin saturation*)
TG – trójglicerydy (ang. *triglycerides*)
TNF α – czynnik martwicy nowotworów α (ang. *tumor necrosis factor α*)
UAE – niedokrwistość nieokreślona u osób starszych (ang. *unexplained anemia in the elderly*)
WBC – krwinki białe (leukocyty) (ang. *white blood cells*)
WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*)

Streszczenie

Starzenie się układu immunologicznego skutkuje nasileniem zapalenia (ang. *inflammaging*), co zwiększa podatność na choroby zakaźne i infekcyjne powikłania urazów oraz zachorowalność na choroby niezakaźne, w tym niedokrwistość. Częstość występowania niedokrwistości w wieku > 65 lat wynosi średnio 12% u osób mieszkających samodzielnie, 40% u hospitalizowanych pacjentów i 47% u mieszkańców domów opieki, przy średniej częstości wynoszącej 17% w ogólnej populacji. Zapalenie powoduje tzw. funkcjonalny niedobór żelaza, charakteryzujący się obniżonym stężeniem we krwi i zmniejszoną zdolnością jego wiązania oraz normalnym lub podwyższonym stężeniem ferrytyny. W funkcjonalnym niedoborze zapasy żelaza w organizmie są znaczne, ale jego dostępność dla produkcji erytrocytów jest ograniczona z powodu „uwięzienia” w makrofagach i komórkach wątroby. Niedokrwistość zapalna (ang. *anemia of inflammation*, AI), znana również jako niedokrwistość chorób przewlekłych (ang. *anemia of chronic disease*, ACD) stanowi istotny problem zdrowotny w populacji geriatrycznej, jest skorelowana z pogorszeniem jakości życia, zwiększoną częstością hospitalizacji i śmiertelnością. Zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw niedokrwistości zapalnej (ang. *anemia of inflammation*, AI) jest istotne dla opracowania nowych wytycznych diagnostycznych i terapeutycznych.

Celem pracy była analiza zależności między parametrami hematologicznymi a wskaźnikami metabolizmu żelaza u osób w wieku powyżej 65 lat z przewlekłym zapaleniem oraz ocena przydatności diagnostycznej markerów zapalnych w rozpoznawaniu niedokrwistości. Następnie dokonanie przeglądu piśmiennictwa na temat epidemiologii występowania niedokrwistości u osób starszych, jej przyczyn i konsekwencji klinicznych oraz molekularnych mechanizmów, poprzez które przewlekłe zapalenie inicjuje lub podtrzymuje rozwój niedokrwistości.

Rekrutacja objęła 113 osób w wieku $73,0 \pm 7,2$ lat (kobiety $n=62$, mężczyźni $n=51$). Uczestników podzielono dwie grupy: z niedokrwistością AA ($n=47$, Hb <13 g/dL dla kobiet, Hb <14 g/dL dla mężczyzn) i bez niedokrwistości NA ($n=66$, Hb ≥ 13 g/dL dla kobiet, Hb ≥ 14 g/dL dla mężczyzn). W grupie AA parametry hematologiczne, jak RBC, MCV, MCH, RDV oraz stężenia żelaza i ferrytyny były istotnie niższe w porównaniu do grupy NA. Stężenia erytropoetyny (EPO) i transferyny (Tf) mieściły się w zakresach wartości referencyjnych, ale wykazywały tendencję do wyższych wartości w grupie AA. W całej badanej grupie mężczyźni mieli istotnie niższe stężenia żelaza i transferyny ($84,38 \pm 26,72$ $\mu\text{g/dL}$ i $2,75 \pm 1,16$ mg/dL) niż kobiety ($100,82 \pm 31,71$ $\mu\text{g/dL}$ i $3,17 \pm 1,99$ mg/dL), podczas gdy stężenia ferrytyny

nie różniły się między płciami. Stężenie hepcydyny (HPC) było 2,5-krotnie wyższe w grupie AA niż w NA. Stężenie HPC było ponad 2-krotnie wyższe u mężczyzn ($16,79 \pm 16,08$ ng/mL) w porównaniu do kobiet ($7,00 \pm 6,99$ ng/mL), co doprowadziło do obniżenia stężenia żelaza w męskiej grupie. Podobnie do HPC, wysokie stężenia cytokin IL-1 β , IL-6 i TNF α stwierdzono w grupie AA. Stężenie Hb było ujemnie skorelowane z IL-1 β ($r_s = -0,581$, $p < 0,0001$), co sugeruje osłabienie syntezy hemoglobiny w warunkach zapalenia. Analiza krzywych ROC oraz ilorazu szans OR dla interleukiny 1 β (IL-1 β) ujawniła bardzo wysoką wartość diagnostyczną IL-1 β w niedokrwistości związanej z wiekiem (AUC=0,922, OR=72,374, 95%CI 19,688-354,366). Stężenia jednojądrzastych komórek krwi obwodowej wykazujące ekspresję białek powierzchniowych CD34 i CD38 były istotnie wyższe w grupie AA, sugerując ich rolę w mechanizmach kompensacyjnych w niedokrwistości.

Na podstawie przeprowadzonych badań i przeglądu literatury można stwierdzić, że przewlekły stan zapalny jest silnie związany z obniżeniem zasobów żelaza ustrojowego i rozwojem niedokrwistości u pacjentów powyżej 65 roku życia, przy czym ryzyko niedokrwistości jest wyższe w grupie mężczyzn niż kobiet. Jednoczesny pomiar stężenia hepcydyny oraz mediatorów zapalenia ujawnia ich wysoką przydatność w rozróżnianiu pacjentów z niedokrwistością od pacjentów bez niedokrwistości. Potwierdzony w wielu badaniach związek między stanem zapalnym, zaburzeniem wchłaniania żelaza w układzie pokarmowym a zmianami w układzie czerwono krwinkowym jest wskazaniem do opracowania panelu diagnostycznego obejmującego spektrum markerów niezbędnych do kompleksowej oceny niedokrwistości w starszym wieku, ze szczególnym uwzględnieniem hepcydyny (HPC) oraz cytokin prozapalnych IL-1 β i TNF α .

Abstract

Aging of the immune system results in increased inflammation, which enhances susceptibility to infectious diseases, infection-related complications of injuries, and the incidence of non-communicable diseases, including anemia. The prevalence of anemia in individuals over 65 years of age averages 12% of the community-dwelling population, 40% of hospitalized patients, and 47% of nursing home residents, with an overall prevalence of approximately 17% in the general elderly population. Inflammation induces a functional iron deficiency, characterized by decreased serum iron levels and reduced iron-binding capacity, despite normal or elevated ferritin concentrations. In functional iron deficiency, total body iron stores remain substantial, yet iron availability for erythropoiesis is restricted due to iron sequestration within macrophages and hepatocytes. Anemia of inflammation (AI), also referred to as anemia of chronic disease (ACD), represents a significant health concern in the geriatric population, correlating with diminished quality of life, increased hospitalization rates, and higher mortality. Understanding the underlying mechanisms of AI is critical for the development of novel diagnostic and therapeutic guidelines.

The objective of this study was to analyze the relationship between hematologic parameters and iron metabolism indices in individuals over 65 years of age with chronic inflammation and to evaluate the diagnostic utility of inflammatory markers in anemia detection. Additionally, a literature review was conducted to examine the epidemiology of anemia in the elderly, its etiological factors, clinical consequences, and the molecular mechanisms by which chronic inflammation initiates or sustains anemia progression.

The study included 113 individuals (mean age: 73.0 ± 7.2 years; women: $n=62$, men: $n=51$). Participants were allocated into two groups: anemic (AA, $n=47$, Hb <13 g/dL for women, Hb <14 g/dL for men) and non-anemic (NA, $n=66$, Hb ≥ 13 g/dL for women, Hb ≥ 14 g/dL for men). In the AA group, hematologic parameters such as RBC count, MCV, MCH, RDW, as well as serum iron and ferritin levels, were significantly lower compared to the NA group. Meanwhile, erythropoietin (EPO) and transferrin (Tf) concentrations remained within reference ranges but exhibited a trend toward higher values in the AA group. Across the entire study population, men demonstrated significantly lower serum iron and transferrin levels (84.38 ± 26.72 $\mu\text{g/dL}$ and 2.75 ± 1.16 mg/dL, respectively) compared to women (100.82 ± 31.71 $\mu\text{g/dL}$ and 3.17 ± 1.99 mg/dL, respectively), whereas ferritin concentrations did not differ between sexes.

Hepcidin (HPC) concentrations were 2.5-fold higher in the AA group than in the NA group. Additionally, HPC levels in men (16.79 ± 16.08 ng/mL) were more than twice as high as in women (7.00 ± 6.99 ng/mL), contributing to a further decline in serum iron levels among men. Similarly, elevated levels of pro-inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF α were observed in the AA group. Hemoglobin concentration was negatively correlated with IL-1 β ($r_s = -0.581$, $p < 0.0001$), suggesting impaired hemoglobin synthesis in the presence of inflammation. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis and odds ratio (OR) assessment for IL-1 β demonstrated its high diagnostic value in age-related anemia (AUC=0.922, OR=72.374, 95% CI: 19.688–354.366). The concentration of peripheral blood mononuclear cells expressing CD34 and CD38 surface antigens was significantly higher in the AA group, indicating their role in compensatory mechanisms in anemia.

Based on conducted research and literature review, it has been showed that chronic inflammation is strongly associated with diminished systemic iron availability and anemia development in individuals over 65 years of age, with a higher risk observed in men compared to women. Simultaneous measurement of hepcidin and inflammatory mediators reveals their high diagnostic usefulness in differentiating anemic from non-anemic patients. The well-established link between chronic inflammation, impaired iron absorption in the gastrointestinal tract, and alterations in erythropoiesis supports the need for a diagnostic panel incorporating a spectrum of markers essential for the comprehensive evaluation of anemia in the elderly, with particular emphasis on hepcidin (HPC) and pro-inflammatory cytokines IL-1 β and TNF α .

I. Wstęp uzasadniający połączenie wskazanych publikacji w jeden cykl

Starzenie się populacji to współczesny problem demograficzny dotyczący społeczeństw Europy, a także innych wysokorozwiniętych krajów świata. W ciągu ostatnich stu lat długość ludzkiego życia zwiększyła się o 50%. W niezwykle szybkim tempie zwiększa się liczebność populacji ludzi po 65 roku życia, która obecnie stanowi 10% światowej populacji i wzrośnie do 16% w 2050 roku zgodnie z prognozami organizacji zdrowotnych i towarzystw geriatrycznych [Guralnik i wsp. 2004].

Starzenie jest definiowane jako zmniejszenie możliwości adaptacji organizmu do rozmaitych obciążeń fizycznych, biologicznych, psychospołecznych i zachowania homeostazy [Gilbert 2000]. W 1956 roku Strehler zaproponował pięć cech charakteryzujących zmiany struktury i funkcji tkanek podczas starzenia: *cumulative* (zmiany nawarstwiają się), *universal* (zmiany dotyczą wszystkich istot żywych, a osobniki tego samego gatunku starzeją się w podobny sposób), *progressive* (zmiany postępują, nie zawsze dając objawy kliniczne), *intrinsic* (zmiany są specyficzne - wewnętrzne), *deleterious* (zmiany mają destrukcyjny wpływ na organizm). Proces starzenia jest zatem związany ze stopniową utratą sprawności funkcjonalnej oraz zwiększonym ryzykiem wystąpienia chorób przewlekłych, takich jak choroby sercowo-naczyniowe, neurodegeneracyjne, cukrzyca, nowotwory i niedokrwistość [Bach i wsp. 2014; Gaskell i wsp. 2008; Sen i wsp. 2016].

Niedokrwistość, charakteryzująca się obniżonym stężeniem Hb we krwi, często występuje wśród osób starszych. Światowa Organizacja Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) ustaliła kryteria diagnostyczne niedokrwistości na podstawie stężenia Hb poniżej 13,0 g/dL dla mężczyzn i poniżej 12,0 g/dL dla kobiet [Nutritional anaemias. Report of a WHO scientific group. 1968]. Kryteria WHO zostały sformułowane ponad pół wieku temu na podstawie ograniczonej liczebności próby populacyjnej, bez różnicowania ze względu na wiek i bez odpowiedniej dokumentacji metodologicznej. Pomimo tych zastrzeżeń, definicja WHO nadal pozostaje standardem diagnostycznym do rozpoznawania niedokrwistości, także w populacji osób starszych. Badanie populacyjne przeprowadzone przez Culleton i wsp. [2006] wykazało, że utrzymanie stężenia Hb w zakresie od 13,0 do 15,0 g/dL u kobiet i od 14,0 do 17,0 g/dL u mężczyzn zmniejsza ryzyko hospitalizacji oraz zgonu u pacjentów w podeszłym wieku. Wouters i wsp. [2019] zalecają zmianę kryteriów rozpoznawania niedokrwistości u kobiet powyżej 65 roku życia do wartości Hb poniżej 13,0 g/dL, tak aby odpowiadały kryteriom stosowanym dla mężczyzn.

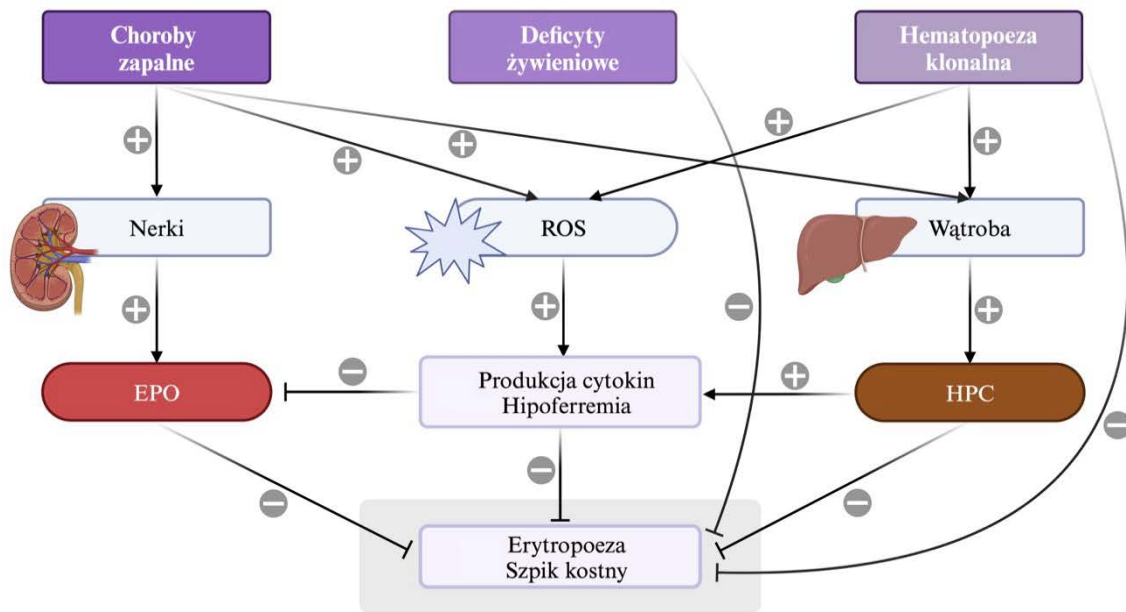
Występowanie niedokrwistości różni się w zależności od wieku, płci i rasy, obejmuje 10-25% pacjentów powyżej 65 roku życia ambulatoryjnych i hospitalizowanych, przy czym wyższe ryzyko stwierdza się u mężczyzn (nawet 50% powyżej 80 roku życia) w porównaniu z kobietami oraz u osób rasy negroidalnej w porównaniu z rasą europeidą [Alvarez-Payares i wsp. 2021]. Niskie stężenie Hb zwiększa ryzyko zgonu, gdy niedokrwistość jest wtórna do zaburzeń odżywiania lub przewlekłego stanu zapalnego. Obie sytuacje są obserwowane w anemii nieokreślonej u osób starszych (ang. *Unexplained Anemia in the Elderly*, UAE) [Ramel i wsp. 2008; Shavelle i wsp. 2012]. Niedokrwistość wiąże się z szerokim spektrum istotnych klinicznie schorzeń i niedoborów żywieniowych (Tabela 1), dlatego kluczowe znaczenie ma rozpoznanie nawet łagodnej niedokrwistości.

Tabela 1. Rozkład etiologii niedokrwistości u pacjentów w podeszłym wieku [Stauder i Thein 2014].

Przyczyna	Częstość występowania (%)			
	USA-1 [Goodnough i Schrier 2014]	USA-2 [Agnihotri i wsp. 2007]	Włochy [Roy i wsp. 2017]	Polska [Chen-Edinboro i wsp. 2018]
Niedobór żelaza	16.6	25.3	16.0	13.0
Niedobór witaminy B12 i/lub folianów	14.3	<1	9.5	7.1
Niedobór żelaza i witaminy B12 i/lub folianów	3.4	-	-	2.4
Niedokrwistość chorób przewlekłych - stanu zapalnego	19.7	9.8	17.4	33.1
Niedokrwistość w przewlekłej chorobie nerek CKD	8.2	3.4	15.0	1.2
Niedokrwistość w CKD i niedokrwistość chorób przewlekłych - stanu zapalnego	4.3	-	-	-
Niedokrwistość nieokreślona u osób starszych UAE	33.6	43.7	26.4	28.4
Hematopoeza klonalna	-	7.5	1.8	-
Inne	-	10.3	14.4	14.8

CKD Chronic Kidney Disease, UAE Unexplained Anemia in the Elderly

Niedokrwistość u osób starszych jest związana z więcej niż jednym czynnikiem predysponującym, a przyczyną może być przewlekły stan zapalny, krwawienia, deficyty żywieniowe (głównie żelaza, witaminy B12 i kwasu foliowego) i/lub hematopoeza klonalna (Rycina 1) [Xia i wsp. 2016]. Jednak jako główną przyczynę rozwoju niedokrwistości u osób starszych w ostatnich latach wskazano przewlekły stan zapalny będący skutkiem starzeniem się układu immunologicznego - immunosenescencji (ang. *immunosenescence*) [Franceschi i wsp. 2006; Minciullo i wsp. 2016].



Rycina 1. Mechanizmy niedokrwistości u osób starszych wg Alvarez-Payares i wsp. [2021]; EPO erytropoetyna (ang. *erythropoietin*), HPC hepcydyna (ang. *hepcidin*), ROS reaktywne formy tlenu (ang. *reactive oxygen species*).

Najważniejszymi cechami immunosenescencji jest obniżenie liczby dziewiczych limfocytów T i limfocytów B oraz zmniejszenie różnorodności występujących na ich powierzchni receptorów, czego efektem jest słabsza odpowiedź immunologiczna, obniżenie miana produkowanych przeciwciał i wytwarzania interferonów przez plazmacytoidalne komórki dendrytyczne. Doprowadza to do osłabienia odporności na zakażenia wirusowe i bakteryjne oraz odpowiedzi na szczepienia oraz do zwiększonego wytwarzania mediatorów reakcji zapalnej, co z kolei skutkuje stałą obecnością stanu zapalnego u starszych osób (ang. *inflammaging*). Z wiekiem nie zaobserwowano zmian całkowitej liczby komórek należących do odporności nieswoistej, jak neutrofile, makrofagi, ale wykazano zmniejszoną różnorodność w ich subpopulacjach i wrażliwość na apoptozę oraz spadek aktywności chemotaktycznej i fagocytarnej. W przypadku komórek NK (ang. *natural killer T cells*) wykazano wzrost liczby z jednoczesnym osłabieniem ich cytotoksycznej aktywności. Skutkuje to obniżeniem zdolności naciekania przez neutrofile i makrofagi uszkodzonej tkanki oraz wydłużeniem czasu gojenia, zwiększonym ryzykiem infekcyjnych powikłań urazów, zaostrzeniem objawów chorób przewlekłych, jak choroby autoimmunologiczne, cukrzyca typu 2, choroby sercowo-naczyniowe, choroby neurodegeneracyjne i niedokrwistość, oraz niedostateczną reakcją na obecność komórek nowotworowych [Tylutka i Zembroń-Łacny 2020].

W rozwijającym się zapaleniu, aktywacja układu immunologicznego prowadzi do istotnych zaburzeń w obiegu żelaza, a głównym efektem jest hepcydyna (HPC) wytwarzana przez komórki wątroby w odpowiedzi na wysokie stężenie interleukiny 6 (IL-6) [Nemeth i Ganz 2009; Park i wsp. 2001]. Podwyższony poziom krążącej HPC hamuje translokację żelaza do osocza poprzez internalizację białka transportującego żelazo - ferroportynę z błon enterocytów dwunastnicy, makrofagów wątrobowych i śledzionowych oraz hepatocytów. W efekcie następuje spadek podaży żelaza do krążenia i rozwój niedokrwistości [den Elzen i wsp. 2013; Donovan i wsp. 2005]. Synteza HPC jest hamowana przez wzmożoną aktywność erytropoetyczną szpiku. Jednak u pacjentów z niedokrwistością zapalną stężenie erytropoetyny (EPO) w surowicy jest niższe w porównaniu do osób z podobnym stopniem niedokrwistości z niedoboru żelaza [Cazzola i wsp. 1996; Miller i wsp. 1990]. Utrzymywanie się wysokiego stężenia prozapalnych cytokin IL-1 β i TNF α wywołuje zahamowanie ekspresji genu *EPO* i sekrecji hormonu [La Ferla i wsp. 2002]. Zapalenie także obniża wrażliwość komórek progenitorowych erytrocytów na EPO, o czym świadczy zwiększone zapotrzebowanie na egzogenną erytropoetynę u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek [Kimachi i wsp. 2015; Macdougall i Cooper 2002]. W oporności na EPO częściowo rolę odgrywa zmniejszenie liczby receptorów dla EPO (EPOR) na komórkach progenitorowych erytrocytów, co jest skutkiem hipoferremii [Khalil i wsp. 2018; Macciò i Madeddu 2012].

W niedokrwistości zapalnej wykazano skrócenie czasu życia czerwonych krwinek do około 90 dni, podobnie jak w innych stanach klinicznych przebiegających z zapaleniem bez występowania niedokrwistości [Mitlyng i wsp. 2006]. Skrócenie obecności erytrocytów na obwodzie o 25% jest spowodowane aktywacją makrofagów (śledzionowych i wątrobowych) indukowaną przez cytokiny prozapalne i przedwczesną erytrofagocytozą oraz zaburzeniem kompensacyjnej odpowiedzi szpiku w wytwarzaniu czerwonych krwinek [Ganz 2016; Pagani i wsp. 2019].

Kolejną przyczyną przyspieszonej eliminacji erytrocytów z krążenia jest eryptoza, która w normalnych warunkach, podobnie jak apoptoza, stanowi fizjologiczny proces eliminacji dysfunkcyjnych erytrocytów [Alghareeb i wsp. 2023]. Jednakże, w warunkach przewlekłego zapalenia, który wiąże się z nasilonym wytwarzaniem reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS) dochodzi do nadmiernej eryptozy [Abed i wsp. 2017]. Generacja ROS doprowadza do stresu oksydacyjnego obejmującego peroksydację lipidów błonowych i lipoprotein osocza, oksydacyjne uszkodzenie białek, otwarcie kanałów wapniowych, fragmentację błony, co przyspiesza senescencję i przedwczesne usuwanie erytrocytów z krążenia [Guo i wsp. 2022; Kozakiewicz i wsp. 2019]. Zmniejszenie zdolności

antyoksydacyjnej osocza charakterystyczne dla osób starszych dodatkowo nasila oksydacyjne uszkodzenia błon erytrocytarnych i rozwój niedokrwistości [Costagliola i wsp. 1989].

Zrozumienie przebiegu i rozległości procesów towarzyszących starzeniu się organizmu, w tym nasilenia zapalenia i zaburzeń metabolizmu żelaza może stanowić podstawę do modyfikacji obecnych wytycznych dotyczących zapobiegania, diagnostyki i leczenia (farmakologicznego i żywieniowego) niedokrwistości zapalnej, co jest istotne dla dynamicznie zmieniających się demograficznie społeczeństw.

II. Założenia i cel pracy

Niedokrwistość w przewlekłych stanach zapalnych występuje u 10-25% osób starszych (ang. *anemia of aging*) i jest czynnikiem przyczyniającym się do pogorszenia jakości życia, zwiększonej częstości hospitalizacji i śmiertelności [Ferrucci i Balducci 2008]. Zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw niedokrwistości z zapalenia jest istotne dla opracowania nowych wytycznych diagnostycznych i terapeutycznych.

Głównym założeniem prac składających się na rozprawę doktorską było:

1. Przeprowadzenie badania w celu określenia zależności między parametrami hematologicznymi a wskaźnikami metabolizmu żelaza u osób w wieku powyżej 65 lat z przewlekłym zapaleniem oraz oceny przydatności diagnostycznej markerów zapalnych w rozpoznawaniu niedokrwistości [Wacka E, Wawrzyniak-Gramacka E, Tylutka A, Morawin B, Gutowicz M, Zembroń-Łacny A. The role of inflammation in age-associated changes in red blood system. *Int J Mol Sci* 2023; 24: 1-13. doi: 10.3390/ijms24108944].

2. Dokonanie przeglądu piśmiennictwa na temat epidemiologii występowania niedokrwistości u osób starszych, jej przyczyn i konsekwencji klinicznych oraz molekularnych mechanizmów, poprzez które przewlekłe zapalenie inicjuje i/lub podtrzymuje rozwój niedokrwistości [Wacka E, Nicikowski J, Jarmużek P, Zembroń-Łacny A. Anemia and its connections to inflammation in older adults: A review. *J Clin Med* 2024; 13: 1-22. doi: 10.3390/jcm13072049].

III. Badanie eksperymentalne z grupą kontrolną

Publikacja 1; Wacka E, Wawrzyniak-Gramacka E, Tylutka A, Morawin B, Gutowicz M, Zembroń-Łacny A. The role of inflammation in age-associated changes in red blood system. *Int J Mol Sci* 2023; 24: 1-13. doi: 10.3390/ijms24108944.

Podstawową funkcją układu krwiotwórczego jest wytwarzanie odpowiedniej liczby erytrocytów, co jest kluczowe w zapewnieniu właściwej ilości tlenu dla wszystkich komórek organizmu i niezbędne do prawidłowego metabolizmu oraz utrzymania homeostazy. Starzenie się układu krwiotwórczego jest złożonym i wieloczynnikowym procesem, w trakcie którego dochodzi do zmian w erytrocytach oraz komórkach macierzystych w szpiku kostnym, co wpływa na zdolność do samoodnawiania, różnicowania, plastyczności oraz reagowania na sygnały zewnętrzne [Liang i Van Zant 2003]. U pacjentów powyżej 65 roku życia obserwuje się nie tylko zmniejszoną produkcję krwinek czerwonych, skróconą żywotność, ale także zwiększoną podatność na uszkodzenia oksydacyjne [Chen i wsp. 2007]. Warto również zauważyć, że u starszych pacjentów z niedokrwistością obserwuje się zmniejszenie liczby uwalnianych retikulocytów ze szpiku kostnego do krążenia po krwawieniu, co wskazuje na ograniczoną rezerwę szpikową [Boggs i Patrene 1985].

Monitorowanie oddziaływania mediatorów zapalenia na układ czerwonokrwinkowy obejmuje m.in. analizę trzech podstawowych cytokin prozapalnych, takich jak interleukina 1 β (IL-1 β), czynnik martwicy nowotworów α (TNF α) i interleukina 6 (IL-6) [Franceschi i Campisi 2014]. Zwiększone stężenie interleukiny IL-6 koreluje ze wzrostem stężenia hepcydyny (HPC), co prowadzi do zmniejszenia dostępności żelaza potrzebnego do syntezy hemoglobiny i erytropoezy [Nemeth i wsp. 2004]. Wysokie stężenia IL-1 β i TNF α obniżają wytwarzanie erytropoetyny (EPO) oraz wrażliwość receptorów dla EPO (EPOR) na progenitorach erytrocytów [Faquin i wsp. 1992; Jelkmann 1998], co prowadzi do osłabienia, a nawet zahamowania erytropoezy. Ponadto, utrzymujące się wysokie stężenie IL-1 β i TNF α nasila apoptozę progenitorów erytrocytów, co intensyfikuje rozwój niedokrwistości [Weiss i Goodnough 2005]. Badanie populacyjne osób starszych EPESE (ang. *Established Populations for Epidemiologic Studies of the Elderly*) wykazały, że stężenie IL-6 znacznie wzrasta po przekroczeniu 70 roku życia [Cohen i wsp. 1997]. Z kolei w badaniu populacyjnym InCHIANTI obejmującym ponad 1300 osób regionu Toskanii w wieku powyżej 65 lat, stwierdzono podwyższone stężenia TNF α , IL-1ra, IL-6 i białka C-reaktywnego (CRP) [Ferrucci i wsp. 2010].

Według Minciullo i wsp. [2016], zrozumienie procesu starzenia się wymaga analizy etapów i skutków zapalenia, ponieważ interwencje przeciwzapalne mogą znacząco przyczynić się do zwiększenia długowieczności z jednoczesną poprawą jakości życia w zaawansowanym wieku. Przykładem skutecznej interwencji w zakresie kontroli zapalenia może być stosowanie tocilizumabu – inhibitora receptora IL-6. Użycie tocilizumabu u pacjentów z umiarkowanym, ciężkim i opornym na leczenie reumatoidalnym zapaleniem stawów istotnie obniżyło objawy choroby, zwiększyło stężenie hemoglobiny, jednocześnie normalizując stężenia markerów zapalenia, jak CRP i ferrytyna [Maini i wsp. 2006]. W ostatnich latach opracowano nowe podejścia terapeutyczne, które mają na celu antagonizowanie aktywności hepcydyny (HPC), a w rezultacie wzrost stężenia żelaza w osoczu i wzmocnienie erytropoezy. Skuteczność interwencji była oceniona na modelach zwierzęcych, a obecnie jest testowana w badaniach klinicznych [Sebastiani i wsp. 2016]. Mechanizmy wykorzystywane w leczeniu obejmują hamowanie wytwarzania i aktywności HPC, zapobieganie internalizacji białka powierzchniowego - ferroportyny oraz hamowanie aktywności IL-6 stymulującej produkcję HPC w wątrobie [Stauder i wsp. 2018]. Kierunkiem przyszłych badań terapeutycznych może być identyfikacja kolejnych celów w sieci cytokin regulujących zapalenie i odpowiedzialnych za rozwój niedokrwistości u osób starszych.

1. Materiał i metody

1.1. Charakterystyka badanej grupy

Do badania zakwalifikowano 113 osób z Uniwersytetu Trzeciego Wieku w Zielonej Górze (Polska), który jest stowarzyszeniem zrzeszającym osoby w wieku powyżej 60 lat uczestniczących w wielu programach edukacyjnych, także dotyczących zdrowego stylu życia. Kryteria włączenia obejmowały wiek 65 lat lub więcej i dostęp do opieki medycznej świadczonej przez Poradnię Podstawowej Opieki Zdrowotnej. Na podstawie wywiadu lekarskiego z udziału w badaniach wykluczono osoby z ostrymi i przewlekłymi chorobami zakaźnymi, chorobami sercowo-naczyniowymi, onkologicznymi i neurologicznymi, a także z niedoborem kwasu foliowego ($<1,8$ ng/mL) lub witaminy B12 (<140 pg/mL). Uczestnicy (kobiety $n=62$, mężczyźni $n=51$) w wieku $73,0 \pm 7,2$ lat zostali przydzieleni do dwóch grup na podstawie stężenia hemoglobiny (Hb) zgodnie z kryterium Culletona i wsp. [2006]:

- Anemic AA ($n=47$) Hb <13 g/dL dla kobiet i <14 g/dL dla mężczyzn,

- Non-Anemic NA (n=66) Hb ≥ 13 g/dL dla kobiet i ≥ 14 g/dL dla mężczyzn.

Wszyscy badani zostali poinformowani o celu badania i podpisali pisemną zgodę na udział w projekcie. Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną przy Okręgowej Radzie Lekarskiej w Zielonej Górze (Nr 04/133/2020) i przez Komisję Bioetyczną przy Collegium Medicum Uniwersytetu Zielonogórskiego (Nr UZ/19/2021), zgodnie z Deklaracją Helsińską.

Tabela 1. Wiek i charakterystyka antropometryczna pacjentów z niedokrwistością (Anemic AA) i bez niedokrwistości (Non-Anemic NA).

	AA n=47	NA n=66	AA vs. NA Wartość <i>p</i>
	Średnia $\pm$ SD (Me)	Średnia $\pm$ SD (Me)	
Wiek (lata)	77,3 $\pm$ 5,0 (78,0)	71,8 $\pm$ 7,6 (71,0)	<0,001
Masa ciała (kg)	74,7 $\pm$ 12,7 (73,0)	69,7 $\pm$ 10,5 (67,5)	<0,001
Wysokość ciała (cm)	167,3 $\pm$ 6,5 (168,0)	160,2 $\pm$ 6,0 (159,0)	<0,001
BMI (kg/m ²)	26,6 $\pm$ 3,6 (26,1)	27,3 $\pm$ 3,7 (27,1)	0,765

Wyjaśnienia skrótów: BMI wskaźnik masy ciała, SD odchylenie standardowe, Me mediana.

1.2. Analizy laboratoryjne

Badania wykonano we krwi pobranej z żyły łokciowej przy użyciu probówek S-Monovette EDTA-K₂ (Sartedt, Austria) - do analizy morfologii oraz probówek S-Monovette serum (Sartedt, Austria) - do oznaczeń biochemicznych. Pełną krew pobraną na antykoagulant EDTA-K₂ przeznaczono do oznaczeń natychmiast po pobraniu. Surowicę otrzymywano przez 10-minutowe wirowanie z prędkością 3000 x g i przechowywano w temp. -80°C do czasu wykonania oznaczeń.

Do oceny parametrów krwi obwodowej, w tym: liczby krwinek białych (neutrofili, limfocytów i monocytów) i krwinek czerwonych (ang. *red blood cell*, RBC), stężenia hemoglobiny (ang. *hemoglobin*, Hb), wartości hematokrytu (ang. *hematocrit*, Hct), średniej objętości krwinki czerwonej (ang. *mean corpuscular volume*, MCV), średniej masy hemoglobiny w krwince czerwonej (ang. *mean corpuscular hemoglobin*, MCH), średniego stężenia hemoglobiny w krwince (ang. *mean hemoglobin concentration*, MCHC) oraz liczby płytek krwi wykorzystano automatyczny 5 diffowy analizator Sysmex XN-1000 (Niemcy). Stężenia żelaza i ferrytyny oznaczono za pomocą analizatora biochemicznego Biomaxima BM200 (Polska). Stężenia transferyny (Tf) i erytropoetyny (EPO) oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA firmy SunRed Biotechnology Company (Chiny) z granicą

czułości odpowiednio 0,05 mg/mL i 0,526 mU/mL. Procent wysycenia transferyny żelazem (TfS) obliczono według wzoru: $TfS = (\text{stężenie żelaza w surowicy} / \text{stężenie transferyny}) \times 100$.

Trójglicerydy w surowicy (ang. *triglycerides*, TG), cholesterol całkowity (ang. *total cholesterol*, TC), lipoproteiny o niskiej (ang. *low density lipoprotein*, LDL) i wysokiej gęstości (ang. *high density lipoprotein*, HDL) oznaczono za pomocą analizatora biochemicznego Biomaxima BM200 (Polska). Cholesterol nie-HDL obliczono według wzoru: nie-HDL = TC - HDL. Stężenie utlenionej formy LDL (oxLDL) oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA firmy SunRed Biotechnology Company (Chiny) z granicą wykrywalności 30,3 ng/mL. Stężenia glukozy i bilirubiny zostały oznaczone za pomocą analizatora biochemicznego Biomaxima BM200 (Polska).

