

Le proteine del metabolismo del ferro

M. Carta

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

Il ferro rappresenta un paradosso per le cellule viventi, dal momento che è essenziale per moltissimi processi metabolici, ma possiede anche effetti potenzialmente deleteri. Quindi l'organismo è impegnato da un lato a mantenere la concentrazione di ferro libero ai livelli più bassi possibili, ma contemporaneamente a garantire quel ferro necessario alla sintesi delle emoproteine e delle altre molecole contenenti ferro. Questo è possibile grazie alla presenza di meccanismi sofisticati che regolano l'omeostasi del ferro a diversi livelli (1).

Tre sono le proteine fondamentali che agiscono in sequenza per rendere il ferro disponibile per il metabolismo cellulare: la transferrina (Tf), il recettore della transferrina (TfR) e la ferritina.

Il metabolismo del ferro

Il ferro assorbito o rilasciato dai macrofagi, viene trasportato alle sedi di utilizzo dalla *transferrina*. La sintesi della transferrina è essenzialmente epatica ed è modulata principalmente dallo stato del ferro, ma anche dagli ormoni steroidei e dalle citochine infiammatorie. La proteina possiede due siti di legame per lo ione Fe^{3+} . Per liberare il ferro all'interno delle cellule la transferrina diferrica si lega ad uno specifico recettore. Il *recettore della transferrina* è costituito da due subunità identiche legate da un ponte disolfuro. La porzione extracellulare contiene i siti di legame per la transferrina: la transferrina si lega al recettore, il complesso va incontro ad endocitosi e migra all'interno del citoplasma cellulare dove l'acidità all'interno dell'endosoma provoca il distacco del ferro dalla transferrina. Il complesso apotransferrina/recettore attraverso una estensione tubulare dell'endosoma ritorna sulla superficie cellulare, dove il pH neutro favorisce il distacco della apotransferrina che ritorna quindi libera in circolo; il ferro

invece probabilmente complessato con un ligando non ancora identificato, viene trasportato ai siti di utilizzo cellulare o di deposito. Il recettore si può trovare su tutte le cellule, tranne i globuli rossi maturi, ma è abbondante soprattutto nelle cellule in attiva proliferazione, dove il ferro è un cofattore necessario per la sintesi del DNA. La porzione extracellulare del recettore della transferrina può andare incontro a proteolisi ed essere liberata in circolo in forma solubile, prendendo così il nome di *recettore solubile della transferrina (sTfR)*. Il quantitativo di recettore rilasciato in circolo è proporzionale al recettore presente sulla membrana cellulare ed è influenzato direttamente dal contenuto di ferro presente all'interno della cellula: una carenza di ferro porta ad un aumento del recettore cellulare e quindi di quello solubile, mentre l'effetto opposto si ha in caso di sovraccarico di ferro. Questo avviene grazie ad un complicato sistema di regolazione genica che coinvolge alcune proteine citoplasmatiche "iron response protein" (IRP) in grado di legarsi ad alcune specifiche sequenze (ORE) presenti nell'RNAm del recettore: queste proteine, tramite modificazioni conformazionali legate alla concentrazione di ferro, possono regolare la stabilità dell'RNAm. Quindi se il ferro immagazzinato nelle cellule è sufficiente per mantenere un adeguato metabolismo, l'importazione del complesso Fe/Trf sarà ridotta dall'aumento della degradazione dell'RNAm per il recettore della transferrina e viceversa.

Le proteine IRP sono anche al centro della regolazione del gene che codifica per la *ferritina*. La ferritina ha la funzione di sequestrare e immagazzinare il ferro. È una molecola sferica formata da 24 catene polipeptidiche che racchiudono una cavità entro la quale si possono depositare fino a 4000 atomi di ferro. La sintesi delle subunità della ferritina è controllata a livello trascrizionale dalle proteine IRP che si legano ad elementi ferro-responsivi (IRE) si-

tuati nell'RNAm della ferritina: quando il ferro intracellulare è scarso la traduzione dell'RNAm è soppressa, quando i livelli del ferro aumentano IRP1 diventa inattiva e IRP2 viene degradata, consentendo così una efficace trascrizione delle due subunità della ferritina. Le proteine IRP sono quindi coinvolte sia nella regolazione della sintesi della ferritina, che del recettore solubile della transferrina, ma anche della proteina DMT-1 coinvolta nell'assorbimento del ferro, e quindi il sistema IRP/IRE permette un controllo coordinato tra loro delle principali proteine coinvolte nel mantenimento dell'omeostasi del ferro. Tali proteine sono influenzate non solo dal ferro, ma anche da nitrossido, ormoni tiroidei, progesterone e citochine infiammatorie (2).

