

LA DIAGNOSI DI LABORATORIO NELLA SIDEROPENIA

Manuela Caizzi (1); Giorgio Paladini (2)

1. S.C. Ematologia Clinica; Azienda Ospedaliero-Universitaria, Ospedali Riuniti di Trieste

2. S.C. Ematologia Clinica e Dipartimento di Medicina di Laboratorio; Azienda Ospedaliero-Universitaria, Ospedali Riuniti di Trieste

Gli esami di laboratorio disponibili per la diagnosi di carenza di ferro nei suoi diversi stadi, sia essa associata ad anemizzazione oppure isolata, sono molteplici e possono essere catalogati distinguendoli in **esami biochimici** ed **esami ematologici**.

Esami biochimici:

- **sideremia,**
- **transferrina,**
- **ferritina,**
- **zinco-protoporfirina,**
- **recettore solubile della transferrina.**

Esami ematologici:

- **morfologia del sangue periferico,**
- **indici eritrocitari,**
- **indici reticolocitari.**

In questo capitolo esamineremo il significato diagnostico delle proteine del metabolismo marziale, ovvero gli esami biochimici funzionali alla diagnosi di sideropenia, prendendo in considerazione l'appropriatezza dell'indicazione alla loro richiesta.

La rilevanza epidemiologica dell'anemia microcitica sideropenica nella popolazione generale rende ragione della richiesta routinaria nella medicina ospedaliera e ambulatoriale della verifica dell'assetto marziale.

Spesso si osserva il ricorso inappropriato alla richiesta degli esami biochimici inerenti la sideropenia, da cui derivano esami superflui con informazioni cliniche parziali (esempio caratteristico è costituito dalla richiesta isolata della sideremia come indicatore di sideropenia) e conseguente perdita di efficienza dell'iter diagnostico.

Risulta importante ricordare che non esiste nessun esame che preso singolarmente sia sufficiente per la diagnosi di deficit di ferro con o senza anemia. Infatti ciascun esame che valuta lo stato marziale riflette modificazioni in differenti compartimenti del ferro corporeo (di deposito, di trasporto, metabolico-funzionale), è influenzato da differenti livelli di deplezione marziale e presenta una sovrapposizione tra valori normali e patologici.

Dati scientificamente fondati esistono, come specificheremo in seguito, solo per la ferritina, in relazione al rapporto tra la sua concentrazione sierica e il contenuto midollare di ferro con conseguente attendibilità circa il patrimonio marziale del soggetto esaminato.

Dal punto di vista fisiopatologico il deficit di ferro si sviluppa tipicamente attraverso tre stadi sequenziali corrispondenti a livelli di severità crescente, di cui l'anemia rappresenta solo l'esito finale:

- **deplezione dei depositi (stadio I),**
- **eritropoiesi ferro-carente (stadio II, latente o subclinico)**
- **anemia sideropenica (stadio III, manifesto).**

Nello stadio più precoce i depositi di ferro si esauriscono progressivamente (bilancio del ferro negativo), ma non vi sono effetti sulle funzioni essenziali del ferro poiché il ferro assorbito dall'intestino e quello rilasciato dall'eritrocateresi risultano ancora sufficienti.

Questa fase può essere caratterizzata isolatamente da bassi livelli di ferritina sierica.

Quando i depositi sono completamente esauriti si passa al secondo stadio in cui si sviluppa un deficit di ferro con compromissione della sintesi emoglobinica e dei processi enzimatici metabolici tissutali che può portare ad anomalie nelle funzioni fisiologiche.

Tale fase è caratterizzata da bassi livelli di sideremia e di saturazione della transferrina (TSAT), aumento della transferrina, della protoporfirina libera eritrocitaria o zinco-protoporfirina (ZPP) e del recettore solubile della transferrina (sTfR). L'emoglobina (Hb) e il volume corpuscolare medio (MCV) sono ridotti ma ancora nell'ambito di normalità ed eventualmente possono comparire nel sangue periferico emazie ipocromiche.

Nell'ultimo stadio, associato ad anemizzazione, l'apporto di ferro all'eritrono risulta insufficiente a mantenere un'adeguata eritropoiesi e una normale concentrazione di emoglobina. Si determina pertanto deplezione di ferro in tutti i distretti, che si manifesta come anemia sideropenica ipocromica microcitica, con TSAT <15% e ferritina <10 µg/L.

Il secondo stadio, quello dell'eritropoiesi ferro-carente, così definito per indicare il deficit di ferro in assenza di anemia, è talora identificato come carenza funzionale di ferro perché coinvolge il compartimento funzionale o metabolico del ferro, rappresentato dalle sedi di utilizzo del ferro, in primo luogo a livello dell'eritrono.