Stężenia białka C-reaktywnego (ang. *C-reactive protein*, CRP), neopteryny (NPT) i hepcydyny (HPC) oznaczono przy użyciu testów immunoenzymatycznych ELISA firmy DRG International Inc. (USA) z granicą czułości odpowiednio 0,001 mg/L, 0,7 nmol/L i 0,153 ng/mL. Stężenia mediatorów zapalenia: interleukina IL-1 β , interleukina IL-6 i czynnik martwicy nowotworów TNF α (ang. *tumour necrosis factor α*), oznaczono przy użyciu zestawów immunoenzymatycznych ELISA firmy SunRed Biotechnology Company (Chiny) z granicą czułości odpowiednio 0,028 ng/mL, 1,867 pg/mL i 2,782 ng/mL. Stężenia jednojądrzastych komórek krwi obwodowej wykazujące ekspresję białek powierzchniowych CD34 i CD38 określono za pomocą zestawów ELISA firmy SunRed Biotechnology Company (Chiny) z granicą czułości 0,167 ng/mL i 0,009 ng/mL.

1.3. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wykonano z wykorzystaniem pakietu statystycznego RSystem 4.2.1 [R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing. Vienna Austria; 2020; <https://www.R-project.org>]. Założenia do zastosowania testów parametrycznych lub nieparametrycznych sprawdzono za pomocą testu Shapiro-Wilka do oceny normalności rozkładów i Levene'a do oceny jednorodności wariancji. Do testowania istotności pomiędzy grupami (AA vs. NA) zastosowano test t-Studenta. W przypadku naruszenia założeń normalności i jednorodności zastosowano nieparametryczny test Manna-Whitneya. Optymalne wartości odcięcia zostały wyznaczone na podstawie krzywych ROC (ang. *receiver operating characteristic curve*) poprzez obliczenie wskaźnika Youdena w celu maksymalizacji różnicy między czułością a specyficznością testu diagnostycznego. Iloraz szans OR (ang. *odds ratio*) obliczono za pomocą funkcji ilorazu szans z pakietu *epitools* w

oprogramowaniu RSystem. Do badania zależności między wskaźnikami hematologicznymi i zapalnymi wykorzystano współczynnik korelacji rang Spearmana (r_s). Wartości zmiennych przedstawiono jako wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe (SD) i mediana (Me). Istotność statystyczną ustalono na poziomie $p < 0,05$.

2. Wyniki badań

2.1. Charakterystyka badanej grupy

Badani z grupy AA byli istotnie starsi w porównaniu do grupy NA (Tabela 1). Ponadto, w grupie AA liczba mężczyzn była wyższa ($n=33$) niż w grupie NA ($n=18$). Wartość BMI w całej badanej grupie wyniosła od 20,7 do 40,8 kg/m². Około 55% uczestników badania miało prawidłową masę ciała (BMI 18,5-24,9 kg/m²), 29,2% sklasyfikowano jako osoby z nadwagą (BMI 25,0-29,9 kg/m²), a 15,9% jako osoby otyłe (BMI ≥ 30 kg/m²). Wartość AUC wyliczona dla wieku wyniosła 0,722 (czułość 62,1%, swoistość 74,2%), co wskazuje na zadowalającą wartość diagnostyczną – wieku pacjenta w rozróżnianiu grupy AA od grupy NA. Iloraz szans (OR) wynoszący 4,712 oznacza, że osoby w wieku $>71,5$ lat (wartość odcięcia *cut-off*) wykazują 4,7 razy większe prawdopodobieństwo wystąpienia niedokrwistości w porównaniu do $\leq 71,5$ lat.

2.2. Analiza morfologii krwi obwodowej

Liczba białych krwinek, neutrofilów, limfocytów i monocytów mieściła się w zakresach wartości referencyjnych i nie różniła się istotnie między grupami AA i NA (Tabela 2). Zgodnie z kryterium niedokrwistości wg Culletona i wsp. [2006], 42% badanych osób zaklasyfikowano do grupy AA (kobiety Hb $<13,0$ g/dL, mężczyźni Hb $<14,0$ g/dL). Mężczyźni stanowili 70% grupy AA, ale nie wykazano istotnych różnic w stężeniach Hb między kobietami ($13,36 \pm 0,84$ g/dL) a mężczyznami ($13,37 \pm 1,65$ g/dL). W całej badanej grupie mężczyźni wykazywali istotnie niższe stężenia żelaza i transferyny ($84,38 \pm 26,72$ μ g/dL i $2,75 \pm 1,16$ mg/dL) niż kobiety ($100,82 \pm 31,71$ μ g/dL i $3,17 \pm 1,99$ mg/dL), podczas gdy stężenia ferrytyny nie różniły się między płciami. Stężenie Hb było ujemnie skorelowane z IL-1 β ($r_s = -0,581$, $p < 0,0001$), co sugeruje osłabienie syntezy Hb w warunkach wysokiego stężenia prozapalnej cytokiny IL-1 β . W grupie AA parametry hematologiczne, jak RBC, MCV, MCH, RDV oraz stężenia żelaza i ferrytyny były istotnie niższe w porównaniu do grupy NA, podczas gdy stężenia erytropoetyny (EPO) i transferyny (Tf) mieściły się w zakresach wartości referencyjnych, ale wykazywały

tendencję do wyższych wartości w grupie AA. Wysycenie transferyny żelazem u 26% uczestników badania wyniosło TfS <20% i było istotnie niższe w grupie AA w porównaniu do NA. Stężenie ferrytyny u 20% badanych <10–15 ng/mL, co wyraźnie wskazuje na obniżenie zasobów żelaza w ustroju.

Tabela 2. Wartości parametrów hematologicznych w grupie z niedokrwistością (Anemic AA) i bez niedokrwistości (Non-anemic NA).

	Wartości referencyjne	AA n=47	NA n=66	AA vs. NA Wartość <i>p</i>
		Średnia ± SD (Me)	Średnia ± SD (Me)	
WBC (10 ³ /μL)	4,0–10,2	6,37 ± 2,12 (5,67)	6,25 ± 1,72 (6,08)	0,937
Neutrofile (10 ³ /μL)	2,0–6,9	4,14 ± 1,87 (3,90)	3,59 ± 1,44 (3,29)	0,052
Limfocyty (10 ³ /μL)	0,6–3,4	1,80 ± 0,77 (1,66)	1,89 ± 0,63 (1,84)	0,207
Monocyty (10 ³ /μL)	0,00–0,90	0,44 ± 0,19 (0,42)	0,56 ± 0,29 (0,51)	0,055
RBC (10 ⁶ /μL)	K 4,0–5,5 M 4,5–6,6	4,20 ± 0,39 (4,24)	4,69 ± 0,53 (4,64)	<0,001
Hb (g/dL)	K 12,5–16,0 M 13,5–18,0	12,50 ± 0,98 (12,70)	14,26 ± 0,90 (14,05)	<0,001
Hct [%]	K 37–47 M 40,0–51,0	36,25 ± 3,56 (37,0)	42,58 ± 2,87 (42,25)	<0,001
MCV (fL)	82–92	86,42 ± 6,30 (88,00)	91,30 ± 4,99 (91,95)	<0,001
MCH (pg)	27–33	29,81 ± 1,56 (29,80)	30,58 ± 1,61 (30,75)	<0,001
MCHC (g/dL)	32–36	34,61 ± 1,93 (33,70)	33,52 ± 1,16 (33,35)	0,015
RDW%	11,5–14,5	14,56 ± 2,44 (14,30)	14,75 ± 0,98 (14,85)	<0,001
Płytki krwi (10 ³ /μL)	140–420	219 ± 56 (211)	229 ± 57 (226)	0,417
MPV (fL)	7,5–10,5	8,85 ± 1,77 (9,10)	7,26 ± 1,16 (7,11)	<0,001
Żelazo (μg/dL)	K 37–145 M 58–158	78,22 ± 24,76 (76,20)	104,21 ± 30,27 (101,60)	<0,001
Ferrytyna (ng/mL)	K 10–200 M 15–400	16,04 ± 21,82 (8,60)	38,27 ± 44,91 (23,43)	<0,001
Tf (mg/dL)	200–400	393 ± 184 (306)	302 ± 99 (298)	0,096
TfS%	20–50	23,40 ± 11,24 (21,14)	37,09 ± 15,90 (37,07)	<0,001
EPO (mU/mL)	4,3–29	12,77 ± 4,32 (11,02)	8,05 ± 3,04 (7,24)	0,197

Wyjaśnienia skrótów: WBC liczba białych krwinek, RBC liczba krwinek czerwonych, Hb hemoglobina, Hct hematokryt, MCV średnia objętość krwinki czerwonej, MCH średnia masa hemoglobiny w krwince czerwonej, MCHC średnie stężenie hemoglobiny w krwince czerwonej, RDW% rozpiętość rozkładu objętości erytrocytów, MPV średnia objętość płytki krwi, Tf transferyna, TfS% procent wysycenia (saturacja) transferyny żelazem, EPO erytropoetyna, K kobiety, M mężczyźni, SD odchylenie standardowe, Me mediana

2.3. Wskaźniki biochemiczne

Cholesterol całkowity (TC) i lipoproteiny są ważnymi markerami starzenia, ponieważ istotnie korelują ze współczynnikami chorobowości na choroby sercowo-naczyniowe i śmiertelnością [Wagner i wsp. 2016]. Wysokie stężenia TC >200 mg/dL, LDL >130 mg/dL i nie-HDL >130 mg/dL wykazano u 63%, podczas gdy wysokie stężenia TG >150 mg/dL stwierdzono u 23% uczestników badania. Stężenia lipoprotein HDL były istotnie niższe w grupie AA niż w grupie NA (Tabela 3). Niektórzy uczestnicy (n=9) wykazywali podwyższone stężenie glukozy >115 mg/dL pomimo braku wcześniej rozpoznanej cukrzycy. Stężenie bilirubiny w surowicy, która jest markerem rozpadu czerwonych krwinek [Boland i wsp. 2014], było w granicach wartości referencyjnych <0,1 mg/dL. Jednak w grupie AA stężenie bilirubiny było dwukrotnie wyższe niż w grupie NA, co wskazuje na zwiększony rozpad krwinek czerwonych w grupie AA w odpowiedzi na stan zapalny (Tabela 4).

Tabela 3. Porównanie wskaźników biochemicznych: profilu lipidowo-lipoproteinowego, glukozy i bilirubiny między grupą z niedokrwistością (Anemic AA) i bez niedokrwistości (Non-anemic NA).

	Wartości referencyjne	AA n=47	NA n=66	AA vs. NA Wartość <i>p</i>
		Średnia ± SD (Me)	Średnia ± SD (Me)	
TG (mg/dL)	<150	114,43 ± 36,69 (117,40)	143,78 ± 31,77 (139,23)	<0,001
TC (mg/dL)	<200	194,80 ± 48,87 (187,96)	228,90 ± 38,67 (228,70)	<0,001
LDL (mg/dL)	<130	91,37 ± 35,93 (90,58)	87,89 ± 30,84 (89,05)	0,864
oxLDL (mg/dL)	–	0,031 ± 0,034 (0,016)	0,038 ± 0,041 (0,014)	0,822
HDL (mg/dL)	>60	61,25 ± 13,74 (60,70)	71,48 ± 19,49 (69,59)	<0,001
nie-HDL (mg/dL)	<130	133,56 ± 45,62 (125,16)	157,42 ± 43,37 (160,04)	<0,001
Glukoza (mg/dL)	60–115	94,44 ± 28,17 (86,50)	93,33 ± 20,61 (93,40)	<0,001
Bilirubina (mg/dL)	<1,0	0,24 ± 0,18 (0,22)	0,12 ± 0,13 (0,07)	<0,001

Wyjaśnienia skrótów: TG trójglicerydy, TC cholesterol całkowity, LDL lipoproteiny o niskiej gęstości, oxLDL utlenione lipoproteiny o niskiej gęstości, HDL lipoproteiny o wysokiej gęstości, SD odchylenie standardowe, Me mediana.

2.4. Wskaźniki zapalenia

Pomiar stężenia białka C-reaktywnego (CRP) jest stosowany w większości badań jako wskaźnik uogólnionego stanu zapalnego, ze względu na stabilność i łatwość pomiaru. W przeprowadzonym badaniu stężenie CRP wyniosło ≥3 mg/L u 43% pacjentów, potwierdzając obecność subklinicznego stanu zapalnego zgodnie z wartościami referencyjnymi dla osób starszych opisanymi przez Wyczałkowską-Tomasik i wsp. [2016]. Podobnie, wysokie stężenie

NPT >10 nmol/L zaobserwowano u 40% badanych pacjentów, ale dla markerów zapalenia CRP i NPT nie wykazano istotnych różnic między grupami AA i NA (Tabela 4). Stężenie hepcydyny (HPC) było 2,5-krotnie wyższe w grupie AA niż w NA. Stężenie HPC było ponad 2-krotnie wyższe u mężczyzn ($16,79 \pm 16,08$ ng/mL) w porównaniu do kobiet ($7,00 \pm 6,99$ ng/mL), co doprowadziło do spadku stężenia żelaza w męskiej grupie. Podobnie do HPC, wysokie stężenia cytokin IL-1 β , IL-6 i TNF α stwierdzono w grupie AA (Tabela 4).

Tabela 4. Porównanie wskaźników zapalnych między grupą z niedokrwistością (Anemic AA) i bez niedokrwistości (Non-anemic NA).

	Anemic AA n = 47	Non-anemic NA n = 66	AA vs. NA Wartość <i>p</i>
	Średnia $\pm$ SD (Me)	Średnia $\pm$ SD (Me)	
CRP (mg/L)	3,12 $\pm$ 2,34 (3,12)	2,92 $\pm$ 2,29 (2,54)	0,843
NPT (nmol/L)	23,16 $\pm$ 11,30 (22,88)	19,95 $\pm$ 5,86 (19,95)	0,205
HPC (ng/mL)	16,84 $\pm$ 13,88 (15,60)	6,42 $\pm$ 3,29 (6,08)	<0,001
IL-1 β (ng/mL)	11,69 $\pm$ 9,83 (8,19)	2,55 $\pm$ 3,64 (1,21)	<0,001
IL-6 (pg/mL)	97,22 $\pm$ 68,28 (75,78)	74,98 $\pm$ 27,27 (74,72)	0,195
TNF α (ng/mL)	121,50 $\pm$ 69,82 (112,00)	85,65 $\pm$ 59,64 (82,41)	<0,001

Wyjaśnienia skrótów: CRP białko C-reaktywne, NPT neopteryna, HPC hepcydyna, IL-1 β interleukina 1 β , IL-6 interleukina 6, TNF α czynnik martwicy nowotworów α , SD odchylenie standardowe, Me mediana.

Analiza krzywych ROC i ilorazu szans OR dla wskaźników zapalenia HPC i IL-1 β ujawniła ich wysoką wartość diagnostyczną u pacjentów z niedokrwistością związaną z wiekiem (Tabela 5). Najwyższą wartość AUC wśród oznaczanych wskaźników wykazywała IL-1 β (AUC=0,922, OR=72,374, 95%CI 19,688-354,366). Wysoka wartość czułości (87,9%) i swoistości (91,5%) testu dla IL-1 β wskazuje na małą liczbę wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych podczas procedury diagnostycznej. Natomiast analiza stężenia cytokiny IL-6, nazywanej "cytokiną gerontologów" [Minciullo i wsp. 2016], ujawniła niską przydatność w rozróżnianiu pacjentów z niedokrwistością od pacjentów bez niedokrwistości (AUC=0,523, czułość 62,2%, swoistość 51,1%, OR=1,939, 95%CI 0,848-4,489) w porównaniu z IL-1 β i TNF α (Tabela 5). W przypadku HPC, wartość AUC określono jako zadowalającą w testowanym modelu porównując grupę AA do grupy NA (AUC=0,735, czułość 84,8%, swoistość 59,6%, OR=8,069, 95%CI 3,131-22,397), co wskazuje na potencjalną przydatność diagnostyczną hepcydyny w rozpoznawaniu niedokrwistością o podłożu zapalnym.

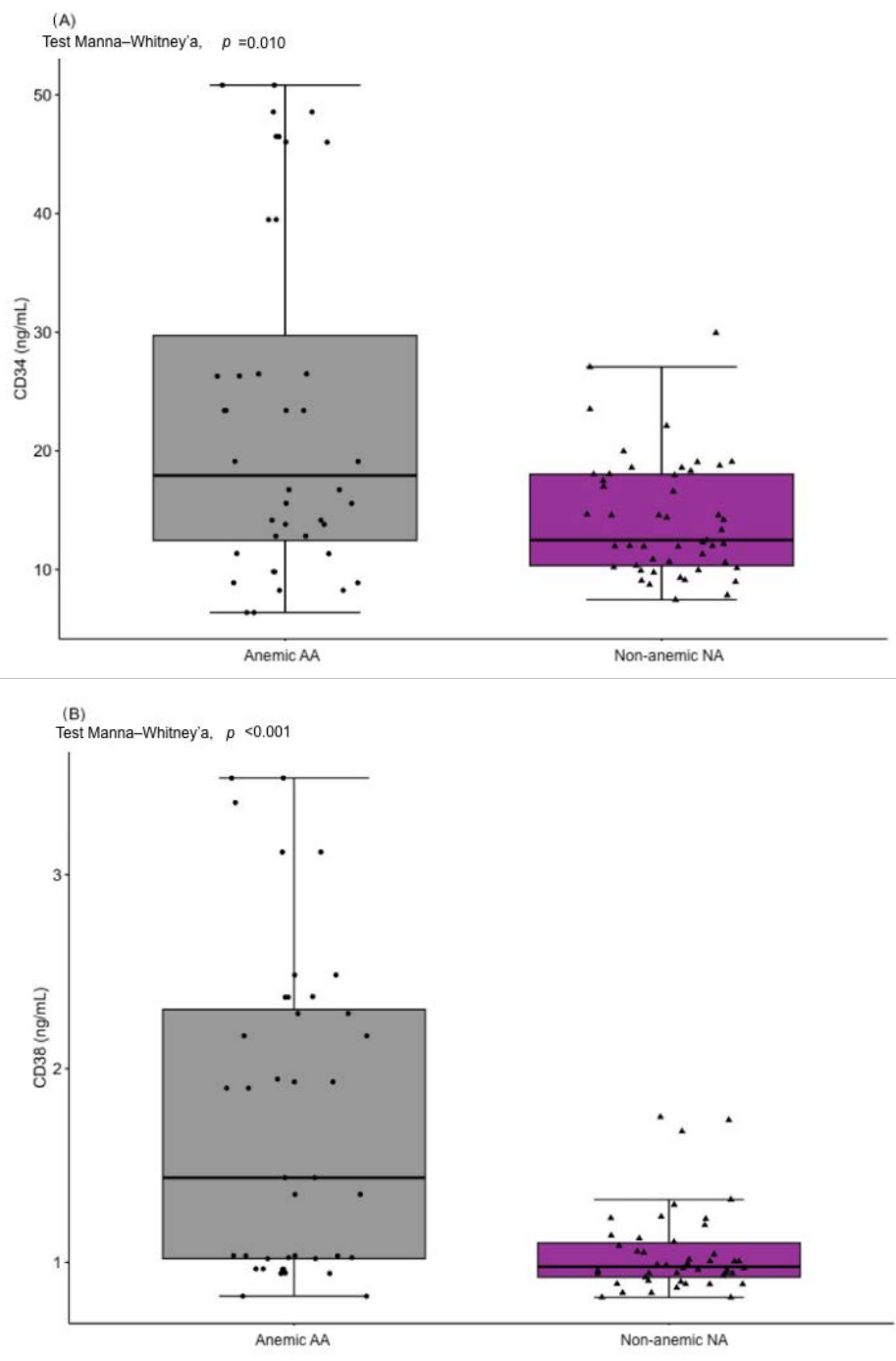
Tabela 5. Charakterystyka statystyczna krzywych ROC (ang. *receiver operating characteristic curve*) dla wskaźników hematologicznych i zapalnych oraz iloraz szans OR (ang. *odds ratio*) dla wskazań ustalonych na podstawie wartości odcięcia (*cut-off*) (n=113).

	AUC	Wartość odcięcia <i>cut-off</i>	Czułość (%)	Swoistość (%)	OR	95%CI
Żelazo (µg/dL)	0,745	88,6	68,2	72,3	5,510	2,292–13,937
Ferrytyna (ng/mL)	0,652	16,4	60,6	74,5	4,424	1,845–11,193
Tf (mg/mL)	0,622	3,2	78,4	48,9	3,422	1,208–10,546
TfS (mg/dL)	0,756	32,5	62,2	83,0	7,76	2,64–25,23
EPO (mU/mL)	0,583	8,48	59,1	48,9	0,725	0,318–1,643
HPC (ng/mL)	0,735	9,4	84,8	59,6	8,069	3,131–22,397
IL-1β (ng/mL)	0,922	5,3	87,9	91,5	72,374	19,688–354,366
IL-6 (pg/mL)	0,523	75,5	65,2	51,1	1,939	0,848–4,489
TNFα (ng/mL)	0,685	97,7	74,2	66,0	5,488	2,292–13,741

Wyjaśnienia skrótów: Tf transferyna, TfS% procent wysycenia transferyny żelazem, EPO erytropoetyna, HPC hepcydyna, IL-1β interleukina 1β, IL-6 interleukina 6, TNFα czynnik martwicy nowotworów α, AUC pole pod krzywą ROC, OR iloraz szans, CI przedział ufności.

2.5. Komórki jednojądrzaste krwi obwodowej

Stężenia komórek jednojądrzastych krwi obwodowej CD34 i CD38 były istotnie wyższe w grupie AA ($23,40 \pm 14,63$ ng/mL i $1,73 \pm 0,83$ ng/mL) niż w grupie NA ($17,81 \pm 10,57$ ng/mL i $1,37 \pm 0,74$ ng/mL) (Rycina 2). Prawdopodobnie komórki z ekspresją CD34 i CD38 uczestniczą w mechanizmie kompensacyjnym w niedokrwistości związanej z wiekiem. Dla antygenów CD34 i CD38, wartość AUC została określona jako niedostateczna w testowanym modelu (CD34: AUC=0,600, czułość 76,8%, swoistość 50,0%; CD38: AUC=0,657, czułość 76,8%, swoistość 57,8%), co potwierdza niską przydatność diagnostyczną w rozróżnianiu pacjentów z niedokrwistością od pacjentów bez niedokrwistości.



Rycina 2. Stężenia komórek jednojądrzastych krwi obwodowej z ekspresją antygenów CD34 (A) i CD38 (B) w grupach: z niedokrwistością (Anemic AA) i bez niedokrwistości (Non-Anemic NA).

IV. Praca przeglądowa

Publikacja 2; Wacka E, Nicikowski J, Jarmużek P, Zembroń-Łacny A. Anemia and its connections to inflammation in older adults: A review. J Clin Med 2024; 13: 1-22. doi: 10.3390/jcm13072049.

Starzenie się układu immunologicznego skutkuje nasileniem zapalenia (ang. *inflammaging*), co zwiększa podatność na choroby zakaźne i infekcyjne powikłania urazów oraz zachorowalność na choroby niezakaźne, w tym niedokrwistość [Tylutka i Zembroń-Łacny 2020]. Z przeprowadzonego przeglądu 34 badań wynika, że częstość występowania niedokrwistości w wieku > 65 lat wynosi średnio 12% u osób mieszkających samodzielnie (poza placówkami opiekuńczymi), 40% u hospitalizowanych pacjentów i 47% u mieszkańców domów opieki [Gaskell i wsp. 2008], przy średniej częstości wynoszącej 17% w ogólnej populacji [Bach i wsp. 2014]. Dane z badań populacyjnych pokazały, że częstość występowania niedokrwistości wzrasta z wiekiem (Tabela 6). W populacji osób w wieku 65-79 lat częstość występowania niedokrwistości wynosi około 17,3%, natomiast u osób w wieku 80 lat i więcej wzrasta do 31,4%. Ponadto, niedokrwistość występuje częściej u mężczyzn niż u kobiet. Na podstawie wyników badania EMPIRE stwierdzono, że częstość występowania niedokrwistości wynosi 22,2% u mężczyzn i 19,9% u kobiet. Podobne wyniki uzyskano w badaniach przeprowadzonych w Stanach Zjednoczonych, Włoszech i Hiszpanii. Przeprowadzone badania epidemiologiczne jednoznacznie pokazują, że niedokrwistość jest poważnym problemem zdrowotnym wśród osób starszych i wymaga szczególnej uwagi zarówno ze strony naukowców, jak i klinicystów.

Tabela 6. Badania dotyczące częstości występowania niedokrwistości w różnych populacjach.

Badanie/Autorzy	Kraj	Wyniki	Piśmiennictwo
EMPIRE	Portugalia	▪ wyższa częstość występowania niedokrwistości u mężczyzn niż u kobiet (odpowiednio 22.2% vs. 19.9%) ▪ częstość występowania niedokrwistości wzrastała z wiekiem osiągając 17,3% w grupie wiekowej 65-79 lat oraz 31,4% u osób w wieku 80 lat i więcej	[Robalo Nunes i wsp. 2017]
Third US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)	USA	▪ stopniowy wzrost częstości występowania niedokrwistości wraz z wiekiem u uczestników badania w wieku ≥65 lat, gdzie częstość występowania wynosiła 13% w podgrupie wiekowej 75-84 lata oraz 23% w podgrupie wiekowej ≥85 lat ▪ niedokrwistość występowała częściej u mężczyzn niż u kobiet	[Guralnik i wsp. 2004]
Zaninetti i wsp.	Włochy	▪ niedokrwistość występowała u 62% mężczyzn w wieku ≥65 lat w porównaniu do 44,1% w grupie poniżej 65 roku życia ▪ podobne obserwacja dotyczą kobiet, gdzie odsetek kobiet z niedokrwistością w wieku ≥65 lat wynosił 60,1% w porównaniu do 53,5% odnotowanych u kobiet poniżej 65 roku życia	[Zaninetti i wsp. 2018]

Muñoz i wsp.	Hiszpania	▪ częstość występowania niedokrwistości zależała od rodzaju interwencji chirurgicznej, wahając się od 14% w przypadku operacji prostaty, do 61% w przypadkach operacji raka jelita grubego	[Muñoz i wsp. 2017]
---------------------	-----------	--	---------------------

Liczba krwinek czerwonych na obwodzie zależy od zdolności proliferacyjnych komórek prekursorowych linii czerwonekrwinkowej w szpiku kostnym, oddziaływania czynników stymulujących erytropoezę, dostępności substancji niezbędnych w przebiegu erytropoezy oraz czasu przeżycia erytrocytów [Macciò i Madeddu 2012]. Każdy z tych procesów może zostać zaburzony przez przewlekły stan zapalny. Utrzymujące się wysokie stężenia mediatorów zapalenia IL-1 β , IL-6 i TNF α prowadzą do zahamowania syntezy erytropoetyny (EPO) oraz do zmniejszenia liczby receptorów dla EPO (EPOR) na erytroblastycznych komórkach progenitorowych, a także oporności na EPO [van der Putten i wsp. 2008; Zivot i wsp. 2018]. Zjawisko to zaobserwowano u dializowanych pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, u których stężenie CRP powyżej 3,2 mg/dL wiązało się ze znacząco wyższym zapotrzebowaniem na dawki EPO [Bradbury i wsp. 2008].

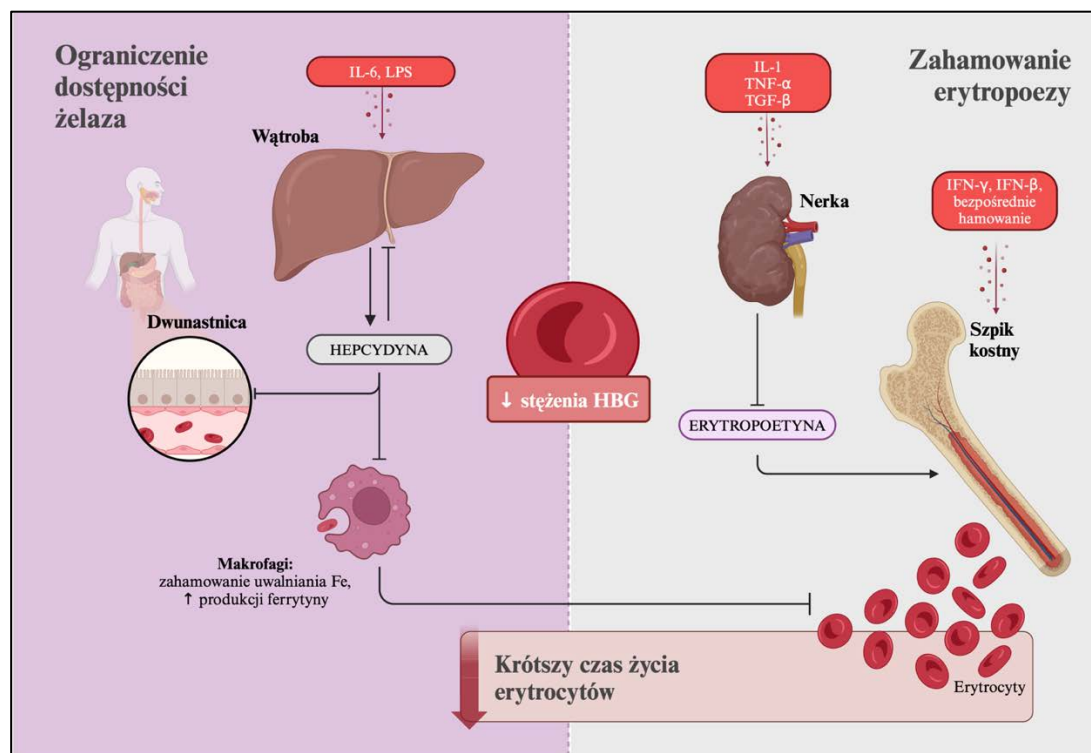
Zapalenie powoduje tzw. funkcjonalny niedobór żelaza, charakteryzujący się obniżonym stężeniem we krwi i zmniejszoną zdolnością jego wiązania oraz normalnym lub podwyższonym stężeniem ferrytyny. W funkcjonalnym niedoborze zapasy żelaza w organizmie są znaczne, ale jego dostępność dla produkcji erytrocytów jest ograniczona z powodu „uwięzienia” w makrofagach i komórkach wątroby. W warunkach fizjologicznych, zmniejszona dostępność żelaza jest uznawana za mechanizm obronny, który utrudnia rozwój drobnoustrojów chorobotwórczych. W ostrych zakażeniach (i ostrym zapaleniu) zjawisko jest pozytywne dla organizmu, jednak w przypadku przewlekłego zapalenia prowadzi do niedokrwistości. W takich sytuacjach wytwarzanie hepcydyny (HPC) w komórkach wątroby i jej stężenie na obwodzie determinuje zarówno wchłanianie żelaza, jak i jego dystrybucję w tkankach [Nemeth i Ganz 2009; Park i wsp. 2001]. HPC łącząc się na powierzchni komórek z ferroportyną, wyzwala jej fosforylację i internalizację. Po usunięciu ferroportyny z błony komórkowej do pęcherzyków endosomalnych, dochodzi do jej degradacji. Inaktywacja ferroportyny na boczno-podstawnej powierzchni enterocytów doprowadza do zatrzymywania żelaza w komórkach i jego usunięcia wraz ze złuszcającym się nabłonkiem jelitowym. Inaktywacja ferroportyny ponadto upośledza mobilizację żelaza z zapasów układu siateczkowo-śródbłonkowego. Zmniejsza się podaż żelaza do krążenia, dochodzi do niedoboru żelaza i rozwoju niedokrwistości [Weiss i wsp. 2019]. Badania na hodowlach ludzkich hepatocytów potwierdziły, że zapalenie stymuluje wytwarzanie hepcydyny [Nemeth i wsp.

2003]. Zaobserwowano u zdrowych osób, że podanie IL-6 lub lipopolisacharydu (LPS) wywołuje we krwi siedmiokrotny wzrost stężenia HPC i jednocześnie obniżenie stężenia żelaza w ciągu kilku godzin. HPC hamuje uwalnianie żelaza z makrofagów i powoduje wzrost stężenia ferrytyny, co w efekcie doprowadza do kumulacji żelaza w makrofagach i ograniczenia jego dostępności dla erytropoezy [Fraenkel 2017; Tilg i wsp. 2002].

W wielu publikacjach wykazano przydatność diagnostyczną oznaczania stężenia HPC wśród pacjentów w podeszłym wieku, szczególnie w odróżnieniu niedokrwistości związanej z niedoborem żelaza od niedokrwistości chorób przewlekłych (ang. *anemia of chronic diseases*). Obecnie uważa się, że za niedokrwistość chorób przewlekłych odpowiedzialna jest głównie HPC, a jej wysokie stężenia we krwi i moczu są obserwowane w infekcjach i nowotworach. Jednak wprowadzenie HPC do standardowej diagnostyki niedokrwistości wymaga wielu badań m.in. z uwagi na wieloczynnikowość procesu chorobowego [Busti i wsp. 2014].

Cytokiny prozapalne, poza wpływem na metabolizm żelaza, skracają czas życia dojrzałych erytrocytów [Weiss i Goodnough 2005]. Badania na modelach mysich pokazały, że interferon- γ (IFN- γ) i interleukina 4 (IL-4), pełnią kluczową rolę w tym procesie, indukując fagocytozę erytrocytów przez makrofagi [Milner i wsp. 2010; Orsini i wsp. 2019]. Inkubacja krwinek czerwonych pochodzących od zdrowych dawców z osoczem pacjentów w stanie wstrząsu septycznego, u których stwierdza się wysokie stężenia krążących cytokin prozapalnych, powodowała w błonach erytrocytarnych hydrolizę fosfatydylocholiny do lizofosfatydylocholiny oraz translokację fosfatydyloseryny do monowarstwy zewnętrznej, co prowadzi do skrócenia przeżycia erytrocytów wskutek erytrofagocytozy i hemolizy [Dinkla i wsp. 2016].

Stres oksydacyjny związany z generacją reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS) i zapaleniem redukuje czas przeżycia krwinek czerwonych poprzez erytozę - proces, który jest analogiczny do apoptozy obserwowanej w komórkach jądrzastych [Lang i wsp. 2005]. Konsekwencje modyfikacji wywołanych stresem oksydacyjnym obejmują naruszenie struktury błony i szkieletu błonowego, obniżenie oporności osmotycznej i odkształcalności krwinki czerwonej [Chaudhary i Katharia 2012]. Zmniejszona oporność osmotyczna osłabia tolerancję na warunki panujące w naczyniach krwionośnych, takie jak zmiany stężeń jonów Na^+ i K^+ , ciśnienia osmotycznego, zmiany pH krwi, a także obciążenie mechaniczne i tarcie, którym są poddawane erytrocyty podczas przepływu przez wąskie naczynia włosowate. Prowadzi do zakłócenia równowagi między produkcją a eliminacją erytrocytów, co skutkuje rozwinieniem, a później pogłębianiem niedokrwistości (Rycina 3) [Ammendolia i wsp. 2021; Huisjes i wsp. 2018; Orrico i wsp. 2023].



Rycina 3. Mechanizmy rozwoju niedokrwistości chorób przewlekłych.

Niedokrwistość u osób starszych często wynika z wieloczynnikowych zaburzeń, obejmujących obecność stanu zapalnego w przebiegu chorób przewlekłych, niedobory składników pokarmowych, a także wpływ leków i interwencji medycznych (Tabela 7). Stwarza to konieczność zindywidualizowanego podejścia do diagnostyki i terapii.

Tabela 7. Rozpoznania, które mogą prowadzić do rozwoju niedokrwistości u osób starszych.