Rilevanza clinica della proteine del metabolismo del ferro

Transferrina

La sensibilità della sintesi epatica della transferrina alla concentrazione di ferro, ci permette di capire come la Tf sia inversamente proporzionale al quantitativo di ferro dell'organismo. Di conseguenza una modificazione dei depositi di ferro porterà anche ad una modificazione del grado di saturazione della transferrina: nel deficit di ferro avremo un incremento della concentrazione di Tf e quindi una diminuzione significativa della saturazione della transferrina e viceversa. Per questi motivi la determinazione della concentrazione della transferrina e della saturazione della transferrina (Tsat) hanno sempre fatto parte dei pannelli diagnostici dell'anemia sideropenica. Tuttavia la sintesi della transferrina è ridotta in corso di flogosi, durante la terapia estro-progestinica, in gravidanza, ed è correlata allo stato nutrizionale. Inoltre il dosaggio della saturazione della transferrina, molto usato a scopi clinici, è nella maggior parte dei laboratori, calcolato sulla base di sideremia e concentrazione della transferrina, e risente inevitabilmente della variabilità biologica e analitica legate al dosaggio della sideremia (3).

Quindi la saturazione della transferrina può modificarsi notevolmente in un breve arco di tempo (dal 15 al 70%) (4).

Per questi motivi il ruolo diagnostico della transferrina e della saturazione della transferrina rimane limitato alla diagnosi di anemia sideropenica non complicata.

Tradizionalmente la saturazione della transferrina ha sempre avuto un ruolo rilevante nella diagnosi di sideropenia nei pazienti con insufficienza renale. Le linee-guida della Società Italiana di Nefrologia e quelle della National Kidney Foundation ci indicano chiaramente come il follow up dei pazienti in dialisi venga fatto sulla base di emoglobina, Tsat e ferritina. Tuttavia recentemente diverse segnalazioni indicano come questo approccio possa portare a sovrastimare

la necessità dell'apporto di ferro. In questi ultimi anni sono stati così sperimentati altri marcatori (soprattutto i globuli rossi ipocromici) per cercare di riconoscere con maggiore specificità i pazienti che realmente possano beneficiare di terapia marziale, anche alla luce delle sempre maggiori conoscenze circa gli effetti dannosi di un sovraccarico di ferro (5).

Un campo invece dove il ruolo della saturazione della transferrina è ancora ben definito e riconosciuto è nello screening del sovraccarico di ferro. Un punto cardine dei meccanismi di mantenimento dell'omeostasi del ferro riguarda l'assorbimento di ferro nella dieta. In caso di emocromatosi ereditaria (HH) l'assorbimento intestinale è aumentato. L'emocromatosi è dovuta ad una mutazione a carico di un gene chiamato HFE. La proteina HFE agisce sul metabolismo del ferro a più livelli: si lega al recettore della transferrina modificandone l'affinità per la transferrina diferrica e agisce anche nella programmazione della capacità di assorbire ferro da parte degli enterociti (6). La proteina mutata perderebbe le sue capacità regolatorie sul metabolismo ferrico. Gli screening per l'emocromatosi ereditaria si basano sulla saturazione della transferrina: una Tsat del 55% nei maschi (anche se i cut off proposti sono in genere del 60%) è in grado di riconoscere una omozigosi C282Y (la mutazione più frequente) nel 90% dei casi. La determinazione della ferritina è invece meno specifica e anche meno sensibile, perché nelle prime fasi della malattia può essere entro i limiti di norma (7).

Ferritina e recettore solubile della transferrina

La ferritina sierica, nonostante sia quantitativamente irrilevante rispetto alla ferritina intracellulare (meno dell'1%), è clinicamente importante. Rappresenta l'indice più accurato per la valutazione dei depositi corporei di ferro, dal momento che la concentrazione di ferritina nel siero è strettamente correlata alla quantità di ferritina intracellulare che a sua volta è prodotta in funzione di ferro intracellulare. La ferritina è quindi un indice indispensabile per la valutazione degli stati di deplezione ferrica.

Tuttavia l'utilità della ferritina è limitata in due condizioni: in tutti i casi in cui i depositi di ferro sono depleti in maniera fisiologica (bambini, donne in gravidanza) e negli stati infiammatori, dal momento che la ferritina è una proteina della fase acuta. In questi casi è stato proposto il dosaggio del recettore solubile della transferrina (sTfR). Infatti flebotomie ripetute su volontari sani determinano prima la caduta dei livelli di ferritina e poi, quando i depositi di ferro sono esauriti, si osserva l'incremento della concentrazione del recettore solubile della transferrina. Quindi gli autori propongono per una valutazione più completa del metabolismo ferrico sia la determinazione della ferritina come marker dei depositi di ferro sia il dosaggio del recettore solubile come indice del fabbisogno tissutale di ferro (8)

Nel corso degli anni '90 numerosi studi hanno testato il valore clinico del recettore della transferrina in diverse situazioni: nella diagnosi di anemia sideropenica nei bambini e nelle donne in gravidanza, nel follow up degli emodializzati e soprattutto nelle anemie da malattie croniche. Tale anemia è caratterizzata da un ridotto rilascio di ferro dalle cellule del sistema reticolo-endoteliale e da un ridotto assorbimento intestinale dell'elemento. Le alterazioni del metabolismo del ferro sono indotte dalle citochine e secondo recenti osservazioni anche da un nuovo peptide: l'epcidina, (9). La diagnosi differenziale tra IDA (iron deficiency anemia) e ACD (anemia chronic disease) può essere fatta agevolmente, ma le cose si complicano quando l'ACD si accompagna con un deficit di ferro. Nel corso degli anni sono stati proposti vari tentativi di correggere il valore della ferritina sulla base di indici di flogosi come VES o PCR, ma questi tentativi non hanno avuto molto seguito. Il recettore solubile della transferrina viene quindi dosato in numerose condizioni di infiammazione e infezione con risultati però spesso tra loro discordanti, soprattutto tra i pazienti con artrite reumatoide (10).

Questo può secondo alcuni autori essere spiegato ricordando che il recettore solubile della transferrina è sì un marker di deficit tissutale di ferro, ma anche di eritropoiesi.

Quindi l'interpretazione clinica del recettore solubile della transferrina in un paziente in cui ci siano contemporaneamente anche modificazioni dell'attività eritropoietica è più complicata, come nel caso dell'anemia da malattie croniche in cui accanto all'alterato metabolismo del ferro c'è anche una inibizione dell'eritropoiesi dovuta a citochine e ad altri fattori (11). Quindi in ultima analisi la relazione tra stato del ferro e livelli di sTfR nei pazienti con infiammazioni dipenderà dalla gravità dello stato infiammatorio coesistente e soprattutto dal grado di inibizione dell'eritropoiesi.

Per questi motivi le ricerche attuali stanno prendendo in considerazione l'utilizzo di nuovi marker correlati alla produzione di globuli rossi ipocromici (HYPO) e alla misura della emoglobinnizzazione dei reticolociti (CHr). Questi parametri sembrano in grado di rispecchiare la quantità di ferro circolante incorporata nel compartimento eritrocitario, e riflettono recenti cambiamenti nell'eritropoiesi (12). Gli AA propongono quindi di inquadrare con la combinazione di CHr, HYPO e sTfR-F index i vari stadi dei difetti funzionale di ferro. Al momento questi nuovi parametri sono disponibili solo su un unico strumento e questo limita la possibilità di studiare più diffusamente il significato clinico di questi marcatori che sembrano co-

munque essere promettenti non solo nella diagnosi della deficienza marziale nei pazienti con ACD ma anche in altre situazioni difficilmente valutabili con i marker ematologici fino ad ora discussi, come nella diagnosi di anemia sideropenica nei bambini, nelle donne in gravidanza e nell'identificazione dell'abuso di eritropoietina nel doping.

Allo stesso modo la mancanza di standardizzazione del dosaggio del recettore solubile della transferrina, l'utilizzo di unità di misura diverse, la mancanza di range di riferimento universali, abbinato in molti studi alla scelta di differenti criteri diagnostici per la diagnosi di anemia sideropenica, spesso rende difficile il confronto tra studi diversi e può almeno in parte spiegare i risultati spesso contrastanti. Quindi il ruolo del recettore solubile della transferrina nella pratica clinica, in particolare nel monitoraggio dell'eritropoiesi in particolari situazioni (post-trapianto di Midollo Osseo, post-chemioterapia, monitoraggio trattamento anemia emolitica) e nella diagnosi di deficienza marziale nelle anemie da malattie croniche, nei bambini e nelle donne in gravidanza, rimane a tutt'oggi ancora da definire.

Bibliografia

1. Ponka P. Cellular iron metabolism. *Kidney Int* 1999; 55: 2-11.
2. Testa U. *Proteins of iron metabolism*. CRC press; 2002.
3. Borel MJ, Smith SM, Derr J, Beard JL. Day to day variation in iron status indices in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 729-35.
4. Cavill I. Disorders of iron metabolism: diagnostic methods. *Clin Haematol* 1982; 259: 273-7.
5. Sullivan JL. Iron therapy and cardiovascular disease. *Kidney Int* 1999; 55: 135-7
6. Ajioka RS, Kushner JP. Hereditary hemochromatosis. *Semin Hematol* 2002; 39: 235-41.
7. Koziol JA, Ngoc JH, Felitti VJ, Beutler E. Reference centiles for serum ferritin and percentage of transferrin saturation, with application to mutations of the HFE gene. *Clin Chem* 2001; 47: 1804-10.
8. Skikne BS, Flowers CH, Cook JD. Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood* 1990; 75: 1870-6.
9. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. *Blood* 2003; 101: 2461-3.
10. Beguin Y. Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 9-22.
11. Spivak JL. Iron and the anemia of chronic disease. *Oncology* 2002; 16: 25-33.
12. Thomas C, Thomas L. Biochemical marker and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem* 2002; 48: 1066-76.