

## Necessità di ridefinire i valori di normalità per globuli rossi e emoglobina nella popolazione anziana, come risultato di analisi di Big Data

Michela Cuccorese, Tommaso Pirotti e Tommaso Trenti

Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Anatomia Patologica, AOU e AUSL di Modena

*Questo contributo è stato in parte presentato al SIBioC WorldLab-Euromedlab (Roma, maggio 2023), ricevendo il premio SIBioC-Medicina di Laboratorio per Young Scientists.*

### ABSTRACT

**The reference values for red blood cells and hemoglobin in the elderly population need to be reassessed as a result of Big Data analysis**

**Introduction:** in elderly subjects, a reduction in hemoglobin levels is common, but whether this should be considered an overt manifestation of anemia or a para-physiological change associated with aging is controversial. The aim of this study was to investigate the association between alterations of the complete blood count (CBC) parameters and aging, in a large outpatient population in the province of Modena.

**Methods:** CBC results from outpatients, performed in the clinical laboratory of the Ospedale Civile di Modena (Italy), from January 2010 to August 2022 have been examined. The data were retrieved from the Vertical Sequel Server where outpatients' results are stored; statistical analyses were performed with the Anaconda 3, Python 3.7 platform.

**Results:** CBC data collected were 4 673 529. Hemoglobin levels in elderly people (>75 years old), both males and females, were largely below the lower reference limit (respectively, 49.3% of 509 834 tests in the male population and 35.4% of 704 343 test in the female population). Evaluating a single value per person per year, the trend was similar: 40.5% of men and 27.5% of women. Finally, to exclude patients with organ disease, we limited our observation to subjects with normal values of serum glucose, creatinine and alanine transferase (ALT). In this series of 822 166 analyses, more than 25% of the older males show hemoglobin levels below the lower reference limit.

**Discussion:** in conclusion, a significant proportion of older male subjects in this outpatient population show hemoglobin levels below the reference limit. Exclusion from the statistical analysis of patients with altered liver and kidney tests and hyperglycemia (to exclude significant systemic or organ disease) did not change the finding. These results suggest extreme caution in the interpretation of the CBC in advanced age and may support a redefinition of the reference limits in this specific population.

**Parole chiave:** Big Data, emoglobina, persone anziane

### INTRODUZIONE

La diagnosi di laboratorio di anemia è un aspetto importante e di grande impatto quotidiano nella pratica clinico-diagnostica e costituisce la fondamentale informazione per decidere se il paziente è effettivamente anemico.

Nel 1968 l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), studiando una coorte di soggetti di età <65 anni, ha definito come il termine anemia sia applicabile a una condizione quando i valori di emoglobina siano <12,0 g/dL nelle donne e <13,0 g/dL negli uomini, in età adulta (1).

Questi criteri sono stati successivamente discussi (2,3) considerando che la definizione dei limiti di riferimento diagnostici dovrebbe tenere conto di una serie di parametri tra cui, oltre al genere e all'etnia, l'età ha probabilmente un ruolo rilevante.

Nonostante i soggetti più anziani spesso possano presentare una riduzione del numero dei globuli rossi, dei livelli di ematocrito e di emoglobina, non è stata ad ora modificata l'indicazione dell'OMS pur essendo questa indubbiamente datata. Applicando le soglie proposte dall'OMS, una diagnosi di anemia interessa un numero elevato di soggetti in particolare quando

Corrispondenza a: Dott.ssa Michela Cuccorese, Ospedale Civile di Baggiovara, via Giardini 1355, 41126 Modena, Italia  
m.cuccorese@ausl.mo.it

Ricevuto: 31/07/2024

Rivisto: 09/09/2024

Accettato: 19/09/2024

Published on-line: 15.11.2024

DOI: 10.19186/BC\_2024.058

anziani e di genere maschile; questa situazione induce ulteriori indagini diagnostiche associate alla percezione e preoccupazione di una condizione di salute compromessa (4).

E' noto come l'anemia rappresenti un problema di salute rilevante e prevalente nelle persone anziane in tutto il mondo, con una discussione aperta relativamente alla possibilità che la riduzione dei parametri ematici sia evocativa di patologia o piuttosto derivata da un fenomeno fisiologico legato all'età, quando i valori siano modestamente ridotti, senza che questo implichi ulteriori interventi diagnostici o terapeutici specifici.

La letteratura scientifica al riguardo ha fornito risultati abbastanza variabili valutando la prevalenza di anemia nella popolazione anziana fino al 50% in soggetti di sesso maschile e il 40% di sesso femminile (4,5); sottolineando come la patologia possa essere sottovalutata, in particolare nei paesi a più alto rischio di carenza nutrizionale. Le cause che portano a una riduzione dell'emoglobina e dei globuli rossi nei soggetti più anziani sono numerose (6-8): la carenza di ferro, folato o vitamina B12 è relativamente comune in questa fascia di età e presente in un contesto di malnutrizione globale. Malattie renali croniche e condizioni infiammatorie croniche sono anch'esse cause di anemia associata all'invecchiamento. Infine, molte neoplasie ematologiche possono presentarsi in età avanzata. Quando in presenza di queste alterazioni, possono essere escluse patologie significative, resta una percentuale rilevante di anemia "inspiegabile", che varia da circa un sesto a un terzo dei casi totali (4,9,10).

L'eziologia dell'anemia inspiegabile è probabile che sia multifattoriale con potenziali cause quali: alterazioni della densità e della funzione del midollo osseo, risposta ridotta all'eritropoietina, disfunzioni endocrine minori e asintomatiche, condizioni infiammatorie croniche subcliniche, carenze nutrizionali non riconosciute.

Una diagnosi accurata in pazienti con un'inspiegabile riduzione dell'emoglobina legata all'età, che non richiede ulteriori indagini o trattamenti è indubbiamente sfidante, richiedendo un giudizio clinico qualificato associato a una specifica esperienza nella gestione della salute delle persone anziane. Un importante e complesso impegno di risorse in condizioni fisiologiche o para-fisiologiche potrebbe essere considerato ingiustificato, difficilmente sostenibile in un contesto epidemiologico di invecchiamento globale della popolazione, nella prospettiva di un più appropriato utilizzo dell'assegnazione delle risorse sanitarie.

Negli ultimi anni la disponibilità di grandi quantità di dati, unita a strumenti informatici utili alla loro elaborazione, si propone di applicare il concetto di Big Data ai dati di laboratorio, con straordinarie potenzialità che tuttavia ad ora non hanno avuto l'impatto ipotizzato nell'ambito della Medicina di Laboratorio. Il paradosso è relativo allo squilibrio, fra l'enorme quantità di dati disponibili nei data base dei laboratori clinici, e l'insieme di dati strutturati di maggiore entità in ambito sanitario, in rapporto alla relativa carenza di ricerche scientifiche disponibili (11).

I dati di questo lavoro sono parte di una ricerca

finalizzata all'associazione di relazioni fra gli esami diagnostici, utilizzando una modalità di "machine learning non supervisionato (unsupervised)" capace di mettere in relazione aspetti significativi dal punto di vista clinico delle informazioni di laboratorio, per la creazione di un modello di diagnosi medica autonoma avanzata, su committenza dell'ESA (European Space Agency). Un'interpretazione accurata dei risultati di laboratorio derivata dai Big Data diagnostici a disposizione, può proporre ipotesi non previste ma suggerite in modo autonomo dal modello di analisi dei dati; infatti il titolo dello studio finanziato da ESA era Data Mining for Astronauts Medical Autonomy di Martinez et al. (12).