Grupa chorób	Przykłady
Choroby infekcyjne	Infekcje układu oddechowego Infekcyjne zapalenie wsierdza Przewlekłe zakażenie układu moczowego Przewlekłe zakażenia grzybicze
Choroby nerek	Przewlekła choroba nerek Niewydolność nerek
Choroby układu oddechowego i krążenia	Przewlekła obturacyjna choroba płuc Przewlekła niewydolność serca Miażdżyca
Choroby autoimmunologiczne	Reumatoidalne zapalenie stawów Gorączka reumatyczna Zapalenia naczyń Sarkoidoza
Choroby hematologiczne	Zespoły mielodysplastyczne Anemia aplastyczna
Choroby nowotworowe	Hematologiczne nowotwory złośliwe, chłoniaki, guzy lite

Choroby endokrynologiczne i metaboliczne	Zespół metaboliczny Nadwaga i otyłość Sarkopenia Kacheksja Niedożywienie
Choroby gastroenterologiczne	Zapalenie przełyku, zapalenie żołądka i jelit, choroba wrzodowa, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, krwawienia z przewodu pokarmowego Zespół złego wchłaniania jelitowego Celiakia Zakażenie <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Clostridioides difficile</i> Dysbioza
Niedobory składników pokarmowych	Witamina B12, kwas foliowy, witamina D Aminokwasy Żelazo, cynk, selen, miedź
Wpływ leków i interwencji medycznych	Antybiotyki Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) Inhibitory pompy protonowej (IPP) Chemioterapia Radioterapia Polipragmazja

Postępujące pogarszanie się funkcji szpiku kostnego, nerek i wątroby z wiekiem przyczynia się do rozwoju niedokrwistości i obejmuje zmiany makroskopowe - głównie zmniejszenie masy narządów oraz mikroskopowe zmiany patologiczne w tkankach i komórkach, takie jak miażdżyca naczyń włosowatych, zanik, włóknienie i odkładanie kolagenu [Bolognani i wsp. 2014; Hirota i wsp. 1988; Ogawa i wsp. 2000; O'Sullivan i wsp. 2017; Zhao i wsp. 2022]. Z upływem lat szpik kostny stopniowo ulega transformacji z czerwonego, pełniącego funkcje krwiotwórcze, na żółty, który jest nieaktywny pod względem hematopoezy [Kovtonyuk i wsp. 2016].

W miarę postępu starzenia organizmu dochodzi do upośledzenia procesów samoodnowy, różnicowania, proliferacji i dojrzewania komórek biorących udział w hematopoezie. Wykazano, że zmiany w mechanizmach epigenetycznych, niestabilność genetyczna, skracanie telomerów i zmiany aktywności białka p53, wpływają na starzenie się komórek [Ou i Schumacher 2018; Walsh i wsp. 2022]. Nasilenie mutacji somatycznych powoduje wzrost klonalnej hematopoezy o nieokreślonym potencjale (ang. *clonal hematopoiesis of indeterminate potential*, CHIP) u średnio 25% populacji powyżej 65 roku życia, a jej częstość zwiększa się wraz z wiekiem. Prowadzi to do zwiększonego ryzyka rozwoju chorób przewlekłych typowych dla starszego wieku, chorób mieloproliferacyjnych oraz zwiększonej śmiertelności [Jaiswal i Ebert 2019].

Funkcjonowanie nefronów pogarsza się z upływem lat, co objawia się obniżeniem wskaźnika filtracji kłębuszkowej (GFR) w starzejącej się populacji. Waas i wsp. [2021] zaobserwowali spadek szacowanej GFR (eGFR) o 1 mL/min/m² rocznie od trzeciej dekady

życia. Zwiększenie stadium zaawansowania przewlekłej choroby nerek (ang. *chronic kidney disease*, CKD) wiąże się z nasileniem zapalenia i stresu oksydacyjnego. W badaniu epidemiologicznym przeprowadzonym przez Kovesdy i wsp. [2023] stwierdzono, że niedokrwistość występuje u 25,3% osób z CKD w stadiach 3-5 (eGFR <60 mL/min/1,73 m²) oraz rozwija się częściej u pacjentów w wieku ≥75 lat, u których stwierdzono również korelację wieku ze stężeniem Hb. Według Stauffera i wsp. [2014] niedokrwistość występuje dwukrotnie częściej u osób z CKD niż w populacji ogólnej (odpowiednio 15,4% vs. 7,6%).

Warto również zwrócić uwagę na hormonalne zmiany związane z wiekiem, takie jak zmniejszenie stężeń hormonu wzrostu, estrogenów i testosteronu, które w istotny sposób oddziałują na hematopoezę. Ich wpływ jest związany z regulacją wydzielania EPO [Price 2008]. Wykazano, że zarówno u mężczyzn, jak i kobiet, obniżenie stężenia testosteronu prowadzi do zmniejszenia masy erytrocytarnej [Ferrucci i wsp. 2006]. U mężczyzn ten sam efekt jest wywołany również przez redukcję stężenia estradiolu [Lewerin i wsp. 2014]. Obniżone wytwarzanie estrogenów i testosteronu w okresie menopauzy i andropauzy jest związane ze wzrostem stężenia mediatorów zapalenia i stresu oksydacyjnego, co przyczynia się do rozwoju przewlekłego zapalenia o niskim natężeniu [Maggio i wsp. 2006]. W ubiegłym wieku androgeny były stosowane w farmakoterapii niedokrwistości wywołanej CKD [Doane i wsp. 1975; Shaldon i wsp. 1971], ale od lat 90-tych zostały zastąpione ludzką rekombinowaną erytropoetyną (rhEPO).

U pacjentów w podeszłym wieku z cukrzycą (ang. *diabetes mellitus*, DM) typu 2 niedokrwistość występuje częściej niż u pacjentów bez DM w podobnym wieku. Główną przyczyną jest stopniowe pogarszanie się funkcji nerek, co prowadzi do redukcji wytwarzania EPO. Niemniej jednak, niedokrwistość występuje również u pacjentów z DM, którzy mają prawidłową lub jedynie nieznacznie obniżoną filtrację nerkową. Może to być w dużym stopniu spowodowane przewlekłym stresem oksydacyjnym towarzyszącym DM. Chen i wsp. [2011] zaobserwowali, że u pacjentów z DM typu 2 stężenia HPC, ferrytyny i IL-6 w osoczu są wyższe niż u osób zdrowych. U mężczyzn cukrzyca może prowadzić do rozwoju hipogonadyzmu hipogonadotropowego, co jest w znacznym stopniu determinowane zmniejszeniem wydzielania testosteronu i przewlekłym stanem zapalnym. Badania przeprowadzone na modelach mysich dowodzą, że testosteron hamuje na wydzielanie HPC i stymuluje wzrost stężenia krążącej EPO [Guo i wsp. 2013], co wyjaśnia interakcję między hormonami steroidowymi a zapaleniem w kontekście cukrzycy i niedokrwistości.

Niedokrwistość stanowi istotny czynnik pogorszenia wydolności fizycznej, szczególnie w populacji geriatrycznej. Hemoglobina, odgrywająca kluczową rolę w transporcie tlenu z pęcherzyków płucnych do tkanek obwodowych, jest niezbędnym elementem utrzymania homeostazy metabolicznej, zwłaszcza w warunkach zwiększonego zapotrzebowania na tlen podczas wysiłku fizycznego. Deficyt hemoglobiny skutkuje upośledzeniem oksygenacji tkanek, prowadząc do metabolicznej dysfunkcji i zmniejszenia wydolności aerobowej mięśni [Penninx i wsp. 2003]. Stężenie hemoglobiny jest skorelowane z maksymalnym poborem tlenu ($VO_2\max$), który stanowi podstawowy wskaźnik oceny wydolności aerobowej organizmu [Saunders i wsp. 2013]. W populacji osób starszych z niedokrwistością, obniżenie $VO_2\max$ przejawia się pogorszeniem tolerancji wysiłku, manifestującym się subiektywnym uczuciem szybszego zmęczenia nawet podczas realizacji podstawowych aktywności życia codziennego, takich jak poruszanie się czy wykonywanie czynności domowych [Gregg i wsp. 1989; Otto i wsp. 2013; Webb i wsp. 2023]. Obniżenie wydolności fizycznej przyczynia się do redukcji codziennej aktywności fizycznej przez osoby starsze, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia masy i siły mięśniowej, rozwoju zespołu kruchości (ang. *frailty syndrome*), wzrostu ryzyka upadków i powikłań związanych z unieruchomieniem.

Przewlekła hipoksemia wywołana niskim stężeniem hemoglobiny także zwiększa ryzyko rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych i przyspiesza progresję innych schorzeń współistniejących, istotnie wpływając na długość i jakość życia pacjentów [Aguirre i Villareal 2015; Buliga-Finis i wsp. 2023; Larsson i wsp. 2019]. Natomiast przewlekłe niedotlenienie mózgu wynikające z niedokrwistości prowadzi do zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu (ROS), które wywołują stres oksydacyjny w komórkach nerwowych, co z kolei zaburza funkcjonowanie mitochondriów, redukcją syntezy ATP i upośledzeniem mechanizmów transportu aksoplazmatycznego. W rezultacie dochodzi do uszkodzeń neuronów, zwłaszcza w strukturach mózgowia szczególnie wrażliwych na niedobory tlenu, takich jak hipokamp czy kora przedczołowa, co prowadzi do obniżenia zdolności koncentracji, pamięci i funkcji wykonawczych [Clemente-Suárez i wsp. 2023; Hare 2004; Merelli i wsp. 2021]. Ponadto, uczucie osłabienia i chronicznego zmęczenia towarzyszące niedokrwistości przyczynia się do zmniejszenia zdolności do podejmowania aktywności życia codziennego, izolacji społecznej oraz obniżenia jakości życia [Falk i wsp. 2006; Rakib i wsp. 2005].

Kliniczne konsekwencje niedokrwistości nie ograniczają się jedynie do zwiększenia ryzyka zaburzeń funkcjonalnych, ale obejmują również wzrost ryzyka hospitalizacji i częstsze interwencje medyczne. Starsi pacjenci z niedokrwistością częściej doświadczają zaostrzeń

chorób przewlekłych, takich jak niewydolność serca, przewlekła choroba nerek, czy choroby nowotworowe, co przekłada się na większą liczbę i długość hospitalizacji. Zaburzona homeostaza metaboliczna oraz osłabienie ogólnoustrojowe przyczyniają się do dłuższego czasu rekonwalescencji oraz większego ryzyka powikłań podczas leczenia szpitalnego [Fougère i wsp. 2024; Luthi i wsp. 2006]. Dane z badań wskazują, że ogólne rokowanie i jakość życia pacjentów ulega poprawie dzięki skutecznemu leczeniu niedokrwistości u pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca i schyłkową niewydolnością nerek [Collins i wsp. 2000; Silverberg i wsp. 2000]. Postępowanie terapeutyczne w grupie osób starszych z niedokrwistością obejmuje wieloaspektowe podejście oparte na przetaczaniu koncentratu krwinek czerwonych w przypadkach wymagających poprawy stanu ogólnego, stosowaniu egzogennej erytropoetyny (EPO) lub jej rekombinowanych analogów w celu pobudzenia erytropoezy, oraz suplementacji żelaza w formie doustnej bądź dożylniej w celu uzupełnienia zapotrzebowania metabolicznego związanego z nasiloną syntezą hemoglobiny [Madrazo González i wsp. 2010]. Istotną rolę odgrywa także kontrola stanów zapalnych, które poprzez podwyższenie stężenia HPC mogą hamować wchłanianie i mobilizację żelaza, a także optymalizacja parametrów dializoterapii, pozwalająca na skuteczniejsze usuwanie toksyn mocznicowych mogących negatywnie wpływać na erytropoezę. Połączenie opisanych strategii terapeutycznych pozwala przeciwdziałać powikłaniom wynikającym z niedotlenienia tkanek, zmniejszyć obciążenie układu sercowo-naczyniowego oraz ograniczyć inne niekorzystne skutki niedokrwistości. W rezultacie obserwuje się nie tylko poprawę kluczowych wskaźników klinicznych, takich jak tolerancja wysiłku czy funkcja hemodynamiczna, lecz także odczuwalną poprawę jakości życia pacjentów z tej szczególnie wymagającej populacji [Wacka i wsp. 2024].

W kontekście obserwowanego wzrostu częstości występowania niedokrwistości oraz dynamicznego, wykładniczego przyrostu populacji osób starszych, niedokrwistość należy postrzegać jako istotny problem zdrowia publicznego o potencjalnie poważnych konsekwencjach systemowych. Zjawisko to generuje znaczące implikacje dla zasobów opieki zdrowotnej, obejmujące zarówno wzrost zapotrzebowania na świadczenia medyczne, jak i istotne zwiększenie kosztów związanych z leczeniem i hospitalizacjami pacjentów w wieku podeszłym [Ershler i wsp. 2005].

IV. Podsumowanie i wnioski

Zmiany na poziomie molekularnym, osłabienie funkcji narządów oraz choroby przewlekłe przyczyniają się do zwiększenia ryzyka wystąpienia niedokrwistości u pacjentów powyżej 65 roku życia. Złożoność tych interakcji wymaga wieloaspektowego podejścia do diagnostyki i leczenia w populacji geriatrycznej, z uwzględnieniem indywidualnych uwarunkowań każdego pacjenta. Przeprowadzone obserwacje oraz przegląd literatury nt. niedokrwistości w przewlekłych stanach zapalnych u osób starszych (ang. *anemia of aging*) dostarczyły informacji, które mogą być przydatne w weryfikacji podejścia do niedokrwistości, poprawy wyników i jakości opieki zdrowotnej w grupie pacjentów powyżej 65 roku życia.

Analiza wyników badań przedstawionych w publikacji Wacka i wsp. [Int J Mol Sci 2023; doi: 10.3390/ijms24108944] pokazała, że:

1. Przewlekły stan zapalny wyrażony stężeniem mediatorów zapalenia, jak cytokin IL-1 β i TNF α , jest silnie związany z obniżeniem zasobów żelaza ustrojowego i rozwojem niedokrwistości u osób powyżej 65 roku życia.
2. Osoby w wieku >71,5 lat (*cut-off*) wykazują 4,7 krotnie wyższe ryzyko wystąpienia niedokrwistości w porównaniu do $\leq 71,5$ lat, przy czym ryzyko niedokrwistości jest wyższe w grupie mężczyzn niż kobiet.
3. Jednoczesny pomiar stężenia hepcydyny HPC oraz mediatorów zapalenia, tj. cytokin IL-1 β i TNF α , ujawnia wysoką przydatność w rozróżnianiu pacjentów z niedokrwistością od pacjentów bez niedokrwistości, przy czym najwyższą wartość diagnostyczną wykazuje interleukina IL-1 β przy stężeniach *cut-off* >5,3 ng/mL (AUC=0,922, OR=72,374, 95%CI 19,688-354,366).
4. Anemia z zapalenia zwiększa na obwodzie o 50% stężenia komórek jednojądrzastych CD34 i CD38, co oznacza uruchomienie mechanizmów przeciwdziałających niedokrwistości związanej z wiekiem, przy czym należy rozważyć ustalenie wydolności mechanizmów kompensacyjnych dla różnych wartości hemoglobiny (łagodna niedokrwistość vs. ciężka niedokrwistość).

Przegląd literatury dokonany przez Wacka i wsp. [J Clin Med 2024; doi: 10.3390/jcm13072049] potwierdził obserwacje eksperymentalne:

1. Wiek, choroby współistniejące i płeć męska są czynnikami ryzyka niedokrwistości w populacji starszych pacjentów; jedna piąta przypadków niedokrwistości (19,7%)

u osób starszych jest klasyfikowana jako niedokrwistość zapalna (ang. *anemia of inflammation*, AI), znana również jako niedokrwistość chorób przewlekłych (ang. *anemia of chronic disease*, ACD).

2. Pomimo że rozpoznanie AI opiera się na wykluczeniu i jest poparte zaburzeniami homeostazy żelaza, niskim stężeniem hemoglobiny i hipoferremią w populacji ogólnej, to rozpoznanie AI u starszych pacjentów jest trudne ze względu na obecność schorzeń współistniejących, a także związany z wiekiem wzrost poziomu cytokin prozapalnych (ang. *inflammaging*).
3. Potwierdzony w wielu badaniach związek między stanem zapalnym, zaburzeniem wchłaniania żelaza w układzie pokarmowym a zmianami w układzie czerwonokrwinkowym jest wskazaniem do opracowania panelu diagnostycznego obejmującego spektrum markerów niezbędnych do kompleksowej oceny niedokrwistości w starszym wieku, ze szczególnym uwzględnieniem hepcydyny HPC oraz cytokin IL-1 β i TNF α .

V. Piśmiennictwo

1. Abed M., Thiel G., Towhid S.T., Alzoubi K., Honisch S., Lang F., Königsrainer A. (2017). Stimulation of Erythrocyte Cell Membrane Scrambling by C-Reactive Protein. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 41(2), 806–818.
2. Agnihotri P., Telfer M., Butt M., Jella A., Cella D., Kozma C.M., Ahuja M., Riaz S., Akamah J. (2007). Chronic anemia and fatigue in elderly patients: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover exploratory study with epoetin alfa. *Journal of the American Geriatrics Society*, 55(10), 1557–1565.
3. Aguirre L.E., Villareal D.T. (2015). Physical Exercise as Therapy for Frailty. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, 83, 83–92.
4. Alghareeb M., Alfhili M.A., Fatima S. (2023). Molecular Mechanisms and Pathophysiological Significance of Eryptosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5079.
5. Alvarez-Payares J.C., Rivera-Arismendy S., Ruiz-Bravo N., Sánchez-Salazar M., Manzur J.F., Ramirez-Urrea C., Puello A.L. (2021). Unexplained Anemia in the Elderly. *Cureus*, 13(12), e20783.
6. Ammendolia D.A., Bement W.M., Brumell J.H. (2021). Plasma membrane integrity: implications for health and disease. *BMC Biology*, 19(1), 71.
7. Nutritional anaemias. (1968). Report of a WHO scientific group. *World Health Organ Tech Rep Ser.*, 405, 5–37.
8. Bach V., Schruckmayer G., Sam I., Kemmler G., Stauder R. (2014). Prevalence and possible causes of anemia in the elderly: a cross-sectional analysis of a large European university hospital cohort. *Clinical Interventions in Aging*, 9, 1187–1196.
9. Boggs D.R., Patrene K.D. (1985). Hematopoiesis and aging III: Anemia and a blunted erythropoietic response to hemorrhage in aged mice. *American Journal of Hematology*, 19(4), 327–338.
10. Boland B.S., Dong M.H., Bettencourt R., Barrett-Connor E., Loomba R. (2014). Association of serum bilirubin with aging and mortality. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 4(1), 1–7.
11. Bolignano D., Mattace-Raso F., Sijbrands E.J., Zoccali C. (2014). The aging kidney revisited: a systematic review. *Ageing Research Reviews*, 14, 65–80.
12. Bradbury B.D., Critchlow C.W., Weir M.R., Stewart R., Krishnan M., Hakim R.M. (2008). Impact of elevated C-reactive protein levels on erythropoiesis-stimulating agent (ESA) dose and responsiveness in hemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(3), 919–925.
13. Buliga-Finis O., Ouatu A., Tanase D.M., Gosav E.M., Seritean Isac E., Richter P., Rezus C. (2023). Managing Anemia: Point of Convergence for Heart Failure and Chronic Kidney Disease? *Life*, 13(6), 1311.
14. Busti F., Campostrini N., Martinelli N., Girelli D. (2014). Iron deficiency in the elderly population, revisited in the hepcidin era. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 83.
15. Cazzola M., Ponchio L., de Benedetti F., Ravelli A., Rosti V., Beguin Y., Invernizzi

- R., Barosi G., Martini A. (1996). Defective iron supply for erythropoiesis and adequate endogenous erythropoietin production in the anemia associated with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Blood*, 87(11), 4824–4830.
16. Chaudhary R., Katharia R. (2012). Oxidative injury as contributory factor for red cells storage lesion during twenty-eight days of storage. *Blood Transfusion*.
 17. Chen C.L., Chang S.S., Sreenivasan U., Tsang E.W., Broady R., Li Z., Zypchen L. (2011). Dysmetabolic hyperferritinemia is associated with normal transferrin saturation, mild hepatic iron overload, and elevated hepcidin. *Annals of Hematology*, 90(2), 139–143.
 18. Chen J., Hales C.N., Ozanne S.E. (2007). DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative? *Nucleic Acids Research*, 35(22), 7417–7428.
 19. Chen-Edinboro L.P., Murray-Kolb L.E., Simonsick E.M., Ferrucci L., Allen R., Payne M.E., Spira A.P. (2018). Association Between Non-Iron-Deficient Anemia and Insomnia Symptoms in Community-Dwelling Older Adults: The Baltimore Longitudinal Study of Aging. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 73(3), 380–385.
 20. Clemente-Suárez V.J., Redondo-Flórez L., Beltrán-Velasco A.I., Ramos-Campo D.J., Belinchón-deMiguel P., Martínez-Guardado I., Dalamitos A., Yáñez-Sepúlveda L., Martín-Rodríguez A., Tornero-Aguilera J.F. (2023). Mitochondria and Brain Disease: A Comprehensive Review of Pathological Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Biomedicines*, 11(9), 2488.
 21. Cohen H.J., Pieper C.F., Harris T., Rao K.M., Currie M.S. (1997). The association of plasma IL-6 levels with functional disability in community-dwelling elderly. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 52(4), M201-208.
 22. Collins A.J., Ma J., Ebben J. (2000). Impact of hematocrit on morbidity and mortality. *Seminars in Nephrology*, 20(4), 345–349.
 23. Costagliola D., Romano L., Sorice P., Di Benedetto A. (1989). Anemia and chronic renal failure: the possible role of the oxidative state of glutathione. *Nephron*, 52(1), 11–14.
 24. Culleton B.F., Manns B.J., Zhang J., Tonelli M., Klarenbach S., Hemmelgarn B.R. (2006). Impact of anemia on hospitalization and mortality in older adults. *Blood*, 107(10), 3841–3846.
 25. den Elzen W.P.J., de Craen A.J.M., Wiegerinck E.T., Westendorp R.G.J., Swinkels D.W., Gussekloo J. (2013). Plasma hepcidin levels and anemia in old age. The Leiden 85-Plus Study. *Haematologica*, 98(3), 448–454.
 26. Dinkla S., van Eijk L.T., Fuchs B., Schiller J., Joosten I., Brock R., Pickkers P., Bosman G.J.C.G.M. (2016). Inflammation-associated changes in lipid composition and the organization of the erythrocyte membrane. *BBA Clinical*, 5, 186–192.
 27. Doane J.B., Fried W., Schwartz E. (1975). Response of uremic patients to nandrolone decanoate. *Archives of Internal Medicine*, 135(7), 972–975.

28. Donovan A., Lima C.A., Pinkus J.L., Pinkus G.S., Zon L.I., Robine S., Andrews N.C. (2005). The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metabolism*, 1(3), 191–200.
29. Ershler W.B., Chen K., Reyes E.B., Dubois R. (2005). Economic burden of patients with anemia in selected diseases. *Value in Health: The Journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research*, 8(6), 629–638.
30. Falk K., Swedberg K., Gaston-Johansson F., Ekman I. (2006). Fatigue and anaemia in patients with chronic heart failure. *European Journal of Heart Failure*, 8(7), 744–749.
31. Faquin W.C., Schneider T.J., Goldberg M.A. (1992). Effect of inflammatory cytokines on hypoxia-induced erythropoietin production. *Blood*, 79(8), 1987–1994.
32. Ferrucci L., Balducci L. (2008). Anemia of Aging: The Role of Chronic Inflammation and Cancer. *Seminars in Hematology*, 45(4), 242–249.
33. Ferrucci L., Maggio M., Bandinelli S., Basaria S., Lauretani F., Ble A., Valenti G., Ershler W.B., Guralnik J.M., Longo D.L. (2006). Low testosterone levels and the risk of anemia in older men and women. *Archives of Internal Medicine*, 166(13), 1380–1388.
34. Ferrucci L., Semba R.D., Guralnik J.M., Ershler W.B., Bandinelli S., Patel K.V., Sun K., Woodman R.C., Andrews N.C., Cotter R.J., Ganz T., Nemeth E., Longo D.L. (2010). Proinflammatory state, hepcidin, and anemia in older persons. *Blood*, 115(18), 3810–3816.
35. Fougère B., Puisieux F., Chevalet P., Annweiler C., Michel B., Joly P., Blanc B., Azouzi A., Desré-Follet B., Cacoub P., Billet S., Fiasson C., Garnier-Crussard A., Goidin M., Paccalin M., Parnet A., Sarasibar S., Thomas G., on behalf of the CARENFER PA study group. (2024). Prevalence of iron deficiency in patients admitted to a geriatric unit: a multicenter cross-sectional study. *BMC Geriatrics*, 24(1), 112.
36. Fraenkel P.G. (2017). Anemia of Inflammation. *Medical Clinics of North America*, 101(2), 285–296.
37. Franceschi C., Bonafè M., Valensin S., Olivieri F., De Luca M., Ottaviani E., De Benedictis G. (2006). Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 908(1), 244–254.
38. Franceschi C., Campisi J. (2014). Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 69 Suppl 1, S4–S9.
39. Ganz T. (2016). Hepcidin. *[Rinsho Ketsueki] The Japanese Journal of Clinical Hematology*, 57(10), 1913–1917.
40. Gaskell H., Derry S., Moore R.A., McQuay H.J. (2008). Prevalence of anaemia in older persons: systematic review. *BMC Geriatrics*, 8, 1.
41. Gilbert S.F. (2000). Aging: The Biology of Senescence. *Developmental Biology*.
42. Goodnough L.T., Schrier S.L. (2014). Evaluation and management of anemia in the elderly. *American Journal of Hematology*, 89(1), 88–96.

43. Gregg R.B., Willis W.T., Brooks G.A. (1989). Interactive effects of anemia and muscle oxidative capacity on exercise endurance. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 67(2), 765–770.
44. Guo W., Bachman E., Li M., Roy C.N., Blusztajn J.K., Wong S., Chan S.Y., Serra C., Jasuja R., Travison T.G., Muckenthaler M.U., Nemeth E., Bhasin S. (2013). Testosterone administration inhibits hepcidin transcription and is associated with increased iron incorporation into red blood cells. *Aging Cell*, 12(2), 280–291.
45. Guo Y., Huang Y., Dou L., Yan M., Shen Y., Tang B., Li Y. (2022). Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 391.
46. Guralnik J.M., Eisenstaedt R.S., Ferrucci L., Klein H.G., Woodman R.C. (2004). Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood*, 104(8), 2263–2268.
47. Hare G.M.T. (2004). Anaemia and the brain. *Current Opinion in Anaesthesiology*, 17(5), 363–369.
48. Hirota Y., Okamura N., Kimura Y., Shibuya T., Niho Y. (1988). Haematopoiesis in the aged as studied by in vitro colony assay. *European Journal of Haematology*, 40(1), 83–90.
49. Huisjes R., Bogdanova A., Van Solinge W.W., Schiffelers R.M., Kaestner L., Van Wijk R. (2018). Squeezing for Life – Properties of Red Blood Cell Deformability. *Frontiers in Physiology*, 9, 656.
50. Jaiswal S., Ebert B.L. (2019). Clonal hematopoiesis in human aging and disease. *Science (New York, N.Y.)*, 366(6465), eaan4673.
51. Jelkmann W. (1998). Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production. *Journal of Interferon & Cytokine Research: The Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, 18(8), 555–559.
52. Khalil S., Delehanty L.L., Grado S., Holy M., White Z., Freeman K., Kurita R., Nakamura Y., Bullock G.C., Goldfarb A.N. (2018). Iron modulation of erythropoiesis is associated with Scribble-mediated control of the erythropoietin receptor. *The Journal of Experimental Medicine*, 215(2), 661–679.
53. Kimachi M., Fukuma S., Yamazaki S., Yamamoto Y., Akizawa T., Akiba T., Saito A., Fukuhara S. (2015). Minor Elevation in C-Reactive Protein Levels Predicts Incidence of Erythropoiesis-Stimulating Agent Hyporesponsiveness among Hemodialysis Patients. *Nephron*, 131(2), 123–130.
54. Kovesdy C.P., Davis J., Duling L., Little D.J. (2023). Prevalence of anaemia in adults with chronic kidney disease in a representative sample of the United States population: analysis of the 1999–2018 National Health and Nutrition Examination Survey. *Clinical Kidney Journal*, 16(2), 303–311.
55. Kovtonyuk L.V., Fritsch K., Feng X., Manz M.G., Takizawa H. (2016). Inflamm-Aging of Hematopoiesis, Hematopoietic Stem Cells, and the Bone Marrow Microenvironment. *Frontiers in Immunology*, 7.
56. Kozakiewicz M., Kornatowski M., Krzywińska E., Kędziora-Kornatowska K. (2019). Changes in the blood antioxidant defense of advanced age people. *Clinical Interventions in Aging*, Volume 14, 763–771.

57. La Ferla K., Reimann C., Jelkmann W., Hellwig-Bürgel T. (2002). Inhibition of erythropoietin gene expression signaling involves the transcription factors GATA-2 and NF-kappaB. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 16(13), 1811–1813.
58. Lang K.S., Lang P.A., Bauer C., Duranton C., Wieder T., Huber S.M., Lang F. (2005). Mechanisms of suicidal erythrocyte death. *Cellular Physiology and Biochemistry: International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 15(5), 195–202.
59. Larsson L., Degens H., Li M., Salviati L., Lee Y.I., Thompson W., Kirkland J.L., Sandri M. (2019). Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiological Reviews*, 99(1), 427–511.
60. Lewerin C., Nilsson-Ehle H., Jacobsson S., Johansson H., Sundh D., Karlsson M.K., Lorentzon M., Barrett-Connor E., Vandenput L., Ohlsson C., Mellström D. (2014). Serum estradiol associates with blood hemoglobin in elderly men: the MrOS Sweden study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(7), 2549–2556.
61. Liang Y., Van Zant G. (2003). Genetic control of stem-cell properties and stem cells in aging. *Current Opinion in Hematology*, 10(3), 195–202.
62. Luthi J.C., Flanders W.D., Burnier M., Burnand B., McClellan W. (2006). Anemia and chronic kidney disease are associated with poor outcomes in heart failure patients. *BMC Nephrology*, 7, 3.
63. Macciò A., Madeddu C. (2012). Management of Anemia of Inflammation in the Elderly. *Anemia*, 2012, 1–20.
64. Macdougall I.C., Cooper A. (2002). Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 17 Suppl 11, 39–43.
65. Madrazo González Z., García Barrasa A., Rafecas Renau A. (2010). Anemia, hierro, transfusión y alternativas terapéuticas. Revisión desde una perspectiva quirúrgica. *Cirugía Española*, 88(6), 358–368.
66. Maggio M., Guralnik J.M., Longo D.L., Ferrucci L. (2006). Interleukin-6 in Aging and Chronic Disease: A Magnificent Pathway. *The Journals of Gerontology: Series A*, 61(6), 575–584.
67. Maini R.N., Taylor P.C., Szechinski J., Pavelka K., Bröll J., Balint G., Emery P., Raemen L., Petersen J., Smolen J.S., Thomson A., Kishimoto T., CHARISMA Study Group. (2006). Double-blind randomized controlled clinical trial of the interleukin-6 receptor antagonist, tocilizumab, in European patients with rheumatoid arthritis who had an incomplete response to methotrexate. *Arthritis and Rheumatism*, 54(9), 2817–2829.
68. Merelli A., Repetto M., Lazarowski A., Auzmendi J. (2021). Hypoxia, Oxidative Stress, and Inflammation: Three Faces of Neurodegenerative Diseases. *Journal of Alzheimer's Disease*, 82(s1), S109–S126.
69. Miller C.B., Jones R.J., Piantadosi C.A., Abeloff M.D., Spivak J.L. (1990). Decreased erythropoietin response in patients with the anemia of cancer. *The New England Journal of Medicine*, 322(24), 1689–1692.

70. Milner J.D., Orekov T., Ward J.M., Cheng L., Torres-Velez F., Junttila I., Sun J., Buller R.M., Morris S.C., Finkelman F.D., Paul W.E. (2010). Sustained IL-4 exposure leads to a novel pathway for hemophagocytosis, inflammation, and tissue macrophage accumulation. *Blood*, 116(14), 2476–2483.
71. Minciullo P.L., Catalano A., Mandraffino G., Casciaro M., Crucitti A., Maltese G., Morabito N., Lasco A., Gangemi S., Basile G. (2016). Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis*, 64(2), 111–126.
72. Mitlyng B.L., Singh R.J., Furne J.K., Ruddy J.M., Levitt M.D. (2006). Use of breath carbon monoxide measurements to assess erythrocyte survival in subjects with chronic diseases. *American Journal of Hematology*, 81(6), 432–438.
73. Muñoz M., Laso-Morales M.J., Gómez-Ramírez S., Cadellas M., Núñez-Matas M.J., García-Erce J.A. (2017). Pre-operative haemoglobin levels and iron status in a large multicentre cohort of patients undergoing major elective surgery. *Anaesthesia*, 72(7), 826–834.
74. Nemeth E., Ganz T. (2009). The Role of Hepcidin in Iron Metabolism. *Acta Haematologica*, 122(2–3), 78–86.
75. Nemeth E., Rivera S., Gabayan V., Keller C., Taudorf S., Pedersen B.K., Ganz T. (2004). IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *The Journal of Clinical Investigation*, 113(9), 1271–1276.
76. Nemeth E., Valore E.V., Territo M., Schiller G., Lichtenstein A., Ganz T. (2003). Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 101(7), 2461–2463.
77. Ogawa T., Kitagawa M., Hirokawa K. (2000). Age-related changes of human bone marrow: a histometric estimation of proliferative cells, apoptotic cells, T cells, B cells and macrophages. *Mechanisms of Ageing and Development*, 117(1–3), 57–68.
78. Orrico M., Laurance S., Lopez R., Lefevre S.D., Thomson L., Möller M., Ostuni M.A. (2023). Oxidative Stress in Healthy and Pathological Red Blood Cells. *Biomolecules*, 13(8), 1262.
79. Orsini M., Chateauvieux S., Rhim J., Gaigneaux A., Cheillan D., Christov C., Dicato M., Morceau F., Diederich M. (2019). Sphingolipid-mediated inflammatory signaling leading to autophagy inhibition converts erythropoiesis to myelopoiesis in human hematopoietic stem/progenitor cells. *Cell Death & Differentiation*, 26(9), 1796–1812.
80. O’Sullivan E.D., Hughes J., Ferenbach D.A. (2017). Renal Aging: Causes and Consequences. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 28(2), 407–420.
81. Otto J.M., Montgomery H.E., Richards T. (2013). Haemoglobin concentration and mass as determinants of exercise performance and of surgical outcome. *Extreme Physiology & Medicine*, 2(1), 33.
82. Ou H.L., Schumacher B. (2018). DNA damage responses and p53 in the aging process. *Blood*, 131(5), 488–495.

