



**HUBUNGAN ANTARA RETIKULOSIT DAN INDEKS  
RETIKULOSIT DENGAN KADAR HEPCIDIN PADA *CARRIER*  
TALASEMIA  $\beta$**

*ASSOCIATION BETWEEN RETICULOCYTE COUNT AND RETICULOCYTE  
INDEX WITH HEPCIDIN LEVEL IN  $\beta$  THALASSEMIA CARRIERS*

**ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**LASNI TIURMAULI PARDOSI  
G2A 007 113**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
TAHUN 2011**

## HUBUNGAN ANTARA RETIKULOSIT DAN INDEKS RETIKULOSIT DENGAN KADAR HEPSIDIN PADA *CARRIER* TALASEMIA $\beta$

Lasni Tiurmauli Pardosi<sup>1</sup>, Nyoman Suci Widyastiti<sup>2</sup>

### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Pada *carrier* talasemia  $\beta$  terjadi eritropoiesis inefektif. Hal ini menyebabkan *carrier* talasemia  $\beta$  berisiko mengalami *iron overload* bila mendapat *intake* besi berlebih. Hepsidin adalah hormon yang berperan penting pada homeostasis besi. Aktivitas eritropoiesis mempunyai peran dominan dalam regulasi hepsidin. Pemeriksaan retikulosit dan indeks retikulosit merupakan pemeriksaan sederhana untuk mengetahui tingkat eritropoiesis. Penelitian ini bertujuan mengetahui hubungan retikulosit dan indeks retikulosit dengan kadar hepsidin pada *carrier* talasemia  $\beta$ .

**Metode:** Desain penelitian ini adalah observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Pengambilan sampel sebanyak 25 responden dengan cara *consecutive sampling* dilakukan di Patologi Klinik RSUP Dr. Kariadi dan Palang Merah Indonesia Kota Semarang. Retikulosit dihitung menggunakan *flow cytometry*, indeks retikulosit dihitung menggunakan rumus  $\% \text{ retikulosit} \times \text{Ht terukur} / \text{Ht normal}$  dan kadar hepsidin diukur menggunakan ELISA kit. Analisis data menggunakan program komputer dengan uji taraf signifikansi diterima bila  $p < 0,05$ .

**Hasil:** Hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara retikulosit dan kadar hepsidin ( $p = 0,946$  dan  $r = 0,014$ ) dan tidak ada hubungan yang bermakna antara indeks retikulosit dan kadar hepsidin ( $p = 0,867$  dan  $r = -0,035$ ).

**Simpulan:** Tidak ada hubungan yang bermakna antara retikulosit dan indeks retikulosit dengan kadar hepsidin pada *carrier* talasemia  $\beta$ .

**Kata kunci:** *Carrier* talasemia  $\beta$ , *iron overload*, eritropoiesis inefektif, retikulosit, indeks retikulosit, hepsidin.

<sup>1</sup> Mahasiswa program pendidikan S-1 kedokteran umum FK Undip

<sup>2</sup> Staf pengajar Bagian PK FK Undip, Jl. Dr.Sutomo No.18 Semarang

**ASSOCIATION BETWEEN RETICULOCYTE COUNT AND RETICULOCYTE  
INDEX WITH HEPSIDIN LEVEL  
IN  $\beta$  THALASSEMIA CARRIERS**

**ABSTRACT**

**Background:** In  $\beta$  thalassemia carriers occurs an ineffective erythropoiesis . Therefore,  $\beta$  thalassemia carriers have a risk of developing iron overload, if there is an excess of iron intake. Hepsidin is a hormone that plays an important role in iron homeostasis. Erythropoiesis activity has an dominant role in hepsidin regulation. Reticulocyte count and reticulocyte index is a simple examination to determine the levels of erythropoiesis. This study aims to determine the association between reticulocyte counts and reticulocyte index to levels hepsidin on  $\beta$  thalassemia carriers.

