

# Il laboratorio nel controllo del metabolismo del ferro

Dott. Luca Germagnoli



# FERRO: RUOLO BIOLOGICO

Il ferro è **essenziale** per:

- sintesi dell'Eme, gruppo prostetico di:
  - emoglobina e mioglobina → trasporto e accumulo di O<sub>2</sub>;
  - citocromi e perossidasi → catalisi delle reazioni REDOX
- cluster ferro-zolfo (es. aconitasi) → respirazione cellulare
- sintesi e riparazione del DNA

Il ferro è **tossico** perché:

- catalizza la reazione di Fenton e la produzione del radicale idrossile

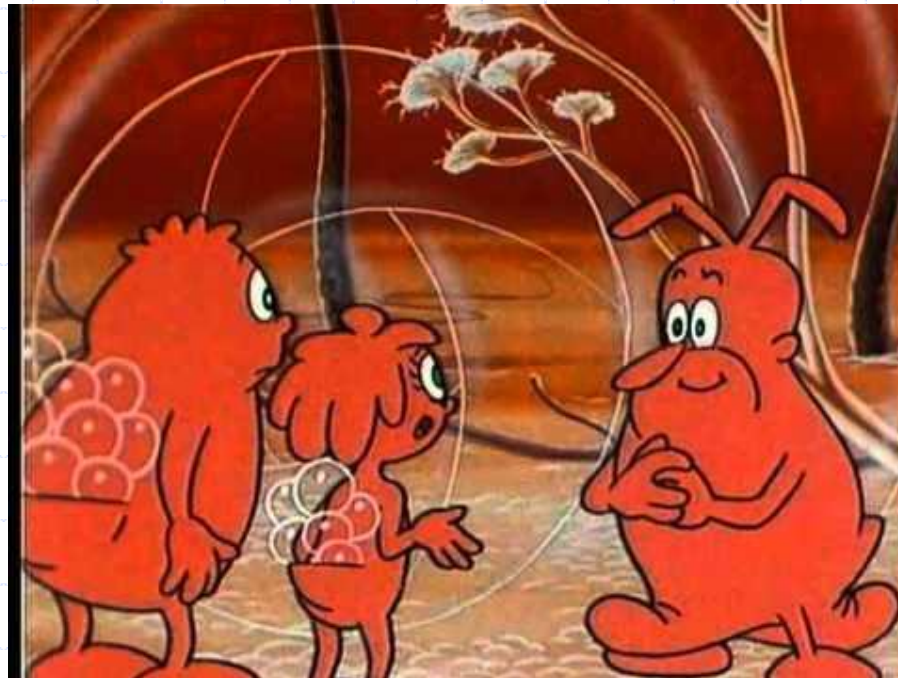


# FERRO

## CICLO BIOLOGICO

4 tipi cellulari influenzano il contenuto e la distribuzione del ferro:

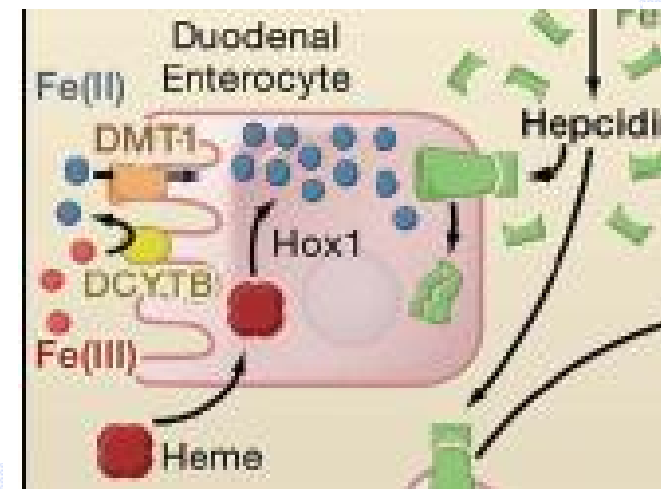
- gli enterociti duodenali, determinano l'assorbimento del ferro alimentare
- i precursori eritroidi, in gran parte l'utilizzo del ferro
- i macrofagi (sistema reticoloendoteliale), lo storage e il ricircolo
- gli epatociti, storage e controllo "endocrino" del metabolismo



# CICLO BIOLOGICO DEL FERRO

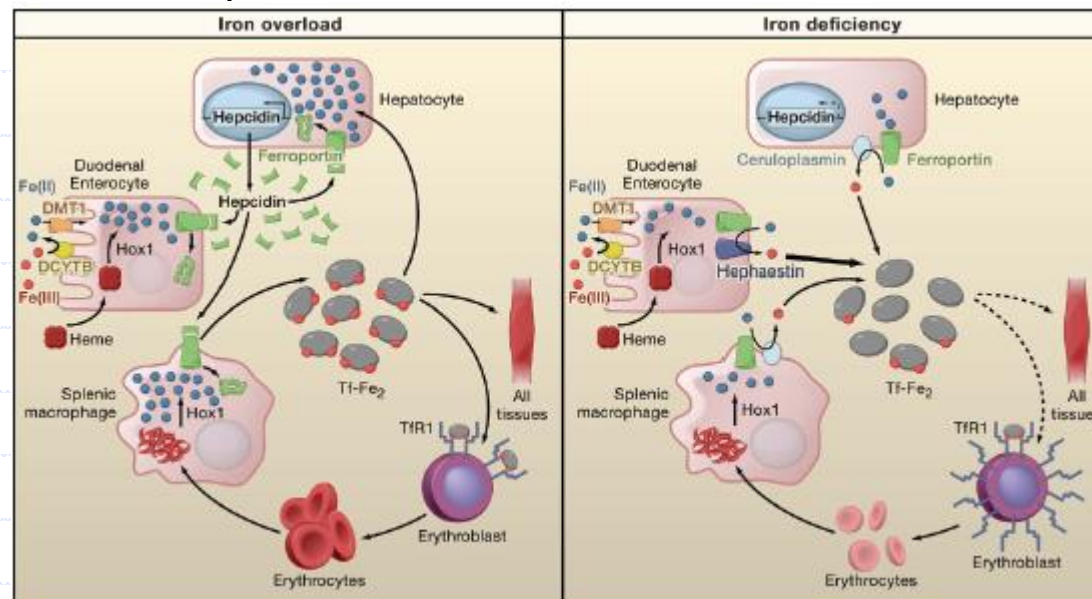
Conservare l'omeostasi del Fe richiede l'assorbimento di 1-2 mg/giorno per equilibrare le perdite dalle cellule desquamate

- escrezione del ferro non è regolata, non esistono meccanismi codificati di eliminazione
- assorbimento Fe intestinale è altamente regolato
- Fe viene assorbito dagli enterociti duodenali
- Fe necessita di una reazione di riduzione a  $\text{Fe}^{2+}$  per poter essere assorbito (membrana cellulare apicale) da una ferro-riduttasi (DcytB e forse da altre riduttasi)
- trasportato all'interno della cellula attraverso il trasportatore 1 di metallo divalente (DMT1- divalent metal transporter 1)
- EME entra nelle cellule con meccanismo differente, ancora sconosciuto (forse dall'eme-ossidasi Hox1)
- ❖ La maggior parte del Fe è depositato in forma di ferritina e proviene dalla senescenza RBC
- ❖ Esportazione verso il plasma mediante il trasportatore basolaterale ferroportina

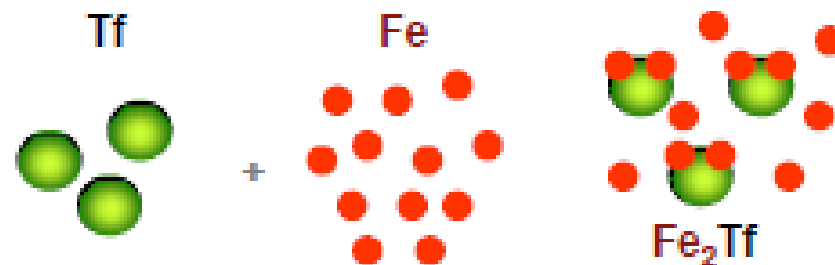


# CICLO BIOLOGICO DEL FERRO

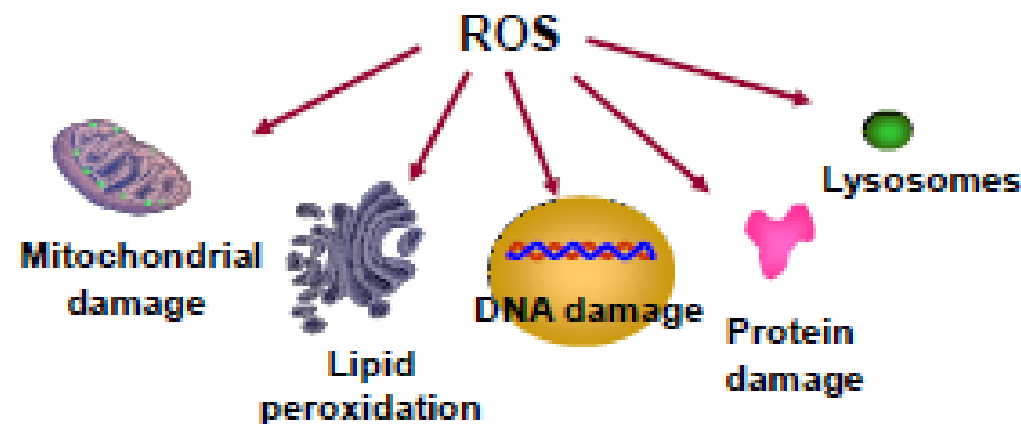
- Ⓐ Fe rilasciato dagli enterociti e macrofiagi lega i siti liberi della proteina vettrice transferrina
  - ♣ la capacità di legame normalmente eccede la concentrazione di Fe circolante; la normale saturazione della Trf è pari a circa il 30%
  - ♣ Fe legato alla Trf rappresenta l'unica fonte fisiologica disponibile per le cellule
  - ♣ le cellule regolano finemente l'ingresso del Fe modulando l'espressione di superficie del recettore 1 per la transferrina (TfR1)
- ♣ Se la Trf viene saturata, il Fe addizionale presente in circolo è legato a molecole a basso PM (es, citrato) a formare il «ferro non legato alla Trf» (NTBI), facilmente prelevato da alcuni tipi cellulari (cadiomiociti e epatociti)
  - ♣ NTBI è largamente responsabile del danno cellulare legato a fenomeni di ossidazione
  - ♣ frazione labile del Fe plasmatico



# Transferrin and non-transferrin-bound iron (NTBI)



NTBI appears in plasma when transferrin is almost completely saturated (saturation > 60–70%); it is taken up by cells\* and is highly toxic





# CICLO BIOLOGICO DEL FERRO

Fleming RE et al. NEJM 2012;366:348

- ♣ gli epatociti sono uno dei principali siti di Fe deposito in forma di ferritina
- ♣ NTBI è probabilmente un maggiore contribuente al loading epatico in condizioni di elevata saturazione Trf
- ♣ l'epatocita ha un ruolo centrale nell'omeostasi **endocrina** del ferro in quanto sede della sintesi dell'**ormone epcidina**
- ♣ hep opera quale ormone „**ipoferremico**“, mediante la down-regolazione del trasportatore ferroportina e del conseguente rilascio del Fe in circolo
  - ♣ Fe bloccato nell'enterocita iriduce l'assorbimento dietetico
  - ♣ Fe bloccato nei macrofagi riduce il turnover del Fe
- ♣ sintesi **finemente regolata** mediante segnali conseguenti a fenomeni infiammatori e provenienti da bilancio del ferro, dall'attività eritropoietica e dalla tensione di ossigeno

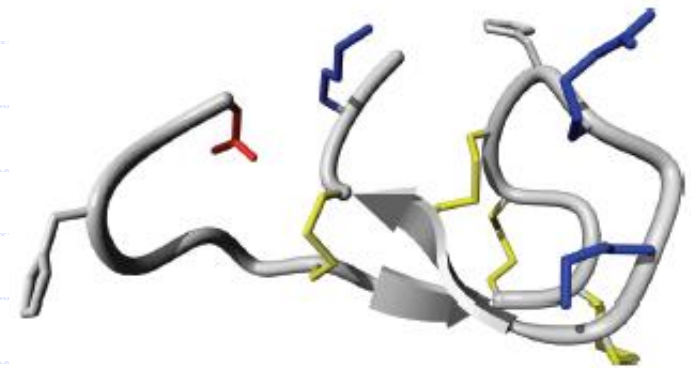


Fig. 1. Molecular structure of hepcidin.

A model of the structure of hepcidin-25 according to Jordan et al. (3) is shown, with the  $\beta$ -sheets (grey arrows), the peptide backbone (grey), the disulfide bonds (1–8, 2–4, 3–6, and 5–7) (yellow), positively charged arginine and lysine residues (blue), and the negatively charged aspartic acid residue (red).