83. Pagani A., Nai A., Silvestri L., Camaschella C. (2019). Heparin and Anemia: A Tight Relationship. *Frontiers in Physiology*, 10, 1294.
84. Park C.H., Valore E.V., Waring A.J., Ganz T. (2001). Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(11), 7806–7810.
85. Penninx B.W., Guralnik J.M., Onder G., Ferrucci L., Wallace R.B., Pahor M. (2003). Anemia and decline in physical performance among older persons. *The American Journal of Medicine*, 115(2), 104–110.
86. Price E.A. (2008). Aging and erythropoiesis: current state of knowledge. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 41(2), 158–165.
87. R Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [<https://www.R-project.org/>]
88. Rakib A., White P.D., Pinching A.J., Hedge B., Newbery N., Fakhoury M., Priebe S. (2005). Subjective quality of life in patients with chronic fatigue syndrome. *Quality of Life Research: An International Journal of Quality of Life Aspects of Treatment, Care and Rehabilitation*, 14(1), 11–19.
89. Ramel A., Jonsson P.V., Bjornsson S., Thorsdottir I. (2008). Anemia, nutritional status, and inflammation in hospitalized elderly. *Nutrition*, 24(11–12), 1116–1122.
90. Robalo Nunes A., Fonseca C., Marques F., Belo A., Brilhante D., Cortez J. (2017). Prevalence of anemia and iron deficiency in older Portuguese adults: An EMPIRE substudy. *Geriatrics & Gerontology International*, 17(11), 1814–1822.
91. Roy C.N., Snyder P.J., Stephens-Shields A.J., Artz A.S., Bhasin S., Cohen H.J., Farrar J.T., Gill T.M., Zeldow B., Cella D., Barrett-Connor E., Cauley J.A., Crandall C.J., Cunningham G.R., Ensrud K.E., Lewis C.E., Matsumoto A.M., Molitch M.E., Pahor M., Swerdloff R.S., Cifelli D., Hou X., Resnick S.M., Walston J.D., Anton S., Basaria S., Diem S.J., Wang C., Schrier S.L., Ellenberg S.S. (2017). Association of Testosterone Levels With Anemia in Older Men: A Controlled Clinical Trial. *JAMA Internal Medicine*, 177(4), 480–490.
92. Saunders P.U., Garvican-Lewis L.A., Schmidt W.F., Gore C.J. (2013). Relationship between changes in haemoglobin mass and maximal oxygen uptake after hypoxic exposure. *British Journal of Sports Medicine*, 47(Suppl 1), i26–i30.
93. Sebastiani G., Wilkinson N., Pantopoulos K. (2016). Pharmacological Targeting of the Heparin/Ferroportin Axis. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 160.
94. Sen P., Shah P.P., Nativio R., Berger S.L. (2016). Epigenetic Mechanisms of Longevity and Aging. *Cell*, 166(4), 822–839.
95. Shaldon S., Koch K.M., Oppermann P., Patyna W., Schoeppe W. (1971). Testosterone therapy for anaemia in maintenance dialysis. *British Medical Journal*, 3(5768), 212–215.
96. Shavelle R.M., MacKenzie R., Paculdo D.R. (2012). Anemia and mortality in older persons: does the type of anemia affect survival? *International Journal of Hematology*, 95(3), 248–256.
97. Silverberg D.S., Wexler D., Blum M., Keren G., Sheps D., Leibovitch E., Brosh D., Laniado S., Schwartz D., Yachnin T., Shapira I., Gavish D., Baruch R., Koifman B., Kaplan C., Steinbruch S., Iaina A. (2000). The use of subcutaneous erythropoietin

- and intravenous iron for the treatment of the anemia of severe, resistant congestive heart failure improves cardiac and renal function and functional cardiac class, and markedly reduces hospitalizations. *Journal of the American College of Cardiology*, 35(7), 1737–1744.
98. Stauder R., Thein SL. (2014) Anemia in the elderly: clinical implications and new therapeutic concepts. *Haematologica*, 99(7), 1127–30.
 99. Stauder R., Valent P., Theurl I. (2018). Anemia at older age: etiologies, clinical implications, and management. *Blood*, 131(5), 505–514.
 100. Stauffer M.E., Fan T. (2014). Prevalence of anemia in chronic kidney disease in the United States. *PloS One*, 9(1), e84943.
 101. Strehler B.L. (1959). Origin and comparison of the effects of time and high-energy radiations on living systems. *The Quarterly Review of Biology*, 34(2), 117–142.
 102. Tilg H., Ulmer H., Kaser A., Weiss G. (2002). Role of IL-10 for induction of anemia during inflammation. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 169(4), 2204–2209.
 103. Tylutka A., Zembroń-Łacny A. (2020). Immunological aging and clinical consequences. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 74, 260–271.
 104. van der Putten K., Braam B., Jie K.E., Gaillard C.A. (2008). Mechanisms of Disease: erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure. *Nature Clinical Practice. Nephrology*, 4(1), 47–57.
 105. Waas T., Schulz C., Lotz J., Rossmann H., Pfeiffer N., Beutel M.E., Schmidtman I., Münzel T., Wild P.S., Lackner K.J. (2021). Distribution of estimated glomerular filtration rate and determinants of its age-dependent loss in a German population-based study. *Scientific Reports*, 11(1), 10165.
 106. Wacka A., Nicikowski B., Jarmuzek P., Zembron-Lacny A. (2024). Anemia and Its Connections to Inflammation in Older Adults: A Review. *Journal of Clinical Medicine*, 13(7), 2049.
 107. Wagner K.-H., Cameron-Smith D., Wessner B., Franzke B. (2016). Biomarkers of Aging: From Function to Molecular Biology. *Nutrients*, 8(6), 338.
 108. Walsh K., Raghavachari N., Kerr K.F., Bick A.G., Cummings S.R., Druley T.E., Dunbar A., Genovese G., Goodell M.A., Jaiswal S., Maciejewski J.P., Natarajan P., Shindyapina A.V., Shuldiner A.R., Van Den Akker E., Vijg J. (2022). Clonal Hematopoiesis Analyses in Clinical, Epidemiologic, and Genetic Aging Studies to Unravel Underlying Mechanisms of Age-Related Dysfunction in Humans. *Frontiers in Aging*, 3, 841796.
 109. Webb N.P., Gorman B.L., Morkeberg J., Klassen S.A., Regimbal R.J., Wiggins C.C., Joyner M.J., Hammer S.M., Senefeld J.W. (2023). The relationship between hemoglobin and V̇O₂max: A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*, 18(10), e0292835.
 110. Weiss G., Ganz T., Goodnough L.T. (2019). Anemia of inflammation. *Blood*, 133(1), 40–50.
 111. Weiss G., Goodnough L.T. (2005). Anemia of chronic disease. *The New England Journal of Medicine*, 352(10), 1011–1023.

112. Wouters H.J.C.M., van der Klauw M.M., de Witte T., Stauder R., Swinkels D.W., Wolffenbuttel B.H.R., Huls G. (2019). Association of anemia with health-related quality of life and survival: a large population-based cohort study. *Haematologica*, 104(3), 468–476.
113. Wyczalkowska-Tomasik J., Czarkowska-Paczek B., Zielenkiewicz D., Paczek L. (2016). Inflammatory Markers Change with Age, but do not Fall Beyond Reported Normal Ranges. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 64(3), 249–254.
114. Xia S., Zhang X., Zheng S., Khanabdali R., Kalionis B., Wu J., Wan W., Tai X. (2016). An Update on Inflamm-Aging: Mechanisms, Prevention, and Treatment. *Journal of Immunology Research*, 2016, 1–12.
115. Zaninetti C., Klersy C., Scavariello C., Bastia R., Balduini C.L., Invernizzi R. (2018). Prevalence of anemia in hospitalized internal medicine patients: Correlations with comorbidities and length of hospital stay. *European Journal of Internal Medicine*, 51, 11–17.
116. Zhao Z., Yang W., Li C., Li L. (2022). Understanding the Unique Microenvironment in the Aging Liver. *Frontiers in Medicine*, 9, 842024.
117. Zivot A., Lipton J.M., Narla A., Blanc L. (2018). Erythropoiesis: insights into pathophysiology and treatments in 2017. *Molecular Medicine*, 24(1), 11.

VI. Prace stanowiące rozprawę doktorską



International Journal of
Molecular Sciences



Article

The Role of Inflammation in Age-Associated Changes in Red Blood System

Eryk Wacka , Edyta Wawrzyniak-Gramacka , Anna Tylutka, Barbara Morawin , Marzena Gutowicz and Agnieszka Zembron-Lacny *

Department of Applied and Clinical Physiology, Collegium Medicum University of Zielona Gora, 65-417 Zielona Gora, Poland; e.wacka@cm.uz.zgora.pl (E.W.); e.gramacka@cm.uz.zgora.pl (E.W.-G.); a.tylutka@cm.uz.zgora.pl (A.T.); b.morawin@cm.uz.zgora.pl (B.M.); m.gutowicz@cm.uz.zgora.pl (M.G.)
* Correspondence: a.zembron-lacny@cm.uz.zgora.pl

Abstract: Aging-related anemia contributes to frailty syndrome, cognitive decline and early mortality. The study aim was to evaluate inflammaging in relation to anemia as a prognostic indicator in affected older patients. The participants (73.0 ± 7.2 years) were allocated into anemic ($n = 47$) and non-anemic ($n = 66$) groups. The hematological variables RBC, MCV, MCH, RDW, iron and ferritin were significantly lower, whereas erythropoietin EPO and transferrin Tf tended toward higher values in the anemic group. Approx. 26% of individuals demonstrated transferrin saturation TfS $< 20\%$, which clearly indicates age-related iron deficiency. The cut-off values for pro-inflammatory cytokine IL-1 β , TNF α and hepcidin were 5.3 ng/mL, 97.7 ng/mL and 9.4 ng/mL, respectively. High IL-1 β negatively affected Hb concentration ($r_s = -0.581$, $p < 0.0001$). Relatively high odds ratios were observed for IL-1 β (OR = 72.374, 95%CI 19.688–354.366) and peripheral blood mononuclear cells CD34 (OR = 3.264, 95%CI 1.263–8.747) and CD38 (OR = 4.398, 95%CI 1.701–11.906), which together indicates a higher probability of developing anemia. The results endorse the interplay between inflammatory status and iron metabolism and demonstrated a high usefulness of IL-1 β in identification of the underlying causes of anemia, while CD34 and CD38 appeared useful in compensatory response assessment and, in the longer term, as part of a comprehensive approach to anemia monitoring in older adults.

Keywords: anemia; cytokines; erythropoietin; hematopoietic progenitor cells; hepcidin; iron



Citation: Wacka, E.; Wawrzyniak-Gramacka, E.; Tylutka, A.; Morawin, B.; Gutowicz, M.; Zembron-Lacny, A. The Role of Inflammation in Age-Associated Changes in Red Blood System. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 8944. <https://doi.org/10.3390/ijms24108944>

Academic Editors: Paolo Arosio and Edina Pandur

Received: 18 April 2023

Revised: 8 May 2023

Accepted: 15 May 2023

Published: 18 May 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Anemia is a common hematological disorder that affects 17% of persons aged >65 years. The World Health Organization (WHO) defines anemia as a decreased number of erythrocytes and/or decreased hemoglobin (Hb) levels of <12.0 g/dL in women and <13.0 g/dL in men, and the definition dates back to the 1970s. Analyses of the American databases of National Health and Nutrition Examination Survey III [1] and the Scripps-Kaiser database [2] have suggested higher reference values for Hb to define anemia [3]. The optimal Hb levels of ≥ 13.7 g/dL for men and ≥ 12.6 g/dL for women have been described in connection with better survival in the Cardiovascular Health Study [4]. A population study by Culleton et al. demonstrated the levels of 13.0 to 15.0 g/dL for women and 14.0 to 17.0 g/dL for men as the optimal Hb values to avoid hospitalization and mortality in old age [5]. Wouters et al. [6] suggested that the definition of anemia in women over 60 years of age should include a modified value of Hb, i.e., <13.0 g/dL, which makes the definition comparable to the one applied to men. Nevertheless, the WHO definition remains the standard for the classification of anemia in older adults [7]. Normal Hb distribution varies not only with regard to age and sex, but it also depends on ethnicity and physiological status [3,8]. Penninx et al. [9] and Katsumi et al. [10] indicated the need to also identify a risk of physical decline in older adults by detection of borderline anemia, defined as a decreased Hb levels within 1 g/dL

above WHO criteria. Additionally, it is noteworthy that anemia has been demonstrated to have a significant impact on survival in individuals older than 60 years of age [6].

In older adults, anemia can be divided into nutritional deficiency anemia, bleeding anemia, and unexplained anemia that might be caused by the reduced erythropoietin (EPO) activity, the progressive erythropoietin resistance of bone marrow erythroid progenitors and the chronic subclinical pro-inflammatory state [11]. Overall, one-third of older patients with anemia have a nutritional deficiency which mainly includes iron, folate or vitamin B12 deficiency, one-third have a chronic subclinical pro-inflammatory state and a chronic kidney disease, and one-third suffer from anemia of an unknown cause [12]. Understanding the pathophysiology of anemia in this population is crucial because it contributes to frailty syndrome and falls, cognitive decline, depression, functional ability deterioration and early mortality [10]. A prospective cohort analysis of 3758 patients aged 65 years and older showed that a new-onset anemia was associated with an increased mortality risk with a drop in Hb of 1 g/dL [13].

The pro-inflammatory state in older age, called inflammaging, is manifested by the release of a large number of inflammatory mediators that are produced to repair damage at the tissue level, such as: interleukins IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-22, IL-23, tumor necrosis factor α (TNF α) interferon- γ (IFN- γ) as pro-inflammatory cytokines, and IL-1Ra, IL-4, IL-10; transforming growth factor (TGF- β 1) as anti-inflammatory cytokines; and also lipoxin A4 and heat shock proteins as cytokine mediators [14,15]. Inflammaging is a result of changes in the immune system also known as immunosenescence [16,17]. According to Minciullo et al. [17], inflammaging is a key to our understanding of the aging process, and anti-inflammaging may be one of the secrets of longevity. Thus, it is important to intervene more quickly and multidimensionally in anemia of inflammation.

The inflammatory molecules produce adverse effects on the cells of the hematological system, and these include iron deficiency, reduced EPO production and elevated phagocytosis of erythrocytes by hepatic and splenic macrophages, and also enhanced eryptosis by oxidative stress in the circulation [10,18]. First, systemic inflammation induces the production of hepcidin, the major regulator of iron homeostasis, in hepatocytes through interleukin 6 (IL-6) production. Hepcidin both reduces intestinal iron absorption and releases iron from the macrophages. The recycling of iron from senescent erythrocytes by macrophages accounts for more than 90% of the daily iron requirements for erythropoiesis. Older adults with anemia of inflammation have higher hepcidin levels than their counterparts without anemia [19,20]. The second pathogenic factor in anemia of inflammation is the reduced EPO level and progressive EPO resistance of bone marrow erythroid progenitors. Tumor necrosis factor α and interleukin 1 β (IL-1 β) inhibit the production of EPO through GATA-binding protein 2 and nuclear factor kappa B transcription [21]. In addition, IL-1 β inhibits the binding of hepatocyte nuclear factor 4 to the enhancer of the EPO gene, whereas TNF α stimulates the secretion of microRNA122 from the liver, which reduces EPO gene expression in the kidney [22,23]. Interferon- γ reduces the expression of the EPO receptor in erythroid progenitor cells, inhibits their differentiation and shortens the lifespan of erythrocytes [24]. Thus, TNF α , IL-1 β , IL-6 and IFN- γ seem to be responsible for impaired EPO synthesis in the development of anemia associated with inflammation (Figure 1).

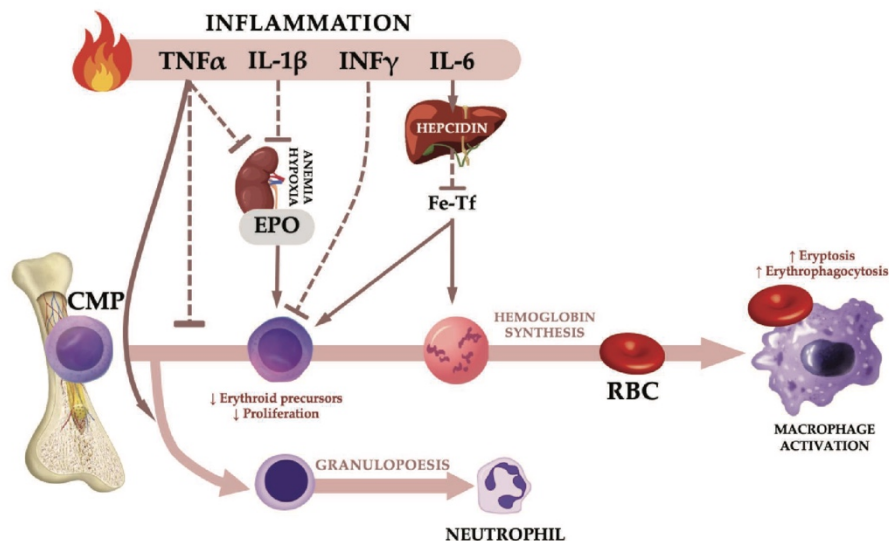


Figure 1. Mechanisms associated with anemia of inflammation: TNF α , tumor necrosis factor α ; IL-1 β , interleukin 1 β ; INF- γ , interferon γ ; IL-6, interleukin 6; EPO, erythropoietin; Fe-Tf, iron-transferrin; CMP, common myeloid progenitor; RBC, red blood cell. Dashed line represents inhibition. The upward arrow symbolizes growth or an upward trend, while the downward arrow signifies a reduction or a downward trend.

Anemia contributes to age-associated diseases and significantly affects the health-related quality of life [6]. In older individuals, even mild anemia is associated with an increased risk of falls, decreased physical performance, longer and more frequent stays in hospital and increased mortality [5,25–27]. Despite its clinical importance, evidence-based guidelines for anemia management in older adults are yet to be developed [28]. The underlying cause of anemia still remains unexplained in 30% of cases [29]. It is important to identify the pathways that control age-related inflammation across multiple systems in order to understand and prevent anemia [14]. Therefore, the present study focused primarily on the evaluation of the major feature of inflammation in relation to anemia, thereby indicating therapeutic strategies to counteract the pathophysiological effect of age-associated changes in red blood cell system.

2. Results

2.1. Participants and Body Composition

In anemic group, the participants were significantly older than in the non-anemic group (Table 1). Moreover, the number of males was higher in the anemic group ($n = 33$) than in non-anemic group ($n = 18$). BMI ranged from 20.7 to 40.8 kg/m². For age, AUC was relatively high in the tested model, anemic vs. non-anemic (AUC = 0.722, sensitivity 62.1%, specificity 74.2%), which indicates a good prognostic value of age to distinguish the individuals with anemia from no-anemia ones. The odds ratio (OR) of >1 means that individuals aged >71.5 years (cut-off value) demonstrated a four-fold higher probability of developing anemia (OR = 4.712, 95%CI 1.961–11.959). Approximately 55% of the study participants had a normal body mass (18.5–24.9 kg/m²), 29.2% were classified as overweight (25.0–29.9 kg/m²) and 15.9% as obese (≥ 30 kg/m²) [30].

Table 1. Age and anthropometric characteristics.

	Anemic <i>n</i> = 47	Non-Anemic <i>n</i> = 66	Anemic vs. Non-Anemic <i>p</i> Level
	Mean $\pm$ SD (Me)	Mean $\pm$ SD (Me)	
Age (years)	77.3 $\pm$ 5.0 (78.0)	71.8 $\pm$ 7.6 (71.0)	<0.001
Weight (kg)	74.7 $\pm$ 12.7 (73.0)	69.7 $\pm$ 10.5 (67.5)	<0.001
Height (cm)	167.3 $\pm$ 6.5 (168.0)	160.2 $\pm$ 6.0 (159.0)	<0.001
BMI (kg/m ²)	26.6 $\pm$ 3.6 (26.1)	27.3 $\pm$ 3.7 (27.1)	0.765

Abbreviations: BMI, body mass index.

2.2. Hematological Variables

White blood cells, neutrophils, lymphocytes and monocytes were within the referential ranges, and they did not differ significantly between the anemic and non-anemic groups (Table 2). According to the Culleton et al. classification [5], 42% of our study individuals were described as anemic (Hb < 13.0 g/dL for women and Hb < 14.0 g/dL for men). Admittedly, men with a low concentration of Hb constituted 70% of the anemic group, but no significant differences were observed between women (13.36 $\pm$ 0.84 g/dL) and men (13.37 $\pm$ 1.65 g/dL). In the total observed population, men demonstrated significantly lower levels of iron and transferrin (Tf) (84.38 $\pm$ 26.72 μ g/dL and 2.75 $\pm$ 1.16 mg/dL) than women (100.82 $\pm$ 31.71 μ g/dL and 3.17 $\pm$ 1.99 mg/dL), whereas ferritin levels did not differ between sexes. Hb was inversely correlated with IL-1 β (r_s = −0.581, p < 0.0001), which confirms the impairment of Hb synthesis under inflammation [19,20,22,23]. The other hematological variables such as RBC, MCV, MCH, RDV, iron and ferritin were significantly lower, whereas EPO and Tf were within the referential ranges but tended toward higher values in the anemic group. Approximately 26% of the study participants demonstrated transferrin saturation (TfS) < 20%, and 20% had ferritin <10–15 ng/mL, which together indicates age-related iron deficiency. For TfS, AUC is relatively high in the tested model, anemic vs. non-anemic group (AUC = 0.756, sensitivity 62.2%, specificity 83.0%, OR = 7.76, 95%CI 2.64–25.23), which indicates a good affiliation of TfS to the observed population compared to other markers of iron deficiency.

Table 2. Hematological variables.

	Reference Values	Anemic <i>n</i> = 47	Non-Anemic <i>n</i> = 66	Anemic vs. Non-Anemic <i>p</i> Level
		Mean $\pm$ SD (Me)	Mean $\pm$ SD (Me)	
WBC (10 ³ / μ L)	4.0–10.2	6.37 $\pm$ 2.12 (5.67)	6.25 $\pm$ 1.72 (6.08)	0.937
Neutrophils (10 ³ / μ L)	2.0–6.9	4.14 $\pm$ 1.87 (3.90)	3.59 $\pm$ 1.44 (3.29)	0.052
Lymphocytes (10 ³ / μ L)	0.6–3.4	1.80 $\pm$ 0.77 (1.66)	1.89 $\pm$ 0.63 (1.84)	0.207
Monocytes (10 ³ / μ L)	0.00–0.90	0.44 $\pm$ 0.19 (0.42)	0.56 $\pm$ 0.29 (0.51)	0.055
RBC (10 ⁶ / μ L)	F 4.0–5.5 M 4.5–6.6	4.20 $\pm$ 0.39 (4.24)	4.69 $\pm$ 0.53 (4.64)	<0.001
Hb (g/dL)	F 12.5–16.0 M 13.5–18.0	12.50 $\pm$ 0.98 (12.70)	14.26 $\pm$ 0.90 (14.05)	<0.001
Hct%	F 37–47 M 40.0–51.0	36.25 $\pm$ 3.56 (37.0)	42.58 $\pm$ 2.87 (42.25)	<0.001
MCV (fL)	82–92	86.42 $\pm$ 6.30 (88.00)	91.30 $\pm$ 4.99 (91.95)	<0.001
MCH (pg)	27–33	29.81 $\pm$ 1.56 (29.80)	30.58 $\pm$ 1.61 (30.75)	<0.001

Table 2. Cont.

	Reference Values	Anemic <i>n</i> = 47	Non-Anemic <i>n</i> = 66	Anemic vs. Non-Anemic <i>p</i> Level
		Mean $\pm$ SD (Me)	Mean $\pm$ SD (Me)	
MCHC (g/dL)	32–36	34.61 $\pm$ 1.93 (33.70)	33.52 $\pm$ 1.16 (33.35)	0.015
RDW%	11.5–14.5	14.56 $\pm$ 2.44 (14.30)	14.75 $\pm$ 0.98 (14.85)	<0.001
Platelets ($10^3/\mu\text{L}$)	140–420	219 $\pm$ 56 (211)	229 $\pm$ 57 (226)	0.417
MPV (fL)	7.5–10.5	8.85 $\pm$ 1.77 (9.10)	7.26 $\pm$ 1.16 (7.11)	<0.001
Iron ($\mu\text{g}/\text{dL}$)	F 37–145 M 58–158	78.22 $\pm$ 24.76 (76.20)	104.21 $\pm$ 30.27 (101.60)	<0.001
Ferritin (ng/mL)	F 10–200 M 15–400	16.04 $\pm$ 21.82 (8.60)	38.27 $\pm$ 44.91 (23.43)	<0.001
Tf (mg/dL)	200–400	393 $\pm$ 184 (306)	302 $\pm$ 99 (298)	0.096
TfS%	20–50	23.40 $\pm$ 11.24 (21.14)	37.09 $\pm$ 15.90 (37.07)	<0.001
EPO (mU/mL)	4.3–29	12.77 $\pm$ 4.32 (11.02)	8.05 $\pm$ 3.04 (7.24)	0.197

Abbreviations: WBC, white blood cells; RBC, red blood cells; Hb, hemoglobin; Hct, hematocrit; MCV, mean cell volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; RDW, red cell distribution width; MPV, mean platelet volume; Tf, transferrin; TfS, transferrin saturation; EPO, erythropoietin.

2.3. Biochemical Variables

The total cholesterol and lipoproteins have been proven to be the strongest biomarkers of aging [31]. High levels of TG > 150 mg/dL were found in 23% of the study participants, whereas high levels of TC > 200 mg/dL, LDL > 130 mg/dL and non-HDL > 130 mg/dL were recorded in 63% of them. HDL lipoproteins were significantly lower in the anemic group than in the non-anemic group (Table 3). As is the case with cholesterol, an elevated glucose level is a known biomarker of aging, and it is associated with alterations in metabolic and hormonal functioning, including altered expression of cellular insulin receptors and glucose transporter units in target tissues [31]. Some participants (*n* = 9) demonstrated an increased glucose level >115 mg/dL without being diagnosed with diabetes. Serum bilirubin level, as a biomarker of red blood cells aging or disintegration, was recorded within normal ranges, but it was two-fold higher in the anemic group, which may enhance erythropoiesis expressed as a high EPO concentration in that group (Table 4).

Table 3. Lipoprotein-lipid profile and other biochemical variables.

	Reference Values	Anemic <i>n</i> = 47	Non-Anemic <i>n</i> = 66	Anemic vs. Non-Anemic <i>p</i> Level
		Mean $\pm$ SD (Me)	Mean $\pm$ SD (Me)	
TG (mg/dL)	<150	114.43 $\pm$ 36.69 (117.40)	143.78 $\pm$ 31.77 (139.23)	<0.001
TC (mg/dL)	<200	194.80 $\pm$ 48.87 (187.96)	228.90 $\pm$ 38.67 (228.70)	<0.001
LDL (mg/dL)	<130	91.37 $\pm$ 35.93 (90.58)	87.89 $\pm$ 30.84 (89.05)	0.864
oxLDL (mg/dL)	–	0.031 $\pm$ 0.034 (0.016)	0.038 $\pm$ 0.041 (0.014)	0.822
HDL (mg/dL)	desirable > 60	61.25 $\pm$ 13.74 (60.70)	71.48 $\pm$ 19.49 (69.59)	<0.001
non-HDL (mg/dL)	<130	133.56 $\pm$ 45.62 (125.16)	157.42 $\pm$ 43.37 (160.04)	<0.001
Glucose (mg/dL)	60–115	94.44 $\pm$ 28.17 (86.50)	93.33 $\pm$ 20.61 (93.40)	<0.001
Bilirubin (mg/dL)	<1.0	0.24 $\pm$ 0.18 (0.22)	0.12 $\pm$ 0.13 (0.07)	<0.001

Abbreviations: TG, triglycerides; TC, total cholesterol; LDL, low-density lipoproteins; oxLDL, oxidized low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoproteins; non-HDL, cholesterol calculated by subtracting the HDL value from a TC.

Table 4. Inflammatory variables.

	Anemic <i>n</i> = 47	Non-Anemic <i>n</i> = 66	Anemic vs. Non-Anemic <i>p</i> Level
	Mean $\pm$ SD (Me)	Mean $\pm$ SD (Me)	
CRP (mg/L)	3.12 $\pm$ 2.34 (3.12)	2.92 $\pm$ 2.29 (2.54)	0.843
NPT (nmol/L)	23.16 $\pm$ 11.30 (22.88)	19.95 $\pm$ 5.86 (19.95)	0.205
HPC (ng/mL)	16.84 $\pm$ 13.88 (15.60)	6.42 $\pm$ 3.29 (6.08)	<0.001
IL-1 β (ng/mL)	11.69 $\pm$ 9.83 (8.19)	2.55 $\pm$ 3.64 (1.21)	<0.001
IL-6 (pg/mL)	97.22 $\pm$ 68.28 (75.78)	74.98 $\pm$ 27.27 (74.72)	0.195
TNF α (ng/mL)	121.50 $\pm$ 69.82 (112.00)	85.65 $\pm$ 59.64 (82.41)	<0.001

Abbreviations: CRP, C-reactivity protein; NPT, neopterin; HPC, hepcidin; IL-1 β , interleukin 1 β ; IL-6, interleukin 6; TNF α , tumor necrosis factor α .

2.4. Inflammatory Variables

Most observational studies and clinical trials have used high-sensitivity CRP as a biochemical marker of inflammation because it is relatively stable and easy to measure. In our study, CRP concentration was recorded at ≥ 3 mg/L in 43% of the patients, which indicates the subclinical inflammatory state according to the reference values for the older adults described by Wyczalkowska-Tomasik et al. [32]. NPT concentration reached high values >10 nmol/L in the majority of our patients, indicating a crucial role of NPT in inflammaging. However, CRP and NPT levels did not differ between anemic and non-anemic groups in a statistically significant manner (Table 4). Classical cytokine biomarkers of aging including IL-1 β , IL-6 and TNF α were higher in the anemic group. The most considerable changes concerned IL-1 β , TNF α and HPC, which were approx. 1.5–3-fold higher in the anemic group than in the non-anemic group (Table 4). The diagnostic ability of hematological and inflammatory variables was determined by receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. The results of the ROC and OR analysis of age and inflammatory variables, i.e., IL-1 β , TNF α and HPC, indicate a potential diagnostic value for clinical prognosis for patients with age-associated anemia. The optimal threshold values corresponded to 71.5 years for age, 5.3 ng/mL for IL-1 β , 97.7 ng/mL for TNF α and 9.4 ng/mL for HPC (Table 5). The highest average odds ratio was observed for IL-1 β (AUC = 0.922, OR = 72.374, 95%CI 19.688–354.366), which indicates this cytokine as a good marker of inflammation-related anemia. The highest sensitivity (87.9%) and specificity (91.5%) were also observed for IL-1 β , which, in turn, indicates a low level of false-positive results during diagnostic procedure. It was surprising that IL-6, called “a cytokine for gerontologists” [17], showed poor diagnostic usefulness to distinguish the individuals with anemia from no-anemia ones (AUC = 0.523, sensitivity 62.2%, specificity 51.1%, OR = 1.939, 95%CI 0.848–4.489) compared to other cytokines (Table 5). Interestingly, HPC level was more than twice as high in the study for men (16.79 $\pm$ 16.08 ng/mL) compared to women (7.00 $\pm$ 6.99 ng/mL), which resulted in low iron concentrations in men. For HPC, AUC was relatively high in the tested model, anemic vs. non-anemic (AUC = 0.735, sensitivity 84.8%, specificity 59.6%, OR = 8.069, 95%CI 3.131–22.397), which indicates a good affiliation of this pathogenic factor to the observed population.

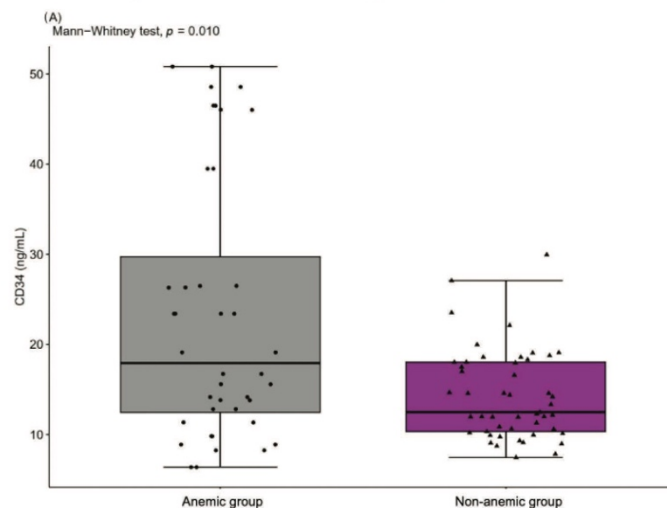
Table 5. The statistical characteristics of the ROC curve for hematological and inflammatory variables and the odds ratio for indications determined by the cut-off values ($n = 113$).

Variables	AUC	Cut-off Value	Sensitivity (%)	Specificity (%)	OR	95%CI
Iron ($\mu\text{g/dL}$)	0.745	88.6	68.2	72.3	5.510	2.292–13.937
Ferritin (ng/mL)	0.652	16.4	60.6	74.5	4.424	1.845–11.193
Tf (mg/mL)	0.622	3.2	78.4	48.9	3.422	1.208–10.546
TfS (mg/dL)	0.756	32.5	62.2	83.0	7.76	2.64–25.23
EPO (mU/mL)	0.583	8.48	59.1	48.9	0.725	0.318–1.643
HPC (ng/mL)	0.735	9.4	84.8	59.6	8.069	3.131–22.397
IL-1 β (ng/mL)	0.922	5.3	87.9	91.5	72.374	19.688–354.366
IL-6 (pg/mL)	0.523	75.5	65.2	51.1	1.939	0.848–4.489
TNF α (ng/mL)	0.685	97.7	74.2	66.0	5.488	2.292–13.741

Abbreviations: AUC, the area under the curve; cut-off value the optimal threshold value for clinical stratification; OR, odds ratio; 95%CI, confidence interval.

2.5. Peripheral Blood Mononuclear Cells

The levels of peripheral blood mononuclear cells CD34 and CD38 were significantly higher in the anemic group (23.40 ± 14.63 ng/mL and 1.73 ± 0.83 ng/mL) than the non-anemic group (17.81 ± 10.57 ng/mL and 1.37 ± 0.74 ng/mL), which proves that these cells participate in the compensation mechanism in age-associated anemia. The levels of CD34 and CD38 changed simultaneously (Figure 2). For CD34 and CD38, AUC was moderately high in the tested model, anemic vs. non-anemic (AUC = 0.600, sensitivity 76.8%, specificity 50.0% for CD34, and AUC = 0.657, sensitivity 76.8%, specificity 57.8% for CD38), which indicates their moderate diagnostic utility in patients with anemia. However, the OR values for CD34 (OR = 3.264, 95%CI 1.263–8.747) and CD38 (OR = 4.398, 95%CI 1.701–11.906) suggested a significantly higher probability of developing anemia in patients with cut-off values >19.1 ng/mL for CD34 and >1.4 ng/mL for CD38.

**Figure 2.** Cont.

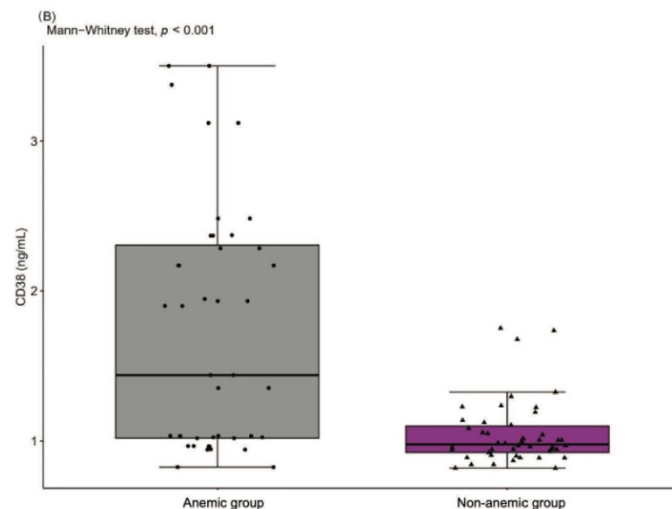


Figure 2. The levels of peripheral blood mononuclear cells CD34 (A) and CD38 (B) in anemic (represented by black circles) and non-anemic (represented by black triangles) groups.

3. Discussion

In this study, low Hb concentration was observed to be associated with subclinical, chronic inflammation, exhibited by high levels of IL-1 β and TNF α , and their inverse correlations (Hb/IL-1 β $r_s = -0.581$, $p < 0.0001$; Hb/TNF α $r_s = -0.225$, $p < 0.01$) in the analyzed population. Inflammation is typically manifested by the release of a large number of pro-inflammatory mediators which are produced to repair damage at the tissue level; however, their persistently elevated levels contribute to the damaging catabolic effects on aging tissues, leading to degradation and damage acceleration and eventually causing a decline in mental and physical performance [17,33]. In the large InCHIANTI study of more than 1300 individuals, the levels of IL-6, IL-1ra, IL-18, CRP and fibrinogen were all elevated in patients aged over 65; yet, when adjusted for cardiovascular risk factors and morbidity, the elevation was reduced [34]. The unexplained anemia cohort (36% of all the anemic population) was found to have higher levels of pro-inflammatory markers and higher resistance of bone marrow erythroid progenitors to erythropoietin compared to non-anemic controls [8,35]. In our study population, hematological variables such as RBC, MCV, MCH, RDV, iron and ferritin were significantly lower in the group with low Hb concentration, and 26% of individuals demonstrated TfS < 20%, which together indicates age-related anemia. EPO tended toward high values in anemic group, and it was two-fold higher in men (13.06 ± 12.65 mU/mL) than women (7.96 ± 4.63 mU/mL). A sex breakdown was reported in the majority of studies concerning anemia in older adults [36].

