

## Recettori solubili della transferrina: anemie da carenza di ferro e da malattia cronica

Umberto Occhiuzzi

Laboratorio di "Patologia Clinica", Ospedale Civile di Avezzano, ASL Avezzano-Sulmona, 67051 Avezzano (AQ)

### ABSTRACT

#### Soluble transferrin receptor: iron deficiency and chronic disease anaemias

The aim of this study was to assess the possible role of serum sTfR and sTfR/logFerritin ratio for the differential diagnosis between iron deficiency anaemia (IDA) and anaemic chronic disease. We studied 30 anaemic patients. 15 of them were also affected by kidney chronic insufficiency or tumour or rheumatoid arthritis. As a control group we included in the study 10 additional patients without anaemia or other chronic and acute diseases. The study showed a close connection between sTfR increase in serum and IDA; furthermore the ratio sTfR/logFerritin in blood is a stronger indicator to make a differential diagnosis between ACD and IDA.

### RIASSUNTO

Lo scopo di questo lavoro era di verificare le possibilità offerte dalla determinazione del recettore solubile della transferrina (sTfR) del siero e del rapporto sTfR/log ferritinemia per differenziare anemie da carenza di ferro (IDA) e anemie da malattia cronica (ACD). A tal fine sono stati studiati trenta pazienti anemici. Quindici di questi, oltre che anemici, risultavano essere affetti da insufficienza renale cronica o patologia tumorale o artrite reumatoide. Inoltre sono stati studiati, come controlli, dieci pazienti esenti da anemia e/o patologie croniche o acute. Dal presente studio si è evidenziato come l'IDA determini un aumento dell'sTfR e come l'sTfR sia utile elemento diagnostico per differenziare l'IDA da ACD. Il potere diagnostico differenziale aumenta considerevolmente utilizzando l'indice sTfR/logFerritina.

### INTRODUZIONE

Il recettore della transferrina (TfR) è una glicoproteina di transmembrana che lega la transferrina diferrica inducendo la captazione del ferro nella cellula attraverso un'endocitosi mediata dal recettore stesso. Tutte le cellule del corpo umano presentano TfR sulla loro superficie, ma il 75-80% di TfR si trova nei precursori eritroidi del midollo osseo. Tessuti con densità relativamente alta di TfR sono anche il fegato e la placenta. La struttura primaria del TfR è stata ottenuta con un gene clonato ubicato, insieme con quello della transferrina, sul cromosoma 3. Il recettore è composto da due subunità identiche, ognuna di 95 kDa; ogni subunità lega una molecola di transferrina diferrica ed ha una catena oligosaccaridica. Ciascuna unità polipeptidica contiene un segmento di transmembrana di 28 residui aminoacidici, un dominio citoplasmatico N-terminale con 61 aminoacidi ed un grande dominio extracellulare C-terminale con 671 aminoacidi. Il recettore è legato covalentemente all'acido palmitico ed è fosforilato.

Il recettore solubile della transferrina (sTfR) presente nel siero è generato da un clivaggio extracellulare ed è proporzionale alla concentrazione del recettore sulla cellula. E' ottenuto per proteolisi del TfR e da ogni molecola di quest'ultimo si ottengono due singole molecole di sTfR di 75 kDa. Fonte principale di sTfR sono le cellule del tessuto emopoietico del midollo osseo ed i reticolociti circolanti; altri tessuti come il fegato e la placenta, pur

presentando una notevole quantità di recettore, contribuiscono solo in parte alla quantità di sTfR circolante (1-6). La concentrazione di sTfR nel siero è strettamente correlata al numero dei recettori presenti sulla superficie cellulare (6,7).

Quando un soggetto si trova in carenza di ferro presenta un maggior numero di recettori sulla superficie cellulare e parallelamente un maggior numero di recettori solubili circolanti. Studi approfonditi hanno dimostrato che, in caso di carenza di ferro, i valori di sTfR raddoppiano rispetto al valore medio riscontrato in soggetti sani. Nei casi di artrite reumatoide e di altri stati infiammatori vengono diagnosticati frequentemente episodi di anemia e l'importanza di potere effettuare una diagnosi differenziale è fondamentale. La misura della ferritina del siero, eseguita routinariamente in tutti i laboratori, non è in grado di evidenziare questa differenziazione; infatti è risaputo che la ferritina del siero aumenta negli stati infiammatori rendendone complicato l'utilizzo come marker di anemia da carenza di ferro (IDA) nei casi di infiammazione acuta e/o cronica.

