Valutazione del bilancio marziale nei pazienti nefropatici

M. Carta

Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, Ospedale "S. Bortolo", Vicenza

Riassunto

Il laboratorio svolge un ruolo fondamentale nel management dei pazienti con insufficienza renale in trattamento dialitico. Infatti l'introduzione della terapia con eritropoietina ha radicalmente modificato la prognosi e la qualità di vita di questi pazienti. Tuttavia la terapia con eritropoietina deve, nella maggior parte dei casi, essere supportata da una terapia marziale. Per evitare i rischi legati ad un eventuale sovraccarico marziale, è quindi necessario conoscere l'entità dei depositi di ferro e soprattutto la disponibilità di ferro a livello del compartimento eritroide. I parametri usati classicamente per la valutazione del metabolismo marziale (sideremia, ferritina, saturazione della transferrina) sono in questi pazienti poco efficaci perché risentono di numerose limitazioni sia dal punto di vista preanalitico che per la concomitante presenza di uno stato di infiammazione cronica. Negli ultimi anni sono stati quindi proposti nuovi parametri indirizzati più specificamente alla valutazione della disponibilità di ferro a livello del compartimento eritroide: la percentuale di eritrociti ipocromici e il contenuto di emoglobina dei reticolociti.

Summary

Assessment of iron stores and iron availability in patients with chronic kidney disease

There is abundant evidence that treatment with erythropoiesis-stimulating (ESAs) leads to improved quality of life in patients with renal anaemia. This treatment increases the need for iron as it stimulates the synthesis of new red cells. Adequate iron availability increases erythropoiesis and reduces ESAs requirements. The laboratory ought to assess iron availability and iron stores but this is very difficult in this patients. Serum ferritin is the standard test used to assess iron stores but ferritin acts as a positive acute-phase reactant and serum levels may be increased without any changes to body iron stores. The availability of iron is determined by percentage of transferrin saturated with iron but it is associated with high day to day variation. Furthermore the concentration of transferrin varies during acute and chronic inflammatory reactions. The availability of iron should be assessed by measuring the percentage of hypochromic red blood cells or by reticulocyte haemoglobin content.

L'anemia è una condizione estremamente comune nei pazienti con insufficienza renale in trattamento dialitico: le cause sono multifattoriali, anche se la causa principale è un deficit nella produzione di eritropoietina. Nei pazienti con malattia renale avanzata c'è però uno stato di attivazione cronica del sistema immunitario, dovuto al contatto con le membrane dialitiche, ai frequenti episodi infettivi o ad entrambi i fattori, e quindi questi pazienti presentano anche le caratteristiche alterazioni dell'omeostasi marziale tipiche dell'anemia da malattie croniche[1].

I pazienti in dialisi presentano un bilancio marziale negativo per il ridotto assorbimento intestinale (dieta incongrua e assorbimento non ottimale), per le perdite aumentate dall'apparato gastroenterico e per lo stillicidio cronico connesso alle metodiche extracorporee e ai prelievi.

A questo però si aggiunge una alterazione nel metabolismo del ferro: la già citata condizione di attivazione del sistema immunitario (dovuta al contatto con le membrane dialitiche e alle frequenti infezioni) comporta una produzione di citochine da parte di linfociti e monociti: le citochine in parte stimolano la produzione di epcidina, una proteina epatica che inibisce l'assorbimento di ferro a livello duodenale in parte stimolano la captazione di ferro da parte dei macrofagi, in parte inducono l'espressione di recettori per la transferrina nei monociti, aumentando così la captazione di ferro on queste cellule. Inoltre aumentano la degradazione degli eritrociti senescenti e il riutilizzo del ferro in essi

Corrispondenza a: Dott.ssa Mariarosa Carta, Laboratorio di Chimica clinica ed Ematologia, Ospedale "S. Bortolo", Vicenza.
Tel. 0444-752486, fax 0444-752501, e-mail: mariarosa.carta@ulssvicenza.it

contenuto.

