

# La nuova diagnostica delle anemie microcitarie

ACHILLE IOLASCON, ANTONELLA GAMBALE, CRISTINA TORTORA, MARIASOLE BRUNO, LUIGIA DE FALCO

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università Federico II, Napoli;

CEINGE, Biotecnologie Avanzate, Napoli

*L'anemia microcitaria è di riscontro relativamente comune nel bambino e va sempre valutata rispetto ai valori di Hb e MCV "normali" per ciascuna fascia di età. Ha come principali cause una condizione di ferrocarenza (nutrizionale o da malassorbimento) o uno stato di talassemia eterozigote. Tuttavia esistono rare forme di anemia microcitaria, prevalentemente ereditarie, che devono essere sempre ipotizzate di fronte a una inadeguata risposta alla terapia con il ferro (orale o parenterale). Ora sappiamo quali sono, quando e come vanno ricercate.*

## ABBREVIAZIONI

<b>ACD</b>	Anemia da disordini cronici (Anemia of Chronic Disease)
<b>CHr</b>	Contenuto di Hb dei reticulociti
<b>Epo</b>	Eritropoietina
<b>FEP</b>	Protoporfirine libere eritrocitarie
<b>Hb:</b>	Emoglobina
<b>Hb A2</b>	Emoglobina A2
<b>Hb F</b>	Emoglobina Fetale
<b>IRIDA</b>	Anemia sideropenica refrattaria al trattamento con ferro
<b>IS</b>	Indice di saturazione della transferrina
<b>MCV</b>	Volume corpuscolare medio
<b>MICI</b>	Malattie infiammatorie croniche intestinali
<b>PPIX</b>	Protoporfirina IX
<b>RDW</b>	Indice di distribuzione dei volumi eritrocitari
<b>SA</b>	Anemia sideroblastica (Sideroblastic Anemia)
<b>TF</b>	Transferrina
<b>TfR</b>	Recettore della transferrina
<b>sTfR</b>	Recettore solubile della transferrina
<b>XLSA</b>	Anemia sideroblastica X-linked (X-Linked Sideroblastic Anemia)
<b>XLSAA</b>	Anemia sideroblastica X-linked con atassia (X-Linked Sideroblastic Anemia and Ataxia)

L'anemia microcitaria è la forma più comune di anemia. Essa è caratterizzata da MCV inferiore a 2 DS rispetto al valore medio per l'età<sup>1</sup>, ed è associata a un deficit di quantità e/o utilizzo del ferro nell'organismo (Tabella I). Tra le cause di anemia microcitaria, l'anemia sideropenica è la più comune. Tuttavia, esclusa quest'ultima, si pone l'esigenza di inquadrare correttamente il quadro

## NEW INSIGHTS ON MICROCYTIC ANEMIA DIAGNOSIS

(Medico e Bambino 2013;32: )

### Key words

Anemia, Microcytosis, Iron, Diagnosis

### Summary

Microcytic anemia is the most common form of anemia, characterized by MCV reduced, often associated with hypochromia of red blood cells. Among the causes of microcytic anemia, iron deficiency anemia is the most common. The latest scientific discoveries have allowed us to understand many of the rare forms of microcytic anemia: it was, in fact, found the defect of some proteins involved in iron metabolism. Diagnosis of microcytic anemia appears to be important in the child/adolescent, especially in order to set, where possible, a treatment on the basis of the etiology and pathogenesis. This diagnosis is simply and shortly expensively. In the differential diagnosis of microcytic anemias have to be suspected in the first instance: 1) iron deficiency anemia from malnutrition; 2) iron deficiency anemia from inadequate iron absorption; 3) thalassemia heterozygotes; 4) anemia of chronic disease; 5) related deficits. Useful for the differential diagnosis is the assessment of response to oral/ parenteral treatment with iron. After excluding the most common causes must be considered rare causes of anemia, mostly hereditary (anemia with ectopic production of hepcidin; sideroblastic anemias; porphyrias; anemias from deficiency of genes of iron metabolism).

clinico allo scopo di consentire l'impostazione di una terapia eziopatogenetica. Dati sperimentali hanno dimostrato che la presenza di emazie microcitarie è legata al numero delle divisioni mitotiche e alla velocità di sintesi dell'emoglobina. Infatti il raggiungimento di un valore critico di emoglobina nucleare induce l'inattivazione nucleare, inibendo la divisione cellulare. Ne deriva che cellule microcitarie possono essere prodotte quando occorre più tempo affinché venga raggiunta la concentrazione critica di emoglobina e, quindi, ci sono più divisioni cellulari<sup>2</sup>.

La riduzione della sintesi di Hb, a sua volta, può essere il risultato di un difetto

nella disponibilità/utilizzazione di ferro da parte dei precursori dei globuli rossi, un difetto nella sintesi dei geni globinici (es. talassemie) o nella sintesi dell'eme.

Clinicamente l'anemia può essere asintomatica o presentare manifestazioni cliniche estremamente specifiche quali pallore, astenia e, nei casi gravi, sintomi di tipo cardiovascolare (tachicardia, dispnea da sforzo, angina). Nei pazienti con anemia di lunga data possono insorgere colionichia (soprattutto nell'anemia sideropenica), glossite, secchezza delle fauci, talora alopecia, irritabilità, deficit di concentrazione e *restless leg syndrome*<sup>3</sup>. Solo nei bambini piccoli può essere presente anche

## DEFINIZIONI

**Anemia:** valore di Hb al di sotto di 2 DS rispetto al valore medio della popolazione normale dello stesso sesso e fascia di età (OMS).

**Anemia microcitica:** forma di anemia, caratterizzata da un MCV inferiore a 2 DS rispetto al valore medio per l'età.

**Sideropenia:** stato patologico in cui la quantità di ferro nell'organismo è insufficiente a sostenere le funzioni fisiologiche (AAP).