Il ridotto apporto di ferro all'eritrono può tuttavia realizzarsi non solo per la deplezione dei depositi di ferro, ma anche in presenza di quantità di ferro adeguate o addirittura eccessive nei depositi; in tale condizione si usa più correttamente il termine di **deficit funzionale di ferro**.

Tale condizione si verifica o **per un blocco del ferro a livello macrofagico**, sostenuto da citochine pro-infiammatorie che aumentano a livello cellulare l'immagazzinamento del ferro come ferritina e ne ostacolano la dismissione (come si verifica nelle malattie infiammatorie croniche), oppure **per una forte stimolazione dell'eritropoiesi** come nella terapia con eritropoietina (EPO), per cui il ferro liberato dai depositi viene progressivamente utilizzato e quindi "consumato" dalla iperproliferazione eritroblastica Epo-indotta.

Nel primo caso, ci si troverà di fronte, pur in presenza di anemia (anche microcitica), con una ferritina normale o addirittura aumentata (>100, in alcuni studi >500 µg/l). Per spiegare quest'ultimo eventuale reperto non va, infatti, dimenticato che la ferritina è in realtà una proteina della fase acuta e quindi suscettibile di incremento in corso di stati flogistici. Nel secondo caso, invece, la ferritina potrà essere ancora normale o decisamente abbassata stante l'eccessivo consumo di ferro in essa contenuto.

Tali aspetti fisiopatologici determinano sul versante clinico la necessità di operare una diagnosi differenziale nell'iter di inquadramento dell'anemia microcitica ipocromica tra le forme di **anemia sideropenica** (IDA: iron deficiency anemia) e **sideropessica** (ADC: chronic disease anemia).

Esami biochimici

Sideremia

La **sideremia** o concentrazione sierica di ferro si riduce allorché i depositi di ferro sono completamente esauriti e prima che diminuisca l'emoglobina, rappresentando un parametro sensibile allo stadio di lieve deficit di ferro.

Il suo impiego clinico è tuttavia limitato da fattori di natura eterogenea:

- fattori analitici (metodo utilizzato e presenza di emolisi),
- ampie variazioni giornaliere (fino al 100% nelle 24 ore in soggetti sani e con valori più alti verso sera, condizionate anche dall'introito alimentare),
- mancanza di specificità: bassi valori di sideremia si possono infatti trovare anche in varie situazioni quali gravidanza, infezioni, flogosi acute e croniche, shock, febbre, neoplasie. (1)

Poiché la sua utilità è condizionata da una situazione di alta prevalenza di sideropenia, in situazioni non complicate e aggiungendo poco al valore diagnostico della ferritinemia, si raccomanda di non usare questo test in aggiunta alla ferritina per la valutazione del deficit di ferro. (1) Poiché, per quanto detto, la sideremia può essere facilmente fuorviante, risultando falsamente bassa, si raccomanda di non chiederla isolatamente, ma solo combinata con la capacità totale di legare il ferro.

Transferrina e total iron-binding capacity (TIBC)

La **transferrina**, proteina di trasporto può essere misurata direttamente con metodo immunologico o, più frequentemente, dedotta come **capacità totale legante il ferro (TIBC)** la quale rappresenta la quantità di ferro aggiunto che può essere legato in modo specifico, cioè dalla transferrina in esso contenuta.

La sintesi della transferrina è regolata dallo stato marziale e quindi aumenta (e indirettamente anche la TIBC) linearmente fino approssimativamente a valori di 400 µg/L nelle situazioni di deplezione dei depositi ed è ridotta quando i depositi sono aumentati. (2)

La sua concentrazione è condizionata anche da altri fattori non correlati allo stato del ferro e che ne limitano l'utilizzo diagnostico: si osserva una riduzione nelle infiammazioni, nelle infezioni, nelle epatopatie, nelle neoplasie, nella sindrome nefrosica e nella malnutrizione, mentre aumenta in corso di terapia con contraccettivi orali. Risulta pertanto un parametro laboratoristico dell'assetto marziale specifico ma poco sensibile.

Saturazione transferrinica (TSAT)

La TSAT rappresenta la percentuale dei siti di transferrina legati dal ferro rispetto a quelli totali se le molecole della transferrina fossero tutte saturate, quindi il rapporto tra la sideremia e la TIBC espresso in percentuale.

Ha gli stessi limiti della sideremia e della transferrinemia (variazioni diurne e bassa specificità).

Ferritinemia

La determinazione della **ferritina sierica**, nonostante questa sia quantitativamente irrilevante rispetto alla ferritina intra-cellulare (meno dell'1%), ma proporzionalmente fedele **ha un peso diagnostico fondamentale.**

Essa rappresenta infatti l'indice più accurato per la valutazione dei depositi corporei di ferro, poiché di fatto la concentrazione di ferritina nel siero è strettamente correlata alla quantità di ferritina intracellulare che a sua volta è prodotta in funzione del ferro intra-cellulare.

