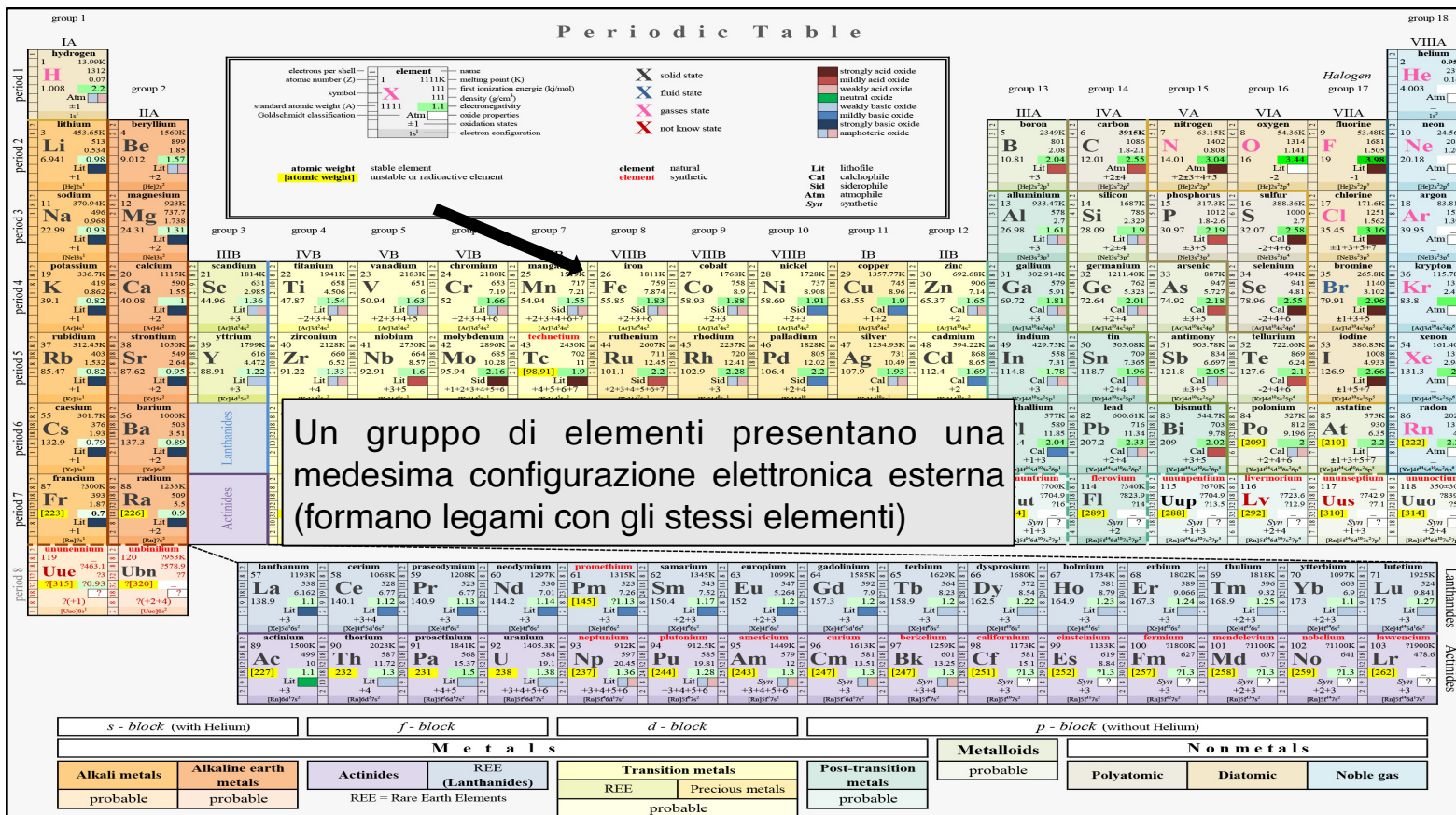


Il metabolismo del ferro
Esami del midollo osseo

sulla Terra

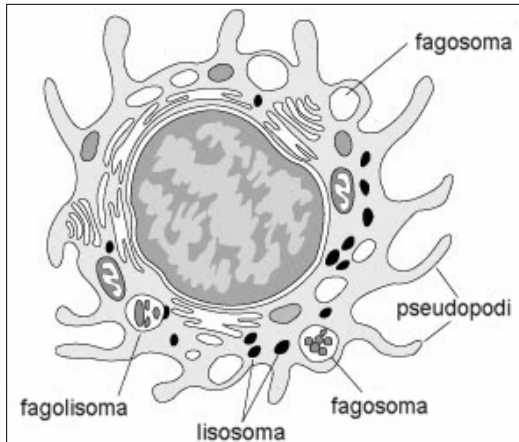
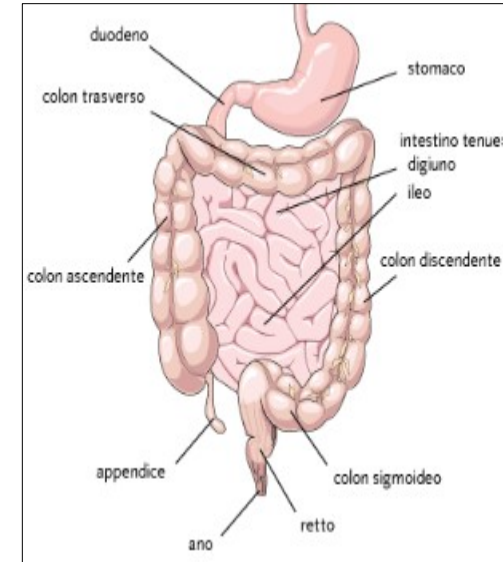
Il ferro è il metallo più abbondante all'interno della Terra (costituisce il 34,6% della massa del nostro pianeta) ed è il sesto elemento per abbondanza nell'intero universo



E' essenziale per la vita degli esseri viventi, fondamentale per le cellule dell'organismo