Numerosi studi indicano che l'IDA e stati di carenza di ferro sono diagnosticati efficacemente misurando la concentrazione del recettore solubile della transferrina nel siero (8-12). Inoltre la determinazione del TfR è utile nelle condizioni fisiologiche in cui vi sia esaurimento delle riserve di ferro, rendendo difficile diagnosticare una eritropoiesi

ferro-carente da una semplice riduzione delle scorte di ferro. Sono queste le situazioni facilmente riscontrabili durante l'infanzia e la gravidanza (in questo caso l'emoglobina diminuisce fisiologicamente), dove le riserve di ferro si esauriscono senza induzione di una eritropoiesi ferro-carente. In questi casi i valori dell'sTfR aumentano solo se vi è una carenza di ferro tissutale che induce una eritropoiesi da carenza di ferro (IDE), patologia che richiede un intervento farmacologico tempestivo (13-15). Altro parametro da poter utilizzare è il rapporto sTfR / log ferritinemia (3,4,8,15,16).

Studi recenti sull'sTfR possono inoltre farne prevedere un uso prognostico riguardante il risultato delle terapie con eritropoietina ricombinante (rHuEpo), in casi di anemie da malattia renale cronica, anemie in pazienti portatori di malattia neoplastica, malattie reumatiche, AIDS. (10,16). In questa stessa ottica l'sTfR può costituire, insieme all'ematocrito, un buon parametro indiretto per valutare l'eventuale abuso di eritropoietina esogena in medicina dello sport. (17-23).

Il presente lavoro ha lo scopo di dare un contributo alle ricerche in atto verificando la capacità della concentrazione di sTfR del siero e dell'indice sTfR/log ferritinemia nel differenziare tra anemia da carenza di ferro (IDA), anemie da malattia cronica (ACD) e anemia da carenza di ferro associata a malattia cronica (COMBI).

## MATERIALI E METODI

I pazienti esaminati sono stati selezionati tra quelli afferenti al presidio ospedaliero di Avezzano della ASL Avezzano-Sulmona. Le determinazioni dei parametri ematologici sono state eseguite presso il laboratorio di patologia clinica dello stesso ospedale. Ai fini diagnostici ci si è avvalsi della collaborazione dei medici di reparto dei pazienti in studio.

Sono stati studiati 30 pazienti anemici selezionati per avere l'emoglobina (Hb) inferiore a 12 g/dL le donne e inferiore a 14 g/dL gli uomini e/ o per avere la sideremia inferiore ai valori di riferimento e/o il volume corpuscolare medio (MCV) e l'emoglobina corpuscolare media (MCH) inferiori alla norma 15 di questi, oltre che anemici, risultavano essere affetti da insufficienza renale cronica oppure patologia tumorale o da artrite reumatoide.

Come controllo normale sono stati studiati 10 pazienti esenti da anemie e/o da patologie croniche o acute.

Per tutti i pazienti suddetti, sani ed anemici, sono stati determinati i seguenti parametri ematologici e biochimici.

**Tabella 1**

Valori medi dei parametri ematologici studiati nei differenti gruppi

Gruppo	Emoglobina g/dL	MCV fL	MCH Pg	Ferro µg/dL	PCR mg/L	Tranferrina mg/dL	Ferritina ng/mL
Normali	13,9	88,1	30,6	106	1,3	256	141,1
IDA	9,8	68,7	22,2	22	2,6	358	11,4
COMBI	10,1	75,1	24,7	31	32,2	239	57,1
ACD	10,6	82,9	28,5	25	80,6	189	297,8

Emoglobina (Hb), volume corpuscolare medio (MCV), ed emoglobina corpuscolare media (MCH), determinati con contaglobuli automatico. Ferro del siero, misurato con analizzatore automatico in chimica secca. Proteina C-reattiva (PCR) e transferrina (TRF), misurate con sistema nefelometrico automatico con tecnica di agglutinazione al lattice sensibilizzato con anticorpi. Ferritina del siero, determinata con metodo immunochimico in chemiluminescenza diretta a due siti (sandwich).