Population studies reported the mean and median Hb concentrations to be higher by 12% in age-matched men in comparison to women [37]. Altered end-organ response to circulating testosterone or EPO, reduced erythropoietic reserve or decreased marrow reactivity may account for the observed increase in anemia with age, particularly in older men. Sex differences, however, may reflect the prevalence of undetected chronic disease or other underlying causes of anemia in these populations [38]. The difference in Hb levels observed between our study women (13.36 ± 0.84 g/dL) and men (13.37 ± 1.65 g/dL) was not significant in the total population, which confirms the validity of the suggestion put forward by Wouters et al. [6] that the value of Hb < 13.0 g/dL should be applied for both sexes aged over 60 years.

The studies from the nineties demonstrated that EPO blood level in anemic patients suffering from inflammation was often decreased in relation to Hb concentration. To date, various proinflammatory cytokines have been tested for their action on the EPO gene expression in isolated perfused rat kidneys and in human hepatoma cell cultures, and it is mainly IL-1 β and TNF α that have been indicated as molecules responsible for the defect in EPO production in severe systemic and renal inflammatory diseases [35]. However, in studies conducted in older adults, the elevated EPO production can potentially be triggered by an impaired oxygen delivery to the kidney, which can result from various pathophysiologic mechanisms such as anemia, hypoperfusion caused by renal arteriosclerosis, decreased renal blood flow or heart failure, decreased oxygen saturation due to diseases such as chronic obstructive pulmonary disease, and eryptosis-related decrease in blood oxygen capacity [18,39]. Generally, there are two relevant hypotheses, i.e., a decreased production of EPO or an insufficient bone marrow response to EPO, but neither of them has been satisfactorily resolved by experimental evidence [18]. The elevated EPO level recorded in the anemic group (12.77 ± 4.32 mU/mL) when compared to the non-anemic group (8.05 ± 3.04 mU/mL) clearly emphasizes the need for further studies to investigate whether the elevated EPO levels observed in anemic patients are due to EPO resistance. One potential study design could involve comparing the EPO levels of anemic patients to those of younger patients with uncomplicated iron deficiency and the same degree of anemia. This would facilitate a direct comparison of EPO response between two groups with similar anemia severity but different age and disease status. If the EPO response is blunted in anemic patients compared to younger patients with iron deficiency, this would suggest the presence of EPO resistance in the anemic group. Such studies could provide valuable insights into the underlying mechanisms of anemia and EPO resistance, which could ultimately inform the development of more effective management strategies.

The pro-inflammatory state is thought to elicit a chronic elevation of circulating hepcidin leading to impaired availability of plasma iron, limiting Hb synthesis and eventually causing anemia of inflammation. Whether HPC plays a role in anemia in older adults from the general population has been debated [40]. HPC binds to the membrane protein ferroportin, an iron efflux channel on the surface of absorptive enterocytes, macrophages and hepatocytes, and induces its internalization and degradation in lysosomes, thereby sequestering iron in the cytoplasm of these cells [41]. As a result, serum iron level decreases rapidly [40]. The anemic group in our study demonstrated higher levels of HPC than their counterparts without anemia. Earlier, the Leiden 85-plus Study showed elevated serum hepcidin levels, unlike the InCHIANTI study, which did not demonstrate an increase in urinary hepcidin levels in older adults with anemia of inflammation [34,40]. In turn, the Val Borbera study [42] and the Nijmegen Biomedical Studies [43] showed that hepcidin levels in pre-menopausal women were nearly 50% lower than in men of corresponding ages. After the menopause, hepcidin levels tended to be similar in both sexes. Interestingly, in our study, HPC levels remained at lower levels in women (7.00 ± 6.99 ng/mL) than in men (16.79 ± 16.08 ng/mL). The cut-off value for HPC ≥ 9.4 ng/mL significantly increased the risk of anemia in the observed population. The results of the ROC analysis of HPC, as was the case in cytokines IL-1 β and TNF α , ranged between 0.6 and 1.0, indicating a potential diagnostic value for clinical prognosis for patients with age-associated anemia.

In older populations, changes in ferritin concentration do not always correlate with variations in iron stores because ferritin is an acute phase protein and is affected by inflammatory processes irrespective of the iron store status. Lower levels of ferritin were recorded in our anemic group (16.04 ± 21.82 ng/mL) when compared to the non-anemic group (38.27 ± 44.91 ng/mL), which proves the depletion of iron stores. However, diagnostic capability of ferritin varies across different studies with regard to cut-off points [44–46]. In our study, the cut-off value for ferritin was 16.4 ng/mL. This result indicates that in the individuals aged 60 years and older, iron deficiency anemia may develop with higher levels of serum ferritin than 10 ng/mL (reference value for women) and 15 ng/mL (reference value for men). Hence, the conventional serum ferritin cut-off value used to diagnose

iron deficiency anemia in young adults is not applicable for the older adults. This creates difficulties in the diagnostic capability of the ferritin test in anemia diagnostics. Our observations warrant further investigations to determine the ferritin level of more reliable diagnostic properties. A systematic review of 55 studies found some variations in ferritin test results across populations with and without inflammatory processes, liver disease or neoplastic diseases [47]. For ferritin, AUC was moderate in the tested model anemic vs. non-anemic (AUC = 0.652, sensitivity 60.6%, specificity 74.5%), which indicates mediocre diagnostic utility, whereas for the TfS, AUC was relatively high (AUC = 0.756, sensitivity 62.2%, specificity 83.0%, OR = 7.76, 95%CI 2.64–25.23), which indicates a good affiliation of TfS to the observed population. Studies have showed that TfS is less affected by inflammatory processes and may therefore be more accurate and reliable than serum ferritin, particularly in conditions with elevated inflammatory state [48].

The last decade of studies has indicated the hematopoietic stem cell's ability to differentiate into various blood cell types, such as red and white blood cells and platelets. These stem cells can self-renew, and they can generate fully developed blood cells [49]. CD34 is expressed on the surface of peripheral blood mononuclear cells such as hematopoietic progenitor cells and endothelial cells [49,50], and studies on CD34 function suggested that it might play a role in cell adhesion and signal transduction [51]. CD38 is expressed on early and activated hematopoietic cells [50], and it is particularly associated with immune cells such as B cells, T cells and natural killer cells. While CD38 expression has been observed in hematopoietic stem cells, its role in these cells is still not fully understood. However, studies suggest that CD38 may play a role in the regulation of hematopoietic stem cells differentiation and proliferation [52]. CD34 and CD38 proteins are usually used as surface markers to identify hematopoietic stem cells and leukemic stem cells [53]. This study is the first to have shown high CD34 and CD38 expression in older adults with anemia of inflammation (Figure 2). Although the available literature on CD34 and CD38 involvement in anemia is limited, and the exact mechanisms underlying the observed differences in CD34 and CD38 levels are not fully understood, the engagement of several factors may already be identified. One possibility is that the higher expression of these markers in the anemic group reflected a compensatory response to the reduced oxygen-carrying capacity of the blood [54,55], indicated by odd ratios >1 for CD34 and CD38. Another possibility is that high levels of CD34 and CD38 might be a marker of increased inflammation or oxidative stress in the anemic group. Both anemia and oxidative stress are known to promote the release of pro-inflammatory cytokines and reactive oxygen species, which can activate immune cells and potentially induce the expression of CD34 and CD38 [56]. Therefore, further studies into the underlying mechanisms of CD34 and CD38 expression in inflammatory-related anemia are needed to fully understand their potential usefulness as indicators of anemia severity and associated pathologies.

4. Materials and Methods

4.1. Participants

One hundred and thirteen individuals were recruited from the University of the Third Age in Zielona Gora (Poland), which is an organization encouraging adults over 60 years of age to stay active by participating in many educational programs. The current health status of the participants was assessed on the basis of medical records at a routine follow-up visit to a primary care physician. The inclusion criteria included the age of 65 years or older and the same access to medical healthcare provided by the same medical center. On the basis of the medical interview, the following exclusion criteria were applied: acute infectious and autoimmune diseases, uncontrolled hypertension and/or diabetes, oncologic diseases, neurodegenerative diseases and folate (<1.8 ng/mL) or vitamin B12 (<140 pg/mL) deficiency. The participants (females $n = 62$, males $n = 51$) aged 73.0 ± 7.2 years were included in the project, and they were allocated to two groups, i.e., anemic ($n = 47$) and non-anemic ($n = 66$), as a conventional marker of anemia, according to the reference values <13 g/dL for women and <14 g/dL for men, as defined by Culleton et al. [5]. The

medications taken by the participants included antihypertensive (84%) and hypolipidemic (10%) drugs as well as anticoagulants including anti-platelet agents (15%). All the subjects were informed of the aim of the study and signed a written consent to participate in the project. The study protocol was approved by the Regional Bioethics Commissions (Regional Medical Chamber in Zielona Gora, No. 04/133/2020, University of Zielona Gora No. UZ/19/2021), in accordance with the Helsinki Declaration.

4.2. Blood Sampling

Fasting blood samples were collected from the median cubital vein in the morning between 8.00 and 10.00 using S-Monovette tubes (Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Germany). The whole-blood samples were placed into specimen tubes containing EDTA and were immediately analyzed. For the other biochemical analyses, blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 min, and aliquots of serum were stored at -80°C . The average intra-assay coefficients of variation (intra-assay CV) for the used enzyme immunoassay tests (ELISA) were $<8\%$. All samples were analyzed in duplicate in a single assay to avoid inter-assay variability.

4.3. Hematological Variables

Hematological parameters including total white blood cell count (WBC), red blood cell count (RBC), platelet count, differential white cell count (neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils and basophils) and hemoglobin concentration (Hb) were determined by Sysmex XN-1000 (Sysmex Europe GmbH, Norderstedt, Germany). Iron and ferritin levels were determined using BM200 Biomaxima (Lublin, Poland). The levels of transferrin (Tf) and erythropoietin were identified by using ELISA kits from SunRed Biotechnology Company (Shanghai, China) with detection limit of 0.05 mg/mL and 0.526 mU/mL. The percent of transferrin saturation (TfS) was calculated as follows: $\text{TfS}\% = (\text{serum iron level} / \text{transferrin level}) \times 100$.

4.4. Biochemical Variables

Serum triglycerides (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoproteins (HDL) and low-density lipoproteins (LDL) were determined using BM200 Biomaxima (Lublin, Poland). The non-HDL cholesterol was calculated by subtracting HDL from total cholesterol concentration. Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) was determined using ELISA kits from SunRed Biotechnology Company (Shanghai, China) with detection limit at 30.3 ng/mL. Glucose and bilirubin were determined using BM200 Biomaxima (Lublin, Poland).

4.5. Inflammatory Variables and Peripheral Blood Mononuclear Cells

C-reactive protein (CRP), neopterin (NPT) and hepcidin (HPC) concentrations were determined using highly sensitive ELISA kits from DRG International Inc. (Springfield Township, Cincinnati, OH, USA). The detection limits for CRP, NPT and HPC were set at 0.001 mg/L, 0.7 nmol/L and 0.153 ng/mL, respectively. IL-1 β , IL-6 and TNF α concentrations were determined by using ELISA kits from SunRed Biotechnology Company (Shanghai, China) with detection limits of 0.028 ng/mL, 1.867 pg/mL and 2.782 ng/mL, respectively. The levels of peripheral blood mononuclear cells expressing CD34 and CD38 were determined by using ELISA kits from SunRed Biotechnology Company (Shanghai, China) with detection limit of 0.167 ng/mL and 0.009 ng/mL, respectively.

4.6. Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using R 4.2.1 software [57]. Levene and the Shapiro–Wilk tests were used to evaluate the homogeneity of variances and the normality of the distributions, respectively. The significant differences in mean values between the groups (anemic and non-anemic) were assessed via Student's *t*-test. If the homogeneity and normality assumptions were violated, the non-parametric Mann–Whitney test was used. The optimal clinical stratification thresholds (cut-off values) were based on receiver

operating characteristic (ROC) curves by calculating the Youden index. The odds ratio (OR) was calculated using odds ratio function from the epitools package in R. Spearman's rank correlation coefficient (r_s) was used to investigate the relationships between hematological and inflammatory markers. The variables were reported as mean value $\pm$ standard deviation (SD) or median (Me). Statistical significance was set at $p < 0.05$.

5. Conclusions

The mechanisms underlying low Hb levels in older adults are multifactorial and complex. Our study suggested that the underlying mechanisms involve subclinical chronic low-grade inflammation, bone marrow resistance to EPO, and changes in hepcidin levels, ultimately affecting iron metabolism and resulting in lower serum iron levels. IL-1 β , TNF α and hepcidin revealed the highest diagnostic value, whereas CD34 and CD38 showed usefulness in evaluation of the compensatory response to the reduced oxygen-carrying capacity in inflammatory-related anemia. A comprehensive understanding of these mechanisms is crucial for accurate diagnosis and effective management of anemia in older patients. Further research is warranted to fully elucidate the complex interplay between hematological and inflammatory factors. Our improved understanding of the pathophysiological mechanisms underlying anemia could serve as crucial intervention targets, leading to enhanced survival and overall quality of life in the older population.

Author Contributions: Conceptualization, E.W. and A.Z.-L.; data curation, B.M.; formal analysis, E.W., E.W.-G., A.T., B.M. and M.G.; funding acquisition, A.Z.-L.; methodology, E.W.-G. and B.M.; software, E.W.-G.; supervision, A.Z.-L.; visualization, E.W. and E.W.-G.; writing—original draft, E.W.; writing—review and editing, E.W. and E.W.-G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by funds from the University of Zielona Gora (No. 222267/E-545/S/2019).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Regional Bioethics Commission (No. 04/133/2020 and No. UZ/19/2021).

Informed Consent Statement: A written consent for participation was obtained from patients who were informed of the aim of the study.

Data Availability Statement: The data used to support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Shavelle, R.M.; MacKenzie, R.; Paculdo, D.R. Anemia and Mortality in Older Persons: Does the Type of Anemia Affect Survival? *Int. J. Hematol.* **2012**, *95*, 248–256. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Beutler, E.; Waalen, J. The Definition of Anemia: What Is the Lower Limit of Normal of the Blood Hemoglobin Concentration? *Blood* **2006**, *107*, 1747–1750. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Stauder, R.; Valent, P.; Theurl, I. Anemia at Older Age: Etiologies, Clinical Implications, and Management. *Blood* **2018**, *131*, 505–514. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Zakai, N.A.; Katz, R.; Hirsch, C.; Shlipak, M.G.; Chaves, P.H.M.; Newman, A.B.; Cushman, M. A Prospective Study of Anemia Status, Hemoglobin Concentration, and Mortality in an Elderly Cohort: The Cardiovascular Health Study. *Arch. Intern. Med.* **2005**, *165*, 2214–2220. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Culleton, B.F.; Manns, B.J.; Zhang, J.; Tonelli, M.; Klarenbach, S.; Hemmelgarn, B.R. Impact of Anemia on Hospitalization and Mortality in Older Adults. *Blood* **2006**, *107*, 3841–3846. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Wouters, H.J.C.M.; van der Klauw, M.M.; de Witte, T.; Stauder, R.; Swinkels, D.W.; Wolffenbuttel, B.H.R.; Huls, G. Association of Anemia with Health-Related Quality of Life and Survival: A Large Population-Based Cohort Study. *Haematologica* **2019**, *104*, 468–476. [\[CrossRef\]](#)
7. Girelli, D.; Marchi, G.; Camaschella, C. Anemia in the Elderly. *Hemasphere* **2018**, *2*, e40. [\[CrossRef\]](#)
8. Cappellini, M.D.; Motta, I. Anemia in Clinical Practice-Definition and Classification: Does Hemoglobin Change with Aging? *Semin. Hematol.* **2015**, *52*, 261–269. [\[CrossRef\]](#)

9. Penninx, B.W.J.H.; Guralnik, J.M.; Onder, G.; Ferrucci, L.; Wallace, R.B.; Pahor, M. Anemia and Decline in Physical Performance among Older Persons. *Am. J. Med.* **2003**, *115*, 104–110. [\[CrossRef\]](#)
10. Katsumi, A.; Abe, A.; Tamura, S.; Matsushita, T. Anemia in Older Adults as a Geriatric Syndrome: A Review. *Geriatr. Gerontol. Int.* **2021**, *21*, 549–554. [\[CrossRef\]](#)
11. Woodman, R.; Ferrucci, L.; Guralnik, J. Anemia in Older Adults. *Curr. Opin. Hematol.* **2005**, *12*, 123–128. [\[CrossRef\]](#)
12. Guralnik, J.M.; Eisenstaedt, R.S.; Ferrucci, L.; Klein, H.G.; Woodman, R.C. Prevalence of Anemia in Persons 65 Years and Older in the United States: Evidence for a High Rate of Unexplained Anemia. *Blood* **2004**, *104*, 2263–2268. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Lanier, J.B.; Park, J.J.; Callahan, R.C. Anemia in Older Adults. *Am. Fam. Physician* **2018**, *98*, 437–442.
14. Franceschi, C.; Campisi, J. Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential Contribution to Age-Associated Diseases. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2014**, *69* (Suppl. S1), S4–S9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Wawrzyniak-Gramacka, E.; Hertmanowska, N.; Tylutka, A.; Morawin, B.; Wacka, E.; Gutowicz, M.; Zembron-Lacny, A. The Association of Anti-Inflammatory Diet Ingredients and Lifestyle Exercise with Inflammaging. *Nutrients* **2021**, *13*, 3696. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Franceschi, C.; Bonafè, M.; Valensin, S.; Olivieri, F.; De Luca, M.; Ottaviani, E.; De Benedictis, G. Inflamm-Aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2006**, *908*, 244–254. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Mincinullo, P.L.; Catalano, A.; Mandraffino, G.; Casciaro, M.; Crucitti, A.; Maltese, G.; Morabito, N.; Lasco, A.; Gangemi, S.; Basile, G. Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **2016**, *64*, 111–126. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Bissinger, R.; Bhuyan, A.A.M.; Qadri, S.M.; Lang, F. Oxidative Stress, Eryptosis and Anemia: A Pivotal Mechanistic Nexus in Systemic Diseases. *FEBS J.* **2019**, *286*, 826–854. [\[CrossRef\]](#)
19. Weiss, G.; Ganz, T.; Goodnough, L.T. Anemia of Inflammation. *Blood* **2019**, *133*, 40–50. [\[CrossRef\]](#)
20. Muckenthaler, M.U.; Rivella, S.; Hentze, M.W.; Galy, B. A Red Carpet for Iron Metabolism. *Cell* **2017**, *168*, 344–361. [\[CrossRef\]](#)
21. La Ferla, K.; Reimann, C.; Jelkmann, W.; Hellwig-Bürgel, T. Inhibition of Erythropoietin Gene Expression Signaling Involves the Transcription Factors GATA-2 and NF-KappaB. *FASEB J.* **2002**, *16*, 1811–1813. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Rivkin, M.; Simerzin, A.; Zorde-Khvaleyevsky, E.; Chai, C.; Yuval, J.B.; Rosenberg, N.; Harari-Steinfeld, R.; Schneider, R.; Amir, G.; Condiotti, R.; et al. Inflammation-Induced Expression and Secretion of MicroRNA 122 Leads to Reduced Blood Levels of Kidney-Derived Erythropoietin and Anemia. *Gastroenterology* **2016**, *151*, 999–1010.e3. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Krajewski, J.; Batmunkh, C.; Jelkmann, W.; Hellwig-Bürgel, T. Interleukin-1beta Inhibits the Hypoxic Inducibility of the Erythropoietin Enhancer by Suppressing Hepatocyte Nuclear Factor-4alpha. *Cell. Mol. Life Sci.* **2007**, *64*, 989–998. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Taniguchi, S.; Dai, C.H.; Price, J.O.; Krantz, S.B. Interferon Gamma Downregulates Stem Cell Factor and Erythropoietin Receptors but Not Insulin-like Growth Factor-I Receptors in Human Erythroid Colony-Forming Cells. *Blood* **1997**, *90*, 2244–2252. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Penninx, B.W.J.H.; Pluijm, S.M.F.; Lips, P.; Woodman, R.; Miedema, K.; Guralnik, J.M.; Deeg, D.J.H. Late-Life Anemia Is Associated with Increased Risk of Recurrent Falls. *J. Am. Geriatr. Soc.* **2005**, *53*, 2106–2111. [\[CrossRef\]](#)
26. Penninx, B.W.J.H.; Pahor, M.; Cesari, M.; Corsi, A.M.; Woodman, R.C.; Bandinelli, S.; Guralnik, J.M.; Ferrucci, L. Anemia Is Associated with Disability and Decreased Physical Performance and Muscle Strength in the Elderly. *J. Am. Geriatr. Soc.* **2004**, *52*, 719–724. [\[CrossRef\]](#)
27. Penninx, B.W.J.H.; Pahor, M.; Woodman, R.C.; Guralnik, J.M. Anemia in Old Age Is Associated with Increased Mortality and Hospitalization. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2006**, *61*, 474–479. [\[CrossRef\]](#)
28. Stauder, R.; Thein, S.L. Anemia in the Elderly: Clinical Implications and New Therapeutic Concepts. *Haematologica* **2014**, *99*, 1127–1130. [\[CrossRef\]](#)
29. Alvarez-Payares, J.C.; Rivera-Arismendy, S.; Ruiz-Bravo, P.; Sánchez-Salazar, S.M.; Manzur, R.A.; Ramirez-Urrea, S.I.; Puella, A. Unexplained Anemia in the Elderly. *Cureus* **2021**, *13*, e19971. [\[CrossRef\]](#)
30. World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Report of a WHO Consultation. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* **2000**, *894*, 1–253.
31. Wagner, K.-H.; Cameron-Smith, D.; Wessner, B.; Franzke, B. Biomarkers of Aging: From Function to Molecular Biology. *Nutrients* **2016**, *8*, E338. [\[CrossRef\]](#)
32. Wyczalkowska-Tomasik, A.; Czarkowska-Paczek, B.; Zielenkiewicz, M.; Paczek, L. Inflammatory Markers Change with Age, but Do Not Fall Beyond Reported Normal Ranges. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **2016**, *64*, 249–254. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Koelman, L.; Pivovarova-Ramich, O.; Pfeiffer, A.F.H.; Grune, T.; Aleksandrova, K. Cytokines for Evaluation of Chronic Inflammatory Status in Ageing Research: Reliability and Phenotypic Characterisation. *Immun. Ageing* **2019**, *16*, 11. [\[CrossRef\]](#)
34. Ferrucci, L.; Semba, R.D.; Guralnik, J.M.; Ershler, W.B.; Bandinelli, S.; Patel, K.V.; Sun, K.; Woodman, R.C.; Andrews, N.C.; Cotter, R.J.; et al. Proinflammatory State, Hepcidin, and Anemia in Older Persons. *Blood* **2010**, *115*, 3810–3816. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Jelkmann, W. Proinflammatory Cytokines Lowering Erythropoietin Production. *J. Interferon Cytokine Res.* **1998**, *18*, 555–559. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Patel, K.V. Epidemiology of Anemia in Older Adults. *Semin. Hematol.* **2008**, *45*, 210–217. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Murphy, W.G. The Sex Difference in Haemoglobin Levels in Adults—Mechanisms, Causes, and Consequences. *Blood Rev.* **2014**, *28*, 41–47. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

38. Lipschitz, D.A.; Mitchell, C.O.; Thompson, C. The Anemia of Senescence. *Am. J. Hematol.* **1981**, *11*, 47–54. [CrossRef]
39. den Elzen, W.P.J.; Willems, J.M.; Westendorp, R.G.J.; de Craen, A.J.M.; Blauw, G.J.; Ferrucci, L.; Assendelft, W.J.J.; Gussekloo, J. Effect of Erythropoietin Levels on Mortality in Old Age: The Leiden 85-plus Study. *Can. Med. Assoc. J.* **2010**, *182*, 1953–1958. [CrossRef]
40. den Elzen, W.P.J.; de Craen, A.J.M.; Wiegerinck, E.T.; Westendorp, R.G.J.; Swinkels, D.W.; Gussekloo, J. Plasma Hepcidin Levels and Anemia in Old Age. The Leiden 85-Plus Study. *Haematologica* **2013**, *98*, 448–454. [CrossRef]
41. Kroot, J.J.C.; Tjalsma, H.; Fleming, R.E.; Swinkels, D.W. Hepcidin in Human Iron Disorders: Diagnostic Implications. *Clin. Chem.* **2011**, *57*, 1650–1669. [CrossRef]
42. Traglia, M.; Girelli, D.; Biino, G.; Campostrini, N.; Corbella, M.; Sala, C.; Masciullo, C.; Viganò, F.; Buetti, I.; Pistis, G.; et al. Association of HFE and TMPRSS6 Genetic Variants with Iron and Erythrocyte Parameters Is Only in Part Dependent on Serum Hepcidin Concentrations. *J. Med. Genet.* **2011**, *48*, 629–634. [CrossRef] [PubMed]
43. Galesloot, T.E.; Vermeulen, S.H.; Geurts-Moespot, A.J.; Klaver, S.M.; Kroot, J.J.; van Tienoven, D.; Wetzels, J.F.M.; Kiemeny, L.A.L.M.; Sweep, F.C.; den Heijer, M.; et al. Serum Hepcidin: Reference Ranges and Biochemical Correlates in the General Population. *Blood* **2011**, *117*, e218–e225. [CrossRef] [PubMed]
44. Hallberg, L.; Bengtsson, C.; Lapidus, L.; Lindstedt, G.; Lundberg, P.A.; Hultén, L. Screening for Iron Deficiency: An Analysis Based on Bone-Marrow Examinations and Serum Ferritin Determinations in a Population Sample of Women. *Br. J. Haematol.* **1993**, *85*, 787–798. [CrossRef] [PubMed]
45. Mast, A.E.; Blinder, M.A.; Gronowski, A.M.; Chumley, C.; Scott, M.G. Clinical Utility of the Soluble Transferrin Receptor and Comparison with Serum Ferritin in Several Populations. *Clin. Chem.* **1998**, *44*, 45–51. [CrossRef] [PubMed]
46. Ong, K.H.; Tan, H.L.; Lai, H.C.; Kuperan, P. Accuracy of Various Iron Parameters in the Prediction of Iron Deficiency in an Acute Care Hospital. *Ann.-Acad. Med. Singap.* **2005**, *34*, 437–440. [PubMed]
47. Guyatt, G.H.; Patterson, C.; Ali, M.; Singer, J.; Levine, M.; Turpie, I.; Meyer, R. Diagnosis of Iron-Deficiency Anemia in the Elderly. *Am. J. Med.* **1990**, *88*, 205–209. [CrossRef] [PubMed]
48. Rohr, M.; Brandenburg, V.; Brunner-La Rocca, H.-P. How to Diagnose Iron Deficiency in Chronic Disease: A Review of Current Methods and Potential Marker for the Outcome. *Eur. J. Med. Res.* **2023**, *28*, 15. [CrossRef] [PubMed]
49. Pei, X. Who Is Hematopoietic Stem Cell: CD34+ or CD34-? *Int. J. Hematol.* **1999**, *70*, 213–215.
50. Naeim, F.; Nagesh Rao, P.; Song, S.X.; Phan, R.T. Principles of Immunophenotyping. In *Atlas of Hematopathology*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2018; pp. 29–56. ISBN 978-0-12-809843-1.
51. Salati, S.; Zini, R.; Bianchi, E.; Testa, A.; Mavilio, F.; Manfredini, R.; Ferrari, S. Role of CD34 Antigen in Myeloid Differentiation of Human Hematopoietic Progenitor Cells. *Stem Cells* **2008**, *26*, 950–959. [CrossRef] [PubMed]
52. Albeniz, I.; Türker-Şener, L.; Baş, A.; KaleliOğlu, İ.; Nurten, R. Isolation of Hematopoietic Stem Cells and the Effect of CD38 Expression during the Early Erythroid Progenitor Cell Development Process. *Oncol. Lett.* **2012**, *3*, 55–60. [CrossRef]
53. Jiang, Z.; Wu, D.; Lin, S.; Li, P. CD34 and CD38 Are Prognostic Biomarkers for Acute B Lymphoblastic Leukemia. *Biomark Res.* **2016**, *4*, 23. [CrossRef] [PubMed]
54. Jing, D.; Wobus, M.; Poitz, D.M.; Bornhauser, M.; Ehninger, G.; Ordemann, R. Oxygen Tension Plays a Critical Role in the Hematopoietic Microenvironment in Vitro. *Haematologica* **2012**, *97*, 331–339. [CrossRef] [PubMed]
55. Boslett, J.; Hemann, C.; Christofi, F.L.; Zweier, J.L. Characterization of CD38 in the Major Cell Types of the Heart: Endothelial Cells Highly Express CD38 with Activation by Hypoxia-Reoxygenation Triggering NAD(P)H Depletion. *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* **2018**, *314*, C297–C309. [CrossRef] [PubMed]
56. Bruserud, Ø.; Vo, A.K.; Rekvam, H. Hematopoiesis, Inflammation and Aging—The Biological Background and Clinical Impact of Anemia and Increased C-Reactive Protein Levels on Elderly Individuals. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 706. [CrossRef] [PubMed]
57. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2022; Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 18 April 2023).

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Review

Anemia and Its Connections to Inflammation in Older Adults: A Review

Eryk Wacka ^{1,*}, Jan Nicikowski ¹, Paweł Jarmuzek ² and Agnieszka Zembron-Lacny ¹

¹ Department of Applied and Clinical Physiology, Collegium Medicum University of Zielona Gora, 65-417 Zielona Gora, Poland; jan.nicikowski@gmail.com (J.N.); a.zembron-lacny@cm.uz.zgora.pl (A.Z.-L.)

² Department of Neurosurgery and Neurology, Collegium Medicum University of Zielona Gora, 65-417 Zielona Gora, Poland; p.jarmuzek@cm.uz.zgora.pl

* Correspondence: e.wacka@cm.uz.zgora.pl

Abstract: Anemia is a common hematological disorder that affects 12% of the community-dwelling population, 40% of hospitalized patients, and 47% of nursing home residents. Our understanding of the impact of inflammation on iron metabolism and erythropoiesis is still lacking. In older adults, anemia can be divided into nutritional deficiency anemia, bleeding anemia, and unexplained anemia. The last type of anemia might be caused by reduced erythropoietin (EPO) activity, progressive EPO resistance of bone marrow erythroid progenitors, and the chronic subclinical pro-inflammatory state. Overall, one-third of older patients with anemia demonstrate a nutritional deficiency, one-third have a chronic subclinical pro-inflammatory state and chronic kidney disease, and one-third suffer from anemia of unknown etiology. Understanding anemia's pathophysiology in people aged 65 and over is crucial because it contributes to frailty, falls, cognitive decline, decreased functional ability, and higher mortality risk. Inflammation produces adverse effects on the cells of the hematological system. These effects include iron deficiency (hypoferremia), reduced EPO production, and the elevated phagocytosis of erythrocytes by hepatic and splenic macrophages. Additionally, inflammation causes enhanced eryptosis due to oxidative stress in the circulation. Identifying mechanisms behind age-related inflammation is essential for a better understanding and preventing anemia in older adults.

Keywords: aging; anemia diagnosis; erythropoiesis; geriatric diseases; inflammation; iron deficiency; hypoferremia; oxidative stress



Citation: Wacka, E.; Nicikowski, J.; Jarmuzek, P.; Zembron-Lacny, A. Anemia and Its Connections to Inflammation in Older Adults: A Review. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 2049. <https://doi.org/10.3390/jcm13072049>

Academic Editor: Francesco Mattace-Raso

Received: 10 March 2024

Revised: 29 March 2024

Accepted: 31 March 2024

Published: 2 April 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The world population is rapidly aging, and this demographic shift is expected to continue over the coming decades. This phenomenon is characterized by an increase in both the number and the percentage of older adults worldwide. Currently, 10% of the world population is aged 65 years or older, but this figure is expected to reach 16% by 2050. Developing countries are particularly affected by this trend due to the declining levels of mortality, as reflected in the increased levels of life expectancy at birth [1]. As individuals grow older, their organic functionality naturally declines over time (aging), ultimately resulting in death. Aging is also associated with an increased likelihood of common conditions such as cardiovascular diseases, cancer, diabetes, or neurodegenerative diseases, which, in turn, elevate the risk of mortality [2].

Anemia, a condition that frequently occurs in older patients, has no standard definition. The World Health Organization (WHO) established the diagnostic criteria for anemia, which was defined as a hemoglobin (Hb) level < 13.0 g/dL for men and <12.0 g/dL for women [3]. Since the WHO definition of anemia was established more than five decades ago on the basis of a limited population sample and without proper documentation of the methodology used, understandably, there are now certain restrictions related to these thresholds. Nevertheless, the WHO definition continues to be the standard for anemia classification in older adults, despite suggestions from various studies that the definition be

revised. Higher Hb reference values to define anemia were suggested after the analyses of American databases including the National Health and Nutrition Examination Survey III [4] and the Scripps-Kaiser database [5]. The Cardiovascular Health Study [6] identified optimal Hb levels of ≥ 13.7 g/dL for men and ≥ 12.6 g/dL for women, which were recorded to be associated with improved survival. The population study by Culleton et al. [7] determined that optimal Hb values of 13.0 to 15.0 g/dL for women and 14.0 to 17.0 g/dL for men could help avoid hospitalization and reduce the risk of mortality in old age. Wouters et al. recommended modifying Hb values to <13.0 g/dL for women over 60 years of age to align with the definition used for men [8].

Age-related, chronic, low-grade inflammation is not only a consequence of increasing chronological age, but also a marker of biological aging, multimorbidity, and mortality risk [9]. Systemic inflammation can significantly exacerbate health status and lead to a decline in overall well-being [10]. As the immune system ages, its ability to effectively respond to and manage inflammation diminishes, which renders the elderly more susceptible to a range of diseases such as anemia [11,12]. Therefore, the objective of this review was to explore the pathophysiological causes of anemia in the elderly, particularly those associated with inflammation, and to elucidate the underlying mechanisms and contributing factors for anemia in this age group.

Prevalence of Anemia

The prevalence of anemia varies across age groups, genders, and races, and the condition is more common in older individuals, with higher rates observed in men compared to women and in black individuals compared to white ones. However, it is noteworthy that most individuals classified as anemic according to the WHO criteria demonstrated anemia of a mild degree [3].

A systematic review of 34 studies showed that in people aged >65 years, the prevalence of anemia was recorded in 12% of community-dwelling persons, 40% of hospitalized patients, and 47% of nursing home residents [13], with the overall mean prevalence of 17% [14]. The increased prevalence of anemia among nursing home residents was often attributed to poorer health status and the higher occurrence of comorbidities in the elderly residents of these facilities compared to the community-dwelling age-matched population [15]. Insights into the prevalence of anemia across different populations and its findings, based on selected studies, are summarized in Table 1.

Table 1. Selected studies examining the prevalence of anemia across various populations and its findings.

Study Name/Author	Country	Findings	Reference
EMPIRE study	Portugal	- higher prevalence of anemia in men than women (22.2% vs. 19.9%, respectively). - anemia prevalence increased with age, with the rates of 17.3% in the 65–79 age group and 31.4% in those aged 80 years and above.	[16]
Third US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)	USA	- a progressive increase in anemia prevalence with increasing age in the study participants aged ≥ 65 years, where the prevalence of 13% and 23% was recorded in subgroups aged 75–84 vs. ≥ 85, respectively. - data demonstrated that anemia was more prevalent in men than in women.	[1]

Table 1. Cont.

Study Name/Author	Country	Findings	Reference
Zaninetti et al.	Italy	- anemia was prevalent in 62% of males aged ≥ 65 years compared to 44.1% prevalence in the group aged below 65 years. - similar observations pertained to female gender where the proportion of women ≥ 65 years with anemia reached 60.1% vs. 53.5% recorded in females below 65 years of age.	[17]
Muñoz et al.	Spain	- prevalence of anemia varied depending on the surgical intervention, ranging from 14% in prostate surgery to 61% in colorectal cancer cases.	[18]

The severity of anemia was found to be higher in skilled nursing facilities compared to community-based settings, as revealed in a survey of five such facilities where a hemoglobin level ≤ 10 g/dL was detected in 11.4% of the residents [19]. In hospitalized patients aged ≥ 65 years, the prevalence of anemia reached up to 48%, with 65% of patients exhibiting mild (Hb > 10 g/dL) to moderate (Hb 8–10 g/dL) anemia [20]. Interestingly, it was observed that the recognition and investigation of anemia were rarely undertaken [21]. These findings highlight the increased severity of anemia in skilled nursing facilities and the need to raise the awareness of the staff and the management of this condition in both health care settings.