# CICLO BIOLOGICO DEL FERRO

## Regolazione sintesi epcidina

- ♣ **infiammazione:** hep è proteina di fase acuta e media la ipoferremia associata ad infezione, effetto mediato largamente da IL-6 e da altre citochine infiammatorie
- ♣ **bilancio Fe:** hep è regolata
  - ♣ dai depositi epatici → specifici recettori di membrana con intervento di emojuvelina, attivazione della trascrizione di hep
  - ♣ livelli Fe circolanti → interazione tra Trf legata e 2 recettori epatocellulari (TfR1 e TfR2) che a loro volta interagiscono con la proteina HFE, attivazione trascrizione di hep
- ♣ **eritropoiesi:** riduce l'espressione di hep (es, salasso, emolisi, EPO terapia). Meccanismo non completamente noto
- ♣ **tensione di ossigeno:** in condizione di ipossia si ha riduzione dell'espressione di hep

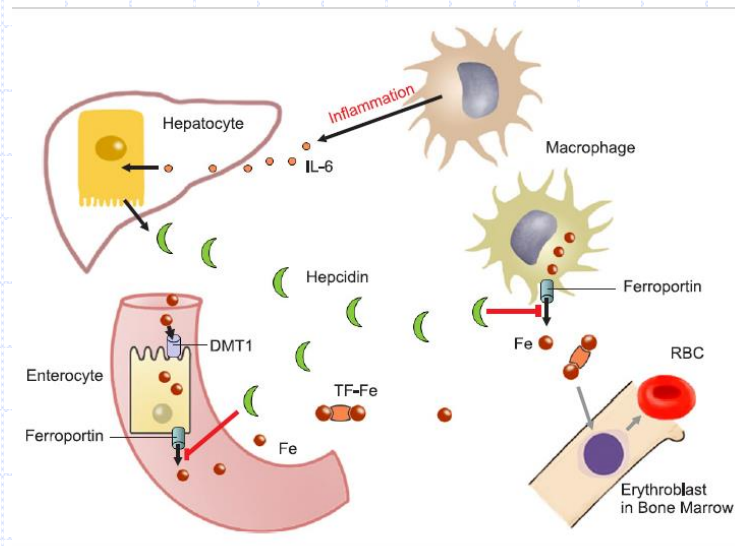
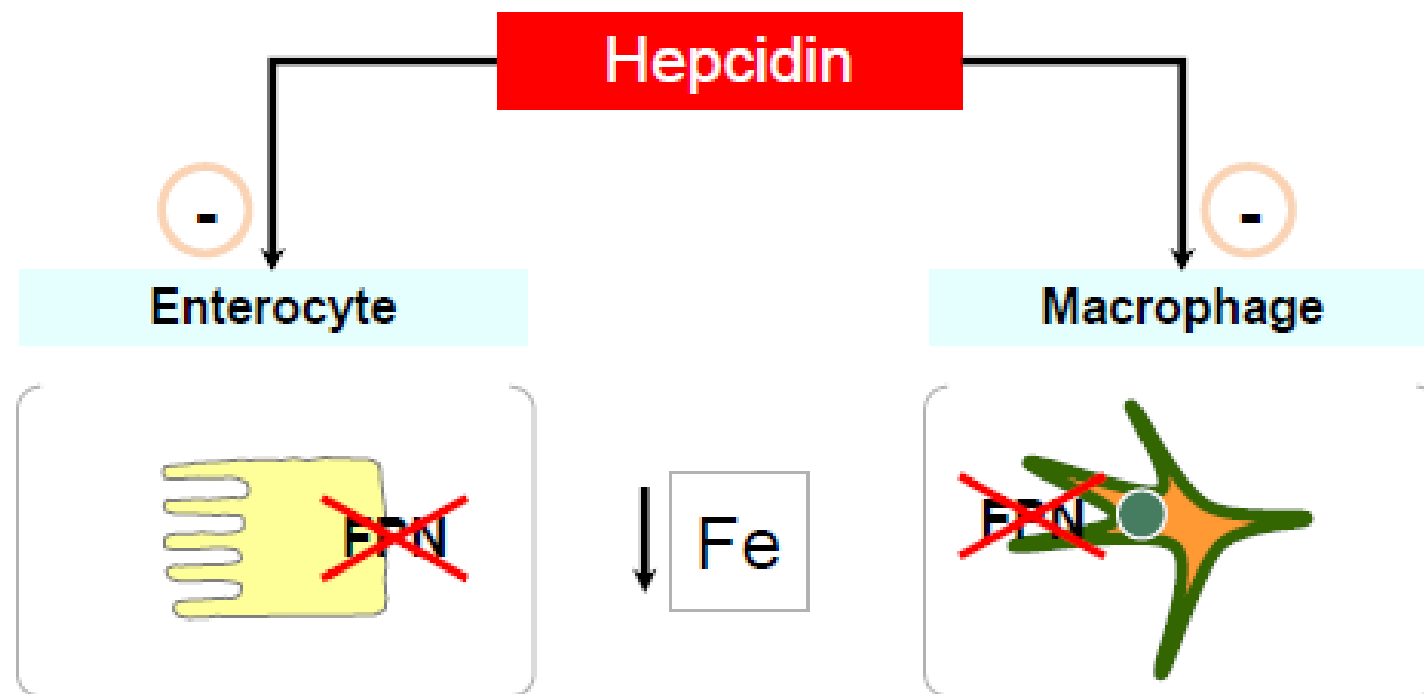


Fig. 1. Inflammation increases interleukin-6 production. The consequent increase in hepcidin blocks macrophage iron release as well as the intestinal absorption of iron, resulting in hypoferrremia. Abbreviations: TF, transferrin; Fe, iron; DMT1, divalent metal transporter 1.

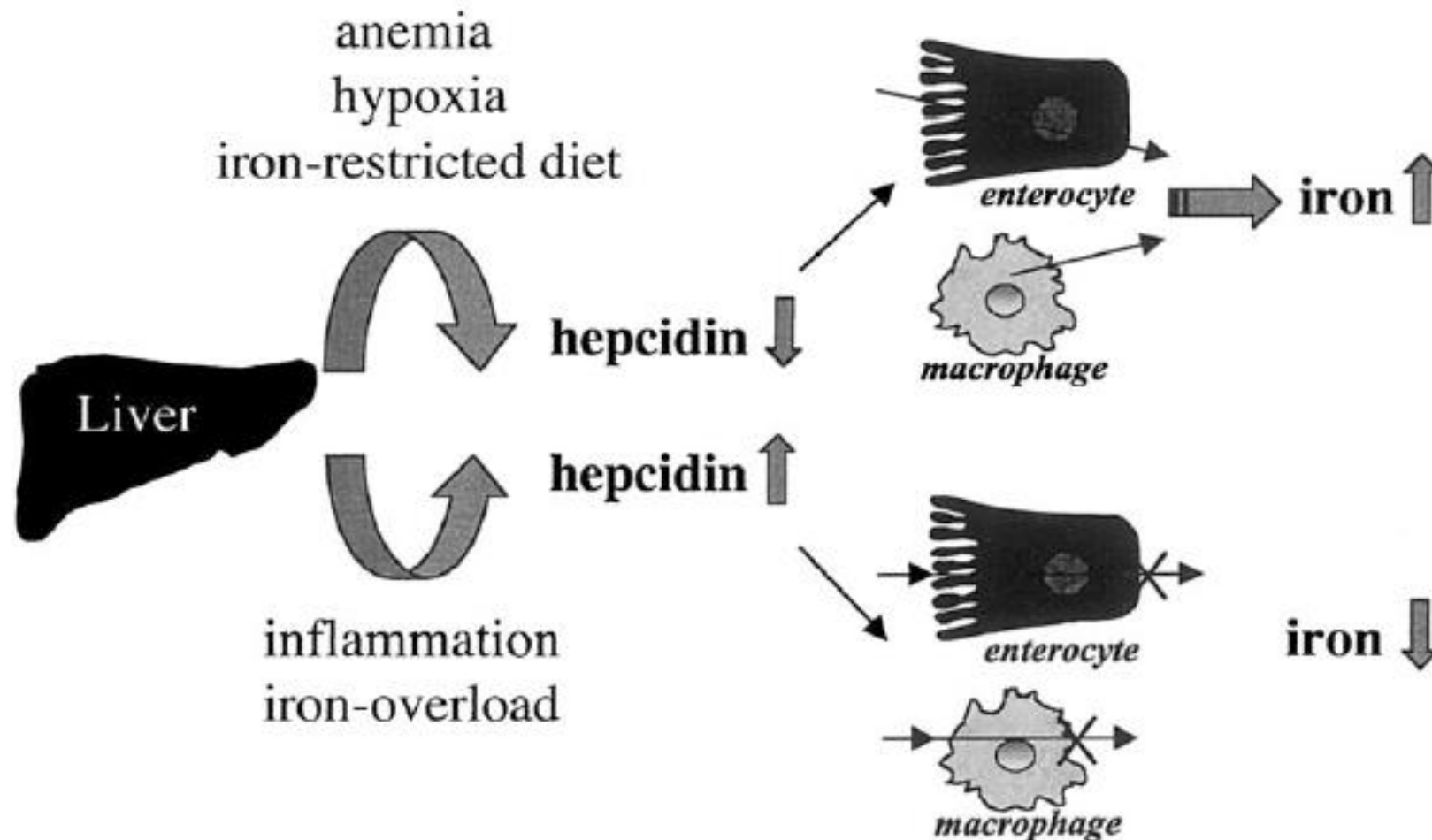


# Hepcidin is the master regulator of systemic iron homeostasis

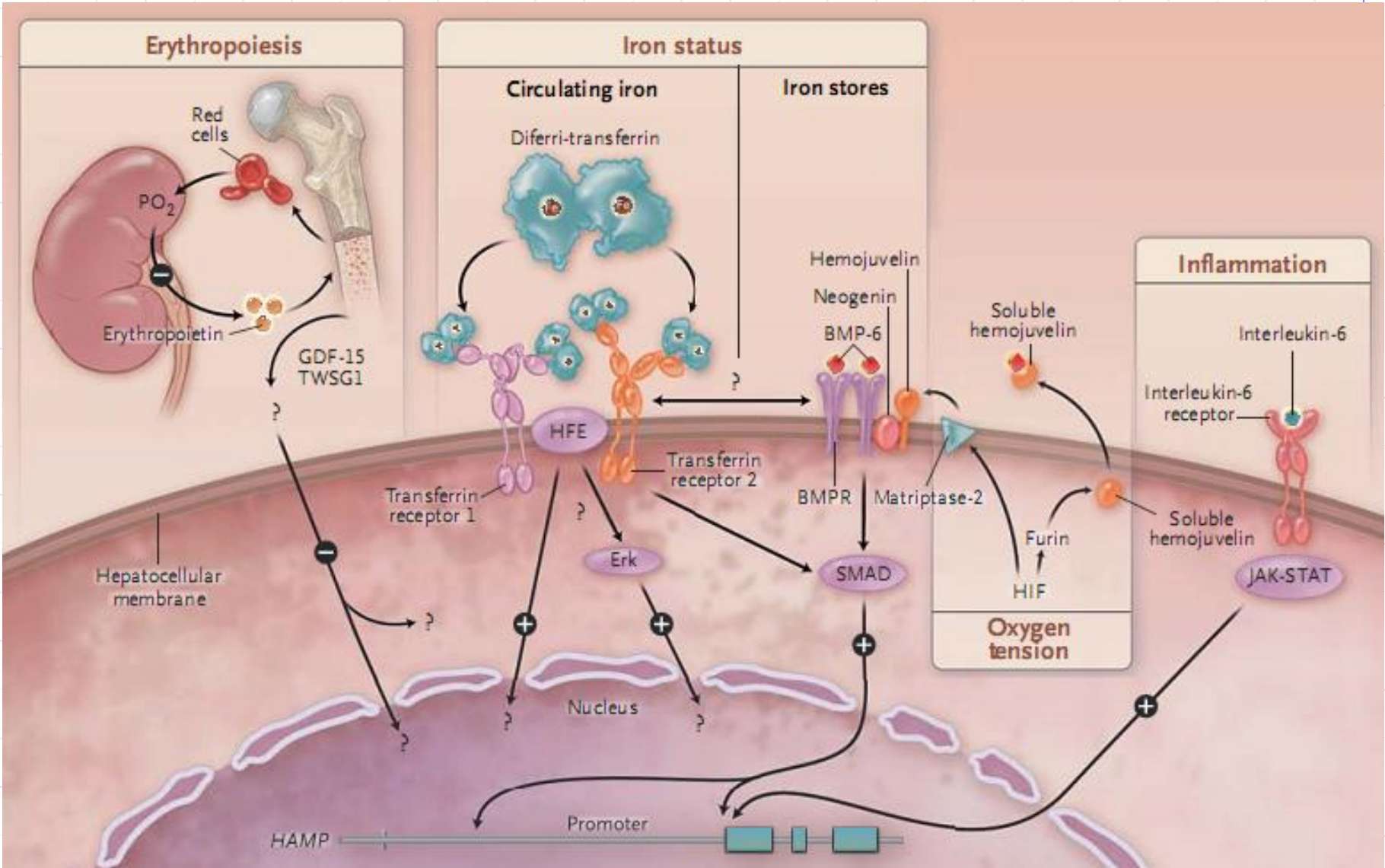
- The liver peptide hepcidin regulates intestinal iron absorption and iron release from storage cells by binding ferroportin, causing its internalization and degradation, and thus exerting a general inhibitory effect on iron release in the body