**Methods:** The research design was observational with cross sectional approach. The minimum of sample were 25 respondents and consecutive sampling was conducted at the department of Clinical Pathology Dr. Kariadi and Red Cross Indonesia Semarang. Reticulocyte was count by flow cytometry, reticulocyte index was calculated using the formula  $\% \text{ reticulocytes measured} \times \text{Ht} / \text{Ht normal}$  and hepsidin levels were measured by ELISA kits. The data was analysed by a computer program with a test level of significance ( $p < 0.05$ ) .

**Results:** The results of Spearman's correlation test showed no significant correlation between reticulocyte counts and hepsidin levels ( $p = 0.946$  and  $r = 0.014$ ) and no significant correlation between reticulocyte index and hepsidin levels ( $p=0.867$  and  $r=-0.035$ ).

**Conclusions:** There is no significant correlation between reticulocytes counts and reticulocyte index to hepsidin level in  $\beta$  thalassemia carriers.

**Key words:**  $\beta$  thalassemia carriers, iron overload, ineffective erythropoiesis, reticulocyte counts, reticulocyte index, hepsidin.

## PENDAHULUAN

Talasemia  $\beta$  adalah kelompok kelainan darah hereditas yang disebabkan oleh penurunan sintesis rantai globin  $\beta$ . Talasemia  $\beta$  banyak terdapat di daerah Laut Tengah, Afrika, Timur Tengah, dan negara-negara di Asia Tenggara. Total individu dengan gejala talasemia  $\beta$  diperkirakan 1 dalam 100.000 orang di seluruh dunia dan 1 dalam 10.000 orang di Eropa. Terdapat tiga bentuk talasemia  $\beta$ , yaitu talasemia  $\beta$  mayor, talasemia  $\beta$  intermedia, dan talasemia  $\beta$  minor (*carrier* talasemia  $\beta$ ). Penderita talasemia  $\beta$  mayor menderita anemia berat dan membutuhkan transfusi darah secara rutin. Penderita talasemia  $\beta$  intermedia menderita anemia moderat, lebih ringan daripada talasemia  $\beta$  mayor, serta tidak membutuhkan transfusi darah secara rutin. Penderita *carrier* talasemia  $\beta$  tidak menunjukkan gejala, namun pada beberapa orang dapat terjadi anemia ringan. Angka kejadian *carrier* talasemia  $\beta$  di Indonesia sekitar 3-5%, bahkan di beberapa daerah mencapai 10%. 2500 bayi baru lahir diperkirakan akan mengidap talasemia setiap tahunnya<sup>3</sup>.

Pada talasemia  $\beta$  terjadi eritropoiesis inefektif, yaitu peningkatan apoptosis prekursor eritroid, yang diakibatkan oleh kelebihan sintesis rantai globin  $\alpha$ <sup>4,5</sup>. Eritropoiesis inefektif mengakibatkan peningkatan penyerapan besi. Peningkatan penyerapan besi yang terjadi terus menerus, baik melalui makanan maupun transfusi darah, dapat menyebabkan kelebihan simpanan besi di jaringan (*iron overload*)<sup>6</sup>. Kelebihan besi ini bersifat toksik, dapat menyebabkan kerusakan, disfungsi sampai kegagalan organ<sup>7</sup>.