Nei medesimi pazienti si è misurata la concentrazione di recettori solubili della transferrina (sTfR) nel siero, ed è stato calcolato il rapporto sTfR/log Ferritina (dove log indica il logaritmo in base 10).

I recettori solubili della transferrina del siero sono stati determinati in chemiluminescenza con una metodica prodotta di recente dal "Nichols Institute Diagnostics" (commercializzata in Italia dalla ditta Byk-Gulden-Sangetec), adatta alle esigenze routinarie dei laboratori ospedalieri e non. La determinazione di tipo "sandwich" può essere effettuata su siero, plasma eparinato o su plasma EDTA: nel nostro laboratorio è stata effettuata su analizzatore automatico LIASON della ditta Byk Gulden, analizzando in doppio ogni campione, controllo o standard. La calibrazione avviene su due punti per ricalcolo su una curva a 10 punti fornita dalla ditta. I due standards usati contengono antigene purificato da pool di siero/plasma umano. Come controllo di qualità sono stati usati tre sieri a titolo noto con valore basso, medio e alto. I risultati sono espressi in nmol/L, ove 1 nmol/L = 0,1476 mg/L. La sensibilità dichiarata del metodo è di 0,1 nmol/L. La imprecisione analitica entro le serie, come CV medio dalle coppie di valori, è risultata essere 2,87%.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

I 40 pazienti inclusi nello studio (30 anemici più 10 normali) sono stati divisi in quattro gruppi: normali (n=10); anemia da carenza di ferro (IDA, n=15); anemie da malattia cronica (ACD, n=10); anemia con malattia cronica associata (COMBI, n=5). Per ognuno dei quattro gruppi sono stati calcolati i valori medi dei parametri ematologici utilizzati per la caratterizzazione del tipo e del grado di anemia e per la valutazione della presenza di varie patologie (malattie infiammatorie, tumorali, croniche) comportanti un possibile stato anemico (PCR) (tabella 1). Per le grandezze oggetto dello studio (sTfR e sTfR/logFerritina) sono state calcolate le medie, le deviazioni standard e gli intervalli  $m \pm 2DS$  (tabella 2). Per il gruppo IDA tali statisti-

**Tabella 2**

Parametri statistici relativi alle grandezze oggetto dello studio, rispettivamente concentrazione di sTfR e rapporto sTfR/Log Ferritina, nei differenti gruppi

Gruppo	sTfR				sTfR/logFerritina			
	n	m	DS	m±2DS	n	m	DS	m±2DS
Normali	10	20	3,3	13,4±26,6	10	10	2,6	4,8±15,2
IDA	15	69	29,9	9,2±128,8	15	71,8	26,7	18,4±125,2
IDA*	12	54,2	15,6	23,0±85,4	12	57,5	16,8	23,9±91,1
COMBI	5	42	13,7	14,6±69,4	5	24,4	5,4	13,6±25,2
ACD	10	16	5,6	4,8±27,2	10	6,7	2,3	2,1±11,3

\*dopo esclusione di 3 soggetti con valori aberranti di sTfR

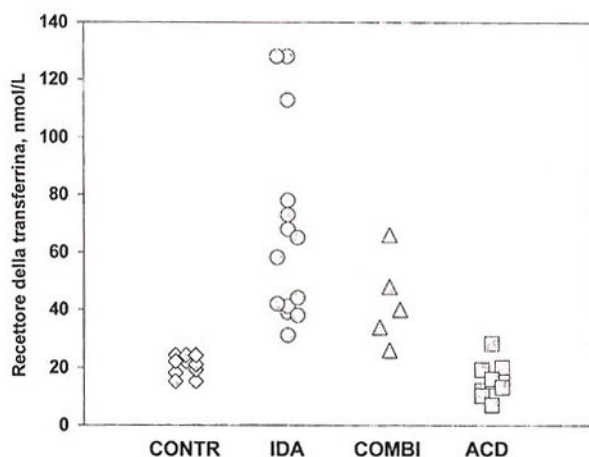
che sono state calcolate per l'intero gruppo (n = 15) ed anche dopo l'eliminazione di 3 valori abnormemente alti di sTfR che, pur non destando alcun problema a livello diagnostico, modificano sensibilmente la media e la deviazione standard dei parametri esaminati