# L' EPCIDINA REGOLA L'OMEOSTASI DEL FERRO



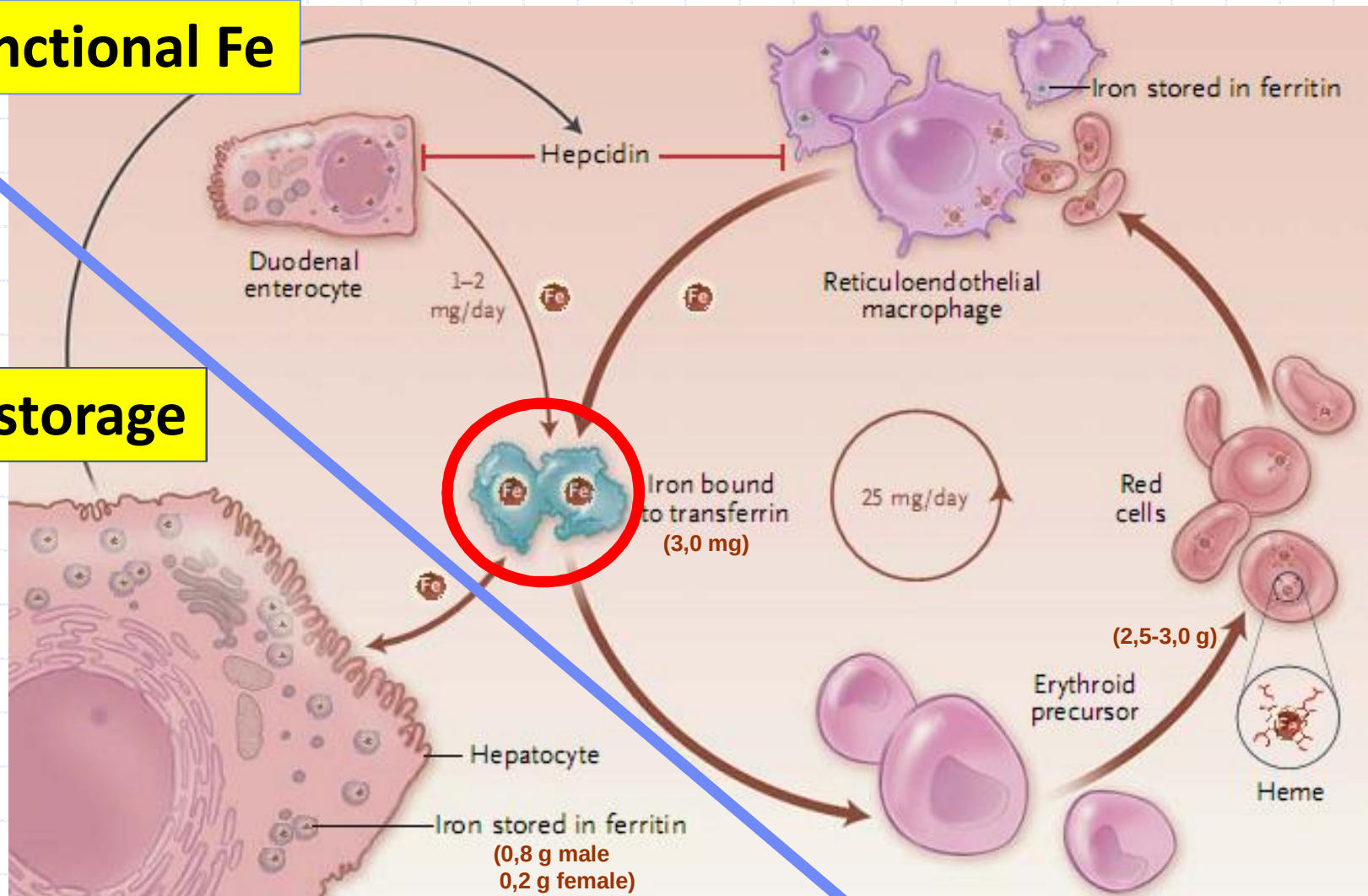
## REGOLAZIONE DELL'EPCIDINA



# CICLO BIOLOGICO DEL FERRO

Functional Fe

Fe storage

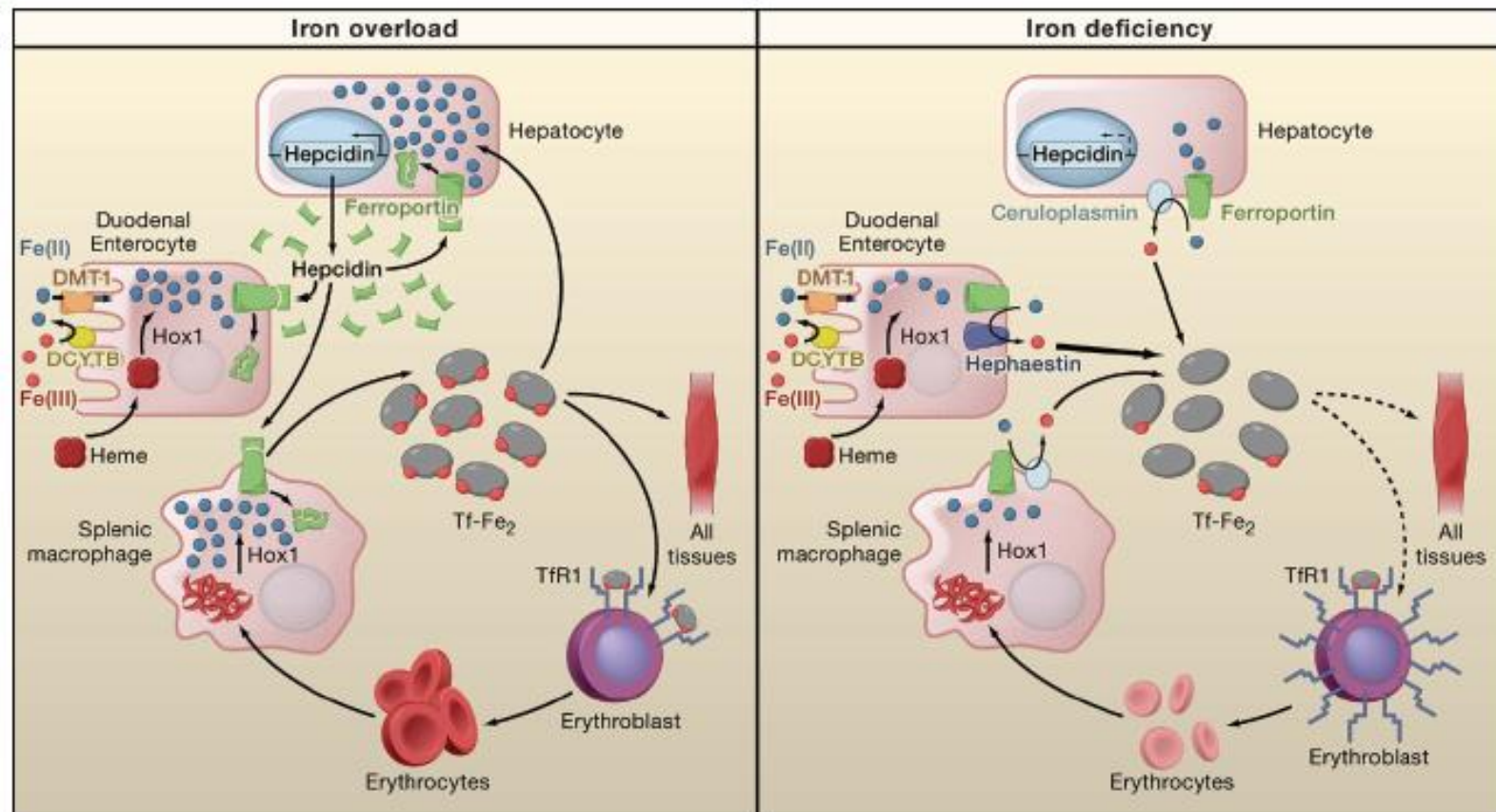


21/11/2013

Fleming RE et al. NEJM 2012;366:348<sup>12</sup>



# CICLO BIOLOGICO DEL FERRO



**Figure 1. Regulation of Systemic Iron Homeostasis**

Cells involved in systemic iron regulation are shown. Divalent metal transporter 1 (DMT1) at the apical membrane of enterocytes takes up iron from the lumen of the duodenum after DCYTB reduces Fe(III) to Fe(II). Ferroportin at the basolateral membrane cooperates with hephaestin that oxidizes Fe(II) to Fe(III). Iron-loaded (diferric) transferrin (Tf-Fe<sub>2</sub>), indicated by red dots, supplies iron to all cells by binding to the transferrin receptor 1 (TfR1) and subsequent endocytosis. TfR1 is highly expressed on hemoglobin-synthesizing erythroblasts. Hepatocytes sense transferrin saturation/iron stores and release hepcidin accordingly. Red cell iron is recycled by macrophages via ferroportin and the ferroxidase ceruloplasmin. In iron overload (left), high hepcidin levels inhibit ferroportin-mediated iron export by triggering internalization and degradation of the complex to reduce transferrin saturation. Hepcidin expression is high. In iron deficiency (right), iron is released by ferroportin into the circulation. Hemoglobin-derived heme is catabolized in macrophages by hemoxygenase-1 (HOX1). Hepcidin expression is low.

# PATOLOGIE DELLA REGOLAZIONE SISTEMICA DEL FERRO

Un eccesso di ferro è **dannoso**, particolarmente per i parenchimi.

Carenza di ferro causa **anemia**.

**IRON OVERLOAD**

**IDA**

Non solo il carico totale di ferro deve essere regolato, ma anche la sua compartimentalizzazione.

**FID/ACD**

## **GOLD STANDARD DIAGNOSTICO**

**IDA: agoaspirato midollare, risposta alla terapia IV**

**IRON OVERLOAD: biopsia epatica, RMN**



# PATOLOGIE DELLA REGOLAZIONE SISTEMICA DEL FERRO

Table 1. Human disorders associated with or caused by disturbances of iron metabolism.

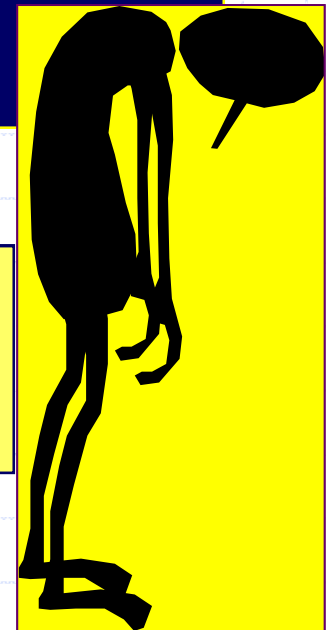
| Iron overload                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                      | Iron deficiency                                | Iron mis-distribution                                                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Systemic                                                                                                                                                                                                                                                                                     | Regional/local                                       |                                                |                                                                        |
| <b>Hereditary</b>                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                      |                                                |                                                                        |
| Hereditary hemochromatosis (HFE -, TfR2-, HJV-, HAMP-, FPN-related)<br>Ferroportin disease<br>Aceruloplasminemia<br>Atransferrinemia<br>DMT -1 deficiency<br>H-ferritin related iron overload<br>Hereditary iron-loading anaemias with inefficient erythropoiesis<br>Porphyria cutanea tarda | (Ferroportin disease) <sup>1</sup>                   | Iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA) | Friedreich's ataxia <sup>2</sup><br>(Ferroportin disease) <sup>1</sup> |
| <b>Acquired</b>                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                      |                                                |                                                                        |
| Oral                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Chronic liver diseases (viral-alcohol-related; NASH) | Nutritional                                    | Anemia of chronic diseases                                             |
| Parenteral                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                      | Bleeding                                       |                                                                        |
| Post-transfusion                                                                                                                                                                                                                                                                             | Neuro-degenerative disorders                         | Malabsorption                                  |                                                                        |
| Long-term haemodialysis                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                      |                                                |                                                                        |
| African siderosis                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                      |                                                |                                                                        |
| Alloimmune (neonatal) hemochromatosis                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                      |                                                |                                                                        |

<sup>1</sup>Although the ferroportin disease is characterized by systemic iron overload, in the classic form of the disorder, iron excess may be exclusively found in the reticuloendothelial macrophage system. <sup>2</sup>In Friedreich's ataxia loss of frataxin leads to mitochondrial iron accumulation, cell damage and organ (mainly brain) disorders.

# IDA

- AUMENTO RICHIESTA      Età pediatrica, gravidanza
- RIDUZIONE APPORTO      malnutrizione  
malassorbimento
- CONSUMO      emorragia, stillicidio

L'anemia da carenza di ferro  
rappresenta il 70% delle anemie



# IDA

- ✓ Dal punto di vista clinico vengono descritte due principali categorie
    - ✓ Carenza marziale isolata, in soggetti per il resto sani, in assenza di patologie croniche
    - ✓ Carenza marziale che si sviluppa in pazienti affetti da condizioni croniche
  - ✓ **IDA non complicata** insorge più spesso nei bambini (rapida crescita), nelle gestanti (richieste del feto), nei pazienti con emorragie "fisiologiche" (menorragie) e patologiche (ematurie, stitichidio ematico dal tratto gastrointestinale)
  - ✓ **IDE**: "iron-deficient erythropoiesis", si riferisce alla evidenza di un ridotto supply di Fe all'eritronc per la sintesi di Hb sia direttamente in forma di ridotta saturazione della Trf, sia indirettamente mediante alterazione degli indici RBC/RET e segni morfologici di ipocromia.
- NON è sinonimo di carenza marziale, sia in IDA (prima di anemia), sia in numerose condizioni infiammatorie e neoplastiche
- ✓ **FID**: "functional iron deficiency", termine impiegato soprattutto in caso di terapia con EPO e in presenza di CKD

# FUNCTIONAL ID (FID)

Although the stores are replete, iron cannot be mobilized to the bone marrow fast enough to meet erythropoiesis demands. One of the most important clinical settings for FID is in patients with **chronic kidney disease (CKD)**



**ACD**

Szőke D. Clin Chim Acta 2012;413:1184

# FUNCTIONAL ID (FID/ACD)

Le patologie associate ad ACD hanno le caratteristiche di una attivazione infiammatoria/immune acuta o cronica

Una simile condizione di anemia si manifesta negli anziani e in presenza di insufficienza cardiaca in assenza di chiara infiammazione clinica

Citochine e le cellule del SRE stimolate dal milieu infiammatorio modificano l'omeostasi Fe, riducono EPO, la proliferazione dei precursori eritroidi e la sopravvivenza RBC

Table I. Diseases associated with ACD.

---

## Associated diseases

---

### Infections

Viral

Bacterial

Parasitic

Fungal

### Malignancies

Haematological

Solid tumours

### Autoimmune

Rheumatoid arthritis

Systemic lupus erythematosus and related conditions

Vasculitis

Sarcoidosis

Inflammatory bowel disease

### Renal

Chronic renal failure

### Cardiac

Chronic heart failure

---

**Brit J Haematol 154:289;2011**



# FUNCTIONAL ID (FID/ACD)

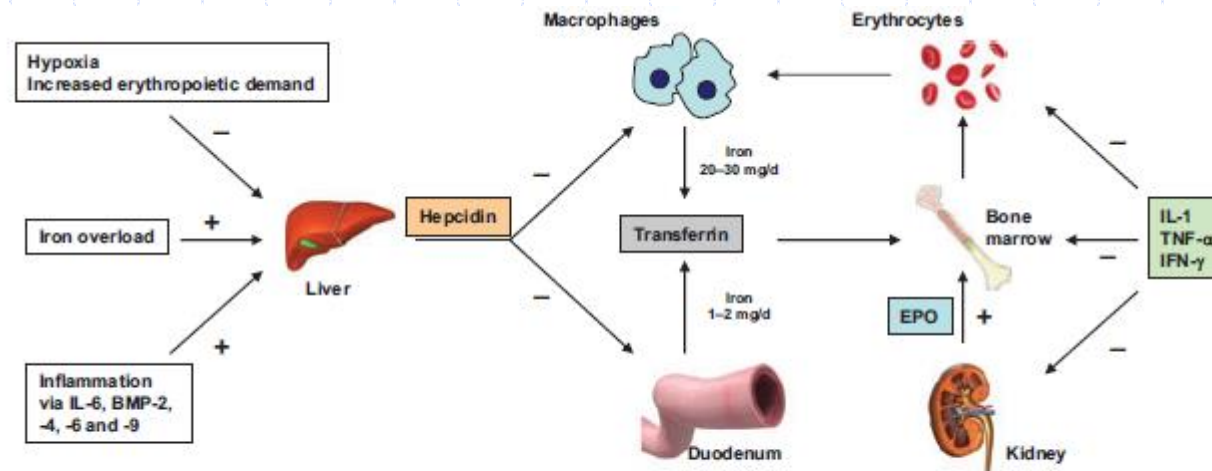


Fig 1. Effects of inflammation on erythropoiesis and iron metabolism. Key: + = stimulatory effect; - = inhibitory effect; for other abbreviations see text.