Penemuan hepsidin pada tahun 2000 memperluas pemahaman para ilmuwan tentang gangguan homeostasis besi pada anemia *iron-load*, termasuk talasemia<sup>8</sup>. Hepsidin adalah suatu hormon yang dihasilkan di hepar yang berperan penting pada homeostasis besi<sup>9</sup>. Hepsidin mengontrol absorpsi asupan besi, konsentrasi besi plasma, dan distribusi besi di jaringan. Regulasi homeostasis hepsidin dipengaruhi oleh aktivitas eritropoiesis dan besi<sup>10</sup>. Aktivitas eritropoiesis mempunyai peran yang dominan dalam regulasi hepsidin<sup>11</sup>. Anemia, terutama yang berhubungan dengan eritropoiesis inefektif dan peningkatan eritropoiesis, mempunyai pengaruh yang besar dalam menekan produksi hepsidin<sup>8</sup>. Defisiensi hepsidin ini menyebabkan peningkatan absorpsi besi di gastrointestinal<sup>12</sup>. Kadar hepsidin pada talasemia  $\beta$  intermedia berkurang diakibatkan oleh eritropoiesis inefektif. Tetapi sebaliknya, kadar hepsidin pada talasemia  $\beta$  mayor meningkat karena transfusi darah yang rutin akan menekan aktivitas eritropoiesis dan menyebabkan akumulasi besi di jaringan. Hal ini menyebabkan terjadinya *iron overload* pada talasemia  $\beta$  mayor dan intermedia<sup>5,12</sup>. Selama ini jarang yang meneliti pada *carrier* talasemia  $\beta$ . Tetapi penelitian Zimmermann pada tahun 2008 membuktikan bahwa pada *carrier* talasemia  $\beta$  terdapat peningkatan *soluble transferrin receptor* (sTfR), yang mengindikasikan terjadinya eritropoiesis inefektif. Hal tersebut menyebabkan pada *carrier* talasemia  $\beta$  juga mempunyai risiko mengalami *iron overload* bila *intake* besi berlebih atau ditambah asupan tablet besi<sup>6</sup>.

sTfR merupakan parameter untuk mengukur eritropoiesis<sup>9,11</sup>. Namun, pemeriksaan sTfR memakan biaya yang cukup mahal dan bukan merupakan pemeriksaan rutin di laboratorium klinik sederhana. Parameter eritropoiesis lain yang lebih sederhana dan ekonomis yaitu pemeriksaan retikulosit dan indeks retikulosit yang dapat dilakukan di laboratorium sederhana.

Penelitian ini bertujuan menganalisis hubungan antara jumlah retikulosit dan indeks retikulosit dengan kadar hepsidin pada *carrier* talasemia  $\beta$ . Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai hubungan antara jumlah retikulosit dan indeks retikulosit dengan hepsidin pada *carrier* talasemia  $\beta$  sehingga lebih cepat dalam penanganan penderita sebelum terjadi *iron overload* serta menjadi landasan bagi penelitian yang lebih lanjut.

## **METODE**

Penelitian ini dilakukan di laboratorium patologi klinik salah satu rumah sakit swasta di Semarang dan di Laboratorium GAKI Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada bulan Juli 2011 yang melingkupi Ilmu Patologi Klinik. Penelitian ini adalah penelitian observasional dengan pendekatan *cross sectional*. Variabel yang diteliti terdiri dari variabel bebas yaitu retikulosit dan indeks retikulosit. Sedangkan variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar hepsidin.

Populasi target penelitian ini adalah *carrier* talasemia  $\beta$  sedangkan populasi terjangkau adalah *carrier* talasemia  $\beta$  di Semarang. Pengambilan sampel secara

*consecutive sampling* berdasarkan kriteria penelitian. Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu penderita *carrier* talasemia  $\beta$ , usia antara 18-50 tahun, tidak sedang mengalami dehidrasi, tidak mendapat transfusi darah dalam jangka waktu 3 bulan terakhir, suhu tubuh normal ( $36^{\circ}$  -  $37^{\circ}$  C),serta bersedia ikut dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*.

Besar sampel ditetapkan berdasarkan rumus uji korelasi dan didapatkan sampel minimal sebanyak 34 orang. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penghitung retikulosit yang digunakan di laboratorium patologi klinik salah satu rumah sakit swasta di Semarang yaitu *flow cytometry*, dan alat pengukur kadar hepsidin yang digunakan di Laboratorium GAKI Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang yaitu ELISA kit. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah whole blood *carrier* talasemia  $\beta$ , serum *carrier* talasemia  $\beta$ , reagen yang diperlukan untuk mengukur kadar hepsidin, serta reagen yang diperlukan untuk menghitung jumlah retikulosit.