E' dunque importante sottolineare qui, come il dato relativo all'andamento dello stato anemico, in ragione dell'età e le conseguenti inferenze, non sia stato previsto *a priori* ma derivato dai dati che si sono evidenziati in "modo autonomo" nella loro significatività, e poi utilizzati per una successiva valutazione sul loro significato e interpretazione.

Il modello applicato è indubbiamente non privo di limiti e di possibili critiche metodologiche in quanto non finalizzato a validare un'ipotesi *a priori* e basato su un algoritmo definito, ma è mirato ad aprire ipotesi di successivo lavoro che dovranno o meno validare le osservazioni presentate. Nel caso specifico, ci si proponeva di esaminare la relazione fra stato anemico, età, sesso e a stabilire inoltre eventuali nuovi e diversi valori decisionali rispetto a quelli proposti dall'OMS (1), ma tuttora tradizionalmente e comunemente utilizzati, nonostante la disponibilità di tecnologie analitiche altamente innovative, e di studi sempre più raffinati a definire una forte e robusta metodologia utilizzabile allo scopo (13-17).

Lo scopo del presente lavoro è quello di indagare possibili relazioni e significative associazioni derivate dalla elaborazione di tutti i dati diagnostici a disposizione, di una vasta popolazione di pazienti ambulatoriali, con un modello di machine learning non supervisionato. In altri termini non erano proposti algoritmi interpretativi *a priori*, sperimentando la capacità del modello di individuare significative associazioni e pattern esaminati *a posteriori*. Questo in coerenza con il progetto finanziato dall'ESA (12).

## METODI

Sono stati valutati tutti gli emocromi e altri esami ematici effettuati a Baggiovara Laboratori Unificati (BLU), laboratorio di riferimento per tutta l'area modenese, posto presso l'Ospedale Civile di Modena, su pazienti ad accesso ambulatoriale, quindi non ricoverati, nel periodo compreso tra gennaio 2010 e agosto 2022. BLU esegue circa il 99% di tutti gli esami di laboratorio per il Sistema Sanitario Nazionale rispondendo alle necessità diagnostiche di tutta la popolazione modenese, di oltre 700 000 abitanti.

La determinazione degli analiti considerati per lo studio, ovvero emoglobina, globuli rossi, valore corpuscolare medio, globuli bianchi e piastrine, è stata eseguita su un'unica tecnologia con strumenti DXI 900

(Beckman Coulter, USA). Per i parametri di chimica clinica [glucosio, alanina aminotransferasi (ALT), creatinina] la strumentazione utilizzata è stata l'AU 5800 (Beckman Coulter, USA).

Nell'ambito del complessivo progetto, tutti i dati di laboratorio presi in considerazione sono stati elaborati per definire il numero dei pazienti presenti negli intervalli decisionali dell'OMS intesi come "normali" o "fuori intervallo" per sesso ed età. Il disegno dello studio è presentato in Figura 1.

### Dichiarazione etica

Tutte le procedure eseguite sono conformi agli standard etici della Dichiarazione di Helsinki del 1975, rivista nel 2013. Considerando la valutazione retrospettiva di grandi volumi di dati, non è stato possibile ottenere il consenso informato da tutti i partecipanti inclusi nello studio, ma lo studio è stato approvato dalla direzione dell'azienda sanitaria in quanto i dati sono stati raccolti in forma anonima e non tracciabile al singolo paziente.

### Rappresentazione dei dati e analisi statistica

Tutti i risultati relativi alla determinazione di emoglobina (HB), conteggio dei globuli bianchi (WBC), conteggio dei globuli rossi (RBC), conta piastrinica (PLT), e misura del volume corpuscolare medio (MCV) sono stati estratti dal database dell'Azienda Sanitaria di Modena (AUSL-MO), costituito da circa 87000 000 di esami di laboratorio relativi a più di 700000 assistiti. Nel complesso sono stati elaborati 4673 529 Gruppi d'Ordine ematologico, in cui ogni gruppo d'ordine corrisponde a una serie di esami eseguiti per lo stesso paziente nello stesso accesso. I gruppi d'ordine sono composti da più esami intesi come analisi di laboratorio che generano un unico referto. Nello studio, un gruppo di ordine ematologico

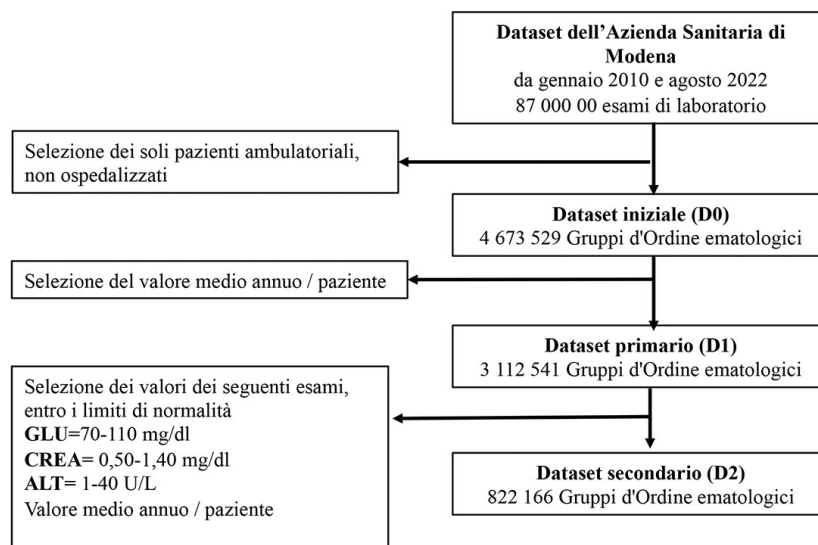
(cioè il conteggio completo delle cellule del sangue) era sempre composto da almeno, RBC, WBC e PLT e MCV e HB. Il dataset è risultato composto da numero totale di 1931623 gruppi d'ordine per i pazienti di sesso maschile e 2741 906 gruppi d'ordine per i pazienti di sesso femminile costituendo i 4 673 529 Gruppi d'Ordine prima citati (D0).

L'analisi di ciascun test (detto Singolo Ordine di lavoro nel contesto del Gruppo d'Ordine) è stata eseguita nella presente ricerca per evidenziare l'andamento della distribuzione dei valori secondo i seguenti criteri: fascia di età (25-49 anni; 50-74 anni; 75-99 anni); genere (maschio o femmina); media e deviazione standard su soli pazienti ambulatoriali. E' stata eseguita un'elaborazione finalizzata a ottenere graficamente il boxplot (strumento di lavoro che consente la rappresentazione grafica di un insieme di misure) nella stessa fascia di età per i pazienti, evidenziando i quartili, come mostrato nella Figura 2.

I dati, archiviati in un database Vertica Sequel Server sono stati analizzati tramite l'utilizzo dei pacchetti matematici, statistici e grafici Pandas, Numpy, Seaborn e Matplotlib presenti in Python versione 3.7.