- Å Alterazione dell'omeostasi del Fe, evidenziata dalla riduzione del Fe circolante. Attraverso citochine pro-infiammatorie (IL1, IL6, TNF- $\alpha$ ) e mediata dall'epcidina ( $\uparrow$ )
- Å  $\downarrow$ EPO, in presenza di infiammazione la risposta di EPO ai livelli di Hb è ridotta, effetto mediato da citochine (IL1 e TNF- $\alpha$ )
- Å  $\downarrow$  risposta eritroide, apparentemente mediata dalle citochine infiammatorie (TNF- $\alpha$ )
- Å  $\downarrow$  sopravvivenza RBC, è modesta. Le cause sono in gran parte ignote ( $\uparrow$  eritrofagocitosi mediata da citochine,  $\uparrow$  danno ossidativo ai danni di RBC)

# Anemia dell'insufficienza renale cronica

## Cause

- ◆ Ridotta secrezione di EPO da parte del parenchima renale
- ◆ Sostanze tossiche non eliminate dal sistema escretorio (?)
  - attività inibitrice sia per eritropoiesi, sia per la sintesi dell'eme
- ◆ ridotta sopravvivenza delle emazie in circolo:
  - guanidina e molecole derivate (?)
  - alterazione della via dei pentoso fosfati (?)

# **Anemia dell'insufficienza renale cronica**

## **Cause**

### **◆ CARENZA MARZIALE, causata da:**

- **RIPETUTI PRELIEVI EMATICI**
- **PROCEDURE DI DIALISI (per perdita di sangue all'interno degli apparecchi per emodialisi)**
- **Emorragie gastrointestinali, genitourinarie**
- **CARENZA MARZIALE di tipo rifunzionale per ridotta dismissione del metallo dai siti di deposito, non solo per effetto della terapia con Epo.**

# **Anemia dell'insufficienza renale cronica**

## **Cause**

**ALTRE POSSIBILI CAUSE, frequentemente concomitanti:**

- ◆ **IPERPARATIROIDISMO SECONDARIO**
  - effetto tossico diretto del PTH a carico dell'eritrone (?)
  - come conseguenza della aumentata fibrosi midollare
- ◆ **TOSSICITA' DA ALLUMINIO**
- ◆ **CARENZA DI FOLATI e VITAMINA B12**
- ◆ **TERAPIA CON ACE INIBITORI**
- ◆ **DIALISI ISUFFICIENTE**

# **DISORDINI da SOVRACCARICO di FERRO**

- ✓ Sono classificati in base al prevalente difetto patogenetico
  - ✓ Disordini dell'asse epcidina/ferroportina
  - ✓ Alterazioni della maturazione eritroide
  - ✓ Alterazioni del trasporto del ferro
- ✓ Altre forme, meno comuni, con differente patogenesi
  - ✓ Emocromatosi neonatale
  - ✓ Forme localizzate di sovraccarico di ferro
    - ✓ Atassia di Friedreich
    - ✓ Neurodegenerazione con accumulo cerebrale di ferro

# DISORDINI da SOVRACCARICO di FERRO

- ✓ Disordini della maturazione eritroide:
- ✓ Forme di overload secondario di ferro
- ✓ Questo gruppo include le anemie con accumulo di Fe ("iron-loading anemias")
  - ✓ Talassemie
  - ✓ Anemie congenite sideroblastiche
  - ✓ Anemie congenite diseritropoietiche
  - ✓ Sindromi mielodisplastiche ed anemia aplastica
- ✓ Questi disordini sono caratterizzati da gradi variabili di eritropoiesi inefficace (apoptosi di precursori eritroidi, blocco di maturazione, espansione secondaria eritropoietica).

Epcidina è down-regolata da molecole associate a questi eventi

  - La down-regolazione persiste nonostante overload di Fe
  - La pratica trasfusionale contribuisce al sovraccarico

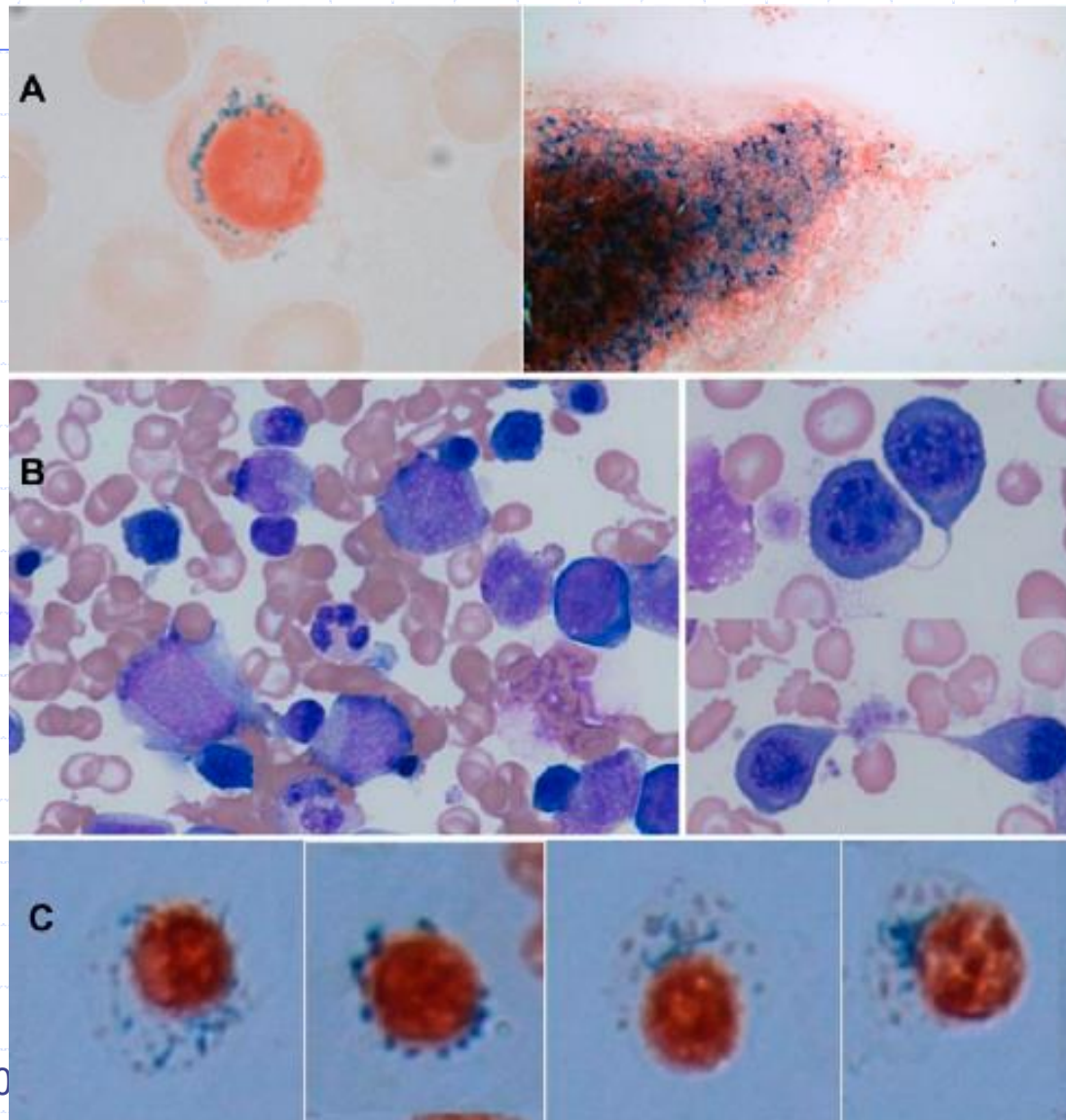


# DISORDINI da SOVRACCARICO di FERRO

## ✓ Disordini della maturazione eritroide:

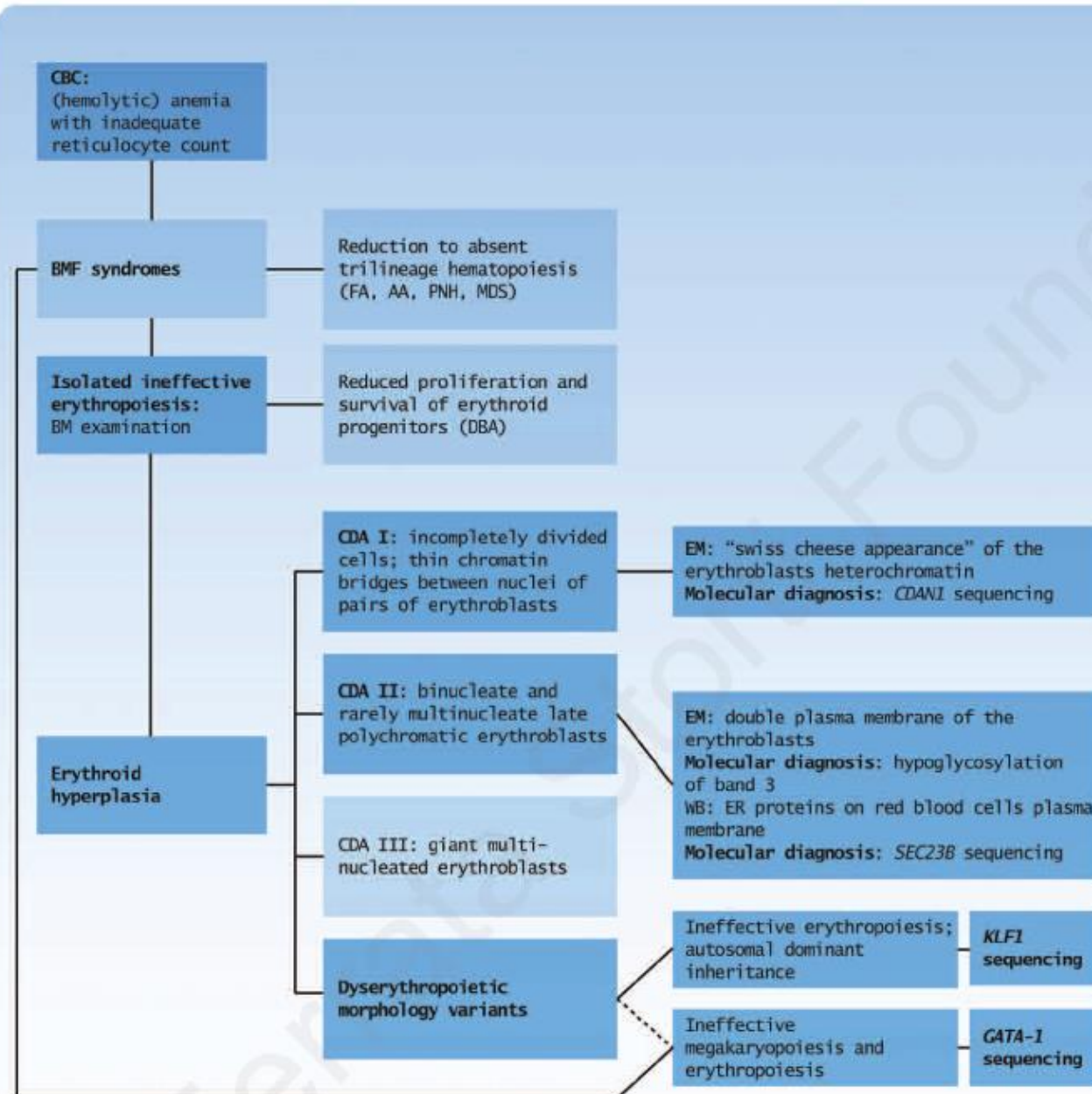
- ✓ **Anemie congenite sideroblastiche** → disordini eterogenei della sintesi dell'eme, sia primari, sia secondari. Le forme congenite sono causate da mutazioni in geni coinvolti nella sintesi dell'eme, il Fe che non può essere incorporato nel anello finale della protoporfirina IX precipita nei mitocondri con formazione dei classici eritroblasti ad anello.  
L'anemia può essere microcitica, normocitica o macrocitica ed è estremamente variabile nella sua entità.
- ✓ **Anemie congenite diseritropoietiche** → diverse forme caratterizzate da difettiva produzione di RBC e spesso da modesta emolisi.  
L'anemia può essere normocitica o macrocitica con ridotta conta reticolocitaria, presente dalla nascita.
- ✓ **Sindromi mielodisplastiche ed anemia aplastica**

# DISORDINI da SOVRACCARICO di FERRO



# CDA

haematologica | 2012; 97(12)



**Figure 1.** Flow diagram for differential diagnosis of CDAs. This diagram shows the main steps that allow the differential diagnosis of CDA subtypes among the hypoproliferative anemias, based on clinical, biochemical and molecular findings. The key stages to the diagnosis of CDAs are highlighted in dark blue. CBC: complete blood count; BMF: bone marrow failure; FA: Fanconi's anemia; AA: aplastic anemia; PNH: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; MDS: myelodysplastic syndromes; DBA: Diamond-Blackfan anemia.