Fondamentale per le cellule dell'organismo, la disponibilità è controllata attraverso la regolazione dell'assorbimento intestinale e del rilascio dai **MACROFAGI SPLENICI** del ferro, recuperato dal catabolismo dell'emoglobina

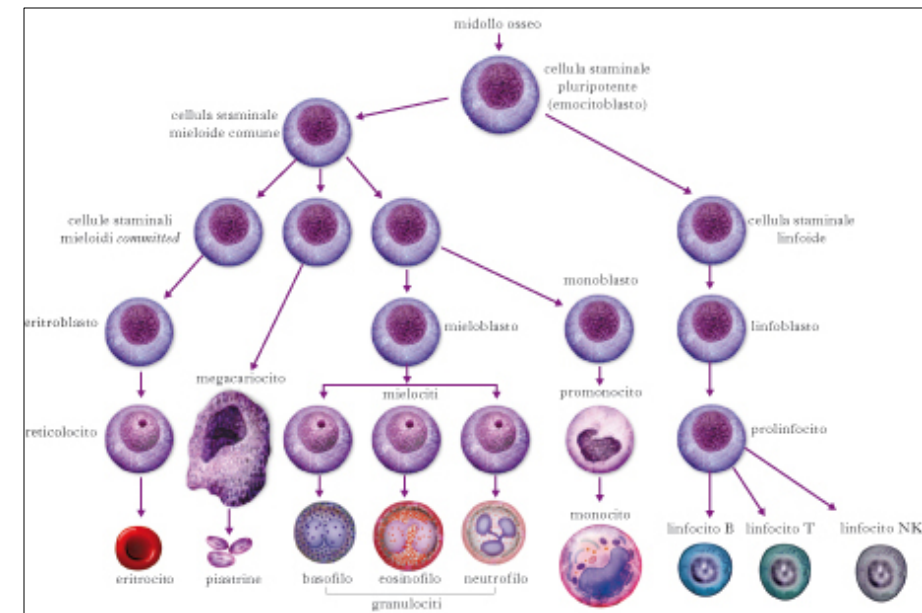
MACROFAGI: cellule mononucleate appartenenti al sistema dei fagociti (granulociti, monociti)



Svolgono un ruolo importante nella risposta immunitaria.