Poiché una potenziale fonte di errore potrebbe derivare dal fatto che i pazienti con valori dell'emocromo alterati o con una patologia che richieda maggiori controlli tendono a ripetere più frequentemente gli esami rispetto alle persone con valori normali, per minimizzare tale potenziale errore, i dati sono stati prima divisi per anno e poi è stato considerato il valore medio annuale per ogni soggetto. In questo modo ad ogni individuo corrisponde un solo valore per ogni anno (D1).

Inoltre per valutare i dati di persone possibilmente "sane" estratti dalla popolazione complessiva, sono stati ulteriormente elaborati solo i dati di soggetti con marcatori di patologie molto comuni (come creatinina, glucosio e ALT) all'interno dei rispettivi intervalli di riferimento, ovvero glucosio 70-110 mg/dL, creatinina 0,50-1,40 mg/dL, ALT



**Figura 1**  
Disegno dello studio, strategia di inclusione dei soggetti.

1-40 U/L per tutte le fasce di età. Adottando gli stessi criteri anche in questo gruppo di pazienti, abbiamo considerato solo il valore medio dell'emocromo per anno (D2).

## RISULTATI

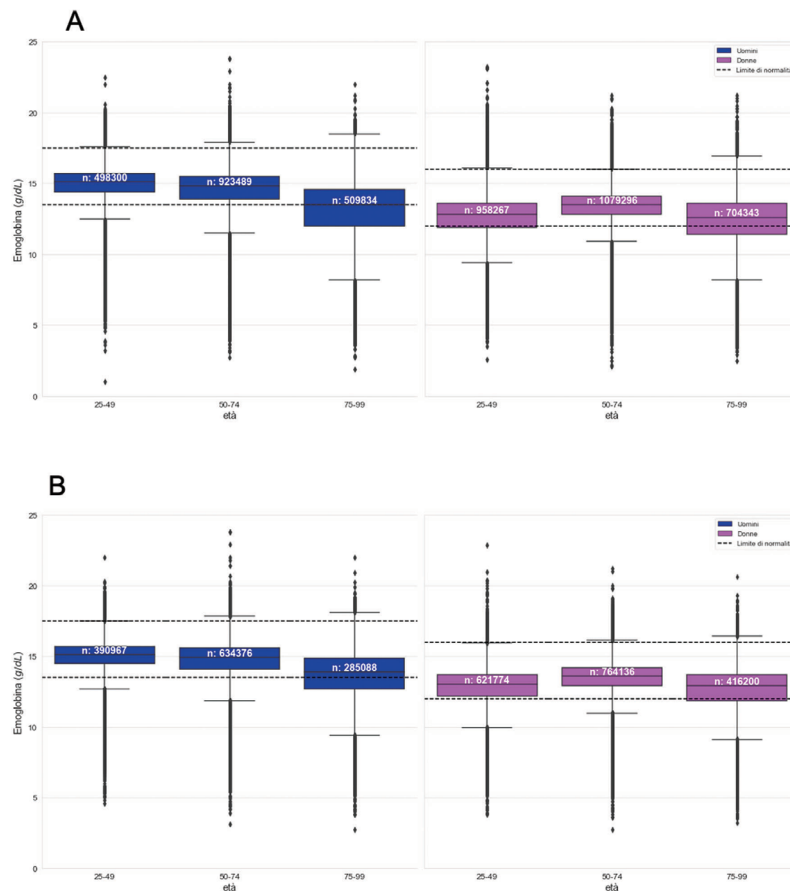
Come rappresentato in Figura 1, il dataset delle analisi era inizialmente composto da una matrice di 87 000 000 esami di laboratorio, rappresentativi della popolazione assistita in provincia di Modena ad agosto 2022. Una volta applicate le regole precedentemente descritte per eliminare i potenziali bias nei dati (ed aumentarne conseguentemente l'affidabilità), i gruppi d'ordine ematologici si sono ridotti a 4 673 529 (D0).

La Figura 2 mostra la distribuzione dei livelli di emoglobina, suddivisi per genere e fascia di età, intorno alla mediana. Nelle persone anziane (>75 anni) i livelli di emoglobina sono inferiori al limite inferiore dell'intervallo decisionale in una percentuale significativa della popolazione rispettivamente, il 49,3% dei maschi e il 35,4% delle femmine, (pannello A).

Come espresso nella sezione Metodi, al fine di minimizzare il bias della selezione e considerando come in alcuni pazienti gli esami possano essere ripetuti più

volte nello stesso anno, è stata eseguita un'analisi aggiuntiva considerando il valore medio per persona all'anno per ridurre il peso dei pazienti potenzialmente patologici in grado di alterare il dato medio. Dopo questa elaborazione, illustrata nel pannello B, è stata osservata una tendenza simile a quella evidenziata in precedenza, con il 40,5% degli uomini e il 27,5% delle donne con dati anomali rispetto il valore decisionale inferiore. Al fine di escludere ulteriormente pazienti con malattie sistemiche o d'organo, sono stati selezionati i soggetti con valori di glucosio sierico, creatinina e ALT all'interno dell'intervallo di riferimento, sempre considerando un singolo valore per anno per paziente (Figura 3). In questo nuovo gruppo, composto da 822166 valori medi per paziente per anno, il 29,7% dei soggetti maschi più anziani era ancora al di sotto dei valori decisionali. Nelle donne, il valore mediano è più basso nella popolazione >75 anni, ma la stragrande maggioranza dei valori (82,5%) rientra nell'intervallo decisionale, perché i valori inferiori dell'intervallo sono più bassi rispetto al maschio.

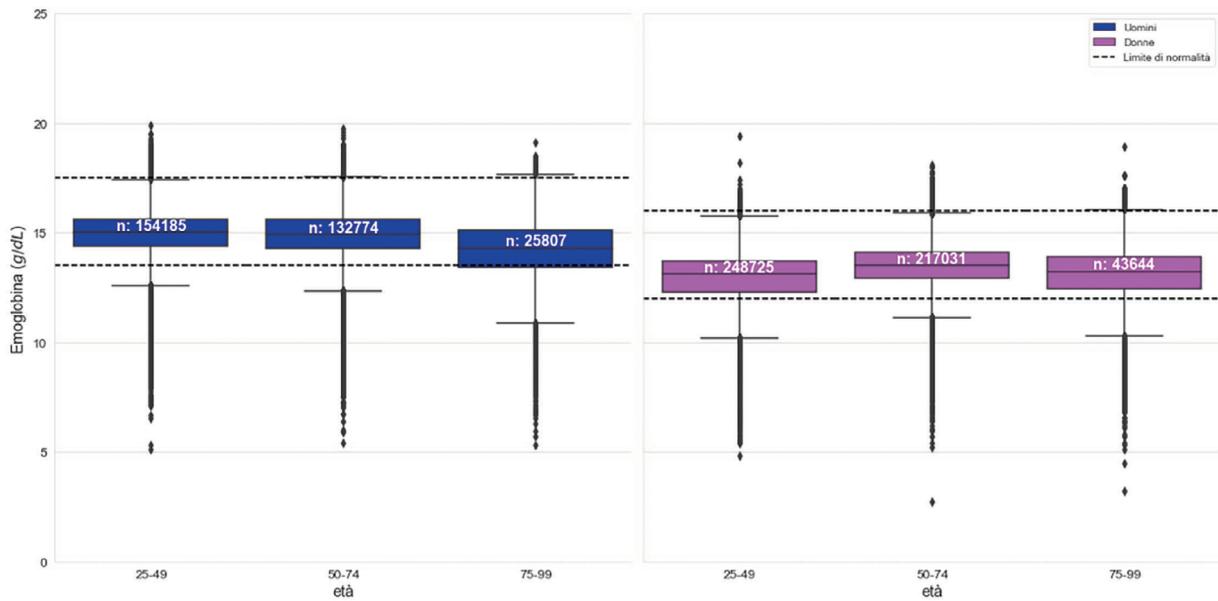
La Figura 4 illustra la distribuzione dei globuli rossi nella popolazione femminile e maschile studiata. Il pannello A mostra i dati dell'intera popolazione e dell'intero set di dati, mentre nel pannello B è riportato il valore medio