It is evident that the analyzed issue differs depending on the geographical location and the economic status of various countries.

The identification of the putative factors underlying anemia of inflammation in older adults poses a considerable challenge as this age group is affected by a tremendous extent of subclinical and clinical morbidities as well as an age-related increase in the levels of proinflammatory cytokines. It is therefore hardly surprising that nearly a fifth of anemia cases (19.7%) in older adults have been classified as anemia of inflammation, also known as anemia of chronic disease [1]. However, distinguishing anemia of chronic inflammation from iron deficiency anemia is particularly challenging in older adults due to the comorbid effects of gastrointestinal bleeding and the effects of medications [22]. Serum ferritin levels can still fall within the reference range when both types of anemia are present, which might potentially have led to an overestimation of anemia of chronic inflammation prevalence in the NHANES III study [1] at the expense of iron deficiency anemia. Furthermore, even distinguishing anemia of chronic inflammation from anemia of chronic kidney disease is somewhat tenuous, given the emerging evidence of increased inflammation associated with renal function in older adults without chronic kidney disease [23,24].

2. Causes of Anemia in Older Adults

The processes responsible for the maintenance of homeostasis diminish with increasing age, and one of these processes involves a decrease in hematopoietic potential. However, there are no adequate hemoglobin reference values below which anemia can be diagnosed in adults aged over 65 years, so the referential range for the general population is still applied [25]. Figure 1 provides a visual representation of the main factors contributing to the development of aging-related inflammation that can further contribute to the development of anemia in the elderly.

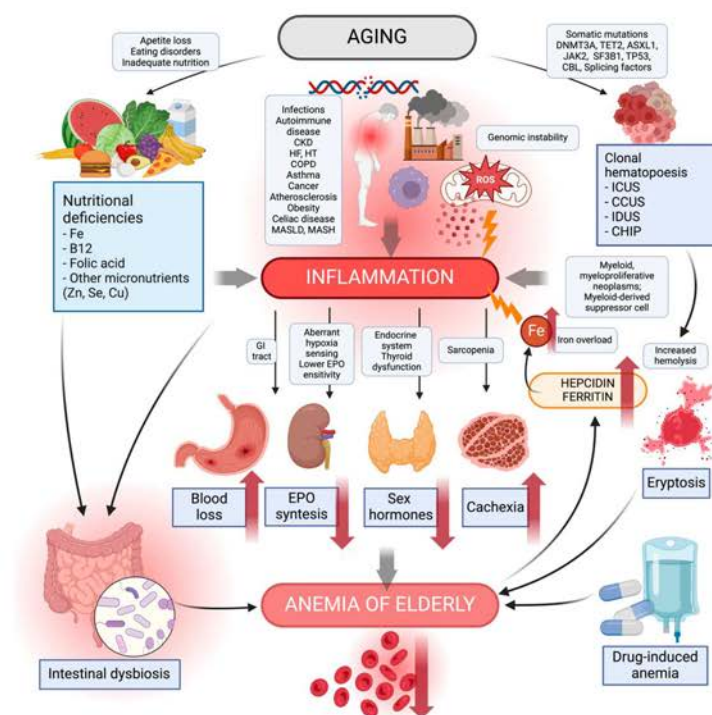


Figure 1. Causes of anemia in the elderly. The diagram shows the main causes of the development of aging-related inflammation that can contribute to anemia in the elderly. Aging processes such as genome instability, reactive oxygen species in the mitochondria, synthesis of pro-inflammatory cytokines, negative environmental factors, and chronic diseases lead to inflammation. Inadequate nutrition, eating disorders, and loss of appetite contribute to an increased risk of nutritional deficiencies—iron, vitamin B12, folic acid, zinc, selenium, and copper. Their deficiency leads to inflammation and modulation of the intestinal microbiota to its detriment, increasing the risk of intestinal dysbiosis. The number of somatic mutations increasing with age can lead to clonal hematopoiesis. This, in turn, increases the incidence of myeloid myeloproliferative neoplasms, myeloid-derived suppressor cells causing inflammation. Clonal hematopoiesis shortens the lifespan and durability of erythrocytes, increasing their risk of hemolysis, the process of eryptosis. Chronic inflammatory processes further contribute to gastrointestinal inflammatory disease and blood loss; a decrease in sensitivity to hypoxia and EPO, thereby causing a reduction in EPO synthesis; endocrine dysfunction causing a decrease in sex hormones; and a decrease in muscle mass to sarcopenia, leading to the risk of cachexia. Pharmacotherapy with drug–drug interactions can produce adverse effects potentially contributing to anemia in older adults. Lately, anemia in the elderly has been reported to cause an increase in hepcidin, a plasma ferritin causing pro-inflammatory iron overload. CCUS, clonal cytopenia of unknown significance; CHIP, clonal hematopoiesis of indeterminate potential; CKD, chronic kidney disease; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; EPO, erythropoietin; GI, gastrointestinal; HF, heart failure; HT, hypertensive; ICUS, idiopathic cytopenia of undetermined significance; IDUS, idiopathic dysplasia of undetermined significance; MASLD, metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease; MASH, metabolic dysfunction-associated steatohepatitis; ROS, reactive oxygen species. Created with [BioRender.com](https://www.biorender.com) (accessed on 9 March 2024).

Genomic instability is a fundamental cause of the progressive aging process [26]. The factors favoring genome instability include environmental factors [27], the influence of chemicals [28], oxidative stress [29], hypoxia progression with aging [30], and chronic inflammation [31]. An increase in DNA instability results in elevated numbers of somatic mutations in the resulting cells [32]. With age, somatic mutations also affect all cells involved in hematopoiesis, resulting in clonal hematopoiesis [33]. The incidence of progressive clonal hematopoiesis increases with age [34]. The number of clonal abnormalities is correlated with the risk of developing myeloid and myeloproliferative neoplasms including acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndromes, myeloproliferative syndromes, and mixed (myelodysplastic-myeloproliferative) syndromes. The list of the above-mentioned diseases also includes anaplastic anemia.

Increased mitochondrial damage in stem cells [35] and impaired mitochondrial function observed in chronic diseases during hematopoiesis [36] are further elements of the hypothesis concerning the etiology of anemia in old age. Accumulating damage to telomeres leads to aging of the mitochondria and the increased production of reactive oxygen species (ROS), which results in generalized hypoxia as a consequence [37,38]. In the longer term, a persistent increase in hypoxia activates systemic compensatory and adaptive mechanisms [39].

3. Pathophysiology of Inflammation Causing Anemia in Older Adults

As individuals age, the phenomenon known as inflammaging becomes increasingly prevalent. Inflammaging is characterized by chronic low-grade inflammation, and it is considered a significant contributor to the aging process. The underlying mechanism involves the release of a multitude of inflammatory mediators that are produced in response to tissue damage and stress. The key players in chronic inflammation include a variety of interleukins such as IL-1, IL-1b, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-22, and IL-23. The pro-inflammatory activity of these cytokines initiates and amplifies the inflammatory response. Additionally, tumor necrosis factor α (TNF α) and interferon- γ (IFN- γ) are also prominent pro-inflammatory cytokines. Variations in the genetic sequences within the promoter regions of proinflammatory and controlled cytokine genes can influence the processes of inflammaging and vulnerability to age-related diseases [40].

On the other hand, attempts are made by anti-inflammatory cytokines including IL-1Ra, IL-4, IL-10, and transforming growth factor (TGF- β 1) to counterbalance the pro-inflammatory response. These cytokines, in turn, are engaged in the suppression of inflammation and they promote a more balanced immune response. Along with the cytokines, a range of other molecules contribute to the complex network of inflammaging. For instance, lipoxin A4 plays the role of a lipid mediator with potent anti-inflammatory properties. Heat shock proteins are also involved in the regulation of inflammation, acting like chaperones that help to protect cells from stress-induced damage [41–43]. According to Minciullo et al. [43], inflammaging is a key to our understanding of the aging process, and anti-inflammaging may be one of the secrets of longevity. Therefore, anemia caused by inflammation is an important issue to be tackled more quickly and multidimensionally.

3.1. Iron Restriction (Hypoferremia)

During infection or inflammatory events, hypoferremia occurs quickly with a decrease in plasma iron level and transferrin saturation, which prevents the formation of nontransferrin-bound iron, a powerful trigger for the pathogenicity of Gram-negative bacteria and potentially also other microorganisms [44,45]. Iron consumption by erythropoiesis and the turnover of senescent or damaged erythrocytes by macrophages are the primary factors affected by various inflammatory processes. Therefore, maintaining strict control over iron levels during inflammation is crucial for host defense.

Hepcidin, a 25-amino-acid peptide released by liver cells, circulates in the blood and is expelled in the urine. Hepcidin serves as the primary governing factor for both iron absorption and distribution across different tissues [46,47]. Elevated levels of circulating

hepcidin, induced by IL-6, inhibit the release of cellular iron into plasma by binding to the cellular iron efflux channel ferroportin [48]. Ferroportin occurs on the cells that serve as specialized iron managers within the body, and these cells include duodenal enterocytes that are responsible for the absorption of dietary iron, hepatic and splenic macrophages that recycle senescent erythrocytes, hepatocytes that are engaged in iron storage, and placental trophoblasts that facilitate iron transfer to the developing fetus during pregnancy [49].

Macrophages play a crucial role in recycling iron from aging red blood cells and once recycled, the iron is released into the bloodstream through ferroportin. Inflammation triggers an increase in hepcidin levels, thereby leading to enhanced internalization and the breakdown of ferroportin [50]. As a result, the release of ferrous iron from key iron transport tissues such as duodenal enterocytes, iron-recycling macrophages, and iron-storing hepatocytes into the bloodstream is reduced. This leads to the accumulation of iron within their cellular ferritin. Subsequently, the continuous utilization of iron by erythropoiesis depletes the extracellular iron pool, which results in low levels of iron and restricted erythropoiesis.

Anemia of inflammation is characterized by hypoferrremia accompanied by increased plasma ferritin and hepcidin levels, whereas iron-deficiency anemia manifests itself in hypoferrremia accompanied by low levels of plasma ferritin and hepcidin. Inflammatory hypoferrremia, similar to hypoferrremia in systemic iron deficiency, inhibits erythropoiesis, however, the inhibitory effect is detected at a relatively high threshold (transferrin saturation of 15 to 20%), which may suggest a protective function of this mechanism to ensure an adequate iron supply for other tissues such as muscles, the central nervous system, and nonerythroid marrow, which are less affected by decreased plasma iron levels (Figure 2) [51].

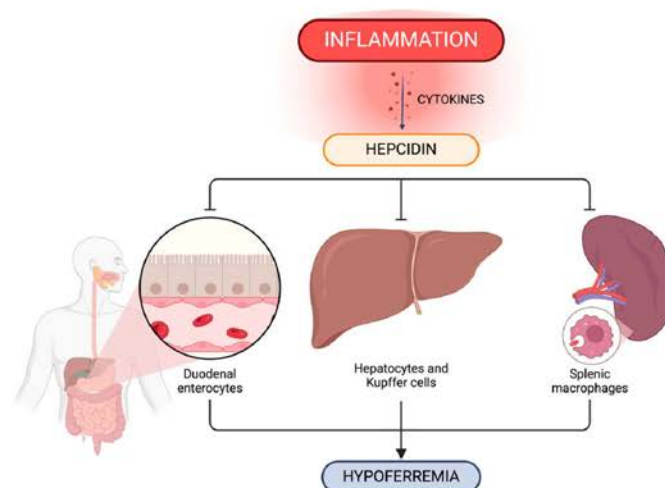


Figure 2. Inflammation impact on the regulation of systemic iron metabolism. Hepcidin plays a crucial role in systemic iron level control via ferroportin concentration in iron-exporting cells including duodenal enterocytes, hepatic and splenic iron-recycling macrophages and hepatocytes. Created with [BioRender.com](https://www.biorender.com) (accessed on 9 March 2024).

Our previous study demonstrated higher hepcidin levels in the group with anemia compared to non-anemic participants [52], which is consistent with other reports, for instance, the Leiden 85-plus Study, which also revealed elevated serum hepcidin levels in older adults with anemia of inflammation. However, the InCHIANTI study did not find an increase in urinary hepcidin levels [48,53]. The available studies also reported

differences in hepcidin levels across the compared genders. On average, approximately 50% lower hepcidin levels were observed in premenopausal women than in the age-matched male groups. However, post-menopause hepcidin levels tend to become comparable in both gender groups, which was reported in the Val Borbera study [54] and the Nijmegen Biomedical Studies [55].

The impact of hepcidin–ferroportin interaction in iron homeostasis is shown in Figure 2.

3.2. Erythropoiesis Suppression

Pro-inflammatory cytokines, especially interferons and $\text{TNF}\alpha$, appear to inhibit the proliferation and differentiation of erythroid progenitor cells, leading to ineffective erythropoiesis as a result [56].

Early inflammatory responses include leukocytosis and the increased production of leukocytes in the marrow, which is manifested by an increased number of myeloid precursors ($>4:1$ myeloid to erythroid precursors ratio). Inflammatory cytokines such as $\text{TNF-}\alpha$ [57] and interferon- γ [58] activate the transcription factor PU.1 and trigger bone marrow reprogramming, which promotes myelopoiesis and lymphopoiesis while suppressing erythropoiesis. Inflammatory cytokines also inhibit the ability of BFU-E to generate more differentiated erythroid cells [59,60].

Another bone marrow-reprogramming mechanism involves inflammation-induced suppression of erythropoietin production, the primary hormone responsible for erythropoiesis. In patients with systemic inflammation, serum erythropoietin levels are lower compared to the individuals with a similar degree of iron-deficiency anemia [61,62]. Inflammation also impairs the responsiveness of erythroid precursors to erythropoietin, as evidenced by increased exogenous erythropoietin requirements in end-stage kidney disease patients with inflammation [63,64]. Resistance to erythropoietin is partly mediated by a decrease in the number of erythropoietin receptors on erythroid progenitors, whose proliferative capacity is therefore reduced, which is a recently discovered effect of hypoferrremia [65].

The Klotho enzyme, which is mainly expressed in humans in the kidney and brain by the KL gene, especially its alpha-Klotho variant activated by fibroblast growth factor 23 (FGF23), has been indicated as another potential cause of inflammatory anemia in old age [66,67]. Most of the early as well as current studies have focused on the role of alpha-Klotho in chronic kidney disease (CKD) in elderly populations, and reported an age-related Klotho reduction and association with increased likelihood of anemia [68]. Klotho is involved in hematopoiesis regulation through its impact on the hypoxia-inducible factor (HIF1 α) pathway. Its deficiency interferes with hematopoietic stem cell development and erythropoiesis [69]. Klotho has the ability to modulate inflammation and oxidative stress through various mechanisms. As a suppressor gene of aging, Klotho protein expression, among other things, reduces phosphorus, ROS, and slows age-related renal fibrosis [70,71]. Increased Klotho levels could also potentially contribute to inflammation and anemia reduction in the elderly [70].

The production of erythropoietin, a major cytokine that affects the development of red blood cells, is triggered by a mechanism that detects low oxygen levels in anemia conditions. The relationship between the impaired response of hematopoietic stem cells to EPO and the development of anemia was observed in elderly patients [72]. The Baltimore Longitudinal Study on Aging [73] reported that EPO levels increased with age in healthy individuals without anemia, particularly in those without diabetes or hypertension. Conversely, individuals with anemia demonstrated a lower rate of EPO increase, suggesting that anemia is linked to a failure in the normal compensatory rise of EPO levels during aging. Although low EPO levels have specifically been associated with unexplained anemia in the elderly population, the exact cause of the inadequate EPO response is still unknown. Therefore, further studies on larger samples of elderly patients are necessary to confirm these findings [73]. A study by Chencheng et al. [68] suggested that low serum Klotho

levels were associated with an increased likelihood of anemia in middle-aged and older adults regardless of kidney disease.

Overall, the age-dependent impairment of EPO response suggests a progressive resistance of hematopoietic stem cells to EPO as individuals age. The underlying reasons are yet to be determined, however, they could be attributed to impairments in normal EPO-dependent pathways caused by inflammatory cytokines, age-related comorbidities, declines in renal function, or a combination of these factors [74].

3.3. Shorter Erythrocyte Lifespan

The available studies on anemia of inflammation have consistently reported a moderate reduction (approximately 2–5%) in the lifespan of red blood cells with a decrease to approximately 90 days. However, a shortened erythrocyte lifespan was also observed in many cases of non-anemic inflammation, which indicates that anemia develops only when the compensatory response of red blood cell production is impaired [75].

The shortened lifespan of erythrocytes during inflammation has been ascribed to macrophage activation triggered by inflammatory cytokines, which results in premature phagocytosis and erythrocyte elimination. Macrocytic anemia and heightened erythrophagocytosis are prominent manifestations observed in macrophage activation syndromes, particularly those associated with systemic juvenile rheumatoid arthritis [76]. Multiple cytokines including interferon- γ and IL-4 have been implicated in macrophage activation for erythrophagocytosis in mouse models [57,77].

Except for rare cases of fulminant hemophagocytic states, erythrophagocytosis in anemia of inflammation exhibits only a mild increase, and the increase could easily be compensated if the production of erythrocytes is unimpaired [78,79].

Furthermore, the inflammatory cascade involves the generation of reactive oxygen and nitrogen species, shaping the intricate interrelationship between inflammation and the behavior of erythrocytes in the circulatory system. The oxidative stress within the vascular bed exerts multifaceted effects on the structural integrity of red blood cells, characterized by lipid peroxidation and the oxidation of membrane skeletal proteins. These biochemical alterations do not only compromise the molecular architecture of red blood cell membranes, but they also have profound implications for their functional properties [80–83].

The consequence of oxidative stress-induced modifications extends beyond mere structural compromise, significantly impacting the physiological characteristics of red blood cells. Notably, the reduction in osmotic resistance and deformability of red blood cells has emerged as a pivotal outcome of oxidative stress in the vascular microenvironment [84]. The compromised osmotic resistance renders erythrocytes more susceptible to premature removal from circulation as their resilience to environmental challenges diminishes [81,82,85,86].

The intricate relationship between oxidative stress and red blood cell dynamics underscores the accelerated elimination of these cells from the circulatory system. This phenomenon, although crucial in our understanding of broader implications of inflammation-induced alterations, unfortunately remains unexplored in the current discourse. An in-depth exploration of this aspect of oxidative stress is imperative for our thorough comprehension of the intricate mechanisms underpinning anemia in the context of inflammation.

Figure 3 provides a comprehensive overview of the interconnected processes contributing to inflammation-induced anemia. The schematic representation serves as a visual guide to illustrating the complex dynamics involving the key elements in the pathogenesis of inflammation-associated anemia.

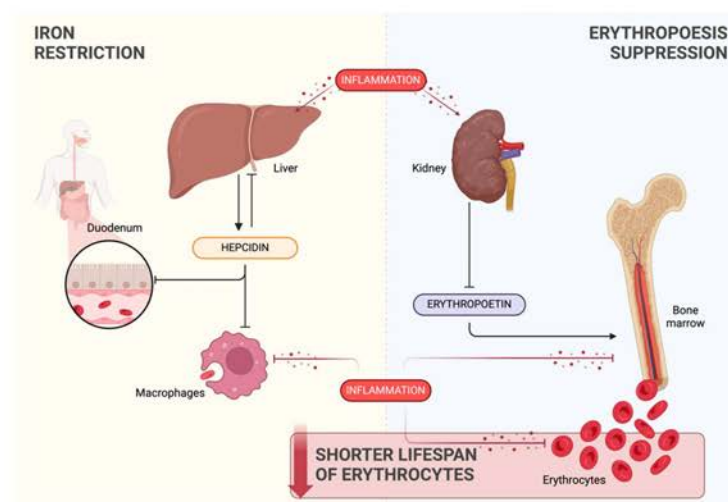


Figure 3. Overview of the processes linked to inflammation-induced anemia: iron restriction (yellow background), erythropoiesis suppression (blue background), and shortened erythrocyte lifespan (red background). Created with [BioRender.com](#) (accessed on 9 March 2024).

4. Diseases Associated with Anemia in Older Adults

Anemia in older adults has a multifactorial cause. Consequently, there are no and major and clear-cut contributors to anemia in the elderly. Overlapping diseases leading to multimorbidity and an increased risk of frailty syndrome make the identification of the causes of anemia even more challenging [87,88]. Nonetheless, the disease entities that are associated with reduced synthesis, disruption of normal hematopoiesis to achieve the desired volume and number of red blood cells and hemoglobin content, can be included in the list of potential anemia-inducing conditions. This section discusses the most common diseases associated with anemia in older adults. As depicted in Table 2, there are numerous common diseases prevalent among the elderly that have the potential to lead to anemia. Understanding these diseases is vital for health care professionals to accurately diagnose and manage anemia in this population.

The commonly reported reasons include the increased risk of nutritional disorders due to an excessive intake or negative balance in dietary supply of energy, nutrients, vitamins, and the inability to replenish the effects of catabolic processes [89]. Cachexia, defined as disease-related malnutrition (DRM) with inflammation in the ESPEN guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition [90], has been reported in relevant analyses.

The process of aging is associated with epigenetic changes that lead to somatic mutations of cells beginning with pluripotent hematopoietic stem cells (PHSCs), which are further growth pathways in hematopoiesis. These alterations result in shorter erythrocyte lifespan and increased eryptosis rate. As a consequence, augmented oxidative stress increases inflammation and the risk of age-related chronic diseases as well as hematopoietic disorders [91,92]. The progressive deterioration of kidney and liver function in elderly populations is a key element in the development of anemia and it involves: firstly, macroscopic changes, mainly a lower mass of the organs and, secondly, microscopic pathological tissue and cells changes such as atherosclerosis of capillaries, atrophy, fibrosis, and collagen deposition. Functional and structural changes in the aging organs increase the probability of erythropoiesis suppression [93–95].

Table 2. Examples of common diseases potentially leading to anemia in older adults.

Chronic inflammatory diseases	Pulmonary infectious Infective endocarditis Chronic urinary tract infection Chronic liver diseases Arthritis Chronic fungal infections COPD Chronic kidney disease Chronic heart failure Atherosclerosis
Autoimmune disorders	Rheumatoid arthritis Rheumatic fever Vasculitis Sarcoidosis
Hematological diseases	ICUS, CCUS, IDUS, CHIP, MDS Aplastic anemia
Cancer disease	Hematological malignancy, lymphomas, solid tumors
Endocrinological and metabolic diseases	Metabolic syndrome Overweight Sarcopenia Cachexia Malnutrition
Gastrointestinal diseases	Esophagitis, gastroenteritis, peptic ulcers, ulcerative colitis—GI bleeding Intestinal malabsorption syndrome (lactose, gluten intolerance) Celiac disease <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Clostridioides difficile</i> Dysbiosis
Nutritional deficiency	B12, folic acid, vitamin D Amino acids Iron, zinc, selenium, copper,
Drug-induced anemia	Antibiotics, NSAIDs Proton pump inhibitors (PPIs), Chemotherapy Radiotherapy Polypharmacy

Abbreviations: CCUS, clonal cytopenia of unknown significance; CHIP, clonal hematopoiesis of indeterminate potential; COPD, chronic obstructive pulmonary disease; GI, gastrointestinal; ICUS, idiopathic cytopenia of undetermined significance; IDUS, idiopathic dysplasia of undetermined significance; MDS, myelodysplastic syndromes; NSAIDs, non-steroidal anti-inflammatory drugs.

4.1. Hematopoietic Disorders

Hematopoiesis-regulating mechanisms that involve players such as cytokines, chemokines, hormones, adhesion molecules, and transcription factors occur at each stage of the cell lines, ranging from the process of renewal, through differentiation to maturation of blood cells. However, the process of aging is linked to the impairment to the processes of self-renewal, differentiation, proliferation, and maturation of cells involved in hematopoiesis.

Age-related progressive changes such as epigenetic alterations, genetic instability, telomere shortening, and accumulation of p53 damage have all been reported to affect cellular aging [96,97]. Progressive somatic mutations cause an increase in clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP) in an average of 25% of the human population aged over 65 years, with a further increase observed with aging. The most common mutations concern the following genes: DNMT3A, TET2, ASXL1, JAK2, SF3B1, and TP53 [33,98–100]. Clonal changes correlate with increased heterogeneity of the cell size indices such as the

red cell distribution width (RDW) [100]. These findings have been supported by recent genome-wide association studies. Furthermore, studies have also demonstrated correlations with an increase in inflammatory markers such as CRP, IL-1b, and IL-18, but with a decrease in hemoglobin [98,99,101]. These somatic mutations result in an increased risk of chronic diseases typical of old age, myeloproliferative diseases, and mortality.

Changes associated with clonal hematopoiesis can also lead to aplastic anemias [102]. Along with changes in the cell population in the hematopoietic lineage, the bone marrow undergoes conversion from hematopoietically active red marrow to hematopoietically inactive yellow bone marrow [103]. A decrease in bone density and disturbances to homeostasis in osteoblast–osteoclast communication are also correlated with an increased risk of anemia in elderly people [104].

Consequently, the balance between new erythrocyte formation and their erythrophagocytosis and hemolysis is disrupted and can lead to a decrease in the number of erythrocytes in the bloodstream. Since oxidative stress is known to affect erythrocyte lifespan, one of the hypotheses for anemia involves the activity of reactive oxygen species on erythrocytes in the course of chronic inflammation in a progressive process of aging.

In the 1980s, Tozzi-Ciancarelli and Fedele showed that the structural properties of erythrocytes differed between older and young adults [105]. The age-related accumulation of defective proteins has further consequences for hematopoiesis, ultimately creating defects in the structure of reticulocytes and erythrocytes such as changes in the spectrin-4.1-actin complex, cytoskeleton structure, glycocalyx, and band protein III, which causes hemolysis [106–110].

4.2. Kidney Disease

Chronic kidney disease was defined by the KDIGO (Kidney Disease; Improving Global Outcomes) 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease as a progressive abnormality of kidney structure and function, a condition leading to end-stage renal disease requiring renal replacement therapy [111]. Uremia progression is accompanied by an increase in chronic inflammation and oxidative stress. The processes of hematopoiesis and eryptosis are therefore disrupted by the accumulation of pro-inflammatory molecules such as CRP, NOS, ROS, IL-1, IL-6, TNF- α , and other inflammatory mediators. Normal nephron functioning deteriorates with age, as shown by a decrease in the glomerular filtration rate (GFR) in the aging population. In a population study of 12,381 Germans, Waas and Schulz [112] recorded a decrease by 1 mL/min/m² estimated GFR (eGFR) per year from the third decade of life. The increased risk of developing progressive nephropathy includes age-related chronic diseases such as hypertension, diabetes, and glomerulonephritis [113]. An epidemiological study by Kovesda et al. [114] recorded 25.3% prevalence of anemia in people with stages 3–5 CKD (eGFR < 60 mL/min/1.73 m²). With regard to age groups, anemia was more likely to develop in patients aged ≥ 75 years, who also demonstrated a significant correlation with lower mean hemoglobin concentrations. According to Stauffer et al. [115], anemia was twice as prevalent in people with CKD as in the general population (15.4% vs. 7.6%, respectively).

The phenomena of polypharmacy and polypragmasy, which belong to the risk factors for kidney disease, are frequently recorded in the elderly [116]. Increased use of drugs available without prescription, primarily, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), herbal remedies, and dietary supplements can lead to drug-induced nephrotoxicity [117] with potential consequences being acute kidney injury (AKI), possibly leading to irreversible CKD [118].

Other risk factors of AKI and CKD progression include water–electrolyte disturbances. Older adults belong to the age group at increased risk of disruption of physiological homeostasis such as thirst control disturbances and water–electrolyte imbalance. Dysfunction of central nervous system mechanisms of thirst control results in reduced thirst in response to current water–electrolyte needs [119,120]. These tendencies toward dehydration are the

risk factors for hemodynamic weakness, which significantly contributes to the increased risk of kidney damage [121,122].

Erythropoietin, the major regulator in erythropoiesis renewal, is prenatally synthesized in the liver, but hepatic EPO production is switched to the kidneys and taken over perinatally by peritubular interstitial fibroblasts (which belong to renal erythropoietin-producing cells (REPCs)) [123]. In chronic kidney disease, the number of REPCs is reduced due to their differentiation into myofibroblasts, which lose their ability to produce EPO. Therefore, an insufficient number of hypoxia-inducible factor (HIF)-sensitive REPCs in response to hypoxic stimuli causes an EPO decrease and erythropoiesis, leading to the development of anemia [124].

Vlasschaert et al. [125] observed more rapid development of progressive chronic kidney disease and greater severity of anemia in patients with previous CKD and current CHIP.

4.3. Hormonal Factors

Hormonal regulation is also affected by age-related changes, which pertains to both genders: menopausal and postmenopausal changes in women and andropausal transition in men have been widely investigated. In both genders, a reduction in circulating estrogen and testosterone plasma levels have been recorded. An age-related decrease in muscle mass due to lower testosterone levels also results in reduced sensitivity of erythropoietin forming [126,127]. Significant correlations between sarcopenia and anemia were detected in population-based studies [128–130]. A reduction in erythropoiesis may also result from decreased thyroid hormonal activity, which slows down the anabolic hormone level. Fatigue, weakness, and loss of appetite are among the significant effects of decreased numbers of blood erythrocytes [131].

With aging, the endocrine abnormalities decrease the production of hormones and consequently affect red blood cell homeostasis. A potential impact of anabolic hormones (IGF-1, testosterone, TSH, T3, T4) on hepcidin regulation and the expression of progenitor cells involved in hematopoiesis has been recorded [132]. The late-onset hypogonadism in andropausal elderly males and hypoestrogenism in postmenopausal elderly females are the hormonal factors that potentially contribute to anemia development. Adequate plasma testosterone levels modulate pro-inflammatory cytokines, mainly IL-6, which ensure appropriate hepcidin levels and proper hematopoietic cell differentiation without clonal cells. These are the elements that favorably affect the hemoglobin and hematocrit levels in older men [133,134]. Reduced testosterone levels correlate with a negative response to erythropoiesis-stimulating factors [135].

It should be noted, however, that in elderly patients with prostate cancer treated with hormone replacement therapy (androgen deprivation), radiotherapy, and brachytherapy procedures, their hemoglobin levels were observed to fall by an average of 1–2.5 g/dL, which should not be directly linked to inflammatory processes and anemia [132,136].

Progenitor cells contain estrogen receptors (ER- α and ER- β) that are influenced by estrogen during differentiation [137]. Zhou and Tseng [138] showed that estrogen regulated erythropoiesis by ROS and NOS modulation on the progenitor erythroid cells, which affected proliferation and differentiation. The research conducted to date has also confirmed the protective cardiovascular effects of estrogens in women as their NOS and ROS-modulating activity produces anti-inflammatory effects [139]. Moreover, estrogen has an erythropoiesis-stimulating effect on bone marrow stem cells, which has been proven to support erythrocyte count and hemoglobin levels in pregnant women [140].

Estrogens participate in the estrogen–iron axis through their ability to inhibit hepcidin formation. A decrease in hepcidin results in an increase in iron storage, while an inflammation-induced increase of hepcidin levels, among other factors, negatively affects iron metabolism.

4.4. Gastrointestinal Diseases

Gastrointestinal (GI) changes are common in the elderly, with some GI disorders being more prevalent in this age group such as changes in the oral cavity, esophagitis, gastroesophageal reflux disease (GERD), chronic atrophic gastritis, *Clostridioides difficile* and *Helicobacter pylori* infection, peptic ulcer disease, celiac disease, small bowel bleeding, angiodysplasias, small bowel ulcers, inflammatory bowel disease (IBD), small intestinal bacterial overgrowth (SIBO), abdominal hernia, constipation, and diarrheal illnesses [141].

Decreased production of pepsin and hydrochloric acid limits the bioavailability of dietary and supplementary vitamin B12 [141,142]. Examples of bioavailability limitations include the use of acid suppressants to protect against medication side-effects (mainly NSAIDs), the presence of gastritis and/or duodenal inflammation, and esophageal disorders. Age-associated changes to intestinal epithelial cells and enterocyte function may result in insufficient nutrient absorption [143]. These limitations are also related to the higher prevalence of celiac disease in the elderly, reaching from 4 to about 25 percent [144]. In fact, this difference may be due to delayed diagnosis for celiac disease, mainly because of the atypical clinical manifestations of this enteropathy [141,143,145]. A higher incidence of hernias, adhesions, diverticulosis, and risk of obstruction may also contribute to bacterial overgrowth (SIBO) and chronic intestinal inflammation. Diverticular disease is rare in the general population, but it was found to affect 65% of people aged ≥ 65 years [141,146,147].

Abnormal hematological indicators such as inflammation-related normocytic anemia occur in approximately half of patients with hepatic cirrhosis [148]. Hepcidin plays a major role in hepatic disorders due to iron restriction. On the other hand, information regarding patients with cirrhosis is limited, and there is debate about the plasma erythropoietin (EPO) levels in these individuals. It is plausible that EPO elevation could be a result of renal hypoperfusion, hypoxia, anemia, or a hepato-protective and regenerative mechanism mediated by EPO. In contrast, inadequate EPO response in advanced cirrhosis might be attributed to poor hepatic synthesis capacity, decreasing co-factor levels, and inflammatory feedback mechanisms. Ultimately, the source of a potential increase in EPO production during certain stages of cirrhosis—whether from the kidney or liver—remains a lingering question [149].

While some changes associated with an aging GI system are physiologic, others are pathological and particularly more prevalent among those above 65 years of age [141]. Such GI diseases increase the risk of gastrointestinal bleeding.

Diseases of the gastrointestinal tract in old age are among the main causes of anemia due to the reduced absorption of micro- and macronutrients necessary for cell synthesis in erythropoiesis up to the erythrocytes themselves. It is challenging to unequivocally demonstrate anemia in the elderly as a result of chronic inflammation due to the overlapping causes of anemia such as disorders, impaired iron absorption, and the intake of other micronutrients.

4.5. Intestinal Dysbiosis

Our microbiota is subject to constant variation over our life course. The risk of intestinal dysbiosis (i.e., a significant reduction in beneficial microorganisms and an increase in opportunistic or pathobiont microbes in the gastrointestinal tract) is on the increase in old age depending on our health status, lifestyle, previous illnesses, and general inflammation [150,151]. Intestinal epithelial barrier dysfunction and increased permeability with aging, previously confirmed only in patients with inflammatory bowel diseases, have raised particular concerns. This is especially relevant for individuals with inflammatory bowel disease, nutritional deficiencies, overweight, metabolic syndrome, or those undergoing antibiotic therapy [152].

Josefsdottir et al. [153] demonstrated that the gut microbiota supports adequate hematopoiesis. Previous hypotheses suggested a signaling model involving the gut microbiome and the bone marrow.

The gut microbiome–macrophage–iron axis recently discovered by Zhang and Gao [154] shows that microbiota-derived metabolites increase iron availability in a manner dependent on bone marrow macrophage erythrophagocytosis, which affects hematopoietic differentiation and blood regeneration. These include STAT1 signaling, type I IFN signaling in hematopoietic cells [155]. The presence of a favorable gut microbiota population ensuring adequate synthesis of short-chain fatty acids (SCFAs) such as acetate, butyrate, and propionate may contribute to erythrophagocytosis and favorable hematopoietic regeneration [156–158]. Soriano-Lerma and García-Burgos [159] reported a potential mediatory function of SCFAs in iron absorption, and possibly in anemia status modulation. A gradual increase in unfavorable intestinal microbiota contributes to an increased risk of intestinal absorption disorders in the elderly [143,160].