La ferritina è quindi un indice indispensabile per la valutazione degli stati di deplezione ferrica.

Vi è stretta correlazione tra ferritina e ferro di deposito mobilizzabile: 1 µg/L di ferritina corrisponde infatti a 8-10 mg di ferro di deposito. (3)

L'esaurimento dei depositi di ferro si accompagna ad una riduzione della ferritinemia, rendendo tale parametro il più precoce marker di deficit di ferro e la più utile misura capace da sola di informare sullo stato del ferro.

Variazioni significative della ferritinemia si hanno nel corso dell'età e tra i sessi, per cui è necessario utilizzare intervalli di riferimento specifici.

Nel secondo e terzo trimestre di gravidanza la ferritina si riduce anche quando i depositi midollari sono presenti e anche in corso di supplementazione di ferro, rendendo poco utile la sua determinazione. Tende inoltre ad essere più bassa nelle donne rispetto agli uomini, per i più bassi depositi di ferro presenti nelle donne.

Va peraltro sottolineato che la concentrazione sierica di ferritina **aumenta indipendentemente dai depositi di ferro, perdendo pertanto utilità diagnostica, nelle situazioni in cui si comporta come proteina della fase acuta** e come marcatore indiretto di replicazione tumorale: infiammazioni, infezioni, neoplasie, epatopatie.

Aumenta inoltre nell'alcolismo, nelle trasfusioni, nelle terapie marziali per os, nell'ipertiroidismo e con i contraccettivi orali. La carenza di ferro è la sola causa di una sua bassa concentrazione.

Esiste generale consenso che concentrazioni di ferritina sierica $<20 \mu\text{g/L}$ siano, in presenza di anemia, diagnostiche di assenza di depositi di ferro e quindi di anemia sideropenica in pazienti anemici; i cut-off proposti variano in base alla prevalenza del deficit di ferro nella popolazione studiata (pazienti ricoverati, pazienti ambulatoriali, soggetti sani) e all'accuratezza della diagnosi (confronto con il metodo di riferimento, limite più basso dell'intervallo di riferimento, uso di criteri diagnostici multipli). (4-5)

Il cut-off più comunemente usato per indicare l'assenza di depositi di ferro negli adulti è **10 $\mu\text{g/L}$** mentre per i bambini varia con l'età, solitamente da 10 $\mu\text{g/L}$ a 12 $\mu\text{g/L}$.

Il possibile aumento della ferritina per fattori indipendenti dallo stato marziale (flogosi croniche, neoplasie, infezioni) rende più problematica la scelta del cut-off per escludere il deficit di ferro. Negli studi condotti il valore della ferritinemia che identifica la sideropenia è variabile: alcuni studi propongono un limite di **30 $\mu\text{g/L}$** , altri di **75 $\mu\text{g/L}$** .

Vengono proposti valori cut-off per la sideropenia più elevati nell'anziano che nel giovane per effetto del più frequente sviluppo di malattie infiammatorie o neoplastiche.

Un'altra condizione in cui la determinazione sierica della ferritina ha scarso valore diagnostico è nelle situazioni di carenza funzionale di ferro, in cui si ha un'eritropoiesi ferro-carente perché la velocità di sottrazione del ferro transferrinico da parte dell'eritrone supera la velocità di immissione in circolo del ferro dai depositi, anche se normali o aumentati. Questa discrepanza tra disponibilità e richieste di ferro midollare si verifica tipicamente quando l'eritropoiesi è fortemente stimolata come nei soggetti trattati con EPO o dopo terapia endovenosa di ferro.

Infatti, in soggetti sani trattati con EPO anche in associazione a terapia endovenosa con ferro si ha una rapida caduta della ferritinemia a valori inferiori dal 50 al 70% del livello base; in questi soggetti già valori di ferritina $<100 \mu\text{g/L}$ si associano a deficit funzionale di ferro e ridotta risposta all'EPO. Sfortunatamente non è possibile l'utilizzo della ferritina come marker predittivo di risposta alla terapia con EPO in quei pazienti che presentano livelli base di ferritina "inappropriatamente alti" come avviene nei pazienti dializzati e nei soggetti anemici con malattie neoplastiche.

Recettore solubile della transferrina (sTfR)

Molti 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 della transferrina** come indice del fabbisogno tissutale di ferro.

Il valore del recettore solubile rispecchia principalmente l'attività eritroide: è ridotto nei casi di ipoplasia eritroide (anemia aplastica, chemioterapia, insufficienza renale) mentre è aumentato nell'iperplasia (anemie emolitiche, talassemie).