Data yang dikumpulkan berupa data primer yaitu nilai retikulosit kuantitatif hasil pemeriksaan laboratorium, indeks retikulosit dari hasil perhitungan  $\% \text{ retikulosit} \times \text{Ht terukur} / \text{Ht normal}$ , serta hasil pemeriksaan kadar hepsidin. Data yang terkumpul akan dikoding, ditabulasi, dan dimasukkan sebagai data komputer. Data dasar diolah dengan uji *Shapiro-wilk* untuk menguji homogenitas/sebaran data yang ada. Sebaran data dianggap normal apabila didapatkan nilai  $p > 0,05$ . Bila sebaran data yang diambil tidak normal, maka dilakukan transformasi data terlebih dahulu sebelum dilakukan uji hipotesis. Uji hipotesis menggunakan uji Pearson (bila sebaran data

normal) atau uji Spearman (bila sebaran data tidak normal) dengan derajat kemaknaan  $p < 0,05$ .

## HASIL

Jumlah sampel keseluruhan yang didapat dengan cara *consecutive sampling* sebesar 25 responden. Jumlah sampel tersebut masih belum memenuhi syarat jumlah minimal sampel penelitian karena keterbatasan waktu penelitian dan banyak orangtua penderita talasemia  $\beta$  mayor yang tidak berkenan untuk menjadi responden penelitian.

Karakteristik dasar dari responden yang dilihat meliputi jenis kelamin dan umur dalam tahun.

Tabel 2. Karakteristik Subyek Penelitian

Jenis kelamin	N	%
Laki-laki	8	32
Perempuan	17	68

  

Umur	
Minimum	19
Maksimum	50
Median	35

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa sebagian besar *carrier* talasemia  $\beta$  yang diteliti adalah perempuan sebanyak 17 subyek (68%), sedangkan subyek laki-laki yang dijumpai sebanyak 8 orang (32%). Median umur subyek penelitian adalah 35 tahun, dengan umur minimum 19 tahun dan umur maksimum 50 tahun.



Berdasarkan hasil pemeriksaan laboratorium, nilai retikulosit, indeks retikulosit dan kadar kadar hepsidin ditampilkan pada tabel 3.

Tabel 3. Nilai retikulosit, indeks retikulosit dan kadar hepsidin dalam darah

	N	%	Median (Min-Maks)
Retikulosit	25	100	1,20 (0,4 – 9,8)
Indeks retikulosit	25	100	1,08 (0,43 – 7,36)
Kadar hepsidin	25	100	9,99 (0,21 – 49,20)

\*nilai normal retikulosit : 0,5-2,5%

\*nilai normal indeks retikulosit : 1-2

\*nilai normal kadar hepsidin : 13,3 – 54,4 ng/mL

Dari tabel 3 didapat median retikulosit dalam batas normal, yaitu 1,20 %, dengan nilai minimum 0,4% dan nilai maksimum 9,8%. Median indeks retikulosit dalam batas normal yaitu 1,08 dengan nilai minimum 0,43 dan nilai maksimum 7,36. Sedangkan median kadar hepsidin lebih rendah dari kadar normal, yaitu 9,99 ng/mL, dengan kadar minimum 0,21 ng/mL, dan kadar maksimum 49,20 ng/mL.

Uji normalitas dengan metode *Shapiro-wilk* ( $n < 50$ ) pada data retikulosit, data indeks retikulosit, dan data kadar hepsidin menghasilkan distribusi data nilai retikulosit tidak normal ( $p = 0,000$ ), distribusi data indeks retikulosit tidak normal ( $p = 0,000$ ), dan distribusi data kadar hepsidin tidak normal ( $p = 0,006$ ). Sebaran data retikulosit, data indeks retikulosit, dan data kadar hepsidin ini diusahakan menjadi normal dengan cara transformasi data. Hasil transformasi data nilai retikulosit menunjukkan hasil sebaran data retikulosit tetap tidak normal ( $p = 0,002$ ). Hasil transformasi data indeks retikulosit menunjukkan hasil sebaran data indeks retikulosit

tetap tidak normal ( $p = 0,008$ ). Hasil transformasi data kadar hepsidin menunjukkan hasil sebaran data kadar hepsidin tetap tidak normal ( $p = 0,016$ ).