Questi e altri meccanismi portano quindi ad una diminuzione del ferro circolante che viene sequestrato nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale e quindi ad una diminuita disponibilità di ferro per le cellule eritroidi.

Contemporaneamente le citochine e l'accumulo di tossine uremiche inibiscono la produzione di eritropoietina.

Quindi la limitata disponibilità di ferro e la diminuita attività biologica dell'eritropoietina portano allo sviluppo dell'anemia.

L'introduzione della terapia con eritropoietina (r-HuEPO) ha radicalmente modificato la qualità di vita e la prognosi di questi pazienti. Prima dell'avvento della terapia con r-HuEPO, l'ematocrito (Ht) dei pazienti in dialisi era intorno al 20-25%. Ora il target raccomandato dalle principali linee guida è 30-35%. Un Ht di questo tipo si associa infatti ad una migliore qualità di vita e ad una sopravvivenza più lunga, rispetto ad Ht più bassi[2].

Tuttavia un 10-15% di tutti i pazienti mostra una resistenza alla terapia con r-HuEPO[3] e benchè in qualche caso raro si ipotizzi la presenza di anticorpi rivolti contro l'eritropoietina, la causa principale di tale resistenza è il deficit di ferro.

Per questo motivo tutte le linee guida raccomandano una supplementazione di ferro accanto alla terapia con eritropoietina. Inizialmente il ferro veniva dato per os e solo occasionalmente per via endovenosa (ev), ma l'assorbimento di ferro in questi pazienti è limitato e il trattamento per os dava numerosi effetti collaterali. Si è passati quindi ad una terapia parenterale più aggressiva che garantisse un adeguato apporto di ferro al midollo. Oggi tuttavia si tende a riconsiderare il problema: infatti non è disponibile a tutt'oggi un follow up adeguato in termini di tempo per capire quali possano essere i danni legati all'eventuale sovraccarico marziale in questi pazienti.

Quindi il laboratorio gioca un ruolo molto importante nel monitoraggio dei pazienti con insufficienza renale cronica (IRC) sottoposti a dialisi, perché dovrebbe fornire ai nefrologi la possibilità di capire quanto ferro dare al paziente senza correre il rischio di sovraccarico marziale.

I parametri classici del metabolismo marziale non riescono tuttavia a fornirci la corretta interpretazione del complesso quadro di questi pazienti.

Classicamente il follow up dei pazienti in dialisi si basava sulla concentrazione di emoglobina (Hb), sulla saturazione della transferrina (TSAT) e sulla ferritina.

La ferritina è la proteina deputata al deposito del ferro, è prodotta virtualmente da tute le cellule, ma in particolare nei macrofagi di fegato, milza e midollo osseo. E' sintetizzata e secreta come apoferritina dalle cellule del sistema reticolo-endoteliale nel sangue, in dosi direttamente proporzionali al contenuto intracellulare di ferro. Un valore inferiore a 10-15 ng/mL viene generalmente considerato come indice di assenza di ferro nei depositi. Soggetti normali trattati con r-HuEPO mostrano un rapido decremento dei valori di ferritina che è invece molto più contenuto se oltre all' r-HuEPO viene somministrato anche ferro per via endovenosa[4]. Tuttavia i livelli di ferritina variano anche, indipendentemente dai livelli di ferro, anche in altre condizioni, come il deficit di vitamine, folati, malattie infiammatorie e flogosi, neoplasie. Inoltre un deficit di ferro può esistere anche in presenza di depositi di ferro adeguati ma non utilizzabili, come avviene negli stati infiammatori cronici e quindi anche nell'anemia renale, dove viene bloccato il rilascio di ferro dalle cellule del sistema reticolo endoteliale (RE). Quindi la ferritina non è in grado di fornire informazioni sulla quantità di ferro utilizzabile dagli eritroblasti: la cosiddetta deficienza funzionale di ferro può esistere anche con valori di ferritina elevati. Infatti 2/3 dei pazienti in dialisi risponde alla terapia con ferro e la loro ferritina media è intorno ai 100 ng/mL, non diversa da quella dei pazienti *non responders*[5]. Sono stati proposti quindi numerosi algoritmi che associano marker di flogosi (PCR, VES) alla ferritina, ma i risultati non sono stati incoraggianti. Si è allora cercato di decidere, in maniera piuttosto empirica, quale cut off di ferritina potesse aiutarci a distinguere i *responder* dai *non responder*: gli studi sono a questo proposito molto eterogenei: le linee guida principali suggeriscono comunque di considerare come cut off per la ferritina 100 ng/mL[6].