La diagnosi differenziale tra IDA (iron deficiency anemia) e ACD (anemia of chronic disease) può essere fatta agevolmente, ma le cose appaiono più complesse quando l'ACD si accompagna con un reale 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.

La sintesi intracellulare e di conseguenza i livelli sierici del recettore aumentano sensibilmente nella carenza di ferro (da tre a quattro volte la norma).(6)

Pertanto, in assenza di condizioni di iperplasia eritroide, l'aumento del recettore solubile è espressione di deficit di ferro a livello dell'eritroide.

I livelli di recettore solubile della transferrina risultano invece normali negli stati flogistici cronici.

Risulta quindi particolarmente utile nel discriminare tra pazienti con carenza di ferro (IDA e forme combinate IDA+ACD), in cui il valore è generalmente aumentato, e quelli senza carenza di ferro (ACD) in cui il valore è generalmente normale.

Nel corso degli anni '90 numerosi studi hanno verificato il valore clinico del recettore della transferrina in diverse situazioni, in particolare 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.

Il recettore solubile della transferrina è un marker di deficit tissutale di ferro e riflette l'entità dell'eritropoiesi.

Quindi l'interpretazione clinica del recettore solubile della transferrina è condizionata dalla relazione tra stato del ferro e livelli di sTfR, che nei pazienti con malattie infiammatorie dipenderà dalla severità dello stato flogistico coesistente e soprattutto dal grado di inibizione dell'eritropoiesi.

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 spiegare i risultati spesso contrastanti. (7)

RACCOMANDAZIONI

- *L'impiego della **richiesta isolata di sideremia NON trova giustificazione**, poichè essa da sola non è un parametro specifico di sideropenia, è soggetta ad estrema variabilità e costituisce una misura incompleta dell'assetto marziale.*
- *La transferrinemia o total iron binding capacity (TIBC), se isolatamente considerata, non rappresenta un indicatore completo dell'assetto marziale.*
- *La **ferritinemia** è un indicatore accurato dei depositi marziali nell'organismo ed è il **parametro di laboratorio che, pur preso da solo, consente meglio degli altri parametri l'identificazione della condizione di sideropenia.** (8-9) Essa consente inoltre la verifica della correzione della sideropenia dopo opportuna reintegrazione marziale.
*La ferritinemia in base alle evidenze scientifiche è dunque **l'unico marcatore laboratoristico indispensabile per la definizione della sideropenia.****
- *Limiti della ferritinemia nella definizione dello stato carenziale di ferro sono gli stati flogistici cronici e le patologie neoplastiche, ove livelli elevati della ferritinemia, correlati al sequestro macrofagico di ferro, si accompagnano ad inadeguato sviluppo dell'eritroide (anemia da disordini infiammatori cronici).*
- *Il ricorso al dosaggio del recettore solubile della transferrina va limitato solo al percorso diagnostico differenziale tra anemia sideropenica e anemia da stati infiammatori cronici, in combinazione con la richiesta della ferritinemia. I livelli di sTfR sono ridotti nella sideropenia e normali negli stati flogistici. La mancanza di standardizzazione del dosaggio di tale parametro NON ne rende tuttavia giustificabile la richiesta routinaria.*

Bibliografia

1. Cook JD, Finch CA, Smith NJ. Evaluation of the iron status of a population. *Blood* 1976; 48:449-55.
2. Goodnough LT, Skikne B, Brugnara C. Erythropoietin, iron and erythropoiesis. *Blood* 2000; 96:823-33.
3. Birgegard G, Hogman C, Killander A, et al. Serum ferritin and erythrocyte 2,3-DPG during quantitated phlebotomy and iron treatment. *Scand J Haematol.* 1977; 19:327-33.
4. Cook JD, Lipschitz DA, Miles LEM, et al. Serum ferritin as a measure of iron stores in normal subjects. *Am J Clin Nutr* 1974; 27:681-7.
5. Olsson KS, Marsell R, Ritter B, et al. Iron deficiency and iron overload in Swedish male adolescents. *J Intern Med* 1995; 237:187-94.
6. Huebers HA, Beguin Y, Pootrakul P, et al. Intact transferrin receptors in human plasma and their relation erythropoiesis. *Blood* 1990; 75:102-7.
7. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem* 2003; 49:1573-8.
8. Guyatt GH, Patterson C, Ali M, Singer J, Levine M, Turpie I, et al. Diagnosis of iron deficiency anemia in the elderly. *Am J Med* 1990; 88:205-9.
9. Guyatt GH, Oxman AD, Willan A, McIlroy W, Patterson C. Laboratory diagnosis of iron deficiency anemia: an overview. *J Gen Intern Med* 1992; 7:145-53.
10. Doretto P, Cappelletti P. La diagnosi di laboratorio dell'anemia sideropenica RIMeL / IJLaM 2008; 4