La funzione principale è la fagocitosi (capacità di inglobare nel citoplasma particelle estranee e di distruggerle)

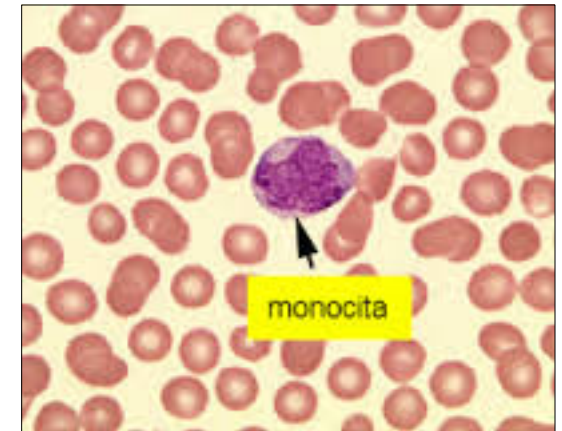
Nascono dalla cellula staminale multipotente nel midollo osseo, si differenzia in vari tipi cellulari fino alla completa maturazione (**MONOCITA**)



MONOCITI: diametro 10-15 μ , nucleo reniforme, citoplasma finemente granulare contenente lisosomi, vacuoli fagocitici e filamenti di citoscheletro

Dal sangue migrano nei tessuti e maturano in MACROFAGI

MONOCITI e MACROFAGI tissutali sono 2 stadi diversi dello stesso stipite cellulare
(SISTEMA RETICOLO ENDOTELIALE)



Nei tessuti assumono caratteristiche diverse:

- fegato: cellule di kupffer
- snc: microglia
- polmone: macrofagi alveolari
- osso: osteoclasti
- milza: macrofagi splenici

Nella milza, il ruolo dei macrofagi è essenziale per esplicare l'eritrocateresi:

filtrazione del sangue con la rimozione degli eritrociti invecchiati

Eritrociti: cellule del sangue deputate al trasporto di O_2 dai polmoni verso i tessuti e di parte di CO_2 dai tessuti ai polmoni

4,5-5 M/mm^3 nella donna

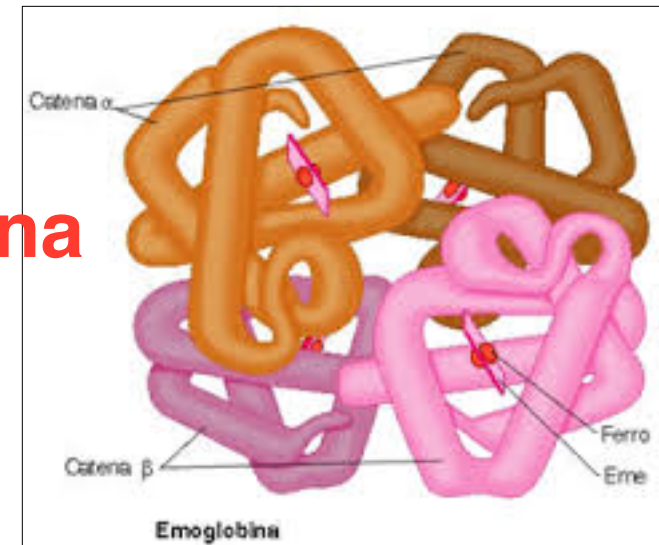
5-6 M/mm^3 nell'uomo

} vita media circa 120 giorni

- forma di un disco biconcavo
- spessore di $0,8 \mu$ al centro, $1,8 \mu$ in periferia
- privi di nucleo
- contengono quasi esclusivamente emoglobina (Hb)