In tutto questo dobbiamo anche considerare il peso non indifferente della variabilità pre-analitica: si tratta infatti di monitoraggio di pazienti in trattamento con ferro per via endovenosa e la terapia con ferro può causare un falso incremento della ferritina anche a distanza di 3-6 settimane (a seconda della dose)[7]. Sembra quindi difficile poter stabilire che il dosaggio della ferritina possa aiutarci a distinguere in maniera efficace i *responder* dai *non responder* mentre invece potrebbe essere più utile valutare la ferritina per cercare di escludere il sovraccarico di ferro.

In questi pazienti può quindi essere più utile valutare più che i depositi di ferro, la disponibilità di ferro. Fino a pochi anni fa veniva quindi consigliato a questo scopo il monitoraggio della TSAT, cioè la percentuale di siti della transferrina occupati dal ferro rispetto a quelli potenzialmente disponibili se le molecole fossero tutte saturate. Tuttavia questo parametro viene calcolato partendo dalla concentrazione di ferro e dalla concentrazione di transferrina. Quindi il suo valore viene falsato dalle frequenti somministrazioni di ferro cui vanno incontro questi pazienti, dalle variabilità biologiche e analitiche della sideremia, oltre che dal fatto che la transferrina è una proteina negativa della fase acuta, ed è correlata allo stato nutrizionale, spesso deficitario in questi pazienti. Il ferro circolante veicolato dalla transferrina si ricambia ogni 2-3 h, per cui il calcolo della TSAT nell'arco della stessa giornata può variare di molto, con valori più alti al mattino[8].

Negli ultimi anni sono stati proposti nuovi marcatori che dovrebbero fornire indicazioni non sui depositi o sul ferro circolante, ma piuttosto sul ferro a disposizione del comparto eritroide.

Uno di questi è il dosaggio dei globuli rossi ipocromici (HYPO), che ha però il limite di essere fornito per il momento da un unico analizzatore. La somministrazione di r-HuEPO può provocare un aumento del numero di eritroblasti circolanti pari a 2-3 volte il numero normale. Se l'apporto di ferro a questi eritroblasti è ridotto (sia in termini di concentrazione che di velocità di trasporto) tali cellule si trovano a dover spartire una quota di ferro inferiore. Il midollo osseo rilascia gli eritrociti in circolo dopo 4 giorni, indipendentemente dal fatto che abbiano raggiunto un contenuto di emoglobina normale (30 g/dL). Quindi in tali condizioni si potrà avere un aumento del numero di eritrociti ipocromici, cioè con contenuto di emoglobina inferiore a 28 g/dL. Una quota di globuli rossi ipocromici < 2,5% viene definita normale, mentre valori > al 10% indicano una eritropoiesi ferro deficiente.

Nei pazienti con Insufficienza Renale Cronica (IRC) ma non in terapia con r-HuEPO, la percentuale di HYPO può essere normale a dispetto di un basso valore di TSAT, a causa della presenza di una anemia iporigenerativa. Quando si inizia la terapia con r-HuEPO e l'eritropoiesi viene stimolata, i globuli rossi ipocromici vengono rilasciati in circolo entro pochi giorni. Se viene aggiunta una terapia con ferro ev la percentuale di eritrociti ipocromici scende. Quindi questo parametro è una misura diretta della relazione tra disponibilità di ferro a livello midollare e domanda di ferro da parte del midollo[9].