4.6. Autoimmune Diseases

The risk of chronic inflammation including autoimmunization increases with age. Paradoxically, an increase in the incidence of new autoimmune pathologies in all autoimmune diseases has not been recorded in older adults [161]. A recent population-based study by Conrad et al. [162] confirmed that they occurred almost twice as often in women as in men, and the mean age of diagnosis was 54 years. Only in entities such as Graves' disease, pernicious anemia, and rheumatoid arthritis (RA) did the risk increase with age. For the other diseases (celiac disease, inflammatory bowel disease and vasculitis), the incidence reached three different peaks: in childhood, early adulthood, and old age.

Even if we assume that the components of immunescence such as chronic inflammation, increased production of autoantibodies, and a decline in the immune response are most likely to be chronic autoimmunity rather than autoimmune diseases, they are still potential contributors to anemia in the elderly [163,164]. Some scientific reports support the link between anemia and autoimmune diseases, however, other causes of anemia should be considered such as anti-inflammatory drugs, glucocorticosteroids, biologic drugs that reduce iron-bioavailability and other essential micro- and macro-nutrients for erythropoiesis, or increased macrophage release [165]. This hypothesis may be supported by the decrease in Hb levels in RA, and the degree of clinical exacerbation of rheumatic disease. However, more research is needed into the relationships between anemia and autoimmunity and autoimmune diseases in older adults, taking into account confounding factors such as the use of medications that increase the risk of gastrointestinal diseases and limit bioavailability as well as other chronic diseases (e.g., CKD, hematological diseases, malnutrition, or hepatic diseases) [165–169].

Numerous research papers have reported that erythropoiesis-enhancing treatment reduced the severity of autoimmune diseases [170–174]. However, the conclusions should be treated with caution, as in some autoimmune diseases, EPO may produce pro-inflammatory or anti-inflammatory effects [175].

It is possible that the response of B and T lymphocytes in the autoimmunity process is potentially related to the increased risk of stress erythropoiesis, which does not allow older people to keep pace with the demand for erythrocytes [176,177].

5. Summary

Extensive studies on anemia in older adults have revealed significant outcomes including increased mortality, hospitalization rates, frailty, falls, mobility limitations, cognitive decline, dementia, functional dependence, and reduced quality of life. These findings are consistent across major cohort studies that excluded individuals with other conditions [6,178–181]. The multifactorial and highly prevalent nature of anemia in older adults is directly correlated with age. While the degree of anemia is mostly mild in the ambulatory setting, institutionalized patients exhibit higher rates of anemia of increased severity.

Aging-related changes are evident in the frequent occurrence of both anemia and indicators of inflammation in the elderly. It is crucial to recognize the interconnectedness of anemia and inflammation, as they are, to some extent, manifestations of the same

biological processes such as elevated levels of various proinflammatory mediators. Both conditions, anemia and inflammation, contribute to a heightened mortality risk, with the underlying causes of decreased survival likely stemming from a variety of factors. To enhance the clinical management of individual patients, a deeper understanding of the molecular mechanisms driving anemia and inflammation is essential. Our perspective emphasizes the need for personalized care based on the comprehensive clinical context when dealing with elderly patients.

A critical facet involves recalibrating reference values for older adults for key hematological parameters such as hemoglobin and hematocrit to align with the unique physiological changes associated with aging. This should make the diagnostic process more accurate and reflective of the health status of older individuals. Moreover, a diagnostic panel should be devised to encompass a spectrum of markers essential for comprehensive anemia assessment in older age. In addition to conventional indicators, special attention should be directed to hepcidin and inflammatory biomarkers such as CRP and cytokines such as IL-1 β and TNF- α [52]. These indicators provide a more nuanced insight into the underlying causes of anemia, enabling tailored interventions that could address specific clinical conditions common in the elderly population.

Stratifying the elderly population into distinct age groups is another crucial modification proposal in the diagnostic approach. While anemia can affect individuals at various life stages, placing emphasis on those aged 65 and above recognizes the increased susceptibility to anemia-related issues in this demographic. Moreover, pinpointing high-risk groups such as individuals with specific chronic diseases ensures targeted and more frequent screenings for those who need it the most. Notably, persons aged 80 and above as well as institutionalized patients require even more vigilant monitoring, considering their advanced age and higher vulnerability to potential anemia-associated complications.

Moving beyond diagnostic measures, the multifaceted nature of combating anemia in the elderly necessitates the consideration of both non-pharmacological and pharmacological interventions. Non-pharmacological strategies, particularly dietary adjustments, have emerged as a cornerstone in anemia management.

However, when pharmacological interventions are warranted, a judicious approach is essential. Considering the likelihood of elderly individuals already being on a myriad of medications, potential interactions must be carefully evaluated.

In essence, addressing anemia in the elderly requires a meticulous balance between comprehensive diagnostic measures and tailored interventions. By embracing these modifications in diagnostic testing and intervention strategies, health care professionals can navigate the complexities of anemia management in older individuals with greater precision and efficacy.

We ought to incorporate every accessible data found in the Clinical Practice Guidelines, which shall support the comprehensive management of these patients through a multidisciplinary and multimodal approach.

This review provides valuable insights that can guide future endeavors in refining the approach to anemia in the elderly, ultimately contributing to improved health care outcomes for this demographic population.

Author Contributions: Conceptualization, E.W.; Writing—Original Draft Preparation, E.W. and J.N.; Visualization, E.W. and J.N.; Supervision, A.Z.-L. and P.J.; Funding Acquisition, A.Z.-L. and P.J. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by funds from the University of Zielona Gora (No. 2023/2024 Ministry of Science and High Education, Poland).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

- Guralnik, J.M.; Eisenstaedt, R.S.; Ferrucci, L.; Klein, H.G.; Woodman, R.C. Prevalence of Anemia in Persons 65 Years and Older in the United States: Evidence for a High Rate of Unexplained Anemia. *Blood* **2004**, *104*, 2263–2268. [\[CrossRef\]](#)
- Aunan, J.R.; Watson, M.M.; Hagland, H.R.; Søreide, K. Molecular and Biological Hallmarks of Ageing. *Br. J. Surg.* **2016**, *103*, e29–e46. [\[CrossRef\]](#)
- WHO Scientific Group on Nutritional Anaemias; World Health Organization. *Nutritional Anaemias: Report of a WHO Scientific Group [Meeting Held in Geneva from 13 to 17 March 1967]*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 1968.
- Shavelle, R.M.; MacKenzie, R.; Paculdo, D.R. Anemia and Mortality in Older Persons: Does the Type of Anemia Affect Survival? *Int. J. Hematol.* **2012**, *95*, 248–256. [\[CrossRef\]](#)
- Beutler, E.; Waalen, J. The Definition of Anemia: What Is the Lower Limit of Normal of the Blood Hemoglobin Concentration? *Blood* **2006**, *107*, 1747–1750. [\[CrossRef\]](#)
- Zakai, N.A.; Katz, R.; Hirsch, C.; Shlipak, M.G.; Chaves, P.H.M.; Newman, A.B.; Cushman, M. A Prospective Study of Anemia Status, Hemoglobin Concentration, and Mortality in an Elderly Cohort: The Cardiovascular Health Study. *Arch. Intern. Med.* **2005**, *165*, 2214–2220. [\[CrossRef\]](#)
- Culleton, B.F.; Manns, B.J.; Zhang, J.; Tonelli, M.; Klarenbach, S.; Hemmelgarn, B.R. Impact of Anemia on Hospitalization and Mortality in Older Adults. *Blood* **2006**, *107*, 3841–3846. [\[CrossRef\]](#)
- Wouters, H.J.C.M.; van der Klauw, M.M.; de Witte, T.; Stauder, R.; Swinkels, D.W.; Wolffenbuttel, B.H.R.; Huls, G. Association of Anemia with Health-Related Quality of Life and Survival: A Large Population-Based Cohort Study. *Haematologica* **2019**, *104*, 468–476. [\[CrossRef\]](#)
- Teissier, T.; Boulanger, E.; Cox, L.S. Interconnections between Inflammageing and Immunosenescence during Ageing. *Cells* **2022**, *11*, 359. [\[CrossRef\]](#)
- Brognara, L.; Luna, O.C.; Traina, F.; Cauli, O. Inflammatory Biomarkers and Gait Impairment in Older Adults: A Systematic Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 1368. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Nemeth, E.; Ganz, T. Anemia of Inflammation. *Hematol./Oncol. Clin. N. Am.* **2014**, *28*, 671–681. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Liberale, L.; Badimon, L.; Montecucco, F.; Lüscher, T.F.; Libby, P.; Camici, G.G. Inflammation, Aging, and Cardiovascular Disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2022**, *79*, 837–847. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Gaskell, H.; Derry, S.; Andrew Moore, R.; McQuay, H.J. Prevalence of Anaemia in Older Persons: Systematic Review. *BMC Geriatr.* **2008**, *8*, 1. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Bach, V.; Schruckmayer, G.; Sam, I.; Kemmler, G.; Stauder, R. Prevalence and Possible Causes of Anemia in the Elderly: A Cross-Sectional Analysis of a Large European University Hospital Cohort. *Clin. Interv. Aging* **2014**, *9*, 1187–1196. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Sahin, S.; Tasar, P.T.; Simsek, H.; Çicek, Z.; Eskiizmirli, H.; Aykar, F.S.; Sahin, F.; Akcicek, F. Prevalence of Anemia and Malnutrition and Their Association in Elderly Nursing Home Residents. *Aging Clin. Exp. Res.* **2016**, *28*, 857–862. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Robalo Nunes, A.; Fonseca, C.; Marques, F.; Belo, A.; Brilhante, D.; Cortez, J. Prevalence of Anemia and Iron Deficiency in Older Portuguese Adults: An EMPIRE Substudy. *Geriatr. Gerontol. Int.* **2017**, *17*, 1814–1822. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Zaninetti, C.; Klersy, C.; Scavariello, C.; Bastia, R.; Balduini, C.L.; Invernizzi, R. Prevalence of Anemia in Hospitalized Internal Medicine Patients: Correlations with Comorbidities and Length of Hospital Stay. *Eur. J. Intern. Med.* **2018**, *51*, 11–17. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Muñoz, M.; Laso-Morales, M.J.; Gómez-Ramírez, S.; Cadellas, M.; Núñez-Matas, M.J.; García-Erce, J.A. Pre-Operative Haemoglobin Levels and Iron Status in a Large Multicentre Cohort of Patients Undergoing Major Elective Surgery. *Anaesthesia* **2017**, *72*, 826–834. [\[CrossRef\]](#)
- Artz, A.S.; Fergusson, D.; Drinka, P.J.; Gerald, M.; Gravenstein, S.; Lechich, A.; Silverstone, F.; Finnigan, S.; Janowski, M.C.; McCamish, M.A.; et al. Prevalence of Anemia in Skilled-Nursing Home Residents. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2004**, *39*, 201–206. [\[CrossRef\]](#)
- Migone De Amicis, M.; Poggiali, E.; Motta, I.; Minonzio, F.; Fabio, G.; Hu, C.; Cappellini, M.D. Anemia in Elderly Hospitalized Patients: Prevalence and Clinical Impact. *Intern. Emerg. Med.* **2015**, *10*, 581–586. [\[CrossRef\]](#)
- Nathavitharana, R.L.; Murray, J.A.; D'Sousa, N.; Sheehan, T.; Frampton, C.M.; Baker, B.W. Anaemia Is Highly Prevalent among Unselected Internal Medicine Inpatients and Is Associated with Increased Mortality, Earlier Readmission and More Prolonged Hospital Stay: An Observational Retrospective Cohort Study. *Intern. Med. J.* **2012**, *42*, 683–691. [\[CrossRef\]](#)
- Weiss, G.; Goodnough, L.T. Anemia of Chronic Disease. *N. Engl. J. Med.* **2005**, *352*, 1011–1023. [\[CrossRef\]](#)
- Keller, C.R.; Odden, M.C.; Fried, L.F.; Newman, A.B.; Angleman, S.; Green, C.A.; Cummings, S.R.; Harris, T.B.; Shlipak, M.G. Kidney Function and Markers of Inflammation in Elderly Persons without Chronic Kidney Disease: The Health, Aging, and Body Composition Study. *Kidney Int.* **2007**, *71*, 239–244. [\[CrossRef\]](#)
- Patel, K.V. Epidemiology of Anemia in Older Adults. *Semin. Hematol.* **2008**, *45*, 210–217. [\[CrossRef\]](#)
- Stauder, R.; Valent, P.; Theurl, I. Anemia at Older Age: Etiologies, Clinical Implications, and Management. *Blood* **2018**, *131*, 505–514. [\[CrossRef\]](#)
- Melzer, D.; Pilling, L.C.; Ferrucci, L. The Genetics of Human Ageing. *Nat. Rev. Genet.* **2020**, *21*, 88–101. [\[CrossRef\]](#)
- Wang, H.; Lou, D.; Wang, Z. Crosstalk of Genetic Variants, Allele-Specific DNA Methylation, and Environmental Factors for Complex Disease Risk. *Front. Genet.* **2018**, *9*, 695. [\[CrossRef\]](#)

28. Langie, S.A.S.; Koppen, G.; Desaulniers, D.; Al-Mulla, F.; Al-Temaimi, R.; Amedei, A.; Azqueta, A.; Bisson, W.H.; Brown, D.G.; Brunborg, G.; et al. Causes of Genome Instability: The Effect of Low Dose Chemical Exposures in Modern Society. *Carcinogenesis* **2015**, *36* (Suppl. S1), S61–S88. [\[CrossRef\]](#)
29. Cooke, M.S.; Evans, M.D.; Dizdaroglu, M.; Lunec, J. Oxidative DNA Damage: Mechanisms, Mutation, and Disease. *FASEB J.* **2003**, *17*, 1195–1214. [\[CrossRef\]](#)
30. Wei, Y.; Giunta, S.; Xia, S. Hypoxia in Aging and Aging-Related Diseases: Mechanism and Therapeutic Strategies. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 8165. [\[CrossRef\]](#)
31. Kay, J.; Thadhani, E.; Samson, L.; Engelward, B. Inflammation-Induced DNA Damage, Mutations and Cancer. *DNA Repair* **2019**, *83*, 102673. [\[CrossRef\]](#)
32. Liu, W.; Deng, Y.; Li, Z.; Chen, Y.; Zhu, X.; Tan, X.; Cao, G. Cancer Evo-Dev: A Theory of Inflammation-Induced Oncogenesis. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 768098. [\[CrossRef\]](#)
33. Jaiswal, S.; Ebert, B.L. Clonal Hematopoiesis in Human Aging and Disease. *Science* **2019**, *366*, eaan4673. [\[CrossRef\]](#)
34. Mitchell, E.; Spencer Chapman, M.; Williams, N.; Dawson, K.J.; Mende, N.; Calderbank, E.F.; Jung, H.; Mitchell, T.; Coorens, T.H.H.; Spencer, D.H.; et al. Clonal Dynamics of Haematopoiesis across the Human Lifespan. *Nature* **2022**, *606*, 343–350. [\[CrossRef\]](#)
35. Morganti, C.; Ito, K. Mitochondrial Contributions to Hematopoietic Stem Cell Aging. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 11117. [\[CrossRef\]](#)
36. Zampino, M.; Brennan, N.A.; Kuo, P.-L.; Spencer, R.G.; Fishbein, K.W.; Simonsick, E.M.; Ferrucci, L. Poor Mitochondrial Health and Systemic Inflammation? Test of a Classic Hypothesis in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Geroscience* **2020**, *42*, 1175–1182. [\[CrossRef\]](#)
37. Yeo, E.-J. Hypoxia and Aging. *Exp. Mol. Med.* **2019**, *51*, 1–15. [\[CrossRef\]](#)
38. Lee, P.; Chandel, N.S.; Simon, M.C. Cellular Adaptation to Hypoxia through Hypoxia Inducible Factors and Beyond. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2020**, *21*, 268–283. [\[CrossRef\]](#)
39. Tojo, Y.; Sekine, H.; Hirano, I.; Pan, X.; Souma, T.; Tsujita, T.; Kawaguchi, S.; Takeda, N.; Takeda, K.; Fong, G.-H.; et al. Hypoxia Signaling Cascade for Erythropoietin Production in Hepatocytes. *Mol. Cell. Biol.* **2015**, *35*, 2658–2672. [\[CrossRef\]](#)
40. Xia, S.; Zhang, X.; Zheng, S.; Khanabadi, R.; Kalionis, B.; Wu, J.; Wan, W.; Tai, X. An Update on Inflamm-Aging: Mechanisms, Prevention, and Treatment. *J. Immunol. Res.* **2016**, *2016*, 8426874. [\[CrossRef\]](#)
41. Franceschi, C.; Campisi, J. Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential Contribution to Age-Associated Diseases. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2014**, *69* (Suppl. S1), S4–S9. [\[CrossRef\]](#)
42. Wawrzyniak-Gramacka, E.; Hertmanowska, N.; Tylutka, A.; Morawin, B.; Wacka, E.; Gutowicz, M.; Zembron-Lacny, A. The Association of Anti-Inflammatory Diet Ingredients and Lifestyle Exercise with Inflammaging. *Nutrients* **2021**, *13*, 3696. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Mincicullo, P.L.; Catalano, A.; Mandraffino, G.; Casciaro, M.; Crucitti, A.; Maltese, G.; Morabito, N.; Lasco, A.; Gangemi, S.; Basile, G. Inflammaging and Anti-Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **2016**, *64*, 111–126. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Stefanova, D.; Raychev, A.; Deville, J.; Humphries, R.; Campeau, S.; Ruchala, P.; Nemeth, E.; Ganz, T.; Bulut, Y. Hepcidin Protects against Lethal Escherichia Coli Sepsis in Mice Inoculated with Isolates from Septic Patients. *Infect. Immun.* **2018**, *86*, e00253-18. [\[CrossRef\]](#)
45. Stefanova, D.; Raychev, A.; Arezes, J.; Ruchala, P.; Gabayan, V.; Skurnik, M.; Dillon, B.J.; Horwitz, M.A.; Ganz, T.; Bulut, Y.; et al. Endogenous Hepcidin and Its Agonist Mediate Resistance to Selected Infections by Clearing Non-Transferrin-Bound Iron. *Blood* **2017**, *130*, 245–257. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
46. Nemeth, E.; Ganz, T. The Role of Hepcidin in Iron Metabolism. *Acta Haematol.* **2009**, *122*, 78–86. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Park, C.H.; Valore, E.V.; Waring, A.J.; Ganz, T. Hepcidin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 7806–7810. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
48. den Elzen, W.P.J.; de Craen, A.J.M.; Wiegerinck, E.T.; Westendorp, R.G.J.; Swinkels, D.W.; Gussekloo, J. Plasma Hepcidin Levels and Anemia in Old Age. The Leiden 85-Plus Study. *Haematologica* **2013**, *98*, 448–454. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Donovan, A.; Lima, C.A.; Pinkus, J.L.; Pinkus, G.S.; Zon, L.I.; Robine, S.; Andrews, N.C. The Iron Exporter Ferroportin/Slc40a1 Is Essential for Iron Homeostasis. *Cell Metab.* **2005**, *1*, 191–200. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
50. Nemeth, E.; Tuttle, M.S.; Powelson, J.; Vaughn, M.B.; Donovan, A.; Ward, D.M.; Ganz, T.; Kaplan, J. Hepcidin Regulates Cellular Iron Efflux by Binding to Ferroportin and Inducing Its Internalization. *Science* **2004**, *306*, 2090–2093. [\[CrossRef\]](#)
51. Ganz, T. Anemia of Inflammation. *N. Engl. J. Med.* **2019**, *381*, 1148–1157. [\[CrossRef\]](#)
52. Wacka, E.; Wawrzyniak-Gramacka, E.; Tylutka, A.; Morawin, B.; Gutowicz, M.; Zembron-Lacny, A. The Role of Inflammation in Age-Associated Changes in Red Blood System. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 8944. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Ferrucci, L.; Semba, R.D.; Guralnik, J.M.; Ershler, W.B.; Bandinelli, S.; Patel, K.V.; Sun, K.; Woodman, R.C.; Andrews, N.C.; Cotter, R.J.; et al. Proinflammatory State, Hepcidin, and Anemia in Older Persons. *Blood* **2010**, *115*, 3810–3816. [\[CrossRef\]](#)
54. Campostrini, N.; Traglia, M.; Martinelli, N.; Corbella, M.; Cocca, M.; Manna, D.; Castagna, A.; Masciullo, C.; Silvestri, L.; Olivieri, O.; et al. Serum Levels of the Hepcidin-20 Isoform in a Large General Population: The Val Borbera Study. *J. Proteom.* **2012**, *76*, 28–35. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
55. Galesloot, T.E.; Vermeulen, S.H.; Geurts-Moespot, A.J.; Klaver, S.M.; Kroot, J.J.; van Tienoven, D.; Wetzels, J.F.M.; Kiemeny, L.A.L.M.; Sweep, F.C.; den Heijer, M.; et al. Serum Hepcidin: Reference Ranges and Biochemical Correlates in the General Population. *Blood* **2011**, *117*, e218–e225. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

56. Morceau, F.; Dicato, M.; Diederich, M. Pro-Inflammatory Cytokine-Mediated Anemia: Regarding Molecular Mechanisms of Erythropoiesis. *Mediat. Inflamm.* **2009**, *2009*, 405016. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
57. Orsini, M.; Chateauvieux, S.; Rhim, J.; Gaigneaux, A.; Cheillan, D.; Christov, C.; Dicato, M.; Morceau, F.; Diederich, M. Sphingolipid-Mediated Inflammatory Signaling Leading to Autophagy Inhibition Converts Erythropoiesis to Myelopoiesis in Human Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Cell Death Differ.* **2019**, *26*, 1796–1812. [\[CrossRef\]](#)
58. Libregts, S.F.; Gutiérrez, L.; de Bruin, A.M.; Wensveen, F.M.; Papadopoulos, P.; van Ijcken, W.; Özgür, Z.; Philipsen, S.; Nolte, M.A. Chronic IFN- γ Production in Mice Induces Anemia by Reducing Erythrocyte Life Span and Inhibiting Erythropoiesis through an IRF-1/PU.1 Axis. *Blood* **2011**, *118*, 2578–2588. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
59. Means, R.T.; Dessypris, E.N.; Krantz, S.B. Inhibition of Human Erythroid Colony-Forming Units by Interleukin-1 Is Mediated by Gamma Interferon. *J. Cell Physiol.* **1992**, *150*, 59–64. [\[CrossRef\]](#)
60. Means, R.T.; Krantz, S.B. Inhibition of Human Erythroid Colony-Forming Units by Gamma Interferon Can Be Corrected by Recombinant Human Erythropoietin. *Blood* **1991**, *78*, 2564–2567. [\[CrossRef\]](#)
61. Miller, C.B.; Jones, R.J.; Piantadosi, S.; Abeloff, M.D.; Spivak, J.L. Decreased Erythropoietin Response in Patients with the Anemia of Cancer. *N. Engl. J. Med.* **1990**, *322*, 1689–1692. [\[CrossRef\]](#)
62. Cazzola, M.; Ponchio, L.; de Benedetti, F.; Ravelli, A.; Rosti, V.; Beguin, Y.; Invernizzi, R.; Barosi, G.; Martini, A. Defective Iron Supply for Erythropoiesis and Adequate Endogenous Erythropoietin Production in the Anemia Associated with Systemic-Onset Juvenile Chronic Arthritis. *Blood* **1996**, *87*, 4824–4830. [\[CrossRef\]](#)
63. Macdougall, I.C.; Cooper, A.C. Erythropoietin Resistance: The Role of Inflammation and pro-Inflammatory Cytokines. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2002**, *17* (Suppl. S11), 39–43. [\[CrossRef\]](#)
64. Kimachi, M.; Fukuma, S.; Yamazaki, S.; Yamamoto, Y.; Akizawa, T.; Akiba, T.; Saito, A.; Fukuhara, S. Minor Elevation in C-Reactive Protein Levels Predicts Incidence of Erythropoiesis-Stimulating Agent Hyporesponsiveness among Hemodialysis Patients. *Nephron* **2015**, *131*, 123–130. [\[CrossRef\]](#)
65. Khalil, S.; Delehanty, L.; Grado, S.; Holy, M.; White, Z.; Freeman, K.; Kurita, R.; Nakamura, Y.; Bullock, G.; Goldfarb, A. Iron Modulation of Erythropoiesis Is Associated with Scribble-Mediated Control of the Erythropoietin Receptor. *J. Exp. Med.* **2018**, *215*, 661–679. [\[CrossRef\]](#)
66. Buchanan, S.; Combet, E.; Stenvinkel, P.; Shiels, P.G. Klotho, Aging, and the Failing Kidney. *Front. Endocrinol.* **2020**, *11*, 560. [\[CrossRef\]](#)
67. Xu, Y.; Sun, Z. Molecular Basis of Klotho: From Gene to Function in Aging. *Endocr. Rev.* **2015**, *36*, 174–193. [\[CrossRef\]](#)
68. An, C.; Chen, X.; Zheng, D. Association between Anemia and Serum Klotho in Middle-Aged and Older Adults. *BMC Nephrol.* **2023**, *24*, 38. [\[CrossRef\]](#)
69. Vadakke Madathil, S.; Coe, L.M.; Casu, C.; Sitara, D. Klotho Deficiency Disrupts Hematopoietic Stem Cell Development and Erythropoiesis. *Am. J. Pathol.* **2014**, *184*, 827–841. [\[CrossRef\]](#)
70. Kanbay, M.; Copur, S.; Ozbek, L.; Mutlu, A.; Cejka, D.; Ciceri, P.; Cozzolino, M.; Haarhaus, M.L. Klotho: A Potential Therapeutic Target in Aging and Neurodegeneration beyond Chronic Kidney Disease—A Comprehensive Review from the ERA CKD-MBD Working Group. *Clin. Kidney J.* **2024**, *17*, sfad276. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
71. Yang, H.-C.; Fogo, A.B. Fibrosis and Renal Aging. *Kidney Int. Suppl.* **2014**, *4*, 75–78. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
72. Tsiftoglou, A.S. Erythropoietin (EPO) as a Key Regulator of Erythropoiesis, Bone Remodeling and Endothelial Transdifferentiation of Multipotent Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Implications in Regenerative Medicine. *Cells* **2021**, *10*, 2140. [\[CrossRef\]](#)
73. Ershler, W.B.; Sheng, S.; McKelvey, J.; Artz, A.S.; Denduluri, N.; Tecson, J.; Taub, D.D.; Brant, L.J.; Ferrucci, L.; Longo, D.L. Serum Erythropoietin and Aging: A Longitudinal Analysis. *J. Am. Geriatr. Soc.* **2005**, *53*, 1360–1365. [\[CrossRef\]](#)
74. Macciò, A.; Madeddu, C. Management of Anemia of Inflammation in the Elderly. *Anemia* **2012**, *2012*, 563251. [\[CrossRef\]](#)
75. Mitlyng, B.L.; Singh, J.A.; Furne, J.K.; Ruddy, J.; Levitt, M.D. Use of Breath Carbon Monoxide Measurements to Assess Erythrocyte Survival in Subjects with Chronic Diseases. *Am. J. Hematol.* **2006**, *81*, 432–438. [\[CrossRef\]](#)
76. Correll, C.K.; Binstadt, B.A. Advances in the Pathogenesis and Treatment of Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. *Pediatr. Res.* **2014**, *75*, 176–183. [\[CrossRef\]](#)
77. Milner, J.D.; Orekov, T.; Ward, J.M.; Cheng, L.; Torres-Velez, F.; Junttila, I.; Sun, G.; Buller, M.; Morris, S.C.; Finkelman, F.D.; et al. Sustained IL-4 Exposure Leads to a Novel Pathway for Hemophagocytosis, Inflammation, and Tissue Macrophage Accumulation. *Blood* **2010**, *116*, 2476–2483. [\[CrossRef\]](#)
78. Cartwright, G.E.; Lee, G.R. The Anaemia of Chronic Disorders. *Br. J. Haematol.* **1971**, *21*, 147–152. [\[CrossRef\]](#)
79. Freireich, E.J.; Ross, J.F.; Bayles, T.B.; Emerson, C.P.; Finch, S.C. Radioactive Iron Metabolism and Erythrocyte Survival Studies of the Mechanism of the Anemia Associated with Rheumatoid Arthritis. *J. Clin. Investig.* **1957**, *36*, 1043–1058. [\[CrossRef\]](#)
80. Kvietys, P.R.; Granger, D.N. Role of Reactive Oxygen and Nitrogen Species in the Vascular Responses to Inflammation. *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *52*, 556–592. [\[CrossRef\]](#)
81. Orrico, F.; Laurance, S.; Lopez, A.C.; Lefevre, S.D.; Thomson, L.; Möller, M.N.; Ostuni, M.A. Oxidative Stress in Healthy and Pathological Red Blood Cells. *Biomolecules* **2023**, *13*, 1262. [\[CrossRef\]](#)
82. Williams, A.; Bissinger, R.; Shamaa, H.; Patel, S.; Bourne, L.; Artunc, F.; Qadri, S. Pathophysiology of Red Blood Cell Dysfunction in Diabetes and Its Complications. *Pathophysiology* **2023**, *30*, 327–345. [\[CrossRef\]](#)
83. Barshtein, G. Biochemical and Biophysical Properties of Red Blood Cells in Disease. *Biomolecules* **2022**, *12*, 923. [\[CrossRef\]](#)

84. Chaudhary, R.; Katharia, R. Oxidative Injury as Contributory Factor for Red Cells Storage Lesion during Twenty Eight Days of Storage. *Blood Transfus.* **2012**, *10*, 59. [\[CrossRef\]](#)
85. Huisjes, R.; Bogdanova, A.; Van Solinge, W.W.; Schiffelers, R.M.; Kaestner, L.; Van Wijk, R. Squeezing for Life—Properties of Red Blood Cell Deformability. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, 656. [\[CrossRef\]](#)
86. Ammendolia, D.A.; Bement, W.M.; Brumell, J.H. Plasma Membrane Integrity: Implications for Health and Disease. *BMC Biol.* **2021**, *19*, 71. [\[CrossRef\]](#)
87. Skou, S.T.; Mair, F.S.; Fortin, M.; Guthrie, B.; Nunes, B.P.; Miranda, J.J.; Boyd, C.M.; Pati, S.; Mtenga, S.; Smith, S.M. Multimorbidity. *Nat. Rev. Dis. Primers* **2022**, *8*, 48. [\[CrossRef\]](#)
88. Steinmeyer, Z.; Delpierre, C.; Soriano, G.; Steinmeyer, A.; Ysebaert, L.; Balarly, L.; Sourdet, S. Hemoglobin Concentration; a Pathway to Frailty. *BMC Geriatr.* **2020**, *20*, 202. [\[CrossRef\]](#)
89. Muscaritoli, M.; Imbimbo, G.; Jager-Wittenaar, H.; Cederholm, T.; Rothenberg, E.; Di Girolamo, F.G.; Amabile, M.I.; Sealy, M.; Schneider, S.; Barazzoni, R.; et al. Disease-Related Malnutrition with Inflammation and Cachexia. *Clin. Nutr.* **2023**, *42*, 1475–1479. [\[CrossRef\]](#)
90. Cederholm, T.; Barazzoni, R.; Austin, P.; Ballmer, P.; Biolo, G.; Bischoff, S.C.; Compher, C.; Correia, I.; Higashiguchi, T.; Holst, M.; et al. ESPEN Guidelines on Definitions and Terminology of Clinical Nutrition. *Clin. Nutr.* **2017**, *36*, 49–64. [\[CrossRef\]](#)
91. Alghareeb, S.A.; Alfihli, M.A.; Fatima, S. Molecular Mechanisms and Pathophysiological Significance of Eryptosis. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 5079. [\[CrossRef\]](#)
92. Bissinger, R.; Bhuyan, A.A.M.; Qadri, S.M.; Lang, F. Oxidative Stress, Eryptosis and Anemia: A Pivotal Mechanistic Nexus in Systemic Diseases. *FEBS J.* **2019**, *286*, 826–854. [\[CrossRef\]](#)
93. O'Sullivan, E.D.; Hughes, J.; Ferenbach, D.A. Renal Aging: Causes and Consequences. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2017**, *28*, 407–420. [\[CrossRef\]](#)
94. Zhao, Y.; Yang, Y.; Li, Q.; Li, J. Understanding the Unique Microenvironment in the Aging Liver. *Front. Med.* **2022**, *9*, 842024. [\[CrossRef\]](#)
95. Bolignano, D.; Mattace-Raso, F.; Sijbrands, E.J.G.; Zoccali, C. The Aging Kidney Revisited: A Systematic Review. *Ageing Res. Rev.* **2014**, *14*, 65–80. [\[CrossRef\]](#)
96. Ou, H.-L.; Schumacher, B. DNA Damage Responses and P53 in the Aging Process. *Blood* **2018**, *131*, 488–495. [\[CrossRef\]](#)
97. Walsh, K.; Raghavachari, N.; Kerr, C.; Bick, A.G.; Cummings, S.R.; Druley, T.; Dunbar, C.E.; Genovese, G.; Goodell, M.A.; Jaiswal, S.; et al. Clonal Hematopoiesis Analyses in Clinical, Epidemiologic, and Genetic Aging Studies to Unravel Underlying Mechanisms of Age-Related Dysfunction in Humans. *Front. Aging* **2022**, *3*, 841796. [\[CrossRef\]](#)
98. Bick, A.G.; Weinstock, J.S.; Nandakumar, S.K.; Fulco, C.P.; Bao, E.L.; Zekavat, S.M.; Szeto, M.D.; Liao, X.; Leventhal, M.J.; Nasser, J.; et al. Inherited Causes of Clonal Haematopoiesis in 97,691 Whole Genomes. *Nature* **2020**, *586*, 763–768. [\[CrossRef\]](#)
99. Kar, S.P.; Quiros, P.M.; Gu, M.; Jiang, T.; Mitchell, J.; Langdon, R.; Iyer, V.; Barcena, C.; Vijayabaskar, M.S.; Fabre, M.A.; et al. Genome-Wide Analyses of 200,453 Individuals Yield New Insights into the Causes and Consequences of Clonal Hematopoiesis. *Nat. Genet.* **2022**, *54*, 1155–1166. [\[CrossRef\]](#)
100. Hoermann, G. Clinical Significance of Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential in Hematology and Cardiovascular Disease. *Diagnostics* **2022**, *12*, 1613. [\[CrossRef\]](#)
101. Jaiswal, S.; Natarajan, P.; Silver, A.J.; Gibson, C.J.; Bick, A.G.; Shvartz, E.; McConkey, M.; Gupta, N.; Gabriel, S.; Ardissino, D.; et al. Clonal Hematopoiesis and Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *N. Engl. J. Med.* **2017**, *377*, 111–121. [\[CrossRef\]](#)
102. Mangaonkar, A.A.; Patnaik, M.M. Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential and Clonal Cytopenias of Undetermined Significance: 2023 Update on Clinical Associations and Management Recommendations. *Am. J. Hematol.* **2023**, *98*, 951–964. [\[CrossRef\]](#)
103. Kovtonyuk, L.V.; Fritsch, K.; Feng, X.; Manz, M.G.; Takizawa, H. Inflamm-Aging of Hematopoiesis, Hematopoietic Stem Cells, and the Bone Marrow Microenvironment. *Front. Immunol.* **2016**, *7*, 502. [\[CrossRef\]](#)
104. Kim, S.-Y.; Yoo, D.-M.; Min, C.; Choi, H.-G. Association between Osteoporosis and Low Hemoglobin Levels: A Nested Case-Control Study Using a National Health Screening Cohort. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 8598. [\[CrossRef\]](#)
105. Tozzi-Ciancarelli, M.G.; Fedele, F.; Tozzi, E.; Di Massimo, C.; Oratore, A.; De Matteis, G.; D'Alfonso, A.; Troiani-Sevi, E.; Gallo, P.; Prencipe, M. Age-Dependent Changes in Human Erythrocyte Properties. *CH* **2016**, *9*, 999–1007. [\[CrossRef\]](#)
106. Higuchi-Sanabria, R.; Paul, J.W.; Durieux, J.; Benitez, C.; Frankino, P.A.; Tronnes, S.U.; Garcia, G.; Daniele, J.R.; Monshietehadi, S.; Dillin, A. Spatial Regulation of the Actin Cytoskeleton by HSF-1 during Aging. *MBoC* **2018**, *29*, 2522–2527. [\[CrossRef\]](#)
107. Li, H.; Yang, J.; Chu, T.T.; Naidu, R.; Lu, L.; Chandramohanadas, R.; Dao, M.; Karniadakis, G.E. Cytoskeleton Remodeling Induces Membrane Stiffness and Stability Changes of Maturing Reticulocytes. *Biophys. J.* **2018**, *114*, 2014–2023. [\[CrossRef\]](#)
108. Ciana, A.; Achilli, C.; Minetti, G. Spectrin and Other Membrane-Skeletal Components in Human Red Blood Cells of Different Age. *Cell Physiol. Biochem.* **2017**, *42*, 1139–1152. [\[CrossRef\]](#)
109. Kim, Y.J.; Cho, M.J.; Yu, W.D.; Kim, M.J.; Kim, S.Y.; Lee, J.H. Links of Cytoskeletal Integrity with Disease and Aging. *Cells* **2022**, *11*, 2896. [\[CrossRef\]](#)
110. Remigante, A.; Morabito, R.; Marino, A. Band 3 Protein Function and Oxidative Stress in Erythrocytes. *J. Cell. Physiol.* **2021**, *236*, 6225–6234. [\[CrossRef\]](#)
111. Levin, A.S.; Bilous, R.W.; Coresh, J. Chapter 1: Definition and Classification of CKD. *Kidney Int. Suppl.* **2013**, *3*, 19–62. [\[CrossRef\]](#)