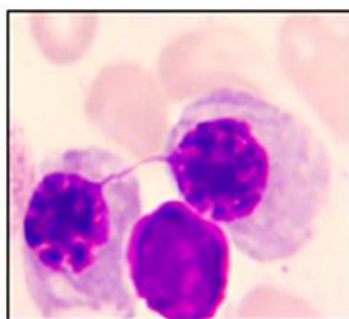


# CDA

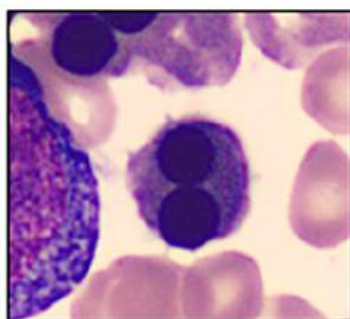
**Table 1. Characteristic features of different types of CDA**

| CDA type                                   | I                                                                    | II                                                    | III Familial                                                           | III Sporadic                       | Variants                                    |
|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------------|
| Inheritance                                | Autosomal recessive                                                  | Autosomal recessive                                   | Dominant                                                               | Variable                           | Autosomal dominant or X linked or recessive |
| Cases reported                             | >300                                                                 | >450                                                  | 2 families                                                             | <20                                | ~70                                         |
| BM morphology (light microscopy)           | Abnormal chromatin structure, chromatin bridges                      | Binuclearity, multinuclearity of mature erythroblasts | Giant multinucleated erythroblasts                                     | Giant multinucleated erythroblasts | CDA I-like, CDA II-like, others             |
| BM EM findings                             | "Spongy" heterochromatin, invagination of cytoplasm into the nucleus | Peripheral cysternae beneath the plasma membrane      | Clefts in heterochromatin, autophagic vacuoles, intranuclear cisternae | Various                            | Various                                     |
| Mutated gene                               | <i>CDAN1</i> , <i>C15ORF41</i>                                       | <i>SEC23B</i>                                         | <i>KIF23</i>                                                           | Unknown                            | <i>KLF1</i> , <i>GATA-1</i> , unknown       |
| Associated dysmorphology/organ involvement | Skeleton                                                             | Variable, rare                                        | Monoclonal gammopathy, myeloma, angiod streaks                         | Variable                           | CNS, others                                 |

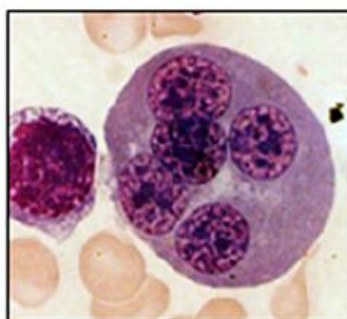
CNS, central nervous system; EM, electron microscopy.



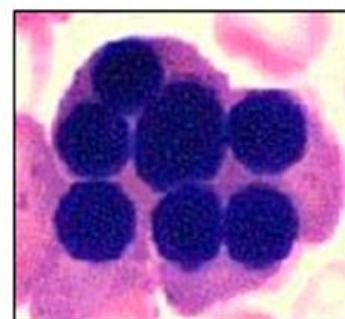
**CDA type I**



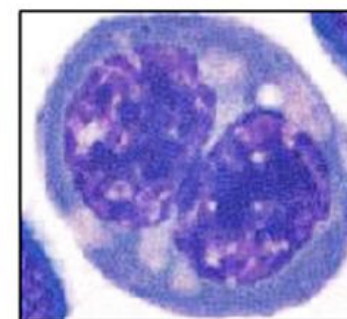
**CDA type II**



**CDA type III familial**



**CDA type III sporadic**



**CDA variants**

# DISORDINI da SOVRACCARICO di FERRO

- ✓ **Disordini del trasporto del ferro:**
  - ❑ L'aspetto patogenetico comune è l'insufficiente trasporto di Fe legato a Trf per la sintesi dell'eme nonostante la presenza di deposito
  - ❑ La conseguente eritropoiesi Fe-ristretta e anemia contribuiscono alla riduzione di hep e all'accumulo di Fe
- ✓ **Ipotransferrinemia** → rara condizione, autosomica recessiva caratterizzata dalla drastica riduzione di Trf. Il Fe circola per la maggior parte in forma di NTBI che non può essere utilizzato per l'eme e non è in grado di up-regolare l'epcidina. L'anemia e la perdita del segnale da ferri-Trf determinano la bassa hep, nonostante la condizione di overload
- ✓ **L'aceruloplasminemia**

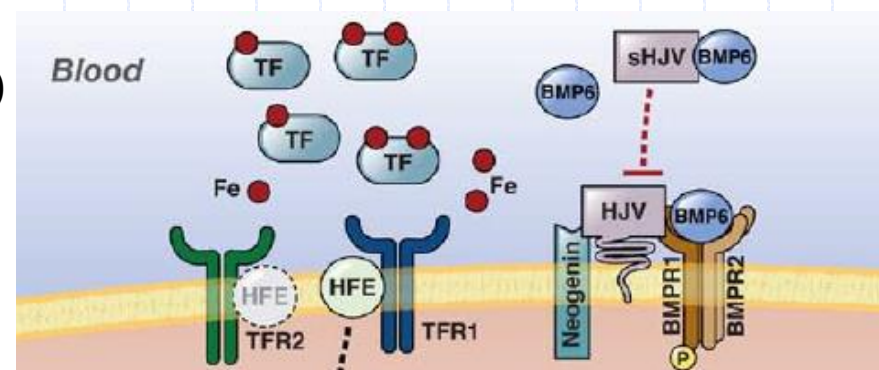
# HEREDITARY HYPERFERRITINEMIA CATARACT SYNDROME (HCS)

- ◆ IPERFERRITINEMIA
- ◆ Disordine autosomico dominante. Caratterizzato da elevati livelli di ferritina spesso associati a cataratta bilaterale.
- ◆ Causa: mutazioni degli IRE della ferritina
- IRE: “iron-responsive elements”, sequenze di RNA che influenzano la traduzione di mRNA che codifica per DMT1, ferroportina e ferritina, o la stabilità di DMT1



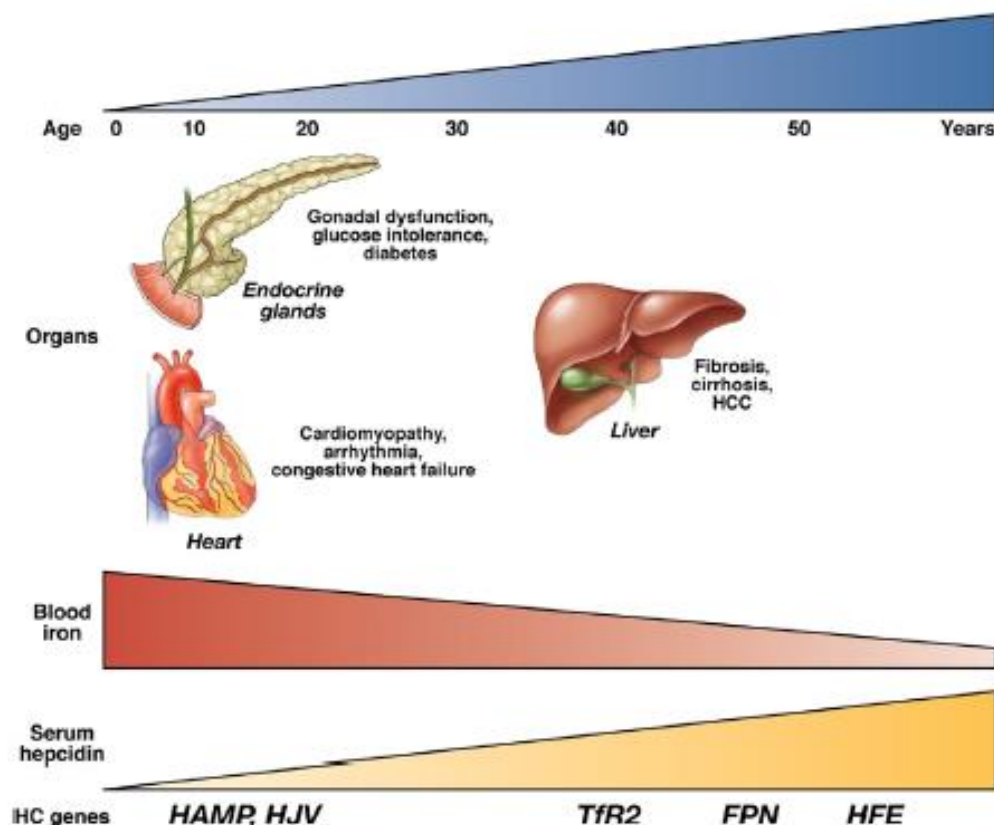
# Hemochromatosis (HH), the essentials

- ◆ Several genetic disorders of iron homeostasis with body iron excess which can progress to multi-organ damage
- ◆ In the most forms of HH there is the inability to upregulate hepcidin in response to increased iron stores and it is due to:
  - defect in the synthesis of some positive regulators of hepcidine (**HFE**, **TfR2**, **HJV**)
  - **HFE**→C282Y (OMOZ 1:200/1:300 NorthE)  
H63D→ no geografia, NO penetranza  
S65C→ rara, spesso con C282Y
  - (rarely) defect in the hepcidin gene itself (**HAMP**)
- ◆ The low hepcidine state relative to ferritin causes a increased intestinal iron uptake and iron overload
- ◆ High variable clinical phenotypes in patients



# Hemochromatosis, the essentials

- ◆ Mutations in the gene encoding the cellular iron exporter ferroportin
- ◆ 2 classes of ferroportin mutations with 2 different phenotypes
  - Loss of hepcidin regulation: gain of function mutation with greater ferroportin activity → phenotype similar to HH, but no low blood hepcidine concentrations (the defect is downstream of hepcidine)
  - Loss of ferroportin function: cellular iron overload due to the defect in the iron export → phenotype which vary from the classical HH



**Figure 1.** The common genetic basis and phenotypic continuum of hemochromatosis. The basic features of hereditary hemochromatosis can be produced by pathogenic mutations of a number of iron metabolism genes (*HJV*, *HAMP*, *TFR2*, *FPN*, and *HFE*). Depending on the gene involved and its role in hepcidin biology, the hemochromatosis phenotype varies. If the altered gene plays a dominant role in hepcidin synthesis (eg, *HAMP* itself or *HJV*), circulatory iron overload occurs rapidly and reaches high levels. In these cases, the clinical presentation will invariably be dramatic, with early onset (first to second decade) of full-blown organ disease (particularly affecting the heart and endocrine glands). If the hemochromatosis gene is less critical to this process (eg, *HFE*), a milder late-onset phenotype will arise. This continuum also includes "intermediate phenotypes" (eg, those caused by pathogenic mutations of *TFR2* or by rare combinations of mutations).

**Table 2.** Typical Presentations of Various Forms of Hemochromatosis

|                                                                                                                                                                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>HFE hemochromatosis</b>                                                                                                                                                                                                           |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Caucasian, male, 40–50 years old</li> <li>• Fatigue, dark skin, arthralgia and/or hepatomegaly</li> <li>• Elevated TS and SF</li> </ul>                                                     |
| <b>TFR2 hemochromatosis</b>                                                                                                                                                                                                          |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Caucasian or non-Caucasian, male or female, 30–40 years old</li> <li>• Cardiomyopathy, endocrinopathy, liver disease</li> <li>• Elevated TS and SF</li> </ul>                               |
| <b>HJV or HAMP hemochromatosis</b>                                                                                                                                                                                                   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Caucasian or non-Caucasian, male or female, 15–20 years old</li> <li>• Impotence/amenorrhea and/or cardiomyopathy</li> <li>• High TS and SF</li> </ul>                                      |
| <b>Ferroportin disease</b>                                                                                                                                                                                                           |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Caucasian or non-Caucasian, male or female, 10–80 years old</li> <li>• One parent with unexplained hyperferritinemia</li> <li>• <u>Unexplained elevation of SF and normal TS</u></li> </ul> |

## Hereditary Hemochromatosis: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment

ANTONELLO PIETRANGELO

2<sup>nd</sup> Division of Internal Medicine and Centre for Hemochromatosis, University Hospital of Modena, Modena, Italy

21/11/2013

## Comparative Overview of the Primary Iron-Overload Disorders Classified as Hereditary Hemochromatosis in the OMIM Database.

Pietrangelo A. N Engl J Med 2004;350:2383-2397.

**Table 1.** Comparative Overview of the Primary Iron-Overload Disorders Classified as Hereditary Hemochromatosis in the OMIM Database.\*

| Feature                                                                    | HFE-Related Hereditary Hemochromatosis†                                                                                                     | Juvenile Hereditary Hemochromatosis                                                              |                                                                                                  | TfR2-Related Hereditary Hemochromatosis                                                          | Ferroportin-Related Iron Overload‡                                                                                                                  |
|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| OMIM classification                                                        | Type 1                                                                                                                                      | Type 2, subtype A                                                                                | Type 2, subtype B                                                                                | Type 3                                                                                           | Type 4                                                                                                                                              |
| Implicated gene and its chromosomal location                               | HFE, 6p21.3                                                                                                                                 | HJV (originally called HFE2), 1q21                                                               | HAMP, 19q13.1                                                                                    | TfR2, 7q22                                                                                       | SLC40A1, 2q32                                                                                                                                       |
| Gene product                                                               |                                                                                                                                             |                                                                                                  |                                                                                                  |                                                                                                  |                                                                                                                                                     |
| Name                                                                       | HFE                                                                                                                                         | Hemojuvelin                                                                                      | Hepcidin                                                                                         | Transferrin receptor 2                                                                           | Ferroportin (also iron-regulatory protein, or metal-transporter protein)                                                                            |
| Known or postulated function§                                              | Interaction with transferrin receptor 1, probably facilitating uptake of transferrin-bound iron; possibly modulation of hepcidin expression | Unknown; possibly modulation of hepcidin expression                                              | Down-regulation of iron release by enterocytes, macrophages, or placental cells                  | Possibly uptake of iron by hepatocytes                                                           | Export of iron from enterocytes, macrophages, placental cells, or hepatocytes                                                                       |
| Pattern of inheritance                                                     | Autosomal recessive                                                                                                                         | Autosomal recessive                                                                              | Autosomal recessive                                                                              | Autosomal recessive                                                                              | Autosomal dominant                                                                                                                                  |
| Evidence of expanded plasma iron compartment (high transferrin saturation) | Earliest detectable biochemical anomaly                                                                                                     | Earliest detectable biochemical anomaly                                                          | Earliest detectable biochemical anomaly                                                          | Earliest detectable biochemical anomaly                                                          | Only in advanced stages                                                                                                                             |
| Main organs accumulating iron                                              | Liver, endocrine glands, heart                                                                                                              | Liver, endocrine glands, heart                                                                   | Liver, endocrine glands, heart                                                                   | Liver, endocrine glands, heart                                                                   | Liver, spleen                                                                                                                                       |
| Predominant cell distribution of iron accumulation                         | Parenchymal                                                                                                                                 | Parenchymal                                                                                      | Parenchymal                                                                                      | Parenchymal                                                                                      | Reticuloendothelial                                                                                                                                 |
| Potential for organ damage                                                 | Variable                                                                                                                                    | High                                                                                             | High                                                                                             | Variable                                                                                         | Low                                                                                                                                                 |
| Anemia                                                                     | No                                                                                                                                          | No                                                                                               | No                                                                                               | No                                                                                               | May be seen in menstruating women or after phlebotomy                                                                                               |
| Response to therapeutic phlebotomy                                         | Excellent: decrease in serum ferritin in parallel with transferrin saturation; no risk of anemia                                            | Excellent: decrease in serum ferritin in parallel with transferrin saturation; no risk of anemia | Excellent: decrease in serum ferritin in parallel with transferrin saturation; no risk of anemia | Excellent: decrease in serum ferritin in parallel with transferrin saturation; no risk of anemia | Fair: rapid decrease in transferrin saturation with persistently high serum ferritin; substantial risk of anemia with aggressive phlebotomy regimen |
| Decade of onset of symptomatic organ disease                               | 4th or 5th                                                                                                                                  | 2nd or 3rd                                                                                       | 2nd or 3rd                                                                                       | 4th or 5th                                                                                       | 4th or 5th                                                                                                                                          |

\* OMIM denotes Online Mendelian Inheritance in Man.