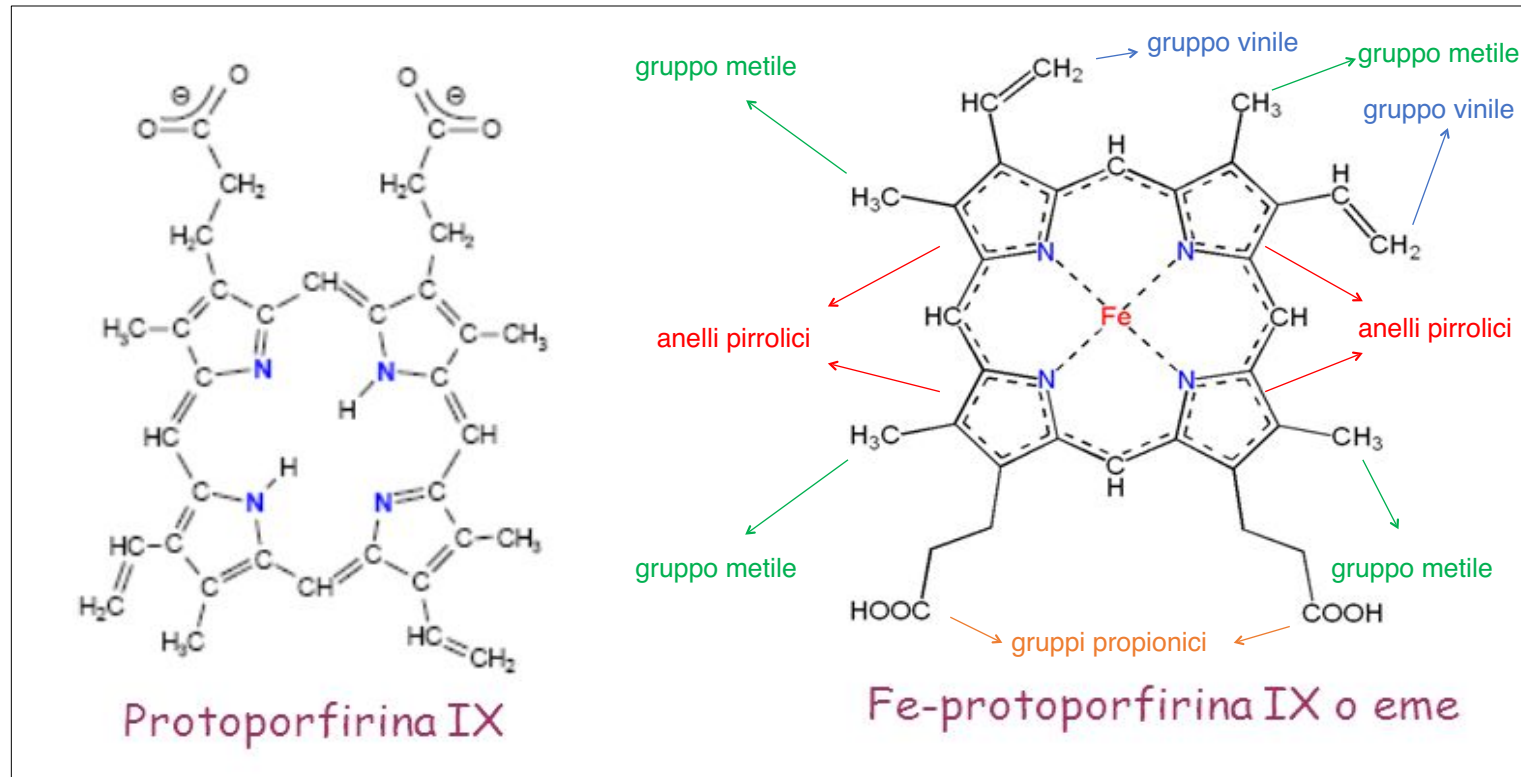
devi inserire le lettere delle catene di globina

Emoglobina (Hb): proteina costituita da 4 catene polipeptidiche (2 catene con 141 aminoacidi e 2 catene con 146 aminoacidi) e 4 gruppi prostetici eme in cui l'atomo di Fe è presente allo stato ferroso (Fe^{++})