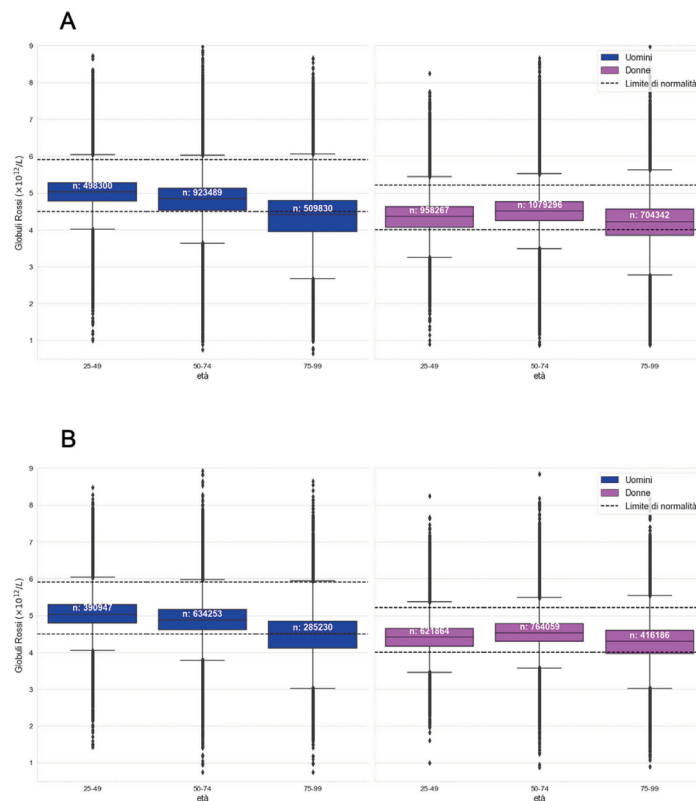
**Figura 2**

**Pannello A:** Valori dell'emoglobina dell'intera popolazione dello studio, stratificati per genere e fasce di età

**Pannello B:** Valori medi annui dell'emoglobina per ogni paziente, dell'intera popolazione dello studio, stratificati per genere e fasce di età



**Figura 3**  
Valori medi annui dell'emoglobina per paziente, considerati verosimilmente sani per lo studio, stratificati per genere e fasce di età



**Figura 4**  
Pannello A: Risultati dei globuli rossi per l'intera popolazione dello studio, stratificati per genere e fasce di età  
Pannello B: Valori medi annui dei globuli rossi per paziente, dell'intera popolazione dello studio, stratificati per genere e fasce di età

annuo. Ancora una volta, una percentuale rilevante di osservazioni nei soggetti di sesso maschile (più del 50% nell'intero set di dati e quasi il 50% considerando il valore medio annuo) si colloca al di sotto dell'intervallo di riferimento. Nelle donne anziane il valore mediano è ridotto, ma il quadro generale si caratterizza per valori di globuli rossi molto vicino o all'interno dell'intervallo.

La distribuzione della concentrazione di globuli rossi nella popolazione "sana" è mostrata nella Figura 5. Una tendenza simile è presente, con quasi il 40% dei valori al di sotto del limite inferiore dell'intervallo nei maschi >75 anni.

Al contrario, quando si valuta il valore corpuscolare medio determinato nella stessa popolazione, la stragrande maggioranza dei valori, e le intere caselle, rientrano nell'intervallo di riferimento, sia quando si considera l'intero set di dati della popolazione (dati non mostrati), sia quando si considerano i valori medi annuali nella popolazione con glucosio, creatinina e ALT non alterati (Figura 6, pannello A).

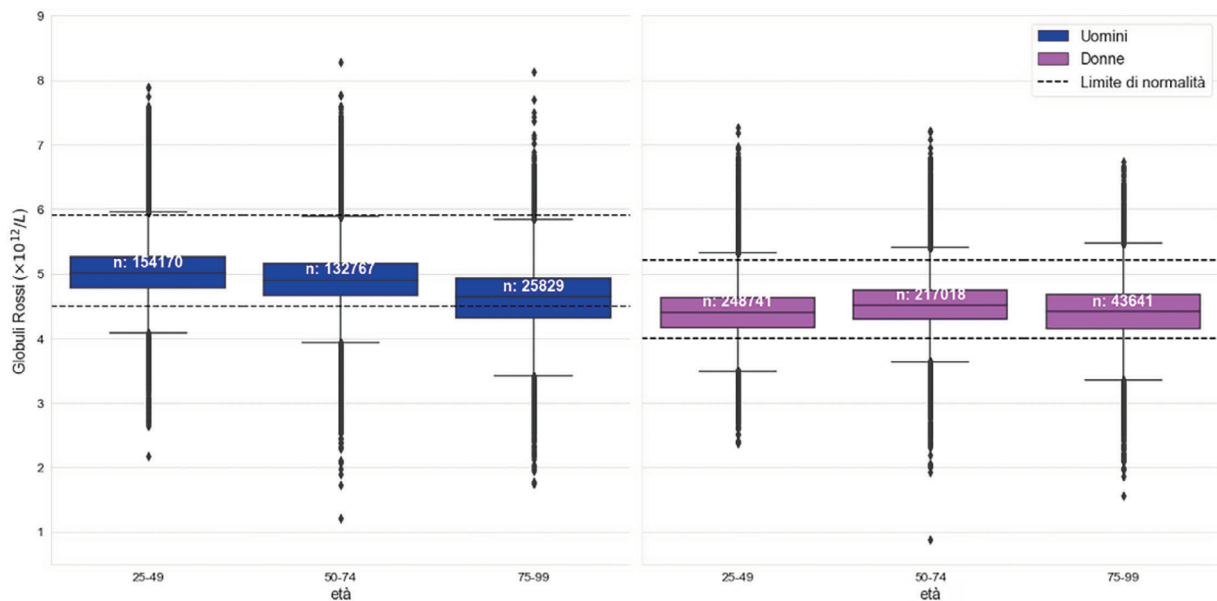
Inoltre, l'utilizzo di un grafico a violino per l'MCV, in sostituzione del più comune box plot, permette di evidenziare come i valori dell'MCV assumono una distribuzione gaussiana attorno a una sola moda per ogni classe di età, sia per uomini che per donne. Come illustrato nella Figura 6, pannello B I in questo modo si esclude la possibilità di una doppia moda che sarebbe dovuta alla presenza di due popolazioni una di soggetti con un volume corpuscolare maggiore, (macrocitosi, per carenza di folato o vitamina B12), e una di soggetti con microcitosi per carenza di ferro, determinando un'apparente media normale. .