† Other common names are hereditary hemochromatosis, classic hemochromatosis, and HLA-linked hemochromatosis.

‡ Other common names are autosomal dominant hemochromatosis, ferroportin disease, and autosomal dominant reticuloendothelial iron overload.

§ There may be other, as yet unknown, functions related to iron overload. The listed functions do not, at least at this time, always account for the known pathophysiological features associated with the gene mutation.



# IRON OVERLOAD

| Disorder                                              | Gene and Inheritance                                                                   | Age at Presentation  | Neurologic Symptoms                                                                 | Anemia   | Transferrin Saturation |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------|------------------------|
| <b>Impaired hepcidin–ferroportin axis</b>             |                                                                                        |                      |                                                                                     |          |                        |
| HH type I                                             | <i>HFE</i> , AR                                                                        | Adult                | No                                                                                  | No       | High                   |
| HH type IIA                                           | <i>HFE2</i> , AR                                                                       | Child to young adult | No                                                                                  | No       | High                   |
| HH type IIB                                           | <i>HAMP</i> , AR                                                                       | Child to young adult | No                                                                                  | No       | High                   |
| HH type III                                           | <i>TFR2</i> , AR                                                                       | Young adult          | No                                                                                  | No       | High                   |
| HH type IVA<br>(atypical HH)                          | <i>FP</i> (LOF), AD                                                                    | Adult                | No                                                                                  | Variable | Low initially          |
| HH type IVB                                           | <i>FP</i> (GOF), AD                                                                    | Adult                | No                                                                                  | No       | High                   |
| <b>Impaired iron transport</b>                        |                                                                                        |                      |                                                                                     |          |                        |
| Inadequate release to erythron:<br>aceruloplasminemia | <i>CP</i> , AR                                                                         | Adult                | Yes                                                                                 | Yes      | Low                    |
| <b>Inadequate uptake by erythron</b>                  |                                                                                        |                      |                                                                                     |          |                        |
| DMT1 mutations                                        | <i>DMT1</i> , AR                                                                       | Child                | No                                                                                  | Yes      | High                   |
| Hypotransferrinemia                                   | <i>TF</i> , AR                                                                         | Variable             | No                                                                                  | Yes      | High                   |
| <b>Ineffective erythropoiesis</b>                     |                                                                                        |                      |                                                                                     |          |                        |
| Thalassemia                                           | <i>Globin</i> , AR                                                                     | Child                | No                                                                                  | Yes      | High                   |
| Congenital sideroblastic anemia                       | <i>ALAS2</i> , XL;<br><i>SLC25A38</i> , AR;<br><i>GLRX5</i> , AR;<br><i>ABCB7</i> , XL | Variable             | <i>ALAS2</i> and<br><i>SLC25A38</i> : no;<br><i>GLRX5</i> and<br><i>ABCB7</i> : yes | Yes      | High                   |
| <b>Congenital dyserythropoietic anemia</b>            |                                                                                        |                      |                                                                                     |          |                        |
| Type I                                                | <i>DAN1</i> , AR                                                                       | Child                | No                                                                                  | Yes      | High                   |
| Type II                                               | <i>SEC23B</i> , AR                                                                     | Child                | No                                                                                  | Yes      | High                   |
| Type III                                              | Unknown, AD                                                                            | Child                | No                                                                                  | Yes      | High                   |

# IRON OVERLOAD

## Classification of iron overload syndromes.

| Clinical condition                                                                                                                        | Etiopathogenesis                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| Hereditary iron overload                                                                                                                  |                                                      |
| Hereditary hemochromatosis                                                                                                                |                                                      |
| Type 1 ( <i>HFE</i> )                                                                                                                     | <i>HFE</i> gene mutations: C282Y, H63D, S65C, others |
| Type 2A ( <i>HJV</i> )                                                                                                                    | Hemojuvelin gene mutations                           |
| Type 2B ( <i>HAMP</i> )                                                                                                                   | Hepcidin gene mutations                              |
| Type 3 ( <i>TFR2</i> )                                                                                                                    | Transferrin receptor 2 gene mutations                |
| Types 4A and 4B ( <i>SLC40A1</i> )                                                                                                        | Ferroportin gene mutations                           |
| Hereditary hyperferritinemia                                                                                                              | Iron-responsive element mutation                     |
| Atransferrinemia                                                                                                                          | Transferrin gene mutation                            |
| Others                                                                                                                                    | DMT1 mutations, aceruloplasminemia                   |
| Secondary iron overload                                                                                                                   |                                                      |
| Thalassemias, congenital sideroblastic anemia, congenital dyserythropoietic anemias, myelodysplastic syndromes, chronic hemolytic anemias | Ineffective erythropoiesis                           |
| Thalassemia major                                                                                                                         |                                                      |
| Intravenous, oral, or dietary                                                                                                             | Transfusion for long periods                         |
|                                                                                                                                           | Iron administration for long periods                 |
| Alcoholic, viral, non-alcoholic steatohepatitis                                                                                           | Liver dysfunction                                    |
| Porphyria, hemodialysis                                                                                                                   | Other                                                |



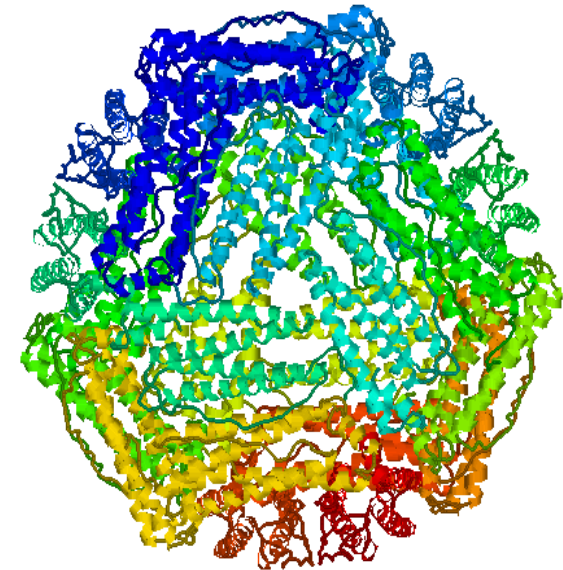
# HAEMOCROMATOSIS

Haemochromatosis continues to be considered an uncommon disease despite large scale population screening studies demonstrating a high prevalence of C282Y homozygotes of approximately 1 in 200. Since many of the C282Y homozygotes that are discovered through screening are asymptomatic, or have non-specific symptoms commonly found in the ageing population, the attribution of any symptoms to haemochromatosis has become increasingly difficult.

# **METABOLISMO del FERRO**

## **ESAMI DISPONIBILI**

- ✓ Il ferro (sideremia)
- ✓ La ferritina
- ✓ La transferrina e la saturazione
- ✓ Il recettore solubile della transferrina
- ✓ Epcidina
- ✓ Gli indici eritrocitari
- ✓ Gli indici reticolocitari



# SIDEREMIA

- ◆ Rappresenta la quantità di ferro presente in circolo ed immediatamente disponibile per l'utilizzo da parte del midollo osseo emopoietico
- ◆ Utilità clinica quasi nulla, in relazione a:
  - elevata variabilità intra-individuale, stimata pari al 26,5% ([www.westgard.com](http://www.westgard.com)), con conseguenti oscillazioni, anche in assenza di alterazioni del bilancio marziale, di TSAT comprese tra il 15 ed il 70% del valore medio giornaliero
  - i comuni metodi di dosaggio della sideremia risentono notevolmente dell'utilizzo di molti farmaci, tra i quali anche i preparati a base di ferro- conseguente "IPER-SATURAZIONE della transferrina"

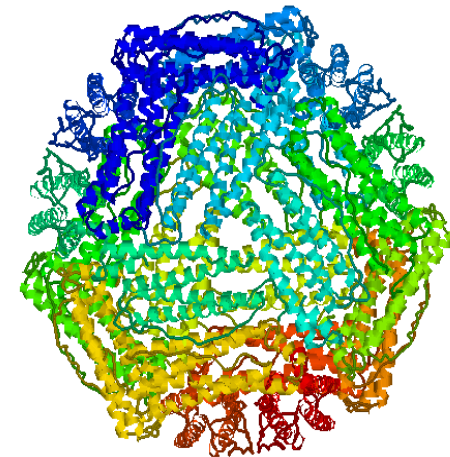
# Sideremia

Alcune osservazioni pratiche:

- ◆ la misurazione della sideremia per stimare la risposta alla terapia marziale può, in realtà, riflettere il rilascio in vitro di ferro farmacologico
- ◆ per assicurare che venga dosato solo il ferro biodisponibile, è necessario procedere all'esame dopo almeno due settimane dall'ultima somministrazione e.v. di ferro (SIN/NKF)
- ◆ notevole attenzione deve essere posta ad ogni variazione del metodo analitico impiegato ed alla valutazioni di dati forniti da laboratori differenti.

# LE FERRITINE UMANE

- ✓ la ferritina rappresenta la principale proteina di storage e svolge un ruolo centrale nell'omeostasi del ferro
- ✓ la proteina priva di Fe (apoferritina) è composta da 24 subunità, definite "pesanti" (21.0kDa, 182 AM) e "leggere" (18.5kDa, 174 AM), monomeriche che formano un guscio attorno al Fe in forma di ferridrite
- ✓ le subunità L sono prevalentemente presenti nel fegato e nella milza
- ✓ la distribuzione dei monomeri L e H è specifica per i differenti organi, ma si può modificare in presenza di infezioni e di fenomeni infiammatori
- ferritina mitocondriale (mtF): recentemente evidenziata. Omopolimero, espressione tissutale specifica, espressione apparentemente non ferro-modulata.





# LE FERRITINE UMANE

✓ la ferritina intracellulare (iron-storing) deriva dall'apoferritina sintetizzata nello REL e successivamente in parte convertita in emosiderina

✓ la forma circolante deriva dall' emosiderina sintetizzata e rilasciata dallo RER e differisce dalla forma citosolica in quanto glicosilata

✓ nei soggetti sani, **le concentrazioni ematiche di ferritina** correlano generalmente con la quantità e le variazioni **della ferritina intracellulare** e questa osservazione è confermata da studi di quantificazione del ferro midollare.

In particolare, viene accettato che **1  $\mu\text{g/L}$  di ferritina sierica** corrisponde a **~8 mg di ferro di deposito.**



# LE FERRITINE UMANE

✓ nella pratica nella pratica la ferritina viene utilizzata per la definizione dello stato marziale, sia in caso di carenza, sia di sovraccarico

✓ **carenza marziale** → con valore decisionale tra 12 e 20  $\mu\text{g/L}$  è marcatore specifico, correlato al gold-standard (aspirato midollare).

Lavori non recenti (Guyatt, 1992) indicano la necessità di modificare i valori di cut-off in caso di malattie epatiche ed infiammatorie, rispettivamente 40  $\mu\text{g/L}$  e 70  $\mu\text{g/L}$

Piu' recentemente (dopo l'introduzione del 3° standard internazionale nel 1996) l'uso della ferritina è stato in parte **modificato**:

- ✓ <15  $\mu\text{g/L}$  come rule in
- ✓ >100  $\mu\text{g/L}$  come rule out
- ✓ valori decisionali adeguati per sesso ed età
- ✓ IRC → cut-off 121  $\mu\text{g/L}$ , area sotto la curva ROC 0.83, sens/spec 75%
- ✓ insufficienza epatica → cut-off 50  $\mu\text{g/L}$ , area sotto la curva >0.85



# LE FERRITINE UMANE

- ✓ proteina di fase acuta
- ✓ in generale ridotta sensibilità
- ✓ mancano i valori decisionale applicabili agli attuali metodi in commercio (tracciabili)
- ✓ Sovraccarico marziale:
  - ✓ il dosaggio può essere impiegato nello screening dell'emocromatosi
  - ✓ il dosaggio appare appropriato nella gestione clinica dei pazienti con HH omozigoti per C282Y
    - ✓ marcatore predittivo di cirrosi nei pazienti ( $>1000 \mu\text{g/L}$ ) e di steatosi epatica ( $>300 \mu\text{g/L M}$  e  $> 200 \mu\text{g/L F}$ )  
[Hepatology 2009;49:418- Gastroenterology 1992;102:2108]
    - ✓ utile per valutare la rimozione di Fe dopo salasso terapia e per definire il traguardo terapeutico  
[J Hepatology 2010;53:3]

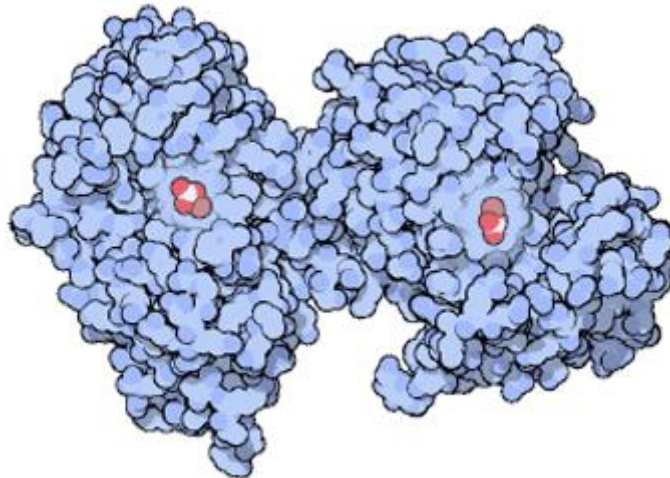
**Table 1** Features and main results of the experimental studies published from 1999, evaluating serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency anemia.

| Year (ref.) | Type of patients (no.)           | Company/assay          | Threshold, $\mu\text{g/L}$ | Available outcome for ferritin            | Diagnostic parameters                                         |
|-------------|----------------------------------|------------------------|----------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 2002 (23)   | Elderly (49)                     | Beckman Access         | 15 F, 24 M                 | Mean concentrations, diagnostic algorithm | None                                                          |
| 2002 (24)   | Undergone BMA (78)               | Beckman Access         | 50                         | Sens, Specs, AUC                          | Sens 42.3%, Specs 93.6%, AUC 0.66 ( $\pm 0.14$ ) <sup>a</sup> |
| 2000 (25)   | Anemic rheumatoid arthritis (30) | PerkinElmer AutoDELFIA | 10 F, 20 M                 | Mean concentrations                       | None                                                          |
| 1999 (26)   | Undergone BMA (145)              | NA                     | 10 F, 22 M                 | Sens, Specs                               | Sens 25%, Specs 99%                                           |

<sup>a</sup>95% confidence interval. AUC, area under ROC curve plotting Sens vs. (1-Specs) for all possible test thresholds; BMA, bone marrow aspirate; F, females; M, males; NA, not available; Sens, sensitivity; Specs, specificity.