Ogni molecola di emoglobina contiene 4 atomi di Fe e può legare reversibilmente 4 molecole di O_2
Il globulo rosso contiene circa 300.000.000 di molecole di Hb, quindi il globulo rosso può contenere circa 1,2 miliardi di molecole di O_2

Il gruppo eme è costituito da una complessa struttura organica, la protoporfirina a cui si lega un atomo di ferro



La protoporfirina IX è costituita da:

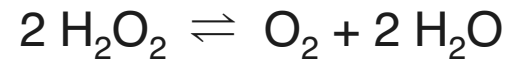
- 4 anelli pirrolici legati da 4 ponti metilenici
- 2 gruppi vinili
- 2 gruppi propionici
- 4 gruppi metile

Numero atomico	
26	
Fe	Simbolo atomico
Ferro	Nome dell'elemento
55,847	Peso atomico
[Ar] 3d ⁶ 4s ²	Configurazione elettronica

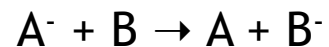
Il ferro permette di trasportare O₂ alle cellule, è donatore/accettore di e⁻
 Fa parte di molte molecole e enzimi

EMOGLOBINA e MIOGLOBINA

CATALASI: enzimi appartenente alla classe delle *ossidoreduttasi*, coinvolti nei processi di detossificazione della cellula. Catalizza la seguente reazione:



CITOCROMI: catalizzano il trasferimento di e⁻ da una molecola a un'altra secondo la reazione:



Citocromo C: localizzato sulla superficie della membrana mitocondriale

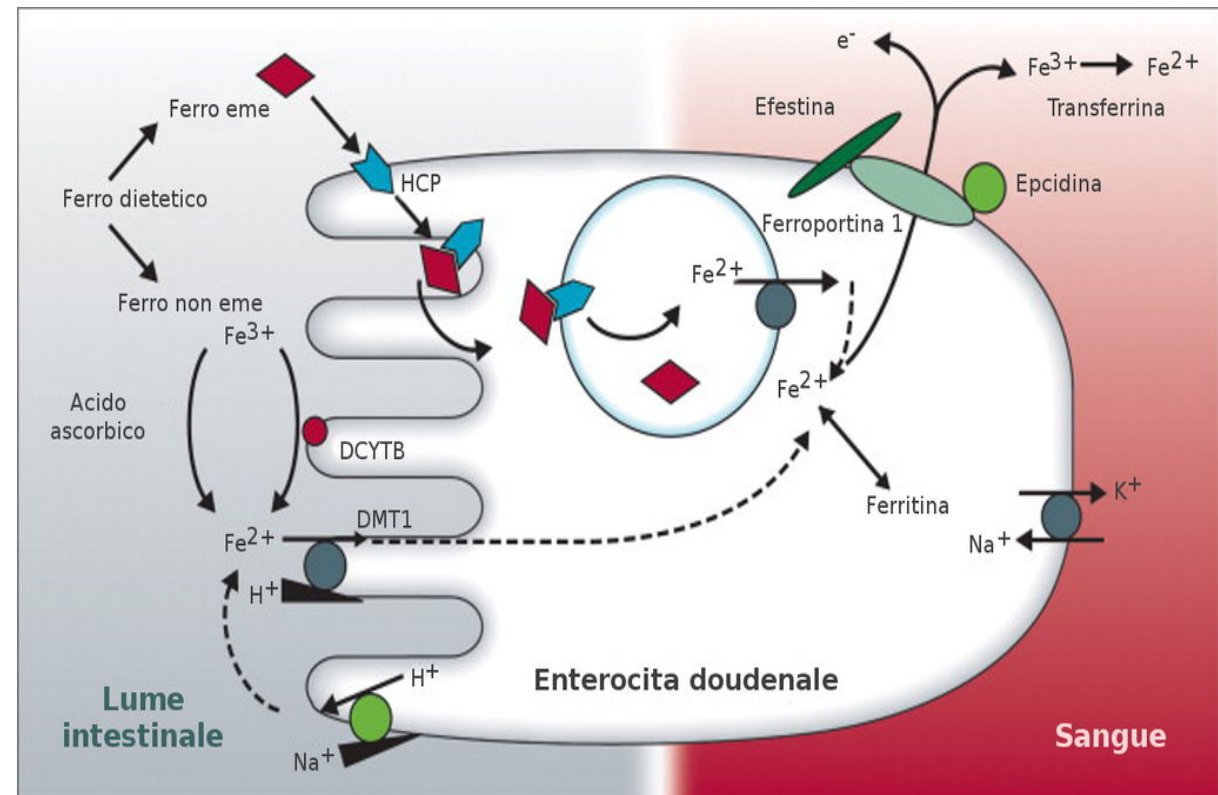
Citocromo P450: superfamiglia di enzimi (14 famiglie, 17 sottofamiglie), trasferendo e⁻ catalizzano l'ossidazione di molti composti di origine endogena