**Anemia sideropenica:** forma di anemia conseguente a uno stato di sideropenia.

la "pica", che si esprime con l'impulso a mangiare sostanze non edibili<sup>4</sup>.

L'aspecificità di questa condizione pone in essere la necessità di sospettare una forma di anemia in tutti i bambini e adolescenti che presentano tali sintomi. La diagnosi si può eseguire con relativa semplicità ed economicità.

Le ultime scoperte scientifiche hanno permesso di comprendere molte tra le forme rare di anemia microcitica, andando a individuarne la causa in nuove proteine interessate nel metabolismo del ferro. L'acquisizione di queste conoscenze permette di rivedere la diagnosi differenziale di questo gruppo di problematiche. Per comprendere queste forme rare è importante valutare nell'insieme il ruolo del ferro nell'organismo umano (Box 1)<sup>5-17</sup>.

## IL FERRO NELL'ORGANISMO IN ETÀ EVOLUTIVA

Il fabbisogno quotidiano di ferro è in gran parte dovuto alla produzione dei globuli rossi, per cui vengono richiesti circa 25 mg di ferro/die (in un individuo adulto): la quantità proviene solo in minima parte dall'assorbimento quotidiano (circa 1 mg), mentre tutto il resto è dovuto al riciclaggio del ferro proveniente dall'emocateresi<sup>18,19</sup>.

Negli organismi in età evolutiva bisogna tenere in considerazione che, per un incremento di 1 kg di peso corporeo, ci vogliono circa 50 mg di ferro. Per tal motivo durante tali fasi della vita la sideropenia e la conseguente anemia si possono instaurare più rapidamente.

In un neonato le scorte di ferro sono determinate soprattutto nelle ultime

## CONTENUTO DI FERRO NELL'ORGANISMO IN DIVERSE FASCE DI ETÀ

	Neonato (3,300 kg)	Bambino (35 kg)	Adulto (75 kg)
<b>Contenuto totale di ferro</b>	<b>240 - 250 mg</b>	<b>1,5 - 2 g</b>	<b>3 - 4 g</b>
<i>Emoglobina</i>	132 - 137,5 mg (55%)	1 - 1,4 g (68%)	2,04 - 2,72 g (68%)
<i>Ferritina</i>	101 - 105 mg (42%)	400 - 500 mg (27%)	0,81 - 1,08 g (27%)
<i>Mioglobina</i>	7 - 7,5 mg (3%)	60 - 80 mg (4%)	120 - 160 mg (4%)
<i>Enzimi</i>		9 - 12 mg (0,6%)	18 - 24 mg (0,6%)
<i>Transferrina</i>		15 - 20 mg (0,1%)	3 - 4 mg (0,1%)

Tabella I

settimane di gestazione. Ciò comporta che il ferro corporeo nel neonato a termine è pari a 75 mg/kg, di cui il 25% è costituito da ferro epatico di deposito. Il neonato prematuro presenterà valori più bassi, correlati all'età gestazionale.

Al momento del parto, un rifornimento di ferro all'organismo del neonato proviene dal passaggio di sangue placentare. L'entità di questo passaggio è condizionata dal momento in cui viene effettuato il clampaggio del funicolo ombelicale (in caso di clampaggio precoce il volume eritrocitario del neonato all'età di tre giorni si aggira sui 30 ml/kg, in caso di clampaggio tardivo sui 50 ml/kg).

Al momento della nascita vi è un elevato numero di emazie circolanti, dovuto all'ipossia relativa dell'ambiente intrauterino. La citoriduzione dei primi giorni di vita aumenta il deposito nel fegato di circa altri 37 mg di ferro.

Dopo la nascita, il migliorato stato di ossigenazione conduce a una riduzione dell'eritropoiesi, che dura 6-8 settimane. Il ferro derivante dalla degradazione dell'emoglobina, e non utilizzato per la nuova sintesi a causa della ridotta attività eritropoietica, si accumula nel fegato, e resta disponibile per la sintesi emoglobinica nei mesi seguenti.

I depositi di ferro costituiti durante la vita intrauterina, al momento del parto e nelle prime settimane di vita, consentono il mantenimento del fisiologico tasso di Hb senza che si abbia una deplezione dei depositi di ferro fino al 4° mese di vita. Tenendo conto delle perdite obbligatorie, del fabbisogno necessario a mantenere il tasso di Hb, l'entità dei depositi e l'aumento dei volumi dovuto all'accrescimento, il fabbisogno

del ferro per l'organismo del lattante viene indicato come pari a 0,8 mg/die. Di essi, 0,2 mg bilanciano le perdite e 0,6 mg le necessità dovute alla crescita.

Nel prematuro il fabbisogno di ferro è maggiore, oltre che per le ridotte riserve, anche per il più rapido ritmo di accrescimento. A causa di questo, i depositi di ferro dell'immaturo sono esauriti già verso il 2° - 3° mese di vita<sup>20</sup>.

## DIAGNOSI DELLE ANEMIE MICROCITICHE E DEGLI STATI FERROCARENZIALI

Le anemie microcitiche sono nella maggior parte legate al bilancio del ferro nell'organismo presentandosi, quindi, come il frutto di uno sbilanciamento nell'equilibrio di tale metallo. L'eziologia di tale condizione può essere molto variabile e la più comune è lo stato ferrocarenziale.

La sideropenia asintomatica può essere sospettata con una corretta valutazione dell'indice di saturazione della transferrina e della riduzione della ferritina sierica. La diagnosi di anemia microcitica, invece, si basa sul riscontro di anemia, associato a un valore di MCV < 80 fl nell'adulto o inferiore a 2 DS dal valore medio nelle diverse età pediatriche<sup>21</sup>.