# TRANSFERRINA

- ◆ è la principale proteina di trasporto ematico del Fe, responsabile del temporaneo sequestro extracellulare e della distribuzione agli organi target
- ◆ rappresenta il meccanismo protettivo contro la presenza di ferro libero nel plasma (estrema tossicità)
  - Trf ha notevole affinità per il  $\text{Fe}^{3+}$
  - ogni molecola di Trf ha 2 siti di legame per i Fe
  - in condizioni fisiologiche la Trf è saturata solo per 30-40%
- ◆ legame con recettore ad alta affinità TfR1, endocitosi con rilascio endocellulare del Fe e secrezione di apo-Trf in circolo
- ◆ Tfr in totale trasporta circa 3 mg di Fe (<0.1% Fe totale), pool molto dinamico con possibilità di espansione anche 10x per sostenere le richieste in caso di aumentata eritropoiesi



# TRANSFERRINA: esami disponibili

Szöke D. Biochim Clin 2012;36:339

- ◆ nella routine clinica sono ampiamente utilizzati sia la Trf, sia la saturazione della transferrina (TS%)
- ◆ 2 metodi disponibili per la determinazione di TS%
  - basato sulla stima di TIBC
    - ◆ TIBC esprime la capacità delle proteine plasmatiche di legare il Fe
    - ◆ in pratica TIBC viene determinata mediante l'aggiunta al campione di Fe sufficiente a saturare i siti proteici di legame. Dopo rimozione del Fe in eccesso, viene misurato il Fe rimanente.
  - basato sulla determinazione diretta della Trf e applicazione di formule  $[(Fe \times 3.98)/Trf]$
- ◆ la Trf rappresenta la principale proteina di trasporto e TIBC può essere utilizzata per esprimere indirettamente la Trf stessa

➤ TIBC

➤ UIBC

➤ TRF

$$TS\% = (Fe/TIBC) \times 100$$

# TRANSFERRINA: esami disponibili

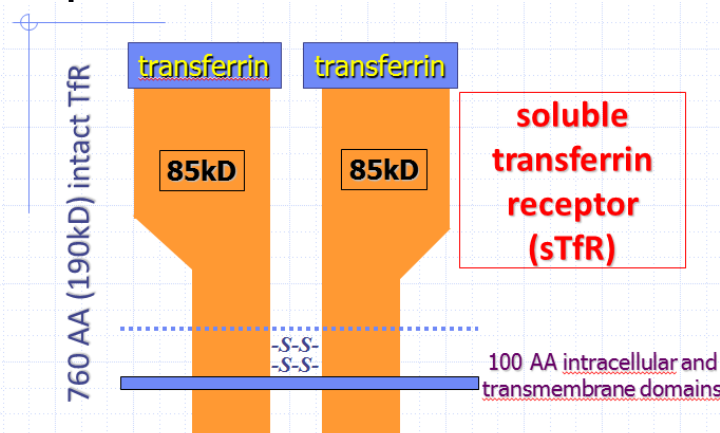
- ◆ Limiti: il dosaggio della Trf è influenzato da diversi fattori analitici, biologici e patologici
  - Fe è caratterizzato da elevata variabilità biologica intra-individuale (CVi), in media pari al 26.5% e CVg pari a 23.2%, per Trf si hanno CVi 3.0% e CVg 4.3%
  - la Trf è proteina negativa di fase acuta
  - mancanza di standardizzazione tra i metodi analitici con conseguente variabilità tra i diversi assays commerciali





# sTfR

- ◆ Il recettore solubile della transferrina (sTfR) deriva dalla scissione proteolitica del TfR ed è costituito da una singola catena polipeptidica di PM 85kDa
- ◆ i livelli di sTfR riflettono la densità del recettore sulle cellule ed il numero di cellule che esprimono il recettore
- ◆ sTfR è correlato alle richieste di Fe e al rate proliferativo del comparto eritroide
- ◆ sTfR è direttamente correlato alla massa totale del comparto eritroide lungo l'intero spettro di disordini ematologici
- ◆ il secondo determinante di sTfR è la carenza di Fe che ne causa l'aumento in proporzione all'entità della stessa



## sTfR: esami disponibili

- ◆ A differenza di ferritina e TfR, sTfR non è influenzato da malattie croniche e patologie infiammatorie concomitanti
- ◆ sTfR può essere impiegato nella diagnosi differenziale tra IDA (anemia da carenza di ferro) e ACD (anemia degli stati infiammatori cronici) e appare utile nell'identificare la condizione mista IDA+ACD
- ◆ sTfR:
  - ↑ in IDE (iron-deficient erythropoiesis)(gravidanza, bambino, infanzia) and IDA
  - ↑ anemie emolitiche, eritropoiesi inefficace, MDS, EPO Tx, CLL
  - ≅ in ACD (down-regulation of TfR intracellulare ad opera di citochine infiammatorie)
- ◆ sTfR index (sTfR/log ferritina), marker teoricamente caratterizzato da migliore performance diagnostica grazie alla relazione reciproca dei due analiti in caso di carenza marziale (↑ sTfR e ↓ ferritina)

# RECETTORE SOLUBILE DELLA TRANSFERRINA (sTfR)

**Tabella 1**

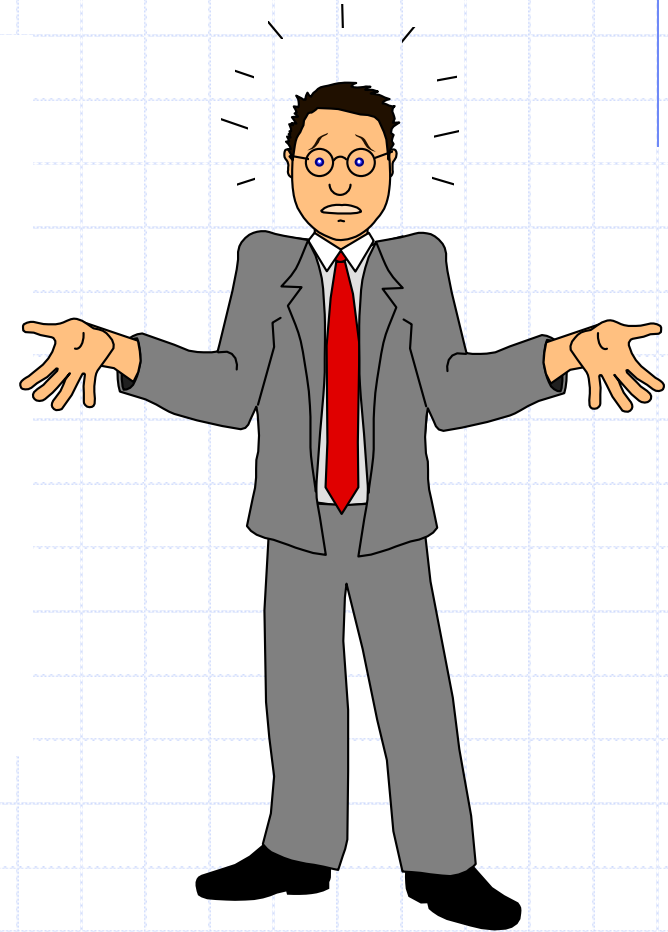
*Concentrazione sierica del recettore solubile della transferrina (sTfR) in varie patologie*

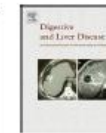
| Concentrazione di sTfR | Condizioni cliniche                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Aumentata              | <b>Aumentata proliferazione eritroide:</b><br>emolisi<br>anemia emolitica autoimmune<br>sferocitosi ereditaria<br>$\beta$ talassemia/emoglobina E<br>malattia da emoglobina H<br>anemia a cellule falciformi<br>policitemia vera<br><b>Diminuiti depositi tissutali di ferro:</b><br>anemia sideropenica |
| Normale o aumentata    | mielofibrosi<br>sindrome mielodisplastica<br>leucemia linfatica cronica                                                                                                                                                                                                                                  |
| Normale                | emocromatosi<br>leucemia mieloide acuta e cronica<br>neoplasia linfoidi<br>tumori solidi<br>anemia da malattie croniche                                                                                                                                                                                  |
| Diminuita              | insufficienza renale cronica<br>anemia aplastica<br>periodo post trapianto di midollo osseo                                                                                                                                                                                                              |

# RECETTORE SOLUBILE DELLA TRANSFERRINA (sTfR)

Nonostante le promesse iniziali, ulteriori studi sono necessari per delineare con maggiore chiarezza l'utilità clinica di sTfR, soprattutto in specifici scenari patologici

Il dosaggio di sTfR non comporta sufficienti informazioni aggiuntive al più semplice e meno costoso test ferritina





## Review article

## Iron deficiency: From diagnosis to treatment

Vanessa Polin<sup>a,b,\*</sup>, Romain Coriat<sup>a,b</sup>, Géraldine Perkins<sup>a,b</sup>, Marion Dhooge<sup>a,b</sup>,  
Vered Abitbol<sup>a</sup>, Sarah Leblanc<sup>a</sup>, Frédéric Prat<sup>a,b</sup>, Stanislas Chaussade<sup>a,b</sup>

**Table 1**

Serum parameters for the differential diagnosis of anaemia of chronic disease, iron deficiency anaemia and both conditions.

|                                                    | Anaemia of chronic disease |                   |                      | Iron deficiency anaemia | Both conditions     |
|----------------------------------------------------|----------------------------|-------------------|----------------------|-------------------------|---------------------|
|                                                    | Chronic infection          | Cancer            | Inflammatory disease |                         |                     |
| Iron level                                         | Reduced                    | Reduced           | Reduced              | Reduced                 | Reduced             |
| Transferrin                                        | Reduced or normal          | Reduced or normal | Reduced or normal    | Increased               | Reduced             |
| Transferrin saturation                             | Reduced                    | Reduced           | Reduced              | Reduced                 | Reduced             |
| Ferritin (ng/ml)                                   | >30                        | >30               | >30                  | <30                     | <100                |
| Soluble transferrin receptor                       | Normal                     | Normal            | Normal               | Increased               | Normal or increased |
| Ratio of soluble transferrin receptor/log ferritin | <1                         | <1                | <1                   | >2                      | >2                  |
| Cytokine levels                                    | Increased                  | Increased         | Increased            | Normal                  | Increased           |



# sTfR: esami disponibili

**Hematopathology** / sTfR AND sTfR/LOG FERRITIN INDEX IN DIAGNOSIS OF IRON-DEFICIENCY ANEMIA

*Am J Clin Pathol* 2012;138:642-649  
DOI: 10.1309/AJCP16NTXZLZFAIB

## **Soluble Transferrin Receptor (sTfR) and sTfR/log Ferritin Index for the Diagnosis of Iron-Deficiency Anemia**

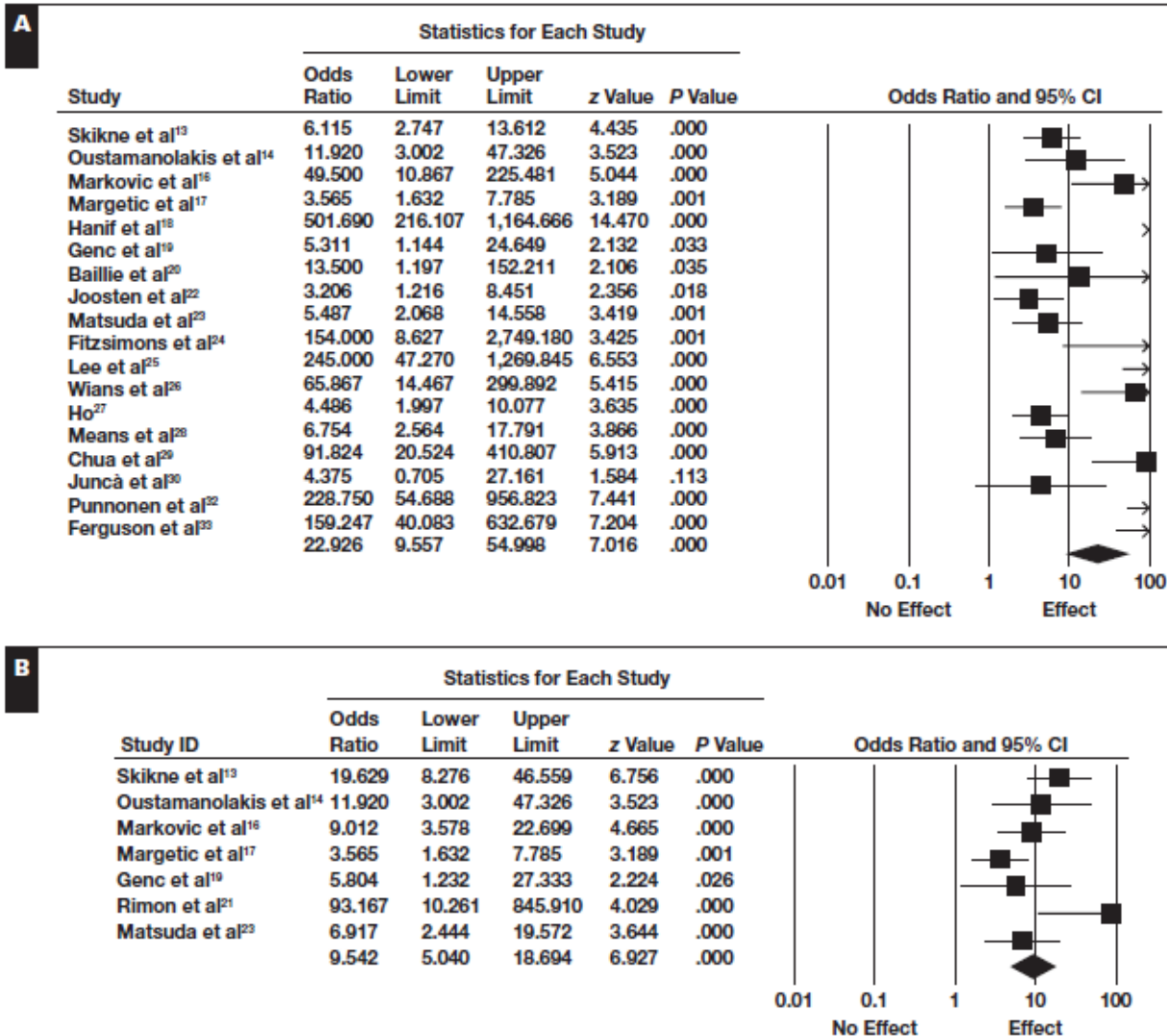
A Meta-Analysis

*Ilenia Infusino,<sup>1,2</sup> Federica Braga,<sup>1,2</sup> Alberto Dolci, MD,<sup>2</sup> and Mauro Panteghini, MD,<sup>1,2</sup>*