112. Waas, T.; Schulz, A.; Lotz, J.; Rossmann, H.; Pfeiffer, N.; Beutel, M.E.; Schmidtman, I.; Münzel, T.; Wild, P.S.; Lackner, K.J. Distribution of Estimated Glomerular Filtration Rate and Determinants of Its Age Dependent Loss in a German Population-Based Study. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 10165. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
113. Bikbov, B.; Purcell, C.A.; Levey, A.S.; Smith, M.; Abdoli, A.; Abebe, M.; Adebayo, O.M.; Afarideh, M.; Agarwal, S.K.; Agudelo-Botero, M.; et al. Global, Regional, and National Burden of Chronic Kidney Disease, 1990–2017: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* **2020**, *395*, 709–733. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
114. Kovesdy, C.P.; Davis, J.R.; Duling, I.; Little, D.J. Prevalence of Anaemia in Adults with Chronic Kidney Disease in a Representative Sample of the United States Population: Analysis of the 1999–2018 National Health and Nutrition Examination Survey. *Clin. Kidney J.* **2023**, *16*, 303–311. [\[CrossRef\]](#)
115. Stauffer, M.E.; Fan, T. Prevalence of Anemia in Chronic Kidney Disease in the United States. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e84943. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
116. Sutaria, A.; Liu, L.; Ahmed, Z. Multiple Medication (Polypharmacy) and Chronic Kidney Disease in Patients Aged 60 and Older: A Pharmacoepidemiologic Perspective. *Ther. Adv. Cardiovasc. Dis.* **2016**, *10*, 242–250. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
117. Fusco, S.; Garasto, S.; Corsonello, A.; Vena, S.; Mari, V.; Gareri, P.; Ruotolo, G.; Luciani, E.; Roncone, A.; Maggio, M.; et al. Medication-Induced Nephrotoxicity in Older Patients. *CDM* **2016**, *17*, 608–625. [\[CrossRef\]](#)
118. Khan, S.; Loi, V.; Rosner, M.H. Drug-Induced Kidney Injury in the Elderly. *Drugs Aging* **2017**, *34*, 729–741. [\[CrossRef\]](#)
119. Luckey, A.E.; Parsa, C.J. Fluid and Electrolytes in the Aged. *Arch. Surg.* **2003**, *138*, 1055–1060. [\[CrossRef\]](#)
120. Begg, D.P. Disturbances of Thirst and Fluid Balance Associated with Aging. *Physiol. Behav.* **2017**, *178*, 28–34. [\[CrossRef\]](#)
121. Docherty, N.G.; Delles, C.; D'Haese, P.; Layton, A.T.; Martínez-Salgado, C.; Vervaeke, B.A.; López-Hernández, F.J. Haemodynamic Frailty—A Risk Factor for Acute Kidney Injury in the Elderly. *Ageing Res. Rev.* **2021**, *70*, 101408. [\[CrossRef\]](#)
122. El-Sharkawy, A.M.; Devonald, M.A.J.; Humes, D.J.; Sahota, O.; Lobo, D.N. Hyperosmolar Dehydration: A Predictor of Kidney Injury and Outcome in Hospitalised Older Adults. *Clin. Nutr.* **2020**, *39*, 2593–2599. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
123. Fandrey, J. Why Not the Liver Instead of the Kidney? *Blood* **2012**, *120*, 1760–1761. [\[CrossRef\]](#)
124. Haase, V.H. Regulation of Erythropoiesis by Hypoxia-Inducible Factors. *Blood Rev.* **2013**, *27*, 41–53. [\[CrossRef\]](#)
125. Vlasschaert, C.; McNaughton, A.J.M.; Chong, M.; Cook, E.K.; Hopman, W.; Kestenbaum, B.; Robinson-Cohen, C.; Garland, J.; Moran, S.M.; Paré, G.; et al. Association of Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential with Worse Kidney Function and Anemia in Two Cohorts of Patients with Advanced Chronic Kidney Disease. *JASN* **2022**, *33*, 985–995. [\[CrossRef\]](#)
126. Takata, T.; Mae, Y.; Yamada, K.; Taniguchi, S.; Hamada, S.; Yamamoto, M.; Iyama, T.; Isomoto, H. Skeletal Muscle Mass Is Associated with Erythropoietin Response in Hemodialysis Patients. *BMC Nephrol.* **2021**, *22*, 134. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
127. Rundqvist, H.; Rullman, E.; Sundberg, C.J.; Fischer, H.; Eisleitner, K.; Ståhlberg, M.; Sundblad, P.; Jansson, E.; Gustafsson, T. Activation of the Erythropoietin Receptor in Human Skeletal Muscle. *Eur. J. Endocrinol.* **2009**, *161*, 427–434. [\[CrossRef\]](#)
128. Zeng, F.; Huang, L.; Zhang, Y.; Hong, X.; Weng, S.; Shen, X.; Zhao, F.; Yan, S. Additive Effect of Sarcopenia and Anemia on the 10-Year Risk of Cardiovascular Disease in Patients with Type 2 Diabetes. *J. Diabetes Res.* **2022**, *2022*, 2202511. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
129. Tseng, S.-H.; Lee, W.-J.; Peng, L.-N.; Lin, M.-H.; Chen, L.-K. Associations between Hemoglobin Levels and Sarcopenia and Its Components: Results from the I-Lan Longitudinal Study. *Exp. Gerontol.* **2021**, *150*, 111379. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
130. Hirani, V.; Naganathan, V.; Blyth, F.; Le Couteur, D.G.; Seibel, M.J.; Waite, L.M.; Handelsman, D.J.; Hsu, B.; Cumming, R.G. Low Hemoglobin Concentrations Are Associated with Sarcopenia, Physical Performance, and Disability in Older Australian Men in Cross-Sectional and Longitudinal Analysis: The Concord Health and Ageing in Men Project. *Gerona* **2016**, *71*, 1667–1675. [\[CrossRef\]](#)
131. Boelaert, K. Thyroid Dysfunction in the Elderly. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2013**, *9*, 194–204. [\[CrossRef\]](#)
132. Maggio, M.; De Vita, F.; Fisichella, A.; Lauretani, F.; Ticinesi, A.; Ceresini, G.; Cappola, A.; Ferrucci, L.; Ceda, G.P. The Role of the Multiple Hormonal Dysregulation in the Onset of “Anemia of Aging”: Focus on Testosterone, IGF-1, and Thyroid Hormones. *Int. J. Endocrinol.* **2015**, *2015*, 292574. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
133. Bhasin, S.; Brito, J.P.; Cunningham, G.R.; Hayes, F.J.; Hodis, H.N.; Matsumoto, A.M.; Snyder, P.J.; Swerdloff, R.S.; Wu, F.C.; Yialamas, M.A. Testosterone Therapy in Men with Hypogonadism: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2018**, *103*, 1715–1744. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
134. Al-Sharefi, A.; Mohammed, A.; Abdalaziz, A.; Jayasena, C.N. Androgens and Anemia: Current Trends and Future Prospects. *Front. Endocrinol.* **2019**, *10*, 754. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
135. Carrero, J.J.; Bárány, P.; Yilmaz, M.I.; Qureshi, A.R.; Sonmez, A.; Heimbürger, O.; Ozgurtas, T.; Yenicesu, M.; Lindholm, B.; Stenvinkel, P. Testosterone Deficiency Is a Cause of Anaemia and Reduced Responsiveness to Erythropoiesis-Stimulating Agents in Men with Chronic Kidney Disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2012**, *27*, 709–715. [\[CrossRef\]](#)
136. Magné, N.; Dagueuet, E.; Bouleftour, W.; Conraux, L.; Tinquaut, F.; Grangeon, K.; Moreno-Acosta, P.; Suchaud, J.-P.; Rancoule, C.; Guy, J.-B. Impact of Radiation Therapy on Biological Parameters in Cancer Patients: Sub-Analysis from the RIT Prospective Epidemiological Study. *Cancer Investig.* **2023**, *41*, 109–118. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
137. Kim, H.-R.; Lee, J.-H.; Heo, H.-R.; Yang, S.-R.; Ha, K.-S.; Park, W.S.; Han, E.-T.; Song, H.; Hong, S.-H. Improved Hematopoietic Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells via Estrogen Receptor Signaling Pathway. *Cell Biosci.* **2016**, *6*, 50. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
138. Tian, H.; Gao, Z.; Wang, G.; Li, H.; Zheng, J. Estrogen Potentiates Reactive Oxygen Species (ROS) Tolerance to Initiate Carcinogenesis and Promote Cancer Malignant Transformation. *Tumour Biol.* **2016**, *37*, 141–150. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

139. Guajardo-Correa, E.; Silva-Agüero, J.F.; Calle, X.; Chiong, M.; Henríquez, M.; García-Rivas, G.; Latorre, M.; Parra, V. Estrogen Signaling as a Bridge between the Nucleus and Mitochondria in Cardiovascular Diseases. *Front. Cell Dev. Biol.* **2022**, *10*, 968373. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
140. Nakada, D.; Oguro, H.; Levi, B.P.; Ryan, N.; Kitano, A.; Saitoh, Y.; Takeichi, M.; Wendt, G.R.; Morrison, S.J. Oestrogen Increases Haematopoietic Stem-Cell Self-Renewal in Females and during Pregnancy. *Nature* **2014**, *505*, 555–558. [\[CrossRef\]](#)
141. Dumić, I.; Nordin, T.; Jecmenica, M.; Stojković Lalosević, M.; Milosavljević, T.; Milovanović, T. Gastrointestinal Tract Disorders in Older Age. *Can. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2019**, *2019*, 6757524. [\[CrossRef\]](#)
142. Porter, K.M.; Hoey, L.; Hughes, C.F.; Ward, M.; Clements, M.; Strain, J.; Cunningham, C.; Casey, M.C.; Tracey, F.; O’Kane, M.; et al. Associations of Atrophic Gastritis and Proton-Pump Inhibitor Drug Use with Vitamin B-12 Status, and the Impact of Fortified Foods, in Older Adults. *Am. J. Clin. Nutr.* **2021**, *114*, 1286–1294. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
143. Hohman, L.S.; Osborne, L.C. A Gut-Centric View of Aging: Do Intestinal Epithelial Cells Contribute to Age-Associated Microbiota Changes, Inflammation, and Immunosenescence? *Aging Cell* **2022**, *21*, e13700. [\[CrossRef\]](#)
144. Cappello, M.; Morreale, G.C.; Licata, A. Elderly Onset Celiac Disease: A Narrative Review. *Clin. Med. Insights Gastroenterol.* **2016**, *9*, CGast.S38454. [\[CrossRef\]](#)
145. Ching, C.K.; Lebwohl, B. Celiac Disease in the Elderly. *Curr. Treat. Options Gastro* **2022**, *20*, 238–249. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
146. Sopena, F.; Lanas, A. Management of Colonic Diverticular Disease with Poorly Absorbed Antibiotics and Other Therapies. *Ther. Adv. Gastroenterol.* **2011**, *4*, 365–374. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
147. Efremova, I.; Maslennikov, R.; Poluektova, E.; Vasilieva, E.; Zharikov, Y.; Suslov, A.; Letyagina, Y.; Kozlov, E.; Levshina, A.; Ivashkin, V. Epidemiology of Small Intestinal Bacterial Overgrowth. *World J. Gastroenterol.* **2023**, *29*, 3400–3421. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
148. Manrai, M.; Dawra, S.; Kapoor, R.; Srivastava, S.; Singh, A. Anemia in Cirrhosis: An Underestimated Entity. *WJCC* **2022**, *10*, 777–789. [\[CrossRef\]](#)
149. Risor, L.M.; Fenger, M.; Olsen, N.V.; Møller, S. Hepatic Erythropoietin Response in Cirrhosis. A Contemporary Review. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* **2016**, *76*, 183–189. [\[CrossRef\]](#)
150. Ghosh, T.S.; Shanahan, F.; O’Toole, P.W. The Gut Microbiome as a Modulator of Healthy Ageing. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **2022**, *19*, 565–584. [\[CrossRef\]](#)
151. Weiss, G.A.; Hennen, T. Mechanisms and Consequences of Intestinal Dysbiosis. *Cell Mol. Life Sci.* **2017**, *74*, 2959–2977. [\[CrossRef\]](#)
152. Wilms, E.; Troost, F.J.; Elizalde, M.; Winkens, B.; De Vos, P.; Mujagic, Z.; Jonkers, D.M.A.E.; Masclee, A.A.M. Intestinal Barrier Function Is Maintained with Aging—A Comprehensive Study in Healthy Subjects and Irritable Bowel Syndrome Patients. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 475. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
153. Josephsottir, K.S.; Baldrige, M.T.; Kadmon, C.S.; King, K.Y. Antibiotics Impair Murine Hematopoiesis by Depleting the Intestinal Microbiota. *Blood* **2017**, *129*, 729–739. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
154. Tian, Y.; Tian, Y.; Yuan, Z.; Zeng, Y.; Wang, S.; Fan, X.; Yang, D.; Yang, M. Iron Metabolism in Aging and Age-Related Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 3612. [\[CrossRef\]](#)
155. Yan, H.; Walker, F.C.; Ali, A.; Han, H.; Tan, L.; Veillon, L.; Lorenzi, P.L.; Baldrige, M.T.; King, K.Y. The Bacterial Microbiota Regulates Normal Hematopoiesis via Metabolite-Induced Type 1 Interferon Signaling. *Blood Adv.* **2022**, *6*, 1754–1765. [\[CrossRef\]](#)
156. Manzo, V.E.; Bhatt, A.S. The Human Microbiome in Hematopoiesis and Hematologic Disorders. *Blood* **2015**, *126*, 311–318. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
157. Rackerby, B.; Kim, H.J.; Dallas, D.C.; Park, S.H. Understanding the Effects of Dietary Components on the Gut Microbiome and Human Health. *Food Sci. Biotechnol.* **2020**, *29*, 1463–1474. [\[CrossRef\]](#)
158. Caiado, F.; Manz, M.G. A Microbiome-Macrophage-Iron Axis Guides Stressed Hematopoietic Stem Cell Fate. *Cell Stem Cell* **2022**, *29*, 177–179. [\[CrossRef\]](#)
159. Soriano-Lerma, A.; García-Burgos, M.; Alférez, M.J.M.; Pérez-Carrasco, V.; Sanchez-Martin, V.; Linde-Rodríguez, Á.; Ortiz-González, M.; Soriano, M.; García-Salcedo, J.A.; López-Aliaga, I. Gut Microbiome-Short-Chain Fatty Acids Interplay in the Context of Iron Deficiency Anaemia. *Eur. J. Nutr.* **2022**, *61*, 399–412. [\[CrossRef\]](#)
160. Ragonnaud, E.; Biragyn, A. Gut Microbiota as the Key Controllers of “Healthy” Aging of Elderly People. *Immun. Ageing* **2021**, *18*, 2. [\[CrossRef\]](#)
161. Miller, F.W. The Increasing Prevalence of Autoimmunity and Autoimmune Diseases: An Urgent Call to Action for Improved Understanding, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Curr. Opin. Immunol.* **2023**, *80*, 102266. [\[CrossRef\]](#)
162. Conrad, N.; Misra, S.; Verbakel, J.Y.; Verbeke, G.; Molenberghs, G.; Taylor, P.N.; Mason, J.; Sattar, N.; McMurray, J.J.V.; McInnes, I.B.; et al. Incidence, Prevalence, and Co-Occurrence of Autoimmune Disorders over Time and by Age, Sex, and Socioeconomic Status: A Population-Based Cohort Study of 22 Million Individuals in the UK. *Lancet* **2023**, *401*, 1878–1890. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
163. Moskalec, O.V. Characteristics of immune response in elderly and autoimmunity. *Adv. Gerontol.* **2020**, *33*, 246–255. [\[PubMed\]](#)
164. Watad, A.; Bragazzi, N.L.; Adawi, M.; Amital, H.; Toubi, E.; Porat, B.-S.; Shoenfeld, Y. Autoimmunity in the Elderly: Insights from Basic Science and Clinics—A Mini-Review. *Gerontology* **2017**, *63*, 515–523. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
165. Chen, Y.-F.; Xu, S.-Q.; Xu, Y.-C.; Li, W.-J.; Chen, K.-M.; Cai, J.; Li, M. Inflammatory Anemia May Be an Indicator for Predicting Disease Activity and Structural Damage in Chinese Patients with Rheumatoid Arthritis. *Clin. Rheumatol.* **2020**, *39*, 1737–1745. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
166. Vadasz, Z.; Haj, T.; Kessel, A.; Toubi, E. Age-Related Autoimmunity. *BMC Med.* **2013**, *11*, 94. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

167. Imanuel, C.A.; Sivatheesan, S.; Koyanagi, A.; Smith, L.; Konrad, M.; Kostev, K. Associations between Rheumatoid Arthritis and Various Comorbid Conditions in Germany-A Retrospective Cohort Study. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 7265. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
168. Shadick, N.; Hagino, O.; Praetgaard, A.; Fiore, S.; Weinblatt, M.; Burmester, G. Association of Hemoglobin Levels with Radiographic Progression in Patients with Rheumatoid Arthritis: An Analysis from the BRASS Registry. *Arthritis Res. Ther.* **2023**, *25*, 88. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
169. Günther, F.; Straub, R.H.; Hartung, W.; Fleck, M.; Ehrenstein, B.; Schminke, L. Usefulness of Soluble Transferrin Receptor in the Diagnosis of Iron Deficiency Anemia in Rheumatoid Arthritis Patients in Clinical Practice. *Int. J. Rheumatol.* **2022**, *2022*, 7067262. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
170. Peng, B.; Kong, G.; Yang, C.; Ming, Y. Erythropoietin and Its Derivatives: From Tissue Protection to Immune Regulation. *Cell Death Dis.* **2020**, *11*, 79. [\[CrossRef\]](#)
171. Nairz, M.; Schroll, A.; Moschen, A.R.; Sonnweber, T.; Theurl, M.; Theurl, I.; Taub, N.; Jamnig, C.; Neutrauer, D.; Huber, L.A.; et al. Erythropoietin Contrastingly Affects Bacterial Infection and Experimental Colitis by Inhibiting Nuclear Factor- κ B-Inducible Immune Pathways. *Immunity* **2011**, *34*, 61–74. [\[CrossRef\]](#)
172. Eswarappa, M.; Cantarelli, C.; Cravedi, P. Erythropoietin in Lupus: Unanticipated Immune Modulating Effects of a Kidney Hormone. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 639370. [\[CrossRef\]](#)
173. Moransard, M.; Bednar, M.; Frei, K.; Gassmann, M.; Ogunshola, O.O. Erythropoietin Reduces Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Severity via Neuroprotective Mechanisms. *J. Neuroinflamm.* **2017**, *14*, 202. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
174. Fattizzo, B.; Pedone, G.L.; Brambilla, C.; Pettine, L.; Zaninoni, A.; Passamonti, F.; Barcellini, W. Recombinant Erythropoietin in Autoimmune Hemolytic Anemia with Inadequate Bone Marrow Response: A Prospective Analysis. *Blood Adv.* **2023**, *8*, 1322–1327. [\[CrossRef\]](#)
175. Wu, G.; Cao, B.; Zhai, H.; Liu, B.; Huang, Y.; Chen, X.; Ling, H.; Ling, S.; Jin, S.; Yang, X.; et al. EPO Promotes the Progression of Rheumatoid Arthritis by Inducing Desialylation via Increasing the Expression of Neuraminidase 3. *Ann. Rheum. Dis.* **2024**. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
176. Paulson, R.F.; Ruan, B.; Hao, S.; Chen, Y. Stress Erythropoiesis Is a Key Inflammatory Response. *Cells* **2020**, *9*, 634. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
177. Bennett, L.F.; Liao, C.; Quickel, M.D.; Yeoh, B.S.; Vijay-Kumar, M.; Hankey-Giblin, P.; Prabhu, K.S.; Paulson, R.F. Inflammation Induces Stress Erythropoiesis through Heme-Dependent Activation of SPI-C. *Sci. Signal.* **2019**, *12*, eaap7336. [\[CrossRef\]](#)
178. Denny, S.D.; Kuchibhatla, M.N.; Cohen, H.J. Impact of Anemia on Mortality, Cognition, and Function in Community-Dwelling Elderly. *Am. J. Med.* **2006**, *119*, 327–334. [\[CrossRef\]](#)
179. Izaks, G.J.; Westendorp, R.G.; Knook, D.L. The Definition of Anemia in Older Persons. *JAMA* **1999**, *281*, 1714–1717. [\[CrossRef\]](#)
180. Patel, K.V.; Harris, T.B.; Faulhaber, M.; Angleman, S.B.; Connelly, S.; Bauer, D.C.; Kuller, L.H.; Newman, A.B.; Guralnik, J.M. Racial Variation in the Relationship of Anemia with Mortality and Mobility Disability among Older Adults. *Blood* **2007**, *109*, 4663–4670. [\[CrossRef\]](#)
181. Penninx, B.W.J.H.; Pahor, M.; Woodman, R.C.; Guralnik, J.M. Anemia in Old Age Is Associated with Increased Mortality and Hospitalization. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **2006**, *61*, 474–479. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

VII. Opinie Komisji Bioetycznych

KOMISJA BIOETYCZNA
przy Okręgowej Radzie Lekarskiej
OIL w Zielonej Górze
65-735 Zielona Góra, ul. Batorego 71
tel. 66 320 79 00, tel./fax 66 320 78 15

Komisja Bioetyczna
przy Okręgowej Radzie Lekarskiej w Zielonej Górze
65-735 Zielona Góra, ul. Batorego 71
tel. (068) 320 79 00, fax (068) 3207815

Uchwała Komisji Bioetycznej Nr 04/133/2020

z dnia 26 sierpnia 2020 r.

w sprawie wydania opinii o projekcie badawczym pt.: „Procesy zapalne i niedokrwistość u osób starszych”.

Opinia wydana jest na podstawie art. 29 ust. 2 ustawy z dnia 16 grudnia 2016 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (Dz.U. z 2017 poz. 125), rozporządzenia MZiOŚ z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz.U. Nr 47, poz. 480 z 1999 r.) oraz uchwały nr 49/VIII/2019 Okręgowej Rady Lekarskiej w Zielonej Górze z dnia 25 kwietnia 2019 r. w sprawie powołania Komisji Bioetycznej.

Komisja Bioetyczna przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Zielonej Górze na posiedzeniu zdalnym w dniu 26 sierpnia 2020 r. zapoznała się ze zgłoszeniem projektu badawczego zatytułowanego „Procesy zapalne i niedokrwistość u osób starszych”.

Głównym badaczem jest dr Edyta Wawrzyniak-Gramacka. Badanie będzie prowadzone na Uniwersytecie Zielonogórskim (65-714 Zielona Góra, ul. Licealna 9). Kierownikiem naukowym badania jest dr hab. Agnieszka Zembroń-Lacny (prof. Uniwersytet Zielonogórski).

Do wniosku dołączono następujące dokumenty:

1. Protokół badania.
2. Formularz świadomej zgody pacjenta.
3. Oświadczenie badacza.
4. Oświadczenie badanego wraz ze zgodą na przetwarzanie danych.
5. Klauzula informacyjna.
6. Życiorys naukowy badacza.

W wyniku tajnego głosowania Komisja Bioetyczna wyraża zgodę na przeprowadzenie badania zatytułowanego: „Procesy zapalne i niedokrwistość u osób starszych”.

Komisja zastrzega sobie prawo do uzyskiwania informacji o powikłaniach i efektach niepożądanych oraz do uzyskania raportu końcowego. Komisja Bioetyczna przy Okręgowej Radzie Lekarskiej w Zielonej Górze działa zgodnie z zasadami Good Clinical Practice (ICH-GCP) oraz przestrzega Deklaracji Helsińskiej i Tokijskiej. Do opinii załączono wykaz osób biorących udział w głosowaniu.

PRZEWODNICZĄCY KOMISJI BIOETYCZNEJ
przy Okręgowej Radzie Lekarskiej
OIL w Zielonej Górze

lek. Dariusz Kosiński

KOMISJA BIOETYCZNA
przy Collegium Medicum
Uniwersytetu Zielonogórskiego
ul. Zyty 28 bud. F
65-046 Zielona Góra

UCHWAŁA KOMISJI BIOETYCZNEJ
przy Collegium Medicum Uniwersytetu Zielonogórskiego nr 7/2021
z dnia 02.06.2021 r.
w sprawie wniosku o numerze ewidencyjnym KB-UZ/19/2021

Komisja Bioetyczna przy Collegium Medicum powołana zarządzeniem rektora Uniwersytetu Zielonogórskiego nr 228 z dnia 1 grudnia 2020 r. oraz działające w trybie przewidzianym rozporządzeniem ministra zdrowia z dnia 11 maja 1999 r. (Dz.U. nr 47, poz. 480) na podstawie ustawy o zawodzie lekarza z dnia 5 grudnia 1996 r. (Dz.U. nr 28 z 1997 r. poz. 152 z późniejszymi zmianami) w składzie:

- 1) ks. dr Mariusz Dudka
- 2) dr n. med. Piotr Defort,
- 3) dr hab. n. med. Jarosław Hiczekiewicz,
- 4) mgr Ewa Hassa,
- 5) dr n. med. Szymon Jurga,
- 6) dr n. med. Paweł Jarmużek,
- 7) dr hab. n. med. Rafał Rzepka,
- 8) dr n. med. Marek Szewiec,
- 9) mgr Ewa Sibilska,
- 10) mgr Maria Wechmann,
- 11) dr n. med. Mariusz Witczak.

Pod przewodnictwem:
dr hab. n. med. Jarosława Hiczekiewicza

Przestrzegając w działalności zasad Good Clinical Practice oraz zasad Deklaracji Helsińskiej, po zapoznaniu się z projektem badawczym pt. „Wpływ składników diety na profil zapalno-immunologiczny osób w różnym wieku” zgłoszonym przez mgr Natalię Hertmanowską oraz złożonymi wraz z wnioskiem dokumentami w tajnym głosowaniu postanowiła wyrazić zgodę na przeprowadzenie badania jednomyślnie pod warunkiem zachowania anonimowości uzyskanych danych. Wnioskodawca jest zobowiązany zawrzeć umowę OC przed rozpoczęciem badań.

Przewodniczący Komisji

PRZEWODNICZĄCY
KOMISJI BIOETYCZNEJ
Collegium Medicum
Uniwersytet Zielonogórski
Dr hab. n. med. Jarosław Hiczekiewicz, prof. UZ

VIII. Oświadczenia współautorów prac

dr Edyta Wawrzyniak-Gramacka
Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej
Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 26, 65-046 Zielona Góra
e-mail: e.gramacka@inz.uz.zgora.pl

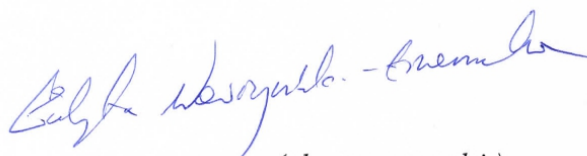
Zielona Góra, 9 kwietnia 2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Eryk Wacka, Edyta Wawrzyniak-Gramacka, Anna Tylutka, Barbara Morawin, Marzena Gutowicz, Agnieszka Zembroń-Łacny. The Role of Inflammation in Age-Associated Changes in Red Blood System, 2023, *International Journal of Molecular Sciences*; Vol. 24, Iss. 10, 1-13. DOI: 10.3390/ijms24108944.

Mój wkład w przygotowanie publikacji polegał na zebraniu materiału biologicznego, wykonaniu analizy biochemicznej i analizy statystycznej.

Swój całkowity wkład w przygotowanie publikacji oceniam na **10 procent**.



(własnoręczny podpis)

dr Edyta Wawrzyniak-Gramacka

Dr n. med. Anna Tylutka
Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej
Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 26, 65-046 Zielona Góra
e-mail: a.tylutka@inz.uz.zgora.pl

Zielona Góra, 9 kwietnia 2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Eryk Wacka, Edyta Wawrzyniak-Gramacka, Anna Tylutka, Barbara Morawin, Marzena Gutowicz, Agnieszka Zembroń-Łacny. The Role of Inflammation in Age-Associated Changes in Red Blood System, 2023, *International Journal of Molecular Sciences*; Vol. 24, Iss. 10, 1-13. DOI: 10.3390/ijms24108944.

Mój wkład w przygotowanie publikacji polegał na zebraniu materiału biologicznego i analizie biochemicznej.

Swój całkowity wkład w przygotowanie publikacji oceniam na **10 procent**.


(własnoręczny podpis)

Dr n. med. Anna Tylutka

Dr Barbara Morawin
Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej
Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 26, 65-046 Zielona Góra
e-mail: b.morawin@inz.uz.zgora.pl

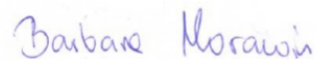
Zielona Góra, 9 kwietnia 2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Eryk Wacka, Edyta Wawrzyniak-Gramacka, Anna Tylutka, Barbara Morawin, Marzena Gutowicz, Agnieszka Zembroń-Łacny. The Role of Inflammation in Age-Associated Changes in Red Blood System, 2023, *International Journal of Molecular Sciences*; Vol. 24, Iss. 10, 1-13. DOI: 10.3390/ijms24108944.

Mój wkład w przygotowanie publikacji polegał na zebraniu materiału biologicznego, wykonaniu analizy antropometrycznej i składu ciała oraz analizy biochemicznej.

Swój całkowity wkład w przygotowanie publikacji oceniam na **10 procent**.



(własnoręczny podpis)

Dr Barbara Morawin

Dr Marzena Gutowicz
Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej
Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 26, 65-046 Zielona Góra
e-mail: m.gutowicz@inz.uz.zgora.pl

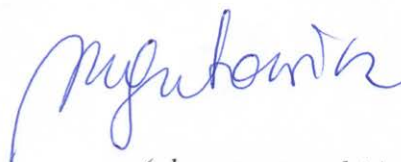
Zielona Góra, 9 kwietnia 2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Eryk Wacka, Edyta Wawrzyniak-Gramacka, Anna Tylutka, Barbara Morawin, Marzena Gutowicz, Agnieszka Zembroń-Łacny. The Role of Inflammation in Age-Associated Changes in Red Blood System, 2023, *International Journal of Molecular Sciences*; Vol. 24, Iss. 10, 1-13. DOI: 10.3390/ijms24108944.

Mój wkład w przygotowanie publikacji polegał na zebraniu materiału biologicznego i wykonaniu analizy biochemicznej.

Swój całkowity wkład w przygotowanie publikacji oceniam na **10 procent**.



(własnoręczny podpis)

Dr Marzena Gutowicz

Prof. dr hab. Agnieszka Zembron-Łacny
Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej
Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 26, 65-046 Zielona Góra
e-mail: a.zembron-lacny@inz.uz.zgora.pl

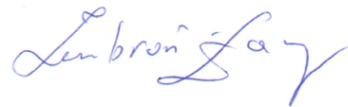
Zielona Góra, 9 kwietnia 2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Eryk Wacka, Edyta Wawrzyniak-Gramacka, Anna Tylutka, Barbara Morawin, Marzena Gutowicz, Agnieszka Zembron-Łacny. The Role of Inflammation in Age-Associated Changes in Red Blood System, 2023, *International Journal of Molecular Sciences*; Vol. 24, Iss. 10, 1-13. DOI: 10.3390/ijms24108944.

Mój wkład w przygotowanie publikacji polegał na organizacji funduszy na projekt i grupy badanej oraz weryfikacji ostatecznej wersji manuskryptu.

Swoj całkowity wkład w przygotowanie publikacji oceniam na **10 procent**.



(własnoręczny podpis)

Prof. dr hab. Agnieszka Zembron-Łacny

Jan Nicikowski
Collegium Medicum
Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 26, 65-046 Zielona Góra
e-mail: jan.nicikowski@gmail.com

Zielona Góra, 9 kwietnia 2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Eryk Wacka, Jan Nicikowski, Paweł Jarmużek, Agnieszka Zembroń-Łacny. Anemia and Its Connections to Inflammation in Older Adults: A Review, 2024, *Journal of Clinical Medicine*, Vol. 13, Iss. 7, 1-22, DOI: 10.3390/jcm13072049.

Mój wkład w przygotowanie tej publikacji polegał na przygotowaniu koncepcji pracy, przegląd literatury, przygotowaniu ryciny nr 1 oraz pisaniu treści pracy.

Swoją całkowity wkład w przygotowanie publikacji oceniam na **35 procent**.


(własnoręczny podpis)

Jan Nicikowski

Dr n. med. Paweł Jarmużek
Klinika Neurochirurgii i Chorób Układu Nerwowego
Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 26, 65-046 Zielona Góra
e-mail: b.morawin@inz.uz.zgora.pl

Zielona Góra, 9 kwietnia 2024

OŚWIADCZENIE

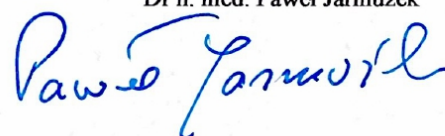
Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Eryk Wacka, Jan Nicikowski, Paweł Jarmużek, Agnieszka Zembroń-Łacny. Anemia and Its Connections to Inflammation in Older Adults: A Review, 2024, *Journal of Clinical Medicine*; Vol. 13, Iss. 7, 1-22, DOI: 10.3390/jcm13072049.

Mój wkład w przygotowanie publikacji polegał na organizacji funduszy i weryfikacji ostatecznej wersji manuskryptu.

Swój całkowity wkład w przygotowanie publikacji oceniam na **5 procent**.

(własnoręczny podpis)

Dr n. med. Paweł Jarmużek



Prof. dr hab. Agnieszka Zembroń-Łacny
Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej
Collegium Medicum Uniwersytet Zielonogórski
ul. Zyty 26, 65-046 Zielona Góra
e-mail: a.zembron-lacny@inz.uz.zgora.pl

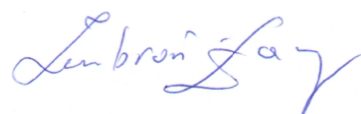
Zielona Góra, 9 kwietnia 2024

OŚWIADCZENIE

Oświadczam, że jestem współautorem publikacji: Eryk Wacka, Jan Nicikowski, Paweł Jarmużek, Agnieszka Zembroń-Łacny. Anemia and Its Connections to Inflammation in Older Adults: A Review, 2024, *Journal of Clinical Medicine*; Vol. 13, Iss. 7, 1-22, DOI: 10.3390/jcm13072049.

Mój wkład w przygotowanie publikacji polegał na organizacji funduszy i weryfikacji ostatecznej wersji manuskryptu.

Swój całkowity wkład w przygotowanie publikacji oceniam na **10 procent**.



(własnoręczny podpis)

Prof. dr hab. Agnieszka Zembroń-Łacny