I singoli valori di concentrazione di sTfR e del rapporto sTfR/logFerritina, nei differenti gruppi, sono riportati graficamente nelle figure 1 e 2, per meglio evidenziare il potere discriminante di tali parametri tra le tre patologie prese in esame. Da tali grafici si evidenzia infatti come i pazienti con anemia da malattia cronica hanno valori di sTfR al di sotto od ai limiti inferiori dell'intervallo di riferimento (8,9±27,7 nmol/L), e si differenziano bene da quelli con anemia da carenza di ferro tutti con valori superiori al medesimo intervallo. Tuttavia alcuni valori riferiti a pazienti con ACD si sovrappongono o sono molto vicini a quelli di pazienti con COMBI o IDA, il che indica un valore non completamente predittivo dell'sTfR in questo gruppo. Os-

servando invece la figura 2, si vede chiaramente come il rapporto sTfR/logFerritina sia molto più predittivo del semplice valore dell'sTfR nel discriminare l'ACD dall'IDA e dalla COMBI: tutti i valori di indice sTfR/log Ferritina dei pazienti con ACD sono infatti < 11,4, con 9 valori su 10 inferiori a 9. I valori riferiti alla COMBI sono compresi tra 18 e 32, quelli riferiti all'IDA sono tutti > 31.

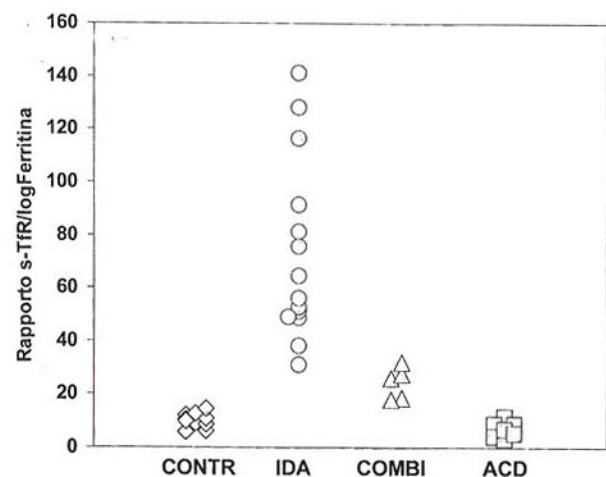
Dall'esame della tabella 2 si evidenzia ancora più chiaramente il maggior valore predittivo del rapporto sTfR/logFerritina rispetto al solo valore dell' sTfR specialmente dopo aver eliminato dal gruppo IDA i dati relativi a tre pazienti con valori abnormemente elevati di sTfR.

Per ciò che riguarda il rapporto sTfR/logFerritina, osservando gli intervalli media ±2 DS (rappresentanti il 95,45% dei campioni del gruppo in esame) si vede come per l'ACD non ci sia alcuna sovrapposizione con il gruppo COMBI e IDA, mentre tra il gruppo COMBI ed IDA corretto c'è solo una piccolissima sovrapposizione di dati (interval-



**Figura 1**

Valori di concentrazione del recettore solubile della transferrina, in nmol/L, nel siero dei soggetti appartenenti ai gruppi: gruppo di controllo (CONTR, n = 10); anemia da carenza di ferro (IDA, n = 15); anemia da carenza di ferro associata a malattia cronica (COMBI, n = 5); anemia da malattia cronica (ACD, n = 10)



**Figura 2**

Valori del rapporto (recettore solubile della transferrina)/(logFerritina) nei soggetti appartenenti ai gruppi: gruppo di controllo (CONTR, n = 10); anemia da carenza di ferro (IDA, n = 15); anemia da carenza di ferro associata a malattia cronica (COMBI, n = 5); anemia da malattia cronica (ACD, n = 10)

lo 13,6 - 25,2 per COMBI e 23,9 - 91,1 per IDA).

In conclusione, da questo studio si evidenzia come l'anemia da carenza di ferro determini un aumento dell'sTfR e come l'sTfR sia un utile elemento diagnostico per differenziare l'IDA dall'ACD. Il potere diagnostico differenziale aumenta considerevolmente quando si prende in considerazione l'indice sTfR/logFerritina, in accordo con la letteratura. Considerando la facilità con cui è possibile determinare in laboratorio l'sTfR e la non invasività della metodica, si può ipotizzare un uso routinario dello stesso (o meglio dell'indice sTfR/log Ferritina) nella differenziazione tra IDA e ACD, fermo restando l'utilizzo dell'esame dello striscio midollare per la ricerca del ferro nei casi in cui rimane un ragionevole dubbio nella diagnosi.