Oleh karena distribusi ketiga data berupa data tidak normal, maka uji analisis korelasi memakai uji nonparametrik yaitu uji korelasi Spearman. Hasil uji korelasi Spearman antara retikulosit dan kadar hepsidin didapat hasil  $p = 0,946$  dan  $r = 0,014$ . Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara retikulosit dan kadar hepsidin. Hasil uji korelasi Spearman antara indeks retikulosit dan kadar hepsidin didapat hasil  $p = 0,867$  dan  $r = -0,035$ . Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara indeks retikulosit dan kadar hepsidin.

## PEMBAHASAN

Talasemia  $\beta$  adalah jenis anemia hemolitik kongenital yang sering terjadi, yang disebabkan oleh kurangnya sintesis rantai globin  $\beta$  sehingga menyebabkan kelebihan sintesis rantai globin  $\alpha$ <sup>1,7</sup>. Kelebihan sintesis rantai globin  $\alpha$  ini akan menyebabkan eritropoiesis inefektif, yaitu peningkatan apoptosis prekursor eritroid<sup>16</sup>. Eritropoiesis inefektif ini mengakibatkan terjadinya peningkatan penyerapan besi di gastrointestinal yang dapat menyebabkan terjadinya kelebihan penyimpanan besi di dalam tubuh (*iron overload*) yang bersifat toksik<sup>6,7</sup>. *Iron overload* merupakan komplikasi fatal dan penyebab utama morbiditas serta mortalitas dalam talasemia  $\beta$ <sup>12</sup>.

Homeostasis besi diatur oleh hepsidin. Hepsidin adalah hormon yang dihasilkan di hepar yang mengatur konsentrasi besi di dalam plasma dan di dalam

jaringan. Regulasi hepsidin dipengaruhi oleh besi, inflamasi, eritropoiesis dan hipoksia. Produksi hepsidin meningkat dengan adanya besi dan inflamasi, dan menurun bila terjadi peningkatan eritropoiesis dan hipoksia<sup>9,10</sup>. Aktivitas eritropoiesis merupakan regulator hepsidin yang paling dominan<sup>11</sup>. Defisiensi hepsidin menyebabkan terjadinya peningkatan absorpsi besi<sup>12</sup>. Pada talasemia  $\beta$  intermedia, terjadi eritropoiesis inefektif sehingga menyebabkan defisiensi hepsidin. Sebaliknya pada talasemia  $\beta$  mayor, transfusi darah terus-menerus akan menekan eritropoiesis, sehingga kadar hepsidin menjadi tinggi<sup>5,12</sup>. *Carrier* talasemia  $\beta$  tidak menunjukkan gejala, namun beberapa dapat mengalami anemia ringan dan ditandai dengan MCV dan MCH yang rendah<sup>1,13</sup>. Penelitian Zimmermann pada tahun 2008 membuktikan bahwa pada *carrier* talasemia  $\beta$  juga terjadi eritropoiesis inefektif sebagaimana talasemia  $\beta$  intermedia, yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan sTfR yang merupakan parameter eritropoiesis. Hal ini mengakibatkan pada *carrier* talasemia  $\beta$  juga dapat terjadi *iron overload* apabila mendapat asupan besi berlebihan<sup>6</sup>.

Penelitian tentang hubungan eritropoiesis dan hepsidin pada *carrier* talasemia  $\beta$  belum pernah diteliti. Eritropoiesis inefektif pada *carrier* talasemia  $\beta$  perlu diketahui agar dapat mencegah *iron overload*. Tingkat eritropoiesis dapat diketahui dengan menggunakan pemeriksaan sederhana yaitu retikulosit dan indeks retikulosit<sup>14,15</sup>.