Si tratta, quindi, di una diagnosi semplice, più complicata è invece la definizione eziologica. Il primo approccio consiste nella valutazione dell'emocromo completo e del bilancio marziale, attraverso gli analiti indicati in Tabella II.

Ovviamente i vari analiti vanno considerati nel complesso, anche se non tutti avranno la stessa sensibilità e specificità.

**Box 1 - OMEOSTASI DEL FERRO E SUA REGOLAZIONE**

Il ferro si trova nei cibi sotto forma di *ferro eme* o *non eme* (o *inorganico*). Il primo rappresenta circa il 10-15% del ferro introdotto con la dieta, ma, grazie alla sua elevata biodisponibilità, rappresenta più del 40% di quello assorbito. Il ferro inorganico, invece, può essere presente come ione ferroso (ione  $Fe^{2+}$ ) o come ione ferrico (ione  $Fe^{3+}$ ).

Il ferro, assunto con la dieta, viene assorbito dai villi degli enterociti duodenali<sup>5</sup>. Quello *eme* viene assorbito in modo diretto dall'enterocita tramite l'*heme carrier protein 1* (HCP1)<sup>6</sup>. In seguito un'eme-ossigenasi (HMOX) determina il catabolismo del gruppo eme, con il rilascio del ferro che, si ipotizza, entra nello stesso pathway del ferro inorganico<sup>7</sup>.

Il **ferro inorganico**, invece, si presenta principalmente sotto forma di ione  $Fe^{3+}$  e, per essere trasportato attraverso l'epitelio intestinale, deve essere ridotto a ione  $Fe^{2+}$  dal citocromo b duodenale, DCYTB<sup>8</sup>. Tale riduzione consente quindi il trasporto attraverso la membrana apicale degli enterociti mediante DMT1, un cotrasportatore di protoni e ferro. A questo punto il ferro può essere immagazzinato nella ferritina all'interno degli enterociti o esportato attraverso la membrana basolaterale alla circolazione sanguigna grazie alla ferroportina (FPN)<sup>9</sup>. In circolo viene legato alla transferrina (Tf), dopo essere stato ossidato nuovamente a  $Fe^{3+}$  dall'efestina o dalla ceruloplasmina (Figura 1)<sup>10</sup>.

La transferrina viene captata dai vari tessuti attraverso due recettori (TfR1 e TfR2). In seguito al legame col recettore, il complesso recettore-transferrina- $Fe^{3+}$  è internalizzato nelle cellule tramite vescicole di clatrina. A livello endosomiale una pompa protonica ATP-dipendente abbassa il pH, favorendo così il rilascio del ferro. L'ambiente acido permette alla transferrina libera (apo-Tf) di rimanere legata al suo recettore formando un complesso che viene trasportato sulla membrana cellulare per essere riciclato. Il ferro, invece, ridotto a  $Fe^{2+}$  da STEAP3<sup>11</sup>, passa attraverso la membrana endosomiale ed entra nel citoplasma tramite DMT1. Nel citosol delle cellule eritroidi gran parte del ferro sarà trasferito ai mitocondri, probabilmente attraverso la mitoferrina<sup>12,13</sup>. Nei mitocondri il ferro viene inserito nella protoporfirina IX (PPIX) a formare l'eme, mediante una reazione catalizzata dall'enzima ferrochelatasi, o utilizzato per la formazione dei clusters ferro-zolfo, reazione che richiede l'intervento di un complesso di enzimi non ancora ben caratterizzato nei mammiferi<sup>14</sup>.

Altra fonte di ferro è il suo riciclo endogeno, in cui giocano un ruolo fondamentale i macrofagi tissutali, in particolar modo quelli della milza e del fegato. Queste cellule fagocitano i globuli rossi senescenti e re-introducono il ferro nel plasma, fornendo in tal modo 20-25 mg di ferro necessari per la produzione giornaliera di nuovi eritrociti (Figura 2).

L'assorbimento e l'omeostasi del ferro devono essere finemente regolati, sia a livello cellulare che sistemico, in quanto è un elemento necessario ai processi biologici, ma potenzialmente dannoso per la formazione di specie reattive.

I meccanismi che regolano l'assorbimento intestinale e la distribuzione tissutale sono: a) biodisponibilità del ferro; b) eritropoiesi accelerata; c) ipossia; d) infiammazione. Uno dei principali regolatori che interviene in questi processi è l'*epcidina*, proteina prodotta dal fegato, secreta nel plasma ed eliminata dai reni<sup>15</sup>. Quest'ultima sembra essere un regolatore negativo dell'assorbimento intestinale di ferro e del rilascio del metallo da parte dei macrofagi. Infatti, il sovraccarico di ferro e l'infiammazione ne aumentano la produzione; una diminuzione della sua espressione, invece, si ha in casi di deficit di ferro, nell'ipossia e nell'eritropoiesi accelerata<sup>16</sup>.

Esistono anche regolatori negativi dell'espressione di epcidina, tra cui *TMPRSS6*, una serin-proteasi di membrana che agisce attraverso il clivaggio di hemojuvelin (HJV) sulla membrana degli epatociti, spegnendo il segnale attivatorio dell'epcidina<sup>17</sup>.

Oltre alla quota di ferro necessaria ai processi biologici, bisogna considerare quella necessaria a compensare le perdite obbligatorie. Queste sono costituite dal ferro perso attraverso l'esfoliazione di cellule del tubo gastroenterico, della cute e, in misura minore, delle vie urinarie. In un individuo adulto sano di sesso maschile del peso di 70 kg tali perdite sono pari a 0,98 mg/die, e a 0,77 mg in una donna adulta del peso di 55 kg. Questi valori corrispondono a 0,5 mg/m<sup>2</sup> di superficie corporea. Nel bambino del primo anno di vita tali valori sono molto bassi in assoluto, pari a 0,2 mg/die, ma possono avere variazioni più importanti che nell'adulto, soprattutto in rapporto all'alimentazione. Nelle adolescenti mestruate va considerata, in aggiunta, la perdita di 15-25 mg di ferro per ogni ciclo mestruale.