## BIBLIOGRAFIA

1. Feelders RA, Kuiper-Kramer EPA, van Eijk HG. Structure, function and clinical significance of transferrin receptors. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:1-10.
2. Cook JD, Skikne BS, Baynes RD. Serum transferrin receptor. *Ann Rev Med* 1993; 44: 63-74.
3. Allen J, Backstrom KR, Cooper JA, Cooper MC, Detwiler TC, et al. Measurement of soluble transferrin receptor in serum of healthy adults. *Clin Chem* 1998;44:35-9.
4. Kuiper-Kramer EPA, Baerts W, Bakker R, van Eyck J, van Raan J, van Eijk HG. Evaluation of the iron status of the newborn by soluble transferrin receptors in serum. *Clin Chem Lab Med* 1998;36:17-21.
5. Fuchs H, Lucken U, Tauber R, Engel A, Gessner R. Structural model of phospholipid-reconstituted human transferrin receptor derived by electron microscopy. *Structure* 1998; 6:1235-43.
6. Trowbridge IS, Newman RA, Domingo DL, Sauvage C. Transferrin receptors. Structure and function. *Biochem Pharmacol* 1984; 33:925-32
7. Cook JD, Baynes RD, Skikne BS. The physiological significance of circulating transferrin receptors. *Adv Exper Med Biol* 1994; 352: 119-26.
8. Punnonen K, Irjala K, Rajamaki A. Iron deficiency anemia is associated with high concentrations of transferrin receptor in serum. *Clin Chem* 1994;40:774-6.
9. Huebers, HA., Finch CA. The physiology of transferrin and transferrin receptors. *Physiol Rev* 1987;67: 520-82.
10. Adamson JW. The relationship of erythropoietin and iron metabolism to red cell production in humans. *Sem Oncol* 1994;21:9-15.
11. Fleming D, Wood RJ. Plasma transferrin receptor helps to predict iron deficiency in the anemia of chronic disease. *Nutr Rev* 1995;53: 167-75.
12. Lipschitz DA. The anemia of chronic disease. *J Am Geriatr Soc* 1990; 38:1258-64.
13. Bayness RD, Skikne BS, Cook JD. Circulating transferrin receptors and assessment of iron status. *J Nutr Biochem* 1994; 5:322.
14. Namanjeet Ahluwalia, M.S. Diagnostic utility of serum transferrin receptors measurement in assessing iron status. *Nutrition Reviews* 1998; Vol. 56, No. 5.
15. Suominen P, Punnonen K, Rajamaki A, Irjala K. Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits. *Blood* 1998;92:2934-9.
16. Cazzola M, Ponchio L, Pedrotti C, Farina G, Cerani P, et al. Prediction of response to recombinant human erythropoietin (rHuEpo) in anemia of malignancy. *Haematologica* 1996; 81:434.
17. Lippi G. Il ruolo del laboratorio nell'identificazione degli atleti dediti ad assunzione impropria di eritropoietina. *Med Lab* 1999;7:310-1.
18. Lippi G. Medicina di laboratorio e doping. *Biochim Clin* 1999;23:216-26.
19. Adamson JW, Vapner DV. Recombinant erythropoietin to improve athletic performance. *New Engl J Med* 1991; 324: 698-9.
20. Souillard A, Audran M, Bressolle F, Gareau R, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of recombinant human erythropoietin in athletes. Blood sampling and doping control. *Br J Clin Pharmacol* 1996;42:355-64.
21. Saris WHM, Senden JMG, Brouns F. What is a normal red-blood cell mass for professional cyclists? *Lancet*, 1998; 352:1758.
22. Gareau R, Gagnon MG, Thellend C, Chenard C, Audram M. Transferrin soluble receptor: a possible probe for detection of erythropoietin abuse by athletes. *Horm Metab Res* 1994; 26:311-2.
23. Bressolle F, Audram M, Gareau R, Baynes RD. Population pharmacodynamics for monitoring epoetin in athletes. *Clin Drug Invest* 1997;14:233-42.