Hasil penelitian mengenai hubungan antara jumlah retikulosit dan indeks retikulosit dengan kadar hepsidin pada *carrier* talasemia  $\beta$  menunjukkan bahwa tidak

ada hubungan yang bermakna antara retikulosit dan kadar hepsidin ( $p = 0,946$  dan  $r = 0,014$ ) serta tidak ada hubungan yang bermakna antara indeks retikulosit dan kadar hepsidin ( $p = 0,867$  dan  $r = -0,035$ ). Berdasarkan nilai kemaknaan ( $p$ ), dapat dilihat bahwa indeks retikulosit lebih bermakna dalam menggambarkan eritropoiesis dibandingkan dengan retikulosit.

Penelitian yang dilakukan oleh Jong Weon Choi (2006) pada pasien *myelodysplastic syndromes* (MDS) menggunakan perbandingan retikulosit sumsum tulang dan retikulosit darah tepi untuk menilai eritropoiesis inefektif. Rumus yang digunakan untuk mengetahui derajat eritropoiesis tersebut adalah:  $[(\text{retikulosit sumsum tulang} - \text{retikulosit darah tepi})/\text{retikulosit sumsum tulang}] \times 100$ . Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa rasio jumlah retikulosit terkoreksi lebih akurat dalam menggambarkan eritropoiesis inefektif dibandingkan hitung retikulosit pada darah tepi<sup>16</sup>. Penelitian yang tidak sesuai dengan hipotesis ini mungkin disebabkan oleh karena pada penelitian ini hanya mengukur nilai retikulosit pada darah tepi, tidak mengukur retikulosit sumsum tulang.

Penelitian Zimmermann pada *carrier* talasemia  $\beta$  dijumpai peningkatan sTfR, yang mengindikasikan terjadinya eritropoiesis inefektif<sup>6</sup>. sTfR merupakan parameter eritropoiesis yang akurat<sup>13</sup>. Penelitian yang tidak sesuai hipotesis ini disebabkan oleh karena retikulosit darah tepi tidak dapat dijadikan sebagai parameter eritropoiesis inefektif<sup>4</sup>. Pada eritropoiesis inefektif retikulosit sumsum tulang lebih baik untuk menggambarkan tingkat eritropoiesis, akan tetapi pemeriksaan tersebut bersifat

invasif. Selain itu, keterbatasan waktu penelitian dan kurangnya jumlah sampel penelitian mungkin berpengaruh terhadap hasil penelitian.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

Sesuai dengan uraian yang terdapat pada bagian hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan yang bermakna antara retikulosit dan indeks retikulosit dengan kadar hepsidin pada *carrier* talasemia  $\beta$ .