Si discute ancora tuttavia sul cut off da utilizzare: le linee guida europee[10] indicano gli eritrociti ipocromici > 10% come il marker più accurato per la diagnosi di deficit di ferro nei pazienti con IRC. Tuttavia altri studi hanno invece suggerito cut off più bassi come più accurati: la miglior combinazione di sensibilità e specificità si avrebbe con un valore soglia del 6%[11].

Dobbiamo comunque considerare che l' emivita degli eritrociti (circa 120 gg) limita un po' il significato di questo test, dal momento che l'informazione ottenuta si riferisce ad un periodo piuttosto lungo.

Per questo motivo oggi numerose ricerche si sono rivolte allo studio dei parametri reticolocitari che hanno il vantaggio di fornirci indicazioni in tempo praticamente reale dal momento che l' emivita reticolocitaria è di 1-2 gg. Tuttavia nelle prime fasi dopo la somministrazione di r-HuEPO, un aumento del numero dei reticolociti assoluti riflette il rilascio dal midollo osseo di forme immature più che una vera e propria espansione dell'eritropoiesi. I moderni contaglobuli però sono in grado di fornirci altri parametri reticolocitari come il volume dei reticolociti, il contenuto di emoglobina e la concentrazione. Tra i vari parametri è stato particolarmente studiato a questo proposito il contenuto di emoglobina dei reticolociti (CHr). Questo parametro è un indicatore diretto della disponibilità di ferro a livello del reticolocita, la prima forma circolante di eritrocita. Nei pazienti trattati con r-HuEPO una misura diretta della disponibilità di ferro ha un grande vantaggio rispetto a misure di tipo indiretto come la ferritina o la TSAT. Poiché i reticolociti rimangono in circolo solo 24 h, CHr è un marcatore in tempo reale dello stato del ferro, fornendoci informazioni immediate circa la sufficienza del ferro: un basso CHr indica una eritropoiesi sideropenica. Alcuni studi preliminari su CHr hanno mostrato una buona sensibilità e specificità : Fishbane ha trovato che un CHr inferiore a 26 pg ha una sensibilità del 100% e specificità dell' 80% nel riconoscere l'eritropoiesi ferro deficiente[12]. Somministrando ferro-destrano, la maggior parte dei pazienti risponde con un aumento del CHr >26 pg entro le 48 h. Risultati analoghi per lo studio di Cullen[13]. Anche in questo caso rimane aperto il problema del cut off: da 26 a 29 pg a seconda degli studi. Un importante problema che comunque limita la diffusione di questo test è che fino a poco tempo fa era disponibile su un unico strumento (ADVIA 120 Bayer Diagnostics, Tarrytown NY). Oggi però anche un altro contaglobuli (Sysmex XE 2100 Kobe, Japan) propone un parametro che sembra essere sovrapponibile: si tratta di RET-Y, un parametro correlato alle dimensioni e al contenuto di emoglobina dei reticolociti[14]. RET –Y ha dimostrato una buona correlazione con CHr in alcuni studi[15] e anche in una nostra casistica su circa 90 pazienti in dialisi; recentemente il parametro viene espresso nei contaglobuli come RET-He, in pg, grazie all'applicazione di una idonea formula di regressione.

Molte speranze venivano riposte anche nel dosaggio del recettore solubile della transferrina: la transferrina (TRf) per liberare il ferro all'interno delle cellule si lega infatti ad uno specifico recettore che si può trovare in tutte le cellule tranne nei globuli rossi maturi, ma si trova soprattutto nelle cellule dell'eritrone, nella placenta e nel fegato. La porzione extracellulare del recettore della transferrina può andare incontro a proteolisi ed essere liberata in circolo in forma solubile formando appunto il recettore solubile della transferrina (sTFR). Il quantitativo di recettore rilasciato in circolo e quello legato alla superficie cellulare sono influenzati direttamente dal contenuto di ferro presente all'interno della cellula: la deficienza di ferro porta ad un aumento del recettore per la TRf, mentre un effetto opposto si ha in caso di sovraccarico di ferro.

Un aumento del recettore solubile della transferrina può però riflettere sia un aumento dell'eritropoiesi che una condizione di deficit di ferro.

Il recettore solubile è un marker di eritropoiesi quando i depositi di ferro sono adeguati e il ferro è disponibile, diventa un marker dello stato del ferro quando invece c'è una situazione di deficit di ferro (con o senza ferro nei depositi). Quindi la situazione è complicata nel momento in cui in un paziente coesistono sia modificazioni dell'attività eritropoietica che del metaboli-

smo del ferro. L'interpretazione quindi del sTfR può essere difficile nei pazienti trattati con r-HuEpo dove la risposta eritropoietica è spesso associata ad un deficit funzionale di ferro: se il recettore fosse principalmente un marker di deficit di ferro dovrebbe aumentare nei *non responder*, cioè in coloro che avendo una carenza di ferro non possono rispondere in maniera adeguata alla terapia con r-HuEPO; invece è vero il contrario perché il recettore è prevalentemente un marker di aumentata eritropoiesi e quindi può essere di aiuto nel decidere se instaurare o meno una terapia con ferro, ma perde la sua specificità nel follow up dei pazienti già in terapia con eritropoietina perché l'aumentata eritropoiesi di per sé stessa provoca un aumento della concentrazione del recettore solubile della transferrina[16].

Bibliografia

1. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. N Engl J Med 2005; 352:1011-23.
2. Brancaccio D, Canavese S, Carozzi S, Cianaciaruso B, Panzetta G, Piccoli A. Linee guida per il trattamento dell'anemia nell'insufficienza renale. Giornale Italiano di Nefrologia 1999; 16:41-53.
3. Sunder-Plassmann G, Horl WH. Erythropoietin and iron. Clinical Nephrology 1997; 47:141-57.
4. Major A, Mathez-Loic F, Rohling R, Gautschi K, Brugnara C. The effect of intravenous iron on the reticulocyte response to recombinant human erythropoietin. Br J Haematol 1997; 98:292-4.
5. Taylor JE, Peat N, Porter C, Morgan AG. Regular low dose intravenous iron therapy improves response to erythropoietin in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 1996; 11:1079-83.
6. NKF-DOQI. Clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure. Am J Kidney Dis 1997; S30:34-5.
7. Schaefer RM, Schaefer L. Iron monitoring and supplementation: how do we achieve the best result? Nephrol Dial Transplant 1998; 13:9-12.
8. Società Italiana di Nefrologia. Linee guida per il trattamento dell'anemia nell'insufficienza renale cronica. Giornale Italiano di Nefrologia 2003; S24:61-82.
9. Schaefer RM, Schaefer L. The hypocromic red cell: a new parameter for the monitoring of iron supplememntation during r-HuEpo therapy. J Perinat Med 1995; 23:83-8.
10. Revised European Best Practice Guidelines for the Management of Anemia in Patients with Chronic Renal Failure. Nephrol Dial Transpl 2004; 19 S2: ii6-ii15.
11. Tessitore N, Solero GP, Lippi G, Bassi A, Faccini GB, Bedogna V, et al. The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on manteinance erythropoietin. Nephrol Dial Transpl 2001; 16:1416-23.
12. Fissane S, Galgano C, Langley RC, Canfield W, Maesaka JK. Reticulocyte hemoglobin content in the evaluation of iron status of hemodialysis patients. Kidney Int 1997; 52:217-22.
13. Cullen P, Soffker J, Hopfl M, Bremer C, Schlaghecken R, Mehrens T, et al. Nephrol Dial Transpl, 1999; 14:659-65.
14. Buttarello M, Temporin V, Ceravolo R, Farina G, Bulian P. The new reticulocyte parameter (RET-Y) of the Sysmex XE 2100. Am J Clin Pathol 2004; 121:489-95.
15. Thomas L, Franck S, Messinger M, Linssen J, Thomè M, Thomas C. Reticulocyte hemoglobin measurement – comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. Clin Chem Lab Med 2005; 43:1193-202.
16. Beguin Y. Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. Clinica Chimica Acta 2003; 329:9-22.