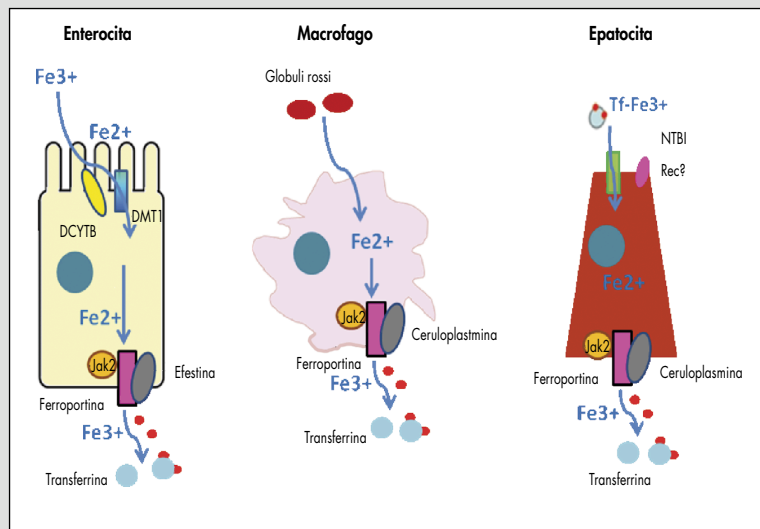


Figura 1. Regolazione dell'omeostasi del ferro nell'organismo.

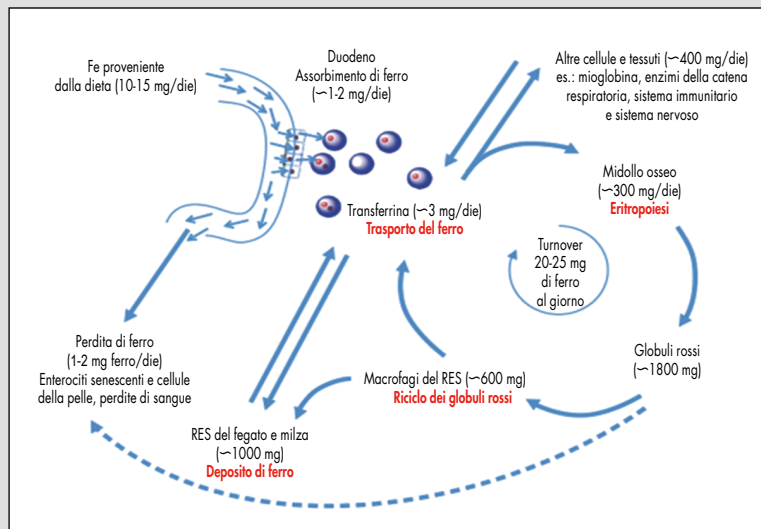


Figura 2. Distribuzione del ferro nell'organismo.

Utile alla diagnosi differenziale è anche il trattamento orale/parenterale di ferro: la risposta a tale trattamento, infatti, pone in essere la diagnosi *ex adiuvantibus* di sideropenia.

In primo luogo le cause eziologiche vanno classificate in due gruppi: uno di cause comuni, che vanno prese immediatamente in considerazione (Tabella III), e un secondo di cause rare (Tabella IV, Figura 3), da considerare secondariamente.

### ANALITI UTILI PER LA DIAGNOSI DI ANEMIA MICROCITICA

#### Indagine

GR

Hb

MCV

RDW

Reticolociti

Indice di saturazione TF

Sideremia

Ferritina

FEP

CHr

sTfR

Hb F

Hb A2

Tabella II

#### Cause comuni

A questo gruppo appartengono problematiche principalmente di natura acquisita/multifattoriale. Tra queste in particolare:

- **Sideropenia legata a deficit nutrizionali:** si tratta di un bambino con malnutrizione qualitativa/quantitativa;

- **Sideropenia legata a deficit di assorbimento:** molto comune, in età pediatrica, è la celiachia (prevalenza 0,4-1%)<sup>22</sup>, in cui il difetto di ferro può rappresentarne il sintomo iniziale. Altre cause comuni sono le MICI, mentre più rara è l'acloridia gastrica. È possibile distinguere il deficit nutrizionale da quello di assorbimento in base alla presenza o meno di risposta alla terapia orale con ferro.

- **Talassemia eterozigote:** nei soggetti che presentano il *trait talassemico* è possibile una lieve anemia microcitica. Per differenziare tale condizione dall'anemia sideropenica occorre valutare il bilancio marziale, generalmente normale nella talassemia<sup>23</sup>.

- **ACD (Anemia Chronic Disease):** in questo gruppo rientrano tutte quelle patologie caratterizzate da uno stato infiammatorio di lunga durata (patologie neoplastiche, reumatiche, MICI). La patogenesi è multifattoriale e include la ridotta increzione di eritropoietina, la parziale soppressione dell'eritropoiesi per effetto di citochine infiammatorie, una

lieve emolisi e il sequestro macrofagico del ferro, l'eccessiva produzione di epidina<sup>24</sup>. Utile ai fini della diagnosi è la determinazione degli indici di infiammazione. Tra questi, però, la ferritina rappresenta un indice particolare in quanto è sia una proteina di fase acuta che un indice dei depositi di ferro. In questo caso gli altri parametri del bilancio marziale, soprattutto l'indice di saturazione della transferrina, CHr e TfR1, saranno utili per valutare un eventuale deficit di ferro, in quanto non influenzati dallo stato infiammatorio<sup>15</sup>.

- **Sideropenia relativa che si instaura nel corso di trattamento con eritropoietina:** nei bambini trattati per insufficienza renale frequentemente si instaura una sideropenia relativa, causata dall'aumentata e immediata richiesta data dallo stimolo eritropoietico<sup>25</sup>.

Va precisato che tali eziologie possono coesistere nello stesso paziente andando a peggiorare il difetto e complicare la diagnosi.

#### Cause rare

Le condizioni di anemia finora descritte coprono la maggior parte dei casi. Tuttavia, escluse queste ultime, andranno considerate le eziologie più rare, prevalentemente ereditarie.

- **Anemia da iperproduzione ectopica di**

### DIAGNOSI DIFFERENZIALE DI SIDEROPENIA, ANEMIE SIDEROPENICHE E MICROCITICHE: CAUSE PIÙ FREQUENTI

	Deficit nutrizionale	Deficit di assorbimento	Talassemia eterozigote	ACD	ACD+sideropenia
Hb	-	-	= / -	-	--
MCV	-	-	-	-	-
GR	-	-	+	-	--
RDW	=	=	= / +	= / +	+
Reticolociti	-	-	= / +	= / +	= / + / -
IS	- / --	- / --	=	= / -	-
Ferritina	= / -	= / -	=	=	= / -
FEP	= / +	= / +	=	=	= / +
sTfR	+	+	+	=	= / +
CHr	-	-	= / -	-	--
Risposta somministrazione per os	Presente	Assente	Assente	Non prevedibile	Parziale
Risposta somministrazione ev	Presente	Presente	Assente	Non prevedibile	Parziale
Ereditarietà	Acquisita	Acquisita/ Multifattoriale	AR	Multifattoriale	Multifattoriale
Terapia suggerita	Supplemento orale di ferro	Terapia eziologica/ Somministrazione ev se anemia grave	Non necessaria	Terapia eziologica laddove possibile (EPO, ferro per ev)	Terapia eziologica + supplemento orale di ferro

Tabella III

<b>DIAGNOSI DIFFERENZIALE DI SIDEROPENIA, ANEMIE SIDEROPENICHE E MICROCITICHE: CAUSE MENO FREQUENTI (DISTURBI EREDITARI)</b>									
	IRIDA	Protoporfiria eritropoietica	Anemia sideroblastica X-linked	Anemia sideroblastica X-linked con atassia	Anemia microcitica simil-sideroblastica (GLRX5)	Deficit di DMT1	ipoTransferrinemia	αCeruloplasminemia	Deficit di Steap3
Hb	- / - -	-	-	-	- - - (età dipendente)	- -	-	-	- - -
MCV	- -	- -	-	-	- -	- - -	- -	-	-
GR	- -	-	-	-	-	-	-	-	- -
RDW	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Reticolociti	-	-	-	-	-	-	-	-	- - -
IS	- - / - - -	+	+	+	+	++	100%	+	++
Ferritina	= / -	=	=	=	=	+	=	+	+++
FEP	++	+++	= / -	= / -	=	+	=	=	+
Risposta somministrazione per os	Assente	Non applicabile	Assente	Assente	Non applicabile	Assente	Assente	Presente	Non applicabile
Risposta somministrazione ev	Presente ma non duratura	Non applicabile	Assente	Assente	Non applicabile	Assente	Assente	Presente	Non applicabile
Ereditarietà	AR	AD/AR	X-linked	X-linked	AR	AR	AR	AR/AD	AR
Terapia suggerita	Non ancora attuabile	β-carotene	Vit B6	Vit B6	Ferro-chelazione	EPO	Plasma/ apotransferrina	Ferro-chelazione	EPO, Ferro-chelazione

Tabella IV

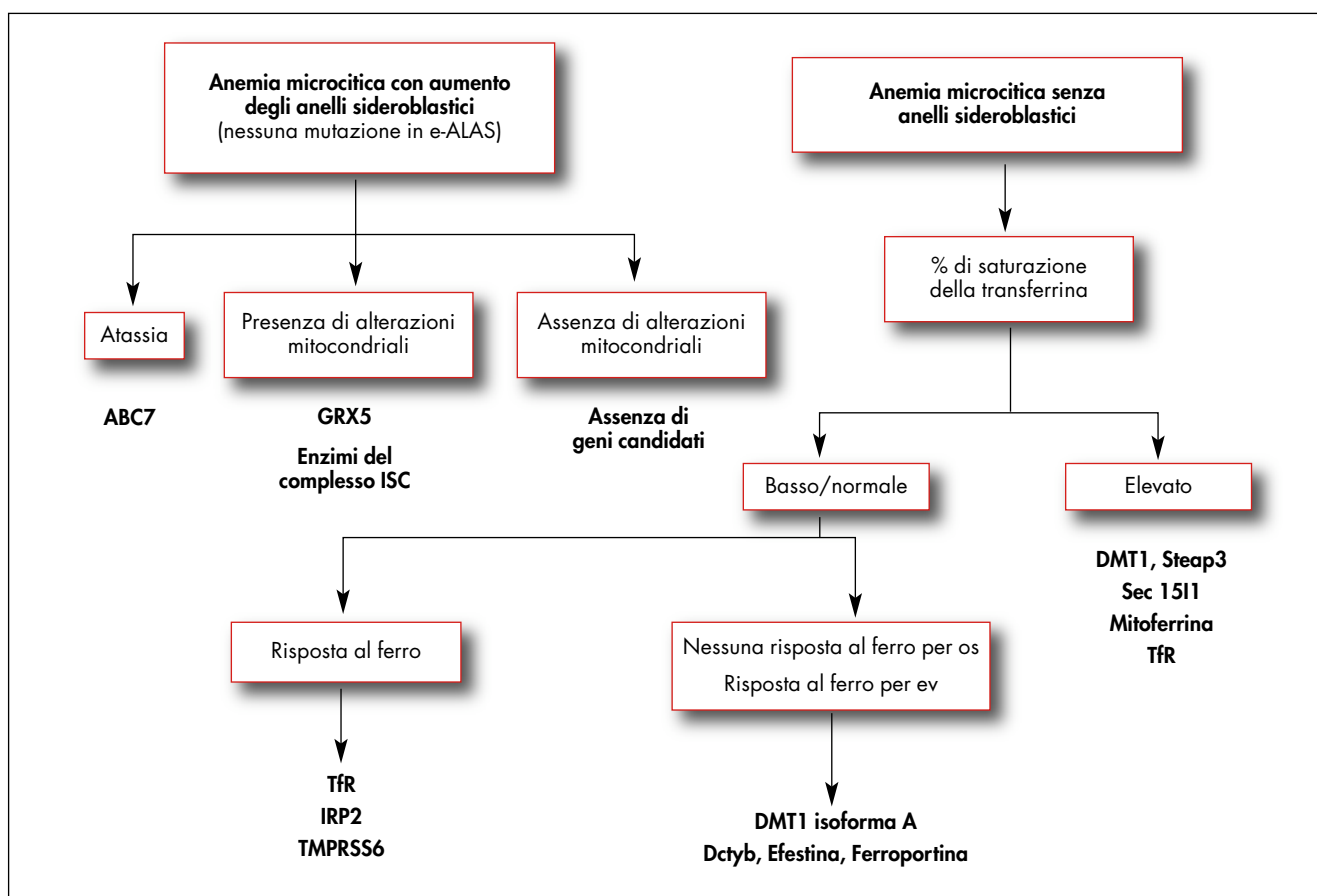


Figura 3. Flow chart della diagnosi differenziale delle cause rare di anemia microcitica.

*epcidina*: anemia microcitica estremamente rara, presente in pazienti con adenomi epatici ipersecernenti epcidina. È caratterizzata da anemia moderata, simile all'ACD, che risponde alla rimozione dell'adenoma<sup>26</sup>.

- **Anemie sideroblastiche (SA)**: sono un gruppo di disordini caratterizzati da anelli sideroblastici (granuli densi di ferro) presenti nei precursori eritroidi. Questi ultimi non devono essere confusi con i sideroblasti, i quali si ritrovano anche in soggetti normali. La microscopia elettronica ha mostrato che i normoblasti contenenti gli anelli sideroblastici presentano mitocondri carichi di ferro, con una particolare distribuzione perinucleare. Questi pazienti hanno anemia microcitica ipocromica, conseguente a un difetto nella sintesi dell'eme.

- **Anemia sideroblastica X-linked (XL-SA)**: è la forma più frequente di anemia sideroblastica ereditaria, causata da mutazioni nel gene *ALAS2*. I maschi affetti presentano anemia microcitica e sovraccarico di ferro. La patologia è a esordio neonatale, ma può presentarsi anche in età più avanzata. Negli eritroblasti diminuisce la sintesi dell'eme, portando a una riduzione della protoporfirina IX. L'eritropoiesi inefficace stimola l'assorbimento intestinale di ferro e il suo conseguente accumulo. La risposta al trattamento con piridossina è variabile<sup>27,28</sup>.

- **Anemia sideroblastica X-linked con atassia (XLSA/A)**: è una rara forma sindromica con un quadro ematologico simile all'XLSA e atassia (dovuta al danno mitocondriale conseguente all'accumulo di ferro)<sup>29</sup>.

- **Anemia microcitica simil-sideroblastica**: estremamente rara, è legata a mutazioni nel gene *GRX5*. Il paziente presenta anemia microcitica moderata con sovraccarico di ferro e un numero ridotto di anelli sideroblastici. L'uso dei chelanti del ferro è in grado di migliorare, anche se parzialmente, l'anemia<sup>12</sup>.

- **Altre forme**: sono stati identificati diversi casi di anemia sideroblastica non legata a *ALAS*, *ABC7* o *GRX5*, suggerendo, quindi, che altri geni potrebbero essere coinvolti in queste patologie<sup>29</sup>.

- **Porfirie**: gruppo eterogeneo caratterizzato da un difetto a diversi livelli nella sintesi dell'eme<sup>1</sup>, a eziologia preva-

lentemente ereditaria, eccezion fatta per l'anemia da intossicazione di piombo. In tali soggetti le porfirine (intermedi della sintesi dell'eme) si accumulano nei tessuti, causando sintomi neuroviscerali e/o fotosensibilità cutanea. Solitamente la sintesi dell'eme resta normale in quanto il deficit è quasi sempre parziale, ma può ridursi in concomitanza di altri eventi. La sintomatologia ematologica è caratterizzata da anemia microcitica<sup>29</sup>.

- **Difetti dei geni nel metabolismo del ferro**: recentemente sono stati identificati nuovi geni coinvolti nel metabolismo del ferro.

- **Ferroportina**: mutazioni nella ferroportina sono responsabili di una forma dominante di emocromatosi con sovraccarico di ferro soprattutto nei macrofagi<sup>30</sup>.

- **Ceruloplasmina**: un'ossidasi necessaria per l'esporto di ferro da parte della ferroportina, le cui mutazioni sono responsabili di anemia microcitica e sovraccarico di ferro.

- **Steap3**: una reduttasi endosomiale del ferro<sup>11</sup>; le sue mutazioni causano una grave anemia microcitica ipocromica.

- **IRP2**: un regolatore trascrizionale della ferritina e del recettore della transferrina, il cui difetto può portare ad anemia microcitica e accumulo di PPIX<sup>29</sup>.

- **TMPRSS6**: componente del pathway di regolazione negativo dell'epcidina. Tali pazienti presentano anemia sideropenica refrattaria al trattamento con ferro (IRIDA)<sup>28</sup>, ipocromia congenita, microcitemia importante, una bassa saturazione della transferrina, mancata risposta alla terapia orale con ferro e una parziale risposta al trattamento parenterale (Box 2). Questi pazienti hanno elevati livelli urinari di epcidina, a differenza di altri individui con anemia sideropenica in cui i livelli dell'ormone sono molto bassi. L'attuale trattamento dell'IRIDA si basa sulla somministrazione parenterale di ferro ma, in futuro, la manipolazione del pathway dell'epcidina potrebbe diventare un approccio terapeutico alternativo<sup>31</sup>.

- **DMT1**: è coinvolto nell'assorbimento di ferro non-eme e nel trasferi-

### Box 2 - UN CASO CLINICO

La paziente, di 7 anni, si presentava alla nostra attenzione con una storia di anemia microcitica importante (Hb 6,7 g/dl; MCV 65 fl) con deficit di ferro (ferritina 25 ng/ml, sideremia 14 mcg/dl, transferrina 290 mg/dl, IS 3,7%). Nel sospetto di un deficit nutrizionale è stata prescritta terapia orale con ferro solfato, senza beneficio. La somministrazione ev riduceva l'anemia, che si manteneva estremamente microcitica (RBC  $4,7 \times 10^6$ /ml, Hb 9,5 g/dl, MCV 63 fl, Hct 29,5%, MCH 20,2 pg, MCHC 32,2 g/dl, RDW 16,6%, reticolociti 60.000/ml). Il bilancio marziale, invece, restava deficitario (ferritina 46 ng/ml, sideremia 16 mcg/dl, transferrina 250 mg/dl, IS 6,4%). Dopo aver escluso cause più comuni di anemia microcitica (celiachia, sanguinamenti occulti, ACD e alterazioni dei geni globinici) la diagnosi differenziale è stata rivolta verso le cause rare. L'MCV e l'IS particolarmente ridotto, uniti alla risposta parziale alla somministrazione ev, ci hanno permesso di orientare la diagnosi verso il sospetto di IRIDA. Mediante le nuove tecniche di diagnostica molecolare è stato possibile confermare tale sospetto, riscontrando, nella probanda, due mutazioni nel gene *TMPRSS6*.

mento e mobilitazione di ferro<sup>32</sup>. Mutazioni in *DMT1* causano anemia microcitica ipocromica, associata a sovraccarico epatico, saturazione della transferrina elevata e ferritinemia mediamente elevata. La gravità dell'anemia, presente dalla nascita, è variabile. I pazienti rispondono alle somministrazioni di Epo, che non aumenta però l'MCV e i livelli di emoglobina. Ciò suggerisce che l'Epo non favorisce l'utilizzazione di ferro da parte delle cellule eritroidi, ma riduce probabilmente l'apoptosi<sup>33</sup>.

### SCREENING PER L'ANEMIA MICROCITICA?

Per il corretto sviluppo del bambino e dell'adolescente è fondamentale individuare precocemente le condizioni di anemia. Considerando che il fabbisogno di ferro è fino a 4-6 mesi di età soddisfatto dall'allattamento, che lo svezzamento avviene proprio in tale epoca e che il bambino necessita di 1-2 mesi per adattarsi all'introduzione di nuovi alimenti, un eventuale screening potrebbe

**MESSAGGI CHIAVE**

□ L'anemia microcitica è una delle forme più comuni di anemia, caratterizzata da MCV ridotto, la cui eziologia è legata alla quantità e all'utilizzo del ferro nell'organismo. Tra le cause di anemia microcitica, l'anemia sideropenica è la più comune.

□ Le ultime scoperte scientifiche hanno permesso di comprendere molte delle forme rare di anemia microcitica andando a individuarne la causa in nuove proteine interessate nel metabolismo del ferro.

□ La sintomatologia aspecifica dell'anemia, associata alle conseguenze sullo sviluppo fisico e intellettuale del piccolo paziente e ai costi contenuti, consente di diagnosticare immediatamente la condizione.

□ La diagnosi di anemia microcitica è solitamente agevole. A tale scopo è necessario un prelievo venoso (non invasivo) per effettuare indagini semplici e poco costose. Per la definizione eziopatogenetica è, infatti, necessaria la valutazione dell'esame emocromocitometrico con reticolociti, del bilancio marziale, del do-

saggio dell'Hb A2 e HbF e delle FEP.

□ Mediante le indagini sopraesposte è possibile approcciare alla diagnosi eziologica. In prima istanza vanno valutati: 1) anemia sideropenica da deficit nutrizionale; 2) anemia sideropenica da deficit di assorbimento; 3) talassemia eterozigote; 4) ACD; 5) deficit relativi.

□ Tali eziologie possono coesistere nello stesso paziente andando a peggiorare il difetto e complicare la diagnosi. Utile alla diagnosi differenziale, soprattutto delle forme con deficit nutrizionale/di assorbimento di ferro, è la valutazione della risposta al trattamento orale-parenterale di ferro.

□ Dopo aver escluso le cause più comuni vanno prese in considerazione cause rare di anemia, perlopiù ereditarie. Tra queste è possibile includere: 1) anemia da produzione ectopica di epcidina; 2) anemie sideroblastiche; 3) porfirie; 4) anemie da alterazione dei geni del metabolismo del ferro.

essere attuato alla fine del primo anno di vita, in accordo con dati recenti di letteratura<sup>34</sup>. Tale intervento è attuabile attraverso la valutazione dei seguenti esami: GR, Hb, MCV, ferritina sierica, indice di saturazione della transferrina. L'indicazione allo screening è tuttavia molto variabile a seconda dei contesti di popolazione e dovrebbe tenere conto di quelle che sono le condizioni di possibile rischio di ciascun bambino.

**Indirizzo per corrispondenza:**

Achille Iolascon  
e-mail: [achille.iolascon@gmail.com](mailto:achille.iolascon@gmail.com)

**Bibliografia**

1. Van Vranken M. Evaluation of microcytosis. *Am Fam Physician* 2010;82(9):1117-22.
2. Iolascon A, De Falco L, Beaumont C. Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematologica* 2009;94(3):395-408.
3. Radia D, Momoh I, Dillon R, et al. Anemia management: development of a rapid access anemia and intravenous iron service. *Risk Manag Healthc Policy* 2013;6:13-22.
4. Aparna PV, Austin RD, Mathew P. *PICA*. *Indian J Dent Res* 2012;23(3):426-7.
5. Richardson M. Microcytic anemia. *Pedi-*

- atr Rev 2007;28(1):5-14.
6. De Domenico I, McVey Ward D, Kaplan J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008;9(1):72-81.
7. Kim J, Zarjou A, Traylor AM, et al. In vivo regulation of the heme oxygenase-1 gene in humanized transgenic mice. *Kidney Int* 2012;82(3):278-91.
8. Thomas CE, Gaffney-Stomberg E, Sun BH, O'Brien KO, Kerstetter JE, Insozna KL. Increasing dietary protein acutely augments intestinal iron transporter expression and significantly increases iron absorption in rats. *FASEB J* 2013;27(6):2476-83.
9. Huang ML, Austin CJ, Sari MA, et al. Hepcidin bound to 2-macroglobulin reduces ferroportin-1 expression and enhances its activity at reducing serum iron levels. *J Biol Chem* 2013;288(35):25450-65.
10. Ward DM, Kaplan J. Ferroportin-mediated iron transport: expression and regulation. *Biochim Biophys Acta* 2012;1823(9):1426-33.
11. Grandchamp B, Hetet G, Kannengiesser C, et al. A novel type of congenital hypochromic anemia associated with a nonsense mutation in the STEAP3/TSAP6 gene. *Blood* 2011;118(25):6660-6.
12. Camaschella C, Campanella A, De Falco L, et al. The human counterpart of zebrafish shiraz shows sideroblasticlike microcytic anemia and iron overload. *Blood* 2007;110:1353-8.
13. Badminton MN, Elder GH. Molecular mechanisms of dominant expression in porphyria. *J Inher Metab Dis* 2005;28(3):277-86.
14. Priwitzerova M, Pospisilova D, Prchal JT, et al. Severe hypochromic microcytic anemia caused by a congenital defect of the iron transport pathway in erythroid cells. *Blood* 2004;103(10):3991-2.

15. Baker RD, Greer FR; Committee on Nutrition American Academy of Pediatrics. Diagnosis and prevention of iron deficiency and iron-deficiency anemia in infants and young children (0-3 years of age). *Pediatrics* 2010;126(5):1040-50.
16. Taketani S, Kakimoto K, Ueta H, Masaki R, Furukawa T. Involvement of ABC7 in the biosynthesis of heme in erythroid cells: interaction of ABC7 with ferrochelatase. *Blood* 2003;101(8):3274-80.
17. Finberg KE, Heeney MM, Campagna DR, et al. Mutations in TMPRSS6 cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Nat Genet* 2008;40(5):569-71.
18. Hercberg S, Preziosi P, Galan P. Iron deficiency in Europe. *Public Health Nutr* 2001;4(2B):537-45.
19. Doets EL, Cavelaars AE, Dhonukshe-Rutten RA, van't Veer P, de Groot LC. Explaining the variability in recommended intakes of folate, vitamin B12, iron and zinc for adults and elderly people. *Public Health Nutr* 2012;15(5):906-15.
20. Domellöf M. Iron requirements in infancy. *Ann Nutr Metab* 2011;59(1):59-63.
21. Van Vranken M. Evaluation of microcytosis. *Am Fam Physician* 2010;82(9):1117-22.
22. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med* 2010;42(8):587-95.
23. Rahim F. Microcytic hypochromic anemia patients with thalassemia: Genotyping approach. *Indian J Med Sci* 2009;63(3):101-8.
24. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005;352(10):1011-23.
25. Goodnough LT, Shander AS. Erythropoiesis stimulating agents, blood transfusion, and the practice of medicine. *Am J Hematol* 2010;85(11):835-7.
26. Cui Y, Wu Q, Zhou Y. Iron-refractory iron deficiency anemia: new molecular mechanisms. *Kidney Int* 2009;76(11):1137-41.
27. Koc S, Harris JW. Sideroblastic anemias: variations on imprecision in diagnostic criteria, proposal for an extended classification of sideroblastic anemias. *Am J Hematol* 1998;57(1):1-6.
28. Fleming MD. The genetics of inherited sideroblastic anemias. *Semin Hematol* 2002;39(4):270-81.
29. Iolascon A, De Falco L, Beaumont C. Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematologica* 2009;94(3):395-408.
30. Détiavaud L, Island ML, Jouanolle AM, et al. Ferroportin Diseases: Functional studies, a link between genetic and clinical phenotype. *Hum Mutat* 2013;34(11):1529-36.
31. Guillem F, Lawson S, Kannengiesser C, Westerman M, Beaumont C, Grandchamp B. Two nonsense mutations in the TMPRSS6 gene in a patient with microcytic anemia and iron deficiency. *Blood* 2008;112(5):2089-91.
32. Iolascon A, d'Apolito M, Servedio V, Cimmino F, Piga A, Camaschella C. Microcytic anemia and hepatic iron overload in a child with compound heterozygous mutations in DMT1 (SCL11A2). *Blood* 2006;107(1):349-54.
33. Iolascon A, Camaschella C, Pospisilova D, Piscopo C, Tchernia G, Beaumont C. Natural History of recessive inheritance of DMT1 mutations. *J Pediatr* 2008;152(1):136-9.
34. Kim HJ, Kim DH, Lee JE et al. Is it Possible to Predict the Iron Status from an Infant's Diet History? *PGHN* 2013;16(2):95-103.