Perlu penelitian lebih lanjut tentang eritropoiesis inefektif dan hubungannya dengan hepsidin pada *carrier* talasemia  $\beta$  dengan jangka waktu yang lebih lama dan jumlah sampel yang lebih besar dengan menggunakan parameter pemeriksaan eritropoiesis inefektif yang lebih akurat yaitu sTfR atau pemeriksaan retikulosit pada sumsum tulang.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Terima kasih kepada dr. M.I. Tjahjati Djoko M., SpPK(K) dan dr.Akhmad Ismail, Msi, Med selaku penguji laporan penelitian, dr.Nyoman Suci Widyastiti, MKes, SpPK selaku dosen pembimbing, orangtua dan saudara kandung penderita talasemia  $\beta$  mayor yang telah bersedia menjadi responden penelitian ini, serta keluarga dan teman-teman yang telah mendukung dalam pelaksanaan serta pembuatan karya tulis ilmiah ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. [serial online]. 2010 [cited 2011 Feb 4]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2893117/?tool=pmcentrez>.
2. Hoffbrand A.V, Pettit J.E, Moss P.A.H. *Kapita Selektta Hematologi*. Ed ke4. Jakarta: EGC; 2005.
3. I Wahidiyat, PA Wahidiyat. Genetic problems at present and their challenges in the future: Thalassemia as a model. [serial online]. 2006 [cited 2010 Nov 26]. Available from: *Paediatrica Indonesiana*.
4. Lathanatudom P, Leecharoenkiat A, Wannatung T, Svasti S, Fucharoen S, Smith D.R. A mechanism of ineffective erythropoiesis in  $\beta$ -thalassemia/Hb E disease. *Haematologica* [serial online]. 2010 [cited 2011 Feb 4]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2864376/>
5. Li H, Ginzburg Y. Crosstalk between Iron Metabolism and Erythropoiesis. *Advances in Hematology* [serial online]. 2010 [cited 2011 Feb 4]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2902017/?tool=pubmed>.
6. Zimmermann M.B , Fucharoen S, Winichagoon P, Sirankapracha P, Zeder C, Gowachirapant S, Judprasong K, Tanno T, Miller J.L, and Hurrell R.F. Iron metabolism in heterozygotes for hemoglobin E (HbE),  $\alpha$ -thalassemia 1, or  $\beta$ -thalassemia and in compound heterozygotes for HbE/ $\beta$ -thalassemia. *American Journal of Clinical Nutrition*. [serial online]. 2008 [cited 2010 Nov 16]. Available from: <http://www.ajcn.org/content/88/4/1026.full.pdf>.
7. Rund D, Rachmilewitz E.  $\beta$ -Thalassemia. *New England Journal of Medicine* . [serial online]. 2005 [cited 2010 Sep 23]. Available from: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra050436>.

8. Nemeth E, Ganz T. Heparidin and iron-loading anemias. *Haematologica/the Haematology Journal*. [serial online]. 2006 [cited 2011 Feb 4]. Available from: <http://www.haematologica.org/cgi/reprint/91/6/727.pdf>.
9. Zhang A, Enns C.A. Iron Homeostasis: Recently Identified Proteins Provide Insight into Novel Control Mechanisms . *Journal of Biological Chemistry*. [serial online]. 2009 [cited 2010 Nov 16]. Available from:<http://www.jbc.org/content/284/2/711.full.pdf>.
10. Nemeth E. Heparidin in  $\beta$ -thalassemia. . [serial online]. 2010 [cited 2010 Nov 16]. Available from: *Annals of the New York Academy of Sciences*.
11. Camberlein E, Zanninelli G, D tivaud L, Lizzi A.R, Sorrentino F, Vacquer S, Troadec M, Angelucci E, Abgueguen E, Lor al O,Cianciulli P, Lai M.E, Brissot P. Anemia in  $\beta$ -thalassemia patients targets hepatic heparidin transcript levels independently of iron metabolism genes controlling heparidin expression. *Haematologica/the Hematology journal* [serial online]. 2008 [cited 2010 Nov 16]. Available from: <http://www.haematologica.org/cgi/content/full/93/1/111>.
12. Origa R, Galanello R, Ganz T, Giagu N, Maccioni L, Faa G, Nemeth E. Liver iron concentrations and urinary heparidin in beta-thalassemia. *Haematologica* [serial online]. 2007 [cited 2010 Sep 23]. Available from:<http://www.haematologica.org/cgi/content/full/92/5/583>.
13. Bain BJ. *Haemoglobinopathy Diagnosis*. 2<sup>nd</sup> Ed. Blackwell Publishing; 2006.
14. Lewis S.M, Bain B.J, Bates I. *Dacie and Lewis: Practical Haematology*; 2006.
15. Judd S.J. *Health Reference Series: Genetic Disorders Sourcebook*. Omnigraphics, Inc; 2010.
16. Hoffbrand A.V, Catovsky D, Tuddenham E.G.D. *Postgraduate Haematology*. Blackwell Publishing; 2005.