- Il ferro viene introdotto nell'organismo attraverso l'alimentazione
- Nell'uomo adulto sono presenti circa 4-5 g di ferro, quantità mantenuta grazie al bilancio tra Fe assorbito e Fe eliminato.
- Le perdite sono circa 0,8 mg/die nell'uomo, 1,4 mg/die nella donna in età fertile
- E' presente nel 68% Hb, 27% ferritina, 4% Mb, 0,6% enzimi, 0,1 % transferrina
- Il fabbisogno di ferro è di circa 10-30 mg pro die di cui solo il 10% viene assorbito
 - aumento in condizioni fisiologiche: gravidanza, allattamento, mestruazioni
 - aumento in condizioni patologiche: perdite ematiche, infezioni, stress

Data la sua importanza, sia la carenza, sia l'eccesso di Ferro nell'organismo producono danni rilevanti dal punto di vista clinico

La manifestazione clinica più nota associata alla *carenza di ferro* è l'anemia mentre la condizione opposta ossia un *sovraccarico di ferro*, provoca ossidazione, morte cellulare e danno d'organo dovuti all'effetto tossico che questo metallo, in forma libera provoca.

- L'assorbimento avviene a livello duodeno-digiunale, influenzato da fattori di ordine locale e generale
- fattori locali che aumentano l'assorbimento:
 - Sostanze riducenti (vitamina C)
 - aminoacidi
 - glucidi e sorbitolo
 - alcool
- fattori che inibiscono l'assorbimento:
 - fosfati, carbonati, ossalati
 - chelanti
- tra i fattori di ordine generale:
 - l'entità dei depositi
 - l'eritropoiesi