Infine, l'analisi del conteggio dei globuli bianchi e delle piastrine ha mostrato valori costantemente all'interno dell'intervallo di riferimento in tutti i pazienti stratificati per età in entrambi i sessi, sia nell'insieme dei dati (dati non mostrati) sia valutando i valori medi annuali limitati alla popolazione "sana", anche se è stata osservata una tendenza verso un numero di piastrine più basso nei soggetti di sesso maschile (Figura 7, pannelli A e B rispettivamente).

## DISCUSSIONE

Questa esperienza di data mining è stata condotta su un ampio campione di pazienti costituito da oltre cinque milioni di esami emocromocitometrici rappresentativo della popolazione generale dell'area geografica di riferimento. Limitare l'analisi ai pazienti ambulatoriali ha permesso, in prima istanza, di raccogliere un insieme di dati relativamente omogeneo escludendo almeno i pazienti ricoverati con una patologia in fase acuta.

I risultati ottenuti sono stati suddivisi per sesso e stratificati per 3 classi di età (25-49, 50-74 e 75-99 anni). La scelta di rappresentare i dati in intervalli di 25 anni è dovuta alla osservazione relativa all'andamento dei valori di emoglobina e globuli rossi descritta per decenni (non mostrato), ove la diminuzione dei livelli di emoglobina è particolarmente evidente nella decade fra 70 e 80 anni, e in particolare dopo i 75 anni. La rappresentazione per decenni sarebbe ridondante, complessa e renderebbe il lavoro di scarsa leggibilità. Peraltro la soglia dei 75 anni è considerata, da molte società scientifiche come ad esempio dalla Società Italiana di Gerontologia e Geriatria



**Figura 5**

Valori medi annui dei globuli rossi dei pazienti considerati verosimilmente sani per lo studio, stratificati per genere e fasce di età

(SIGG), un limite realistico se pur arbitrario per definire l'età anziana anche se in molti Paesi, come affermato dalla stessa OMS, tale valore è posto a 65 anni, scelta che appare più coerente con aspetti sociali, come l'età pensionabile, piuttosto che derivare da evidenze biologiche.

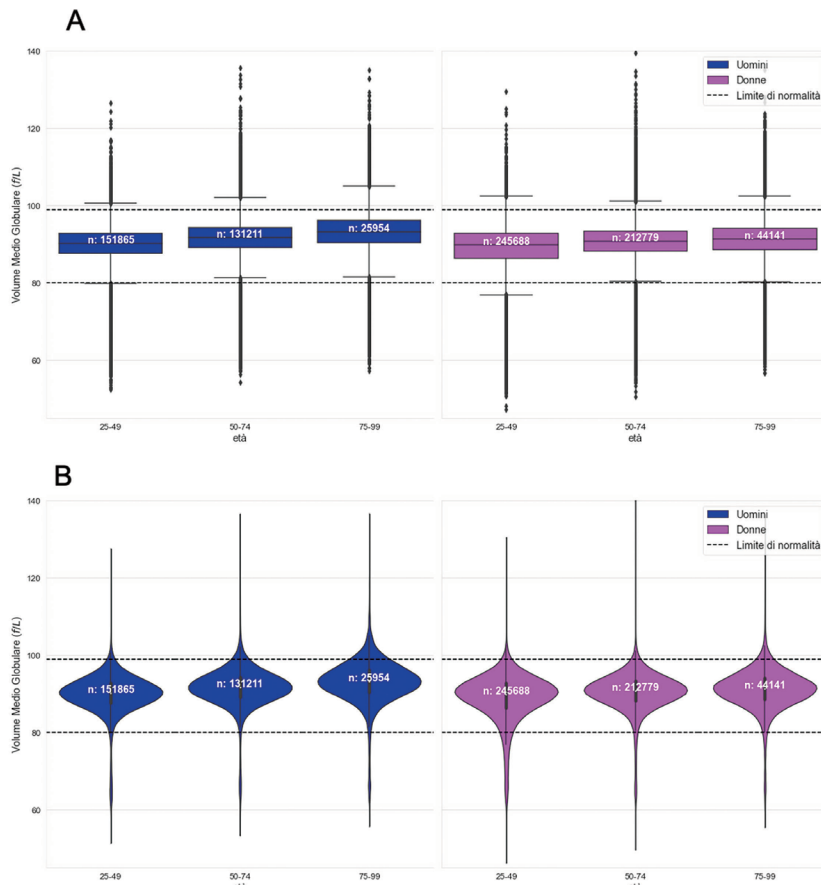
Questo andamento relativo alla diminuzione dei valori di emoglobina e globuli rossi nella popolazione anziana è stato confermato anche quando è stato considerato il valore medio annuo per singolo paziente, superando così il potenziale sbilanciamento dovuto al campionamento multiplo di particolari sottoinsiemi di pazienti.

Per affinare ulteriormente la nostra ricerca, abbiamo effettuato una sotto-analisi limitata ai soggetti con glicemia, creatinina e ALT entro i limiti dei rispettivi intervalli di riferimento. In particolare in questa ulteriore elaborazione, se un soggetto ha avuto anche solo un valore anomalo per i parametri prima descritti nel corso degli anni, è stato eliminato, quindi i soggetti inclusi sicuramente non soffrivano di patologie croniche epatiche

o renali o di patologia diabetica.

Questa metodologia di selezione rappresenta un limite per lo studio, in quanto questi soli marcatori non catturano ovviamente tutte le possibili patologie nella complessità della medicina, ove peraltro lo stesso concetto di sano oltre i 75 anni non è di scontata definizione. Tuttavia questa selezione unita all'esclusione dei soggetti ospedalizzati, rappresentano per il nostro studio e per gli strumenti a nostra disposizione un approccio pragmatico e fattibile che consente comunque di studiare una ampia coorte di soggetti in assenza di dati clinici completi.

Si sottolinea come lo studio non sia nato con lo specifico intento di rivedere i valori di riferimento per questi parametri, tema sicuramente di straordinaria importanza in Medicina di Laboratorio con una conseguente ricchissima letteratura scientifica e suggerimenti metodologici innovativi (16,17), ma derivi da un approccio di "data mining non supervisionato" ovvero senza alcuna ipotesi *a priori*, su un numero importate di dati di laboratorio con i vantaggi e limiti che



**Figura 6**

**Pannello A:** Valori di MCV dei pazienti considerati verosimilmente sani per lo studio, stratificati per genere e fasce di età (boxplot)

**Pannello B:** Valori di MCV dei pazienti considerati verosimilmente sani per lo studio, stratificati per genere e fasce di età (violin plot)

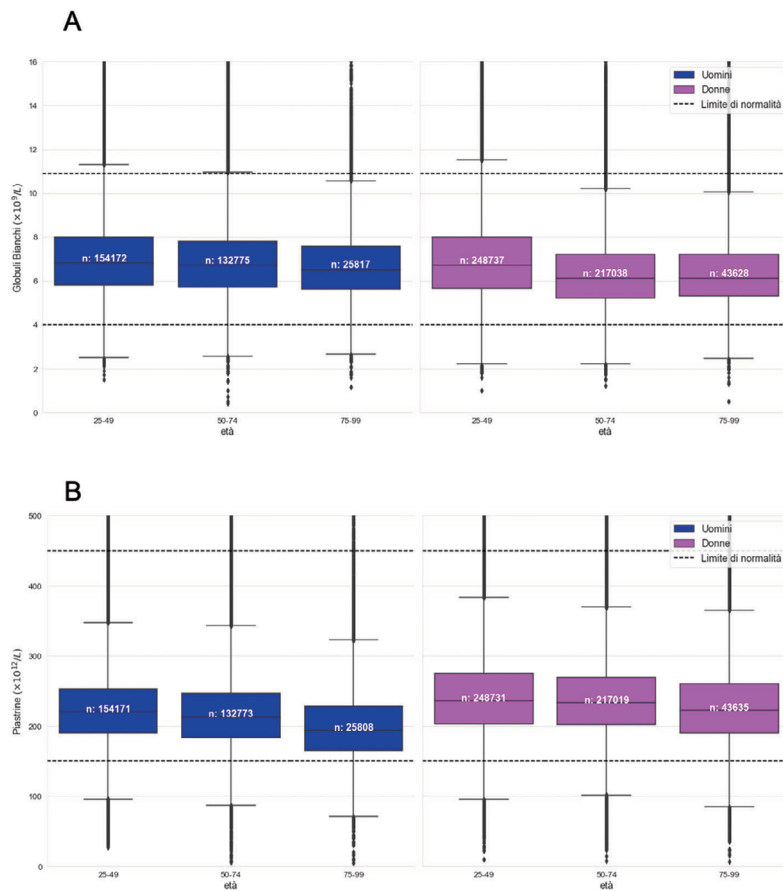
ne conseguono.

L'evidenziare nel contesto delle decine di milioni di esami diagnostici presenti, l'andamento di emoglobina e globuli rossi anomalo per età (18), senza alcuna regola *a priori*, testimonia indubbiamente il potenziale di questi modelli nell'evidenziare possibili importanti aspetti d'impatto diagnostico sulla popolazione, che debbono sicuramente essere validati da ulteriori ricerche mirate all'evidenza descritta. Superfluo ricordare come l'esame emocromocitometrico sia probabilmente uno degli esami più comunemente richiesti dai medici nel contesto di una valutazione di laboratorio di routine nella prassi professionale quotidiana (19,20).

Ancora si rimarca come lo studio non abbia l'ambizione di ridefinire i valori di riferimento per emoglobina e globuli rossi per età, ma di focalizzare l'attenzione sulla tendenza, di emoglobina e globuli rossi, a diminuire nell'arco della vita, lasciando a ulteriori ricerche più robuste metodologicamente, una migliore definizione dei valori di riferimento o dei valori decisionali (13-17)

I risultati presentati, evocativi di una forte diminuzione con l'età dei valori di emoglobina e globuli rossi, con un conseguente aumento di pazienti anemici basata sulle indicazioni OMS di fine anni '60 inducono a tre possibili ipotesi. La prima propone un fortissimo aumento dell'incidenza di anemia nella popolazione anziana superiore circa del 40-50%, in particolare nei soggetti di sesso maschile, rendendo l'anemia una condizione epidemica globale e di straordinario impatto per questa popolazione. La seconda ipotesi si configura nella necessità di rivedere i valori di riferimento (o decisionali) considerando una diminuzione fisiologica di emoglobina e globuli rossi dovuta all'età, infine, terza ipotesi, che lo studio porti a conclusioni errate per carenze metodologiche nell'analisi del data set derivato da un processo inadeguato di data mining.

Per caratterizzare questa ricerca vanno sottolineate le dimensioni molto grandi del campione analizzato, che ha permesso una stratificazione di una popolazione relativamente "sana" di soggetti e inoltre, che lo studio



**Figura 7**

**Pannello A:** Valori dei globuli bianchi dei pazienti considerati verosimilmente sani per lo studio, stratificati per genere e fasce di età

**Pannello B:** Valori delle piastrine dei pazienti considerati verosimilmente sani per lo studio, stratificati per genere e fasce di età

fosse basato sui dati analitici prodotti in un unico centro, eliminando i possibili disallineamenti dovuti a diverse metodologie analitiche o procedure, giustificando metodologicamente l'omogeneità dei dati.

Le osservazioni riportate, come detto, non ipotizzate *a priori*, sono comunque in accordo con la tendenza riportata nelle popolazioni italiane (18,21) e con precedenti evidenze scientifiche presenti nella letteratura, che propongono una diminuzione delle concentrazioni di emoglobina nell'invecchiamento (28-30), in particolare nei soggetti "anziani" rispetto a quelli "più giovani" (tra i 65 e i 75 anni). La letteratura è coerente nel mostrare una maggiore prevalenza di anemia nei maschi rispetto alle femmine, probabilmente a causa delle diverse soglie nei criteri OMS che mantengono le differenze per sesso indipendentemente dall'età giovanile, di piena maturità o anziana (31).

Una ulteriore osservazione appare importante per validare una diminuzione "fisiologica" dell'emoglobina e globuli rossi rapportabile all'età, ovvero il fatto che i valori corpuscolari medi tendano a rimanere entro i limiti di riferimento su tutte le tre popolazioni raggruppate per età, peraltro in parziale contrasto con precedenti dati di letteratura (32, 33), che hanno documentato una tendenza verso un aumento di questo indice con l'età. Questi risultati escludono una relazione diretta con una carenza di vitamina B12 o ferro espressa da una conseguente macro o microcitosi sostanzialmente escludendo due delle cause più comuni di anemia.

Nel lavoro, l'elaborazione dell'andamento dei dati per i valori corpuscolari medi per gruppi di età è stato espresso graficamente come violin plot per verificare la presenza di una eventuale distribuzione bimodale di questo parametro ed escludere una mediana di normalità artefatta a causa dell'andamento bimodale dei valori che sarebbe espressione di macro o microcitosi.

E' sicuramente vero che la riduzione dell'emoglobina e della concentrazione dei globuli rossi è associata a un aumento della morbilità, della mortalità e, in generale, a condizioni di salute compromesse (20-26), in particolare nei soggetti più anziani dove la prevalenza dell'anemia è costantemente più alta rispetto ai gruppi di età più giovanile (35,36). Di conseguenza, quando uno stato anemico è diagnosticato deve essere preso in seria considerazione, approfondendo le possibili cause che lo determinano, proponendo il conseguente specifico trattamento terapeutico sicuramente utile a garantire un migliore stato di salute per i pazienti. Tuttavia, è altrettanto noto, come una chiara eziologia non possa essere spesso definita, portando alla diagnosi di "anemia inspiegabile dell'invecchiamento" che merita un'adeguata considerazione e gestione clinico terapeutico (10,20).

Se il concetto generale di anemia quale causa di maggiore morbilità e mortalità è certamente accertato valutando l'insieme dell'ampio spettro dei valori patologici esaminati, come è evidente nella produzione scientifica presente in letteratura, il tema da proporsi è se piccole variazioni della concentrazione di emoglobina e globuli rossi ai livelli inferiori rispetto alla classica e tradizionale definizione dell'OMS, sia effettivamente una condizione patologica diagnosticabile come anemia, oppure rientri

nell'andamento para-fisiologico della concentrazione di emoglobina e globuli rossi nella popolazione anziana. Una piccola variazione rispetto al valore decisionale è di straordinaria importanza nell'esprimere la percentuale dei pazienti considerati anemici. Come detto, una potenziale implicazione dei risultati ottenuti potrebbe essere quella di riconsiderare e ridefinire i valori di riferimento relativi per età, come è stato suggerito da diverse pubblicazioni presenti in letteratura (28,32,33,44,45) che tuttavia non hanno prodotto ad ora alcun impatto professionale. La necessità di una definizione più articolata dei valori di riferimento, in un'epoca di medicina personalizzata, è a nostro parere necessaria, in particolare quando si consideri il fenomeno dell'invecchiamento globale della popolazione. Relativamente ai dati a nostra disposizione, a puro titolo di esempio, già uniformando i valori di riferimento dei maschi ai valori della popolazione femminile, si avrebbe una riclassificazione dei pazienti anemici maschi, utile a riportare la distribuzione gaussiana all'interno dei valori di normalità.

L'approccio di data mining utilizzato in questa ricerca può rivelarsi utile a questo proposito, consentendo una caratterizzazione precisa dei parametri emocromocitometrici per la fisiopatologia legata all'età e promuovendo maggiormente una medicina di precisione. I dati considerati, pur nell'ambito delle normative presenti, di non poco ostacolo alla ricerca traslazionale sulla popolazione, potrebbero essere messi a disposizione, anzi lo sono fin da ora, per quanto riguarda la volontà degli autori, anche associati ad altri data base, per sviluppare ricerche cooperative che necessitano indubbiamente di competenze, risorse e capacità di analisi nonché di vaglio critico, difficilmente presenti nei gruppi di ricerca operanti nei singoli laboratori, che si basano sostanzialmente sull'impegno e interesse dei professionisti (11).

Nel caso la consapevolezza che una limitata riduzione degli indici ematici diagnostici di anemia non richieda necessariamente interventi diagnostici o terapeutici specifici, perché spiegabile semplicemente con l'età, potrebbe avere indubbiamente implicazioni rilevanti, in uno scenario di invecchiamento della popolazione a livello nazionale ed internazionale nella prospettiva di una corretta allocazione delle risorse pur garantendo la piena salute dei pazienti.

Relativamente all'interpretazione fisiopatologica dei dati riportati, una prima osservazione riguarda l'assenza di cambiamenti dovuti all'età nel conteggio dei globuli bianchi e delle piastrine; questo aspetto depone per un deficit piuttosto selettivo nel midollo osseo in ragione dell'invecchiamento, questo in accordo a dati della letteratura (31).

Le cause del calo "fisiologico" della concentrazione di emoglobina potrebbero essere attribuibili a una riduzione della massa cellulare del midollo osseo, con un corrispondente aumento del tessuto adiposo dovuta alla diminuzione della produzione di estrogeni nell'invecchiamento (28,36).

Nei soggetti più anziani la risposta ematopoietica a diversi stimoli è ritardata e diminuita, rispetto ai più giovani (37,38) per la possibile comparsa di alterazioni quantitative e qualitative delle cellule staminali progenitrici, nonché

alla riduzione del loro potenziale proliferativo (39). Si è infatti osservato come le colonie progenitrici eritroidi sono risultate ridotte quando stimolate nei pazienti più anziani ed è stato suggerito che tale deficit funzionale può essere correlato, ancora una volta, a una riduzione della stimolazione ormonale (40). Tuttavia il possibile ruolo dell'eritropoietina appare controverso; Powers et al. (41) suggeriscono come la produzione di questo ormone in condizioni di anemia non sia influenzata dall'età, così come la risposta cellulare ad altri modulatori fisiologici dell'eritropoiesi, quali il testosterone e le interleuchine. Ciò appare in contrasto con lavori più recenti che supportano l'ipotesi di livelli inadeguati di eritropoietina come causa di questa condizione (42,43). Il fatto che la riduzione della concentrazione di emoglobina sia stata osservata anche in una popolazione con normale creatinina sierica sembra escludere importanti variazioni nei livelli di eritropoietina per la compromissione della funzione renale, ma non esclude una risposta ridotta del midollo osseo dei soggetti più anziani. Infine, le disfunzioni endocrinologiche subcliniche potrebbero avere un ruolo nell'influenzare l'eritropoiesi, in particolare l'ipogonadismo (44).

Le carenze di micronutrienti, subcliniche e non riconosciute e le sindromi mielodisplastiche iniziali, sono state proposte come possibile causa di una riduzione altrimenti inspiegabile dei parametri emocromocitometrici valutati (10). Ulteriore ipotesi è la presenza di infiammazione di basso grado con carenza subclinica di ferro e ridotta produzione o funzione di eritropoietina (45) per spiegare l'anemia.

In conclusione, i risultati supportano l'idea che l'analisi di Big Data con processi di data mining o machine learning non supervisionato evidenzia parametri, nel nostro caso i livelli di emoglobina e numero dei globuli rossi, da considerare associati all'invecchiamento fisiologico senza individuare necessariamente un quadro patologico. Ciò può essere rilevante nella prospettiva di una corretta informazione diagnostica e valutazione medica, facilitando un approccio clinico appropriato ai pazienti più anziani anche nella prospettiva di una corretta allocazione delle risorse non solo economiche ma anche professionali non ingenerando una ricerca inconclusiva di malattie inesistenti. Questo non minimizza la necessità di una valutazione clinica accurata delle cause potenzialmente curabili di anemia, ma propone il tema della revisione degli intervalli di riferimento di laboratorio nella popolazione anziana quale tema di grande interesse.

### CONFLITTO DI INTERESSE

Gli Autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interessi.

### BIBLIOGRAFIA

- Blanc B, Finch CA. Nutritional anaemias. Report of a WHO scientific group. World Health Organ Tech Rep Ser 1968;405:5-37.
- Beutler E, Waalen J. The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? Blood 2006;107:1747-50.
- Stauder R, Thein SL. Anemia in the elderly: clinical implications and new therapeutic concepts. Haematologica 2014;99:1127-30.
- Guralnik JM, Eisenstaedt RS, Ferrucci L, Klein HG, Woodman RC. Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. Blood 2004;104:2263-8.
- Beghé C, Wilson A, Ershler WB. Prevalence and outcomes of anemia in geriatrics: a systematic review of the literature. Am J Med 116 Suppl 2004;7A:3S-10S.
- Petrosyan I, Blaison G, Andrès E, Federici L. Anaemia in the elderly: an aetiological profile of a prospective cohort of 95 hospitalised patients. Eur J Intern Med 2012;23:524-8.
- Cappellini MD, Motta I. Anemia in clinical practice—definition and classification: does hemoglobin change with aging? Semin Hematol 2015;52:261-9.
- Andrès E, Serraj K, Federici L, et al. Anemia in elderly patients: new insight into an old disorder. Geriatr Gerontol Int 2013;13:519-27.
- Anía BJ, Suman VJ, Fairbanks VF, Rademacher DM, Melton LJ 3rd. Incidence of anemia in older people: an epidemiologic study in a well defined population. J Am Geriatr Soc 1997;45:825-31.
- Guralnik J, Ershler W, Artz A, Lazo-Langner A, Walston J, Pahor M, et al. Unexplained anemia of aging: etiology, health consequences, and diagnostic criteria. J Am Geriatr Soc 2022;70:891-9.
- Bellini C, Padoan A, Carobene A, Guerranti R. A survey on Artificial Intelligence and Big Data utilisation in Italian clinical laboratories. Clin Chem Lab Med 2022;60:2017-226.
- Martínez-Heras J, Donati A, Damann V, Biancat J, Brighenti C, Brighenti A, et al. Data Mining for Astronauts Medical Autonomy. Conference Paper. <https://arc.aiaa.org/doi/10.2514/6.2016-2382> (ultimo accesso: agosto 2024)
- Jones GRD, Haeckel R, Loh TP, et al. Indirect methods for reference interval determination—review and recommendations. Clin Chem Lab Med 2018;57:20–9.
- Baadenhuijsen H, Smit JC. Indirect estimation of clinical chemistry reference intervals from total hospital patient data: application of a modified Bhattacharya procedure. J Clin Chem Clin Biochem 1985;23:829–39.
- Coşkun A, Sandberg S, Unsal I, Cavusoglu C, Serteser M, Kilercik M, et al. Personalized and population-based reference intervals for 48 common clinical chemistry and hematology measurands: a comparative study. Clin Chem 2023;69:1009-30.
- Jones GRD. Estimates of Within-Subject Biological Variation Derived from Pathology Databases: An Approach to Allow Assessment of the Effects of Age, Sex, Time between Sample Collections, and Analyte Concentration on Reference Change Values. Clin Chem 2019;65:579-88.
- Ichihara K, Ozarda Y, Barth JH, Klee G, Qiu L, Erasmus R, et al. A global multicentre study on reference values: 1. Assessment of methods for derivation and comparison of reference intervals. Clin Chim Acta 2017;467:70–82.
- Tettamanti M, Lucca U, Gandini F, Recchia A, Mosconi P, Apolone G et al. Prevalence, incidence and types of mild anemia in the elderly: the "Health and Anemia" population-based study. Haematologica 2010;95:1849-56.
- Wang C, Wang Y. Trends in prevalence and treatment rate of anemia in the U.S. population: cross-sectional study using data from NHANES 2005-2018. Hematology 2022;27:881-8.
- Kikuchi M, Inagaki T, Shinagawa N. Five-year survival of older people with anemia: variation with hemoglobin

- concentration. *J Am Geriatr Soc* 2001;49:1226-8.
21. Penninx BW, Pahor M, Cesari M, Corsi AM, Woodman RC, Bandinelli S et al. Anemia is associated with disability and decreased physical performance and muscle strength in the elderly. *J Am Geriatr Soc* 2004;52:719-24.
  22. Culleton BF, Manns BJ, Zhang J, Tonelli M, Klarenbach S, Hemmelgarn BR. Impact of anemia on hospitalization and mortality in older adults. *Blood* 2006;107:3841-6.
  23. Migone De Amicis M, Poggiali E, Motta I, Motta I, Minonzio F, Fabio G, et al. Anemia in elderly hospitalized patients: prevalence and clinical impact. *Intern Emerg Med* 2015;10:581-6.
  24. Riva E, Colombo R, Moreo G, Mandelli S, Franchi C, Pasina L, et al. REPOSI Investigators. Prognostic value of degree and types of anaemia on clinical outcomes for hospitalised older patients. *Arch Gerontol Geriatr* 2017;69:21-30.
  25. Zaninetti C, Klersy C, Scavariello C, Bastia R, Balduini CL, Invernizzi R. Prevalence of anemia in hospitalized internal medicine patients: Correlations with comorbidities and length of hospital stay. *Eur J Intern Med* 2018;51:11-7.
  26. Ye SD, Wang SJ, Wang GG, Li L, Huang ZW, Qin J, et al. Association between anemia and outcome in patients hospitalized for acute heart failure syndromes: findings from Beijing Acute Heart Failure Registry (Beijing AHF Registry). *Intern Emerg Med* 2021;16:183-92.
  27. Stauder R, Valent P, Theurl I. Anemia at older age: etiologies, clinical implications, and management. *Blood* 2018;131:505-14.
  28. Nilsson-Ehle H, Jagenburg R, Landahl S, Svanborg A. Blood haemoglobin declines in the elderly: implications for reference intervals from age 70 to 88. *Eur J Haematol* 2000;65:297-305.
  29. Carmel R. Anemia and aging: an overview of clinical, diagnostic and biological issues. *Blood Rev* 2001;15:9-18.
  30. Nilsson-Ehle H, Jagenburg R, Landahl S, Svanborg A, Westin J. Decline of blood haemoglobin in the aged: a longitudinal study of an urban Swedish population from age 70 to 81. *Br J Haematol* 1989;71:437-42.
  31. Hermann W, Risch L, Grebhardt C, Nydegger UE, Sakem B, Imperiali M, et al. Reference intervals for platelet counts in the elderly: results from the prospective SENIORLAB study. *J Clin Med* 2020;9:2856.
  32. Mahlkecht U, Kaiser S. Age-related changes in peripheral blood counts in humans. *Exp Ther Med* 2010;1:1019-25.
  33. Zierk J, Krebs A, Rauh M, Metzler M, Löscher A, Strasser E, et al. Blood counts in adult and elderly individuals: defining the norms over eight decades of life. *Br J Haematol* 2020;189:777-89.
  34. Kirkland JL, Tchkonja T, Pirtskhalava T, Han J, Karagiannides I. Adipogenesis and aging: does aging make fat go MAD? *Exp Gerontol* 2002;37:757-67.
  35. Boggs DR, Patrene KD. Hematopoiesis and aging III: Anemia and a blunted erythropoietic response to hemorrhage in aged mice. *Am J Hematol* 1985;19:327-38.
  36. Liang Y, Van Zant G, Szilvassy SJ. Effects of aging on the homing and engraftment of murine hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 2005;106:1479-87.
  37. Kim MJ, Kim MH, Kim SA, Chang JS. Age-related deterioration of hematopoietic stem cells. *Int J Stem Cells* 2008;1:55-63.
  38. Bagnara GP, Bonsi L, Strippoli P, Bonifazi F, Tonelli R, D'Addato S, et al. Hemopoiesis in healthy old people and centenarians: well-maintained responsiveness of CD34+ cells to hemopoietic growth factors and remodeling of cytokine network. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000;55:B61-66.
  39. Powers JS, Krantz SB, Collins JC, Meurer K, Failing A, Buchholz T, et al. Erythropoietin response to anemia as a function of age. *J Am Geriatr Soc* 1991;39:30-2.
  40. Ferrucci L, Guralnik JM, Bandinelli S, Semba RD, Lauretani F, Corsi A, et al. Unexplained anaemia in older persons is characterised by low erythropoietin and low levels of pro-inflammatory markers. *Br J Haematol* 2007;136:849-55.
  41. Hubbard RE, Sinead O'Mahony M, Woodhouse KW. Erythropoietin and anemia in aging and frailty. *J Am Geriatr Soc* 2008;56:2164-5.
  42. Maggio M, Snyder PJ, Ceda GP, Milaneschi Y, Luci M, Cattabiani C, et al. Is the haematopoietic effect of testosterone mediated by erythropoietin? The results of a clinical trial in older men. *Andrology* 2013;1:24-8.
  43. Artz AS, Xue QL, Wickrema A, Hesdorffer C, Ferrucci L, Langdon JM, et al. Unexplained anaemia in the elderly is characterised by features of low grade inflammation. *Br J Haematol* 2014;167:286-9.
  44. Jacob EA. Hematological differences in newborn and aging: a review study. *Hematol Transfus Int J* 2016;3:178-90.
  45. Fulgoni VL 3rd, Agarwal S, Kellogg MD, Lieberman HR. Establishing pediatric and adult RBC reference intervals with NHANES data using piecewise regression. *Am J Clin Pathol* 2019;151:128-42.