- ◆ Meta-analisi condotte secondo la lineaguida Prisma
- ◆ Lavori pubblicati nell'intervallo 1986-2011
- ◆ 1442 papers iniziali, selezionati 18 e 10 lavori, rispettivamente per sTfR e sTfR index



# sTfR: esami disponibili



**Figure 2** Random overall combined effect size of soluble transferrin receptor (sTfR) (A) and sTfR index (B) shown as forest plot of the odds ratio with 95% confidence intervals (CI).

# sTfR: esami disponibili

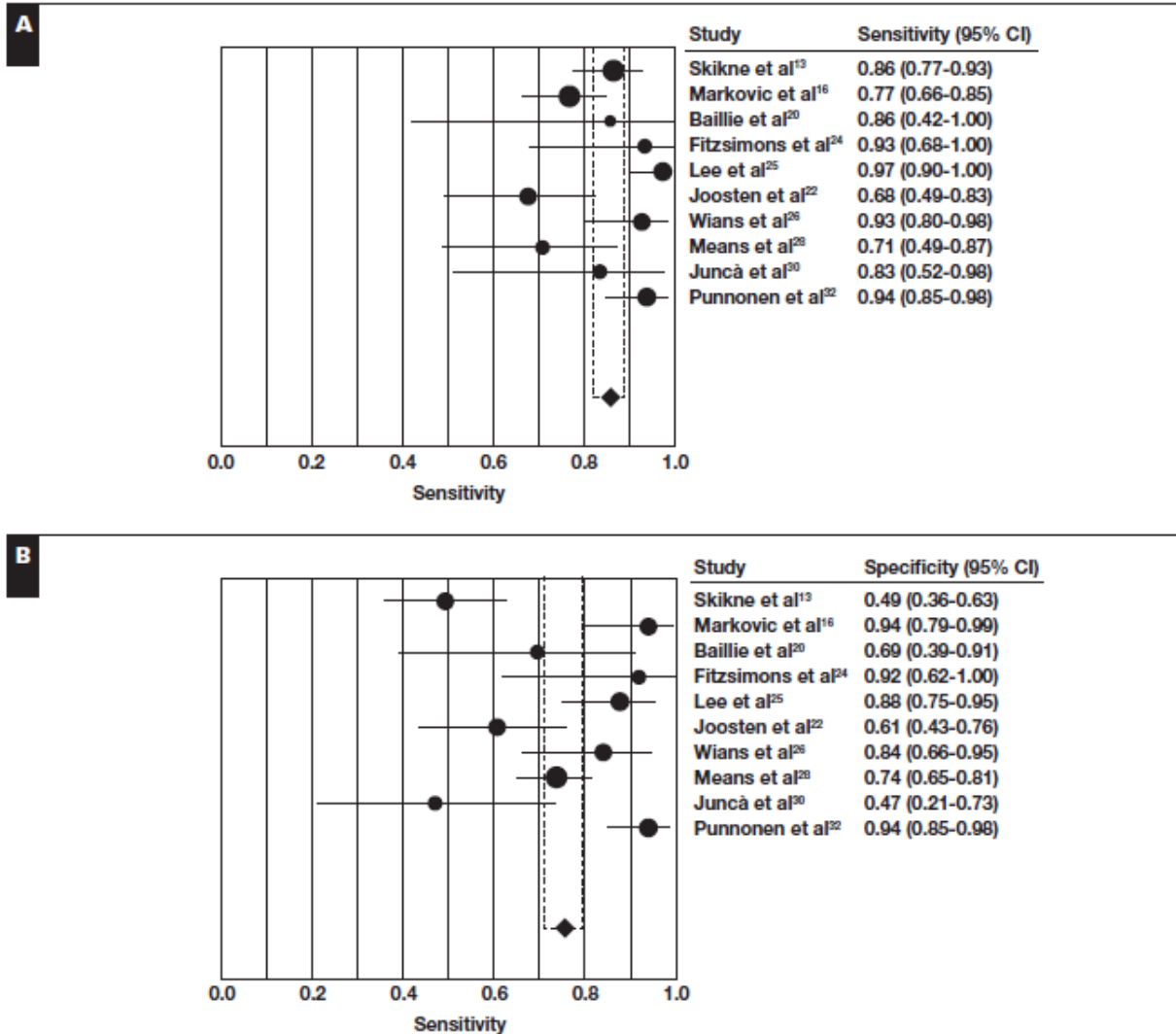
**Table 2**  
**Diagnostic Performance of Soluble Transferrin Receptors in the Subset of Studies Using Binary Data Presentation**

| Study                          | Company/Platform               | Cutoff, mg/L | Diagnosis Group | Disease Prevalence, % | Patient Enrollment | Sensitivity | Specificity | PPV  | NPV  |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------|-----------------|-----------------------|--------------------|-------------|-------------|------|------|
| Skikne et al <sup>13</sup>     | Beckman Coulter/Access         | 1.55         | IDA and IDA+ACD | 61                    | Consecutive        | 0.86        | 0.49        | 0.72 | 0.70 |
| Markovic et al <sup>16</sup>   | Siemens/Nephelometer           | 2.07         | IDA and IDA+ACD | 73                    | Consecutive        | 0.77        | 0.94        | 0.97 | 0.60 |
| Baillie et al <sup>20</sup>    | Orion Diagnostica/IEMA IDeA    | 3.30         | IDA+ACD         | 35                    | Consecutive        | 0.86        | 0.69        | 0.60 | 0.90 |
| Joosten et al <sup>22</sup>    | R&D Systems/ELISA              | 2.07*        | IDA             | 47                    | NA                 | 0.68        | 0.61        | 0.60 | 0.68 |
| Fitzsimons et al <sup>24</sup> | R&D Systems/ELISA              | 2.07*        | IDA+ACD         | 56                    | NA                 | 0.93        | 0.92        | 0.93 | 0.92 |
| Lee et al <sup>25</sup>        | Roche Diagnostics/Hitachi 7600 | 1.80         | IDA and IDA+ACD | 60                    | NA                 | 0.97        | 0.88        | 0.89 | 0.95 |
| Wians et al <sup>26</sup>      | R&D Systems/ELISA              | 2.18*        | IDA             | 57                    | NA                 | 0.93        | 0.84        | 0.88 | 0.90 |
| Means et al <sup>28</sup>      | R&D Systems/ELISA              | 2.07*        | IDA             | 16                    | Consecutive        | 0.71        | 0.74        | 0.35 | 0.93 |
| Juncà et al <sup>30</sup>      | Orion Diagnostica/IEMA IDeA    | 2.80         | IDA+ACD         | 44                    | NA                 | 0.83        | 0.47        | 0.56 | 0.78 |
| Punnonen et al <sup>32</sup>   | R&D Systems/EIA Clinigen       | 2.70         | IDA and IDA+ACD | 50                    | Consecutive        | 0.94        | 0.94        | 0.94 | 0.94 |

ACD, anemia of chronic disease; EIA, enzyme immunoassay; IEMA, immunoenzymometric assay; IDA, iron-deficiency anemia; NA, not available; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value.

\* Original cutoff values in nmol/L converted to mg/L by using a multiplication factor of 0.0738.

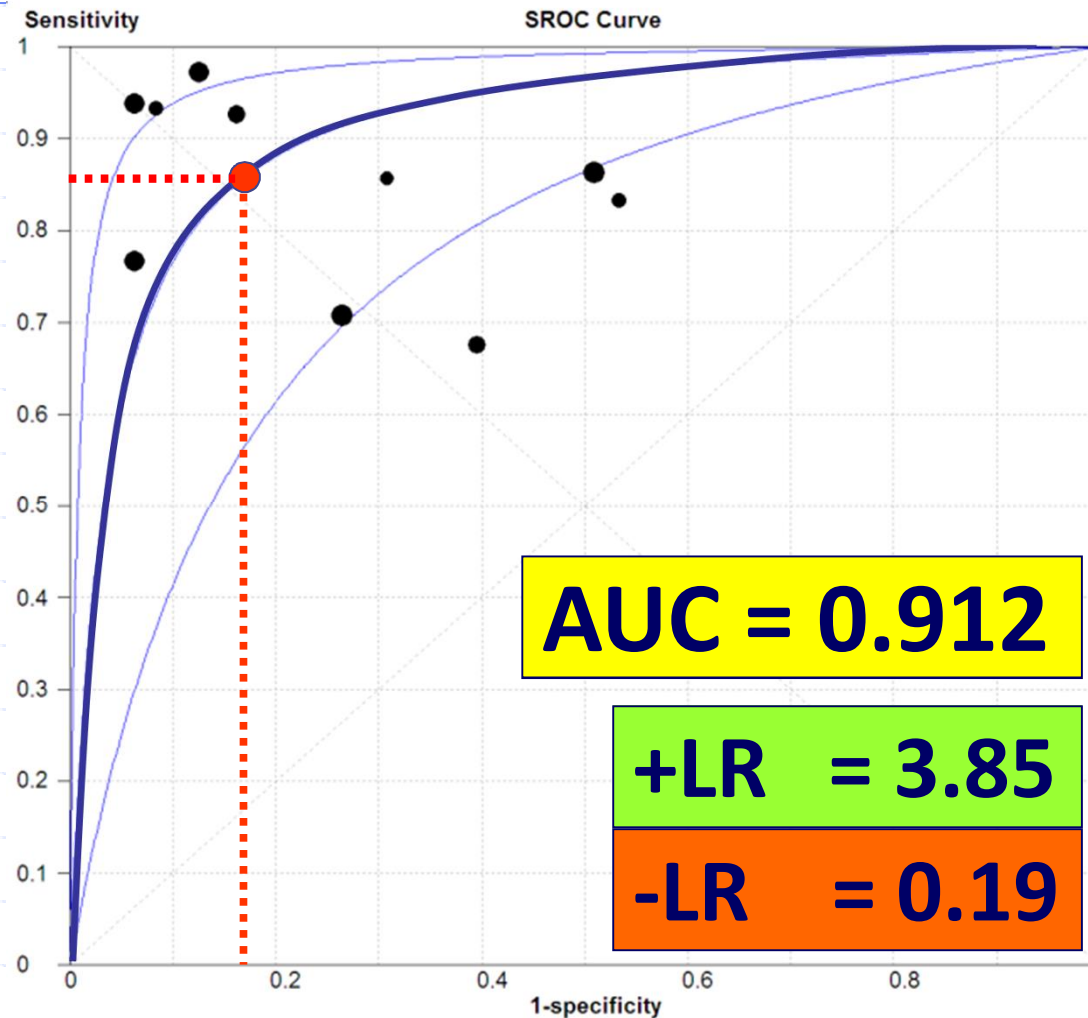
# sTfR: esami disponibili



**Figure 3** **A**, Sensitivity plot of soluble transferrin receptor determination in the diagnosis of iron deficiency anemia. Pooled sensitivity = 0.86 (0.82-0.89);  $\chi^2 = 33.78$ ; degrees of freedom (df) = 9 ( $P = .0001$ ); inconsistency (1-square) = 73.4%. **B**, Specificity plots. Pooled specificity = 0.75 (0.71-0.79);  $\chi^2 = 58.96$ ; df = 9 ( $P = .0000$ ); inconsistency (1-square) = 84.7%. CI, confidence interval.

# SUMMARY ROC CURVE DIAGNOSTIC ACCURACY

sTfR



## sTfR: esami disponibili

- ◆ Entrambi i marker appaiono utili nella distinzione tra IDA e ACD
- ◆ sTfR sembra avere maggiore efficienza diagnostica (OR 22.9) rispetto a sTfR index (OR 9.5)
- ◆ Elevato OR sperimentale per sTfR
- ◆ In generale pochi studi con dati di tipo binario
- ◆ sTfR caratterizzato da sensibilità overall pari a 86% e da specificità pari a 75%
- ◆ Buon test di screening, ma non utilizzabile a scopo di confirmatorio
- ◆ Mancanza di standardizzazione tra metodi

# BIOMARKERS OF IRON METABOLISM DISORDERS - I

## Iron Deficiency (**ID**)

Stage 1: storage ID

- FERRITIN



Stage 2: functional ID (ID erythropoiesis & IDA)

- sTfR
- TRANSFERRIN
- TS (%)



## Iron Distribution Disorders

Anemia of Chronic Disease (**ACD**)

- FERRITIN
- TRANSFERRIN
- sTfR



or within range

or within range



# BIOMARKERS OF IRON METABOLISM DISORDERS - II

## Iron Overload

- IRON
- FERRITIN
- TS (%)
- sTfR



## HEPCIDIN?