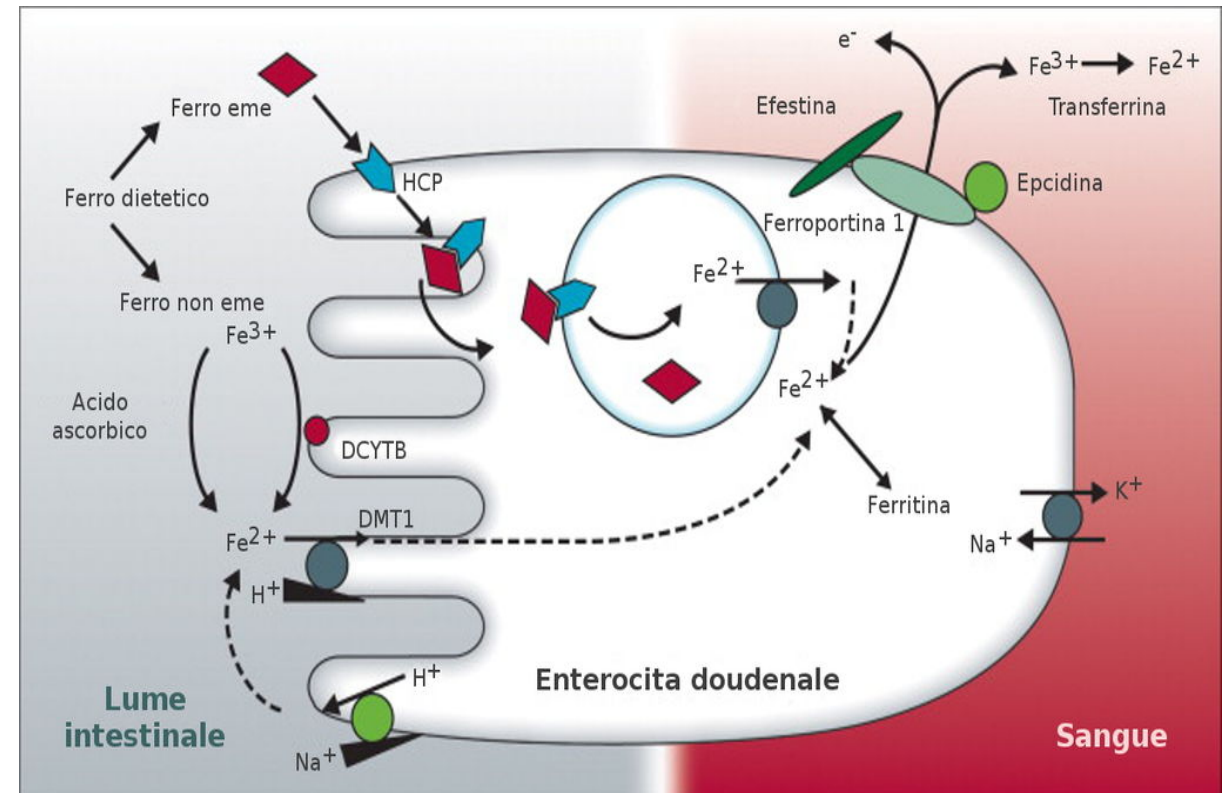


Il ferro si trova nei cibi sotto forma di *ferro eme* o *ferro non eme* (ferro inorganico)

Ferro eme si trova solo negli alimenti di origine animale in particolare la carne (è presente nelle emoproteine muscolari)

Ferro non eme si trova anche negli alimenti di origine vegetale

- Nello stomaco, l'acidità favorisce la dissociazione del ferro dagli alimenti predisponendolo all'assorbimento che avviene a livello delle cellule dell'epitelio duodenale
- Gli enterociti sono in grado di assorbire il *ferro eme* direttamente, in quanto l'intera molecola che lo contiene può attraversare la membrana dell'enterocita coadiuvato da uno specifico trasportatore (HCP), rilasciando poi il Fe sotto forma di ione bivalente (in particolare protoporfirina IX e Fe^{2+} libero)
- L'organismo è in grado di assorbire il ferro non eme bivalente, ma non quello trivalente la cui formazione è favorita dall'ambiente basico duodenale dovuto ai succhi pancreatici



- Il ferro trivalente per essere assorbito deve essere prima ridotto nella forma bivalente
 - nello stomaco, attraverso l'acidità dei succhi gastrici
 - nell'intestino, ridotto dal *citocromo duodenale B* (DCYTB), una reduttasi presente sul dominio apicale delle cellule duodenali

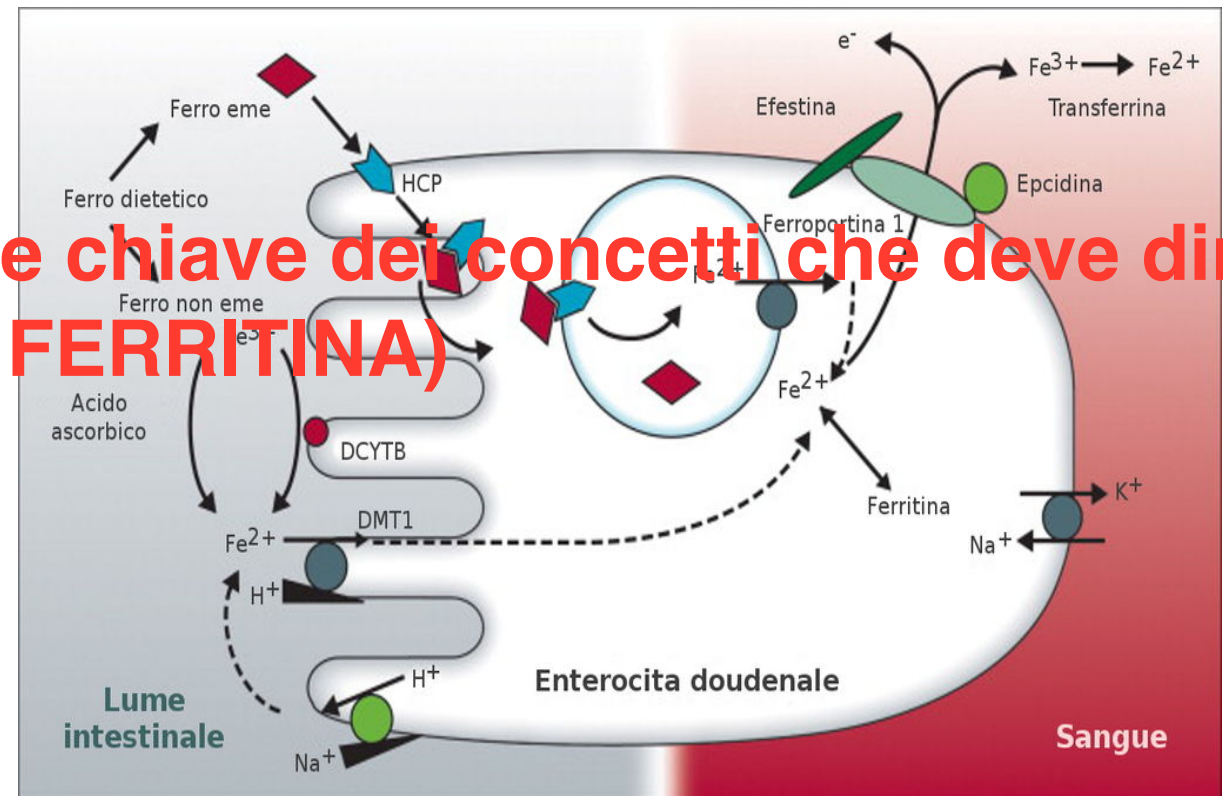
- Il bordo a spazzola degli enterociti presentano dei trasportatori sia per il Fe eme, sia per altri metalli bivalenti (Zn⁺⁺, Co⁺⁺, Cu⁺⁺, Fe⁺⁺) che ne consentono l'ingresso nella cellula intestinale attraverso un TRASPORTO ATTIVO (simporto) di Fe⁺⁺/H⁺

DIVALENT METAL TRANSPORTER 1 (DMT1)
(proteina codificata dal gene SLC11A2)

- Una parte del ferro sarà accumulata nell'enterocita sotto forma di FERRITINA, un'altra parte passerà nel sangue attraverso una proteina transmembrana (posta nella parte basolaterale dell'enterocita)

FERROPORTINA (FNP)
(proteina codificata al gene SLC40A1)

Trasporto secondario: viene sfruttata la differenza di potenziale creato dai trasportatori attivi che pompaggio fuori la cellula



devi rivedere la forma italiana di quello che ho evidenziato in arancio

evidenzia in un altro colore parole chiave dei concetti che deve dire (esempio: FERRITINA)

EFESTINA è una metallo-ossidasi localizzata in prossimità della FNP, deputata alla trasformazione del Fe⁺⁺ in Fe⁺⁺⁺

Nel plasma 1-2 atomi di Fe^{++} si legano alla TRANSFERRINA una glicoproteina (α -globulina) che funge da trasportatore di ferro plasmatico mantenendolo in forma solubile e non tossica

Trasporta il Fe dall'intestino, dove viene assorbito, al midollo, dove vengono prodotti i globuli rossi, o agli organi di deposito (fegato)

Prodotta e secreta principalmente dagli epatociti, possiede due domini leganti ognuno un atomo di ferro trivalente

Valori normali: 0,20-0,37 g/dl

Valori > in caso di gravidanza, allattamento, anemia sideropenica

Valori < epatopatie, malnutrizione e cachessia neoplastica

Ha tre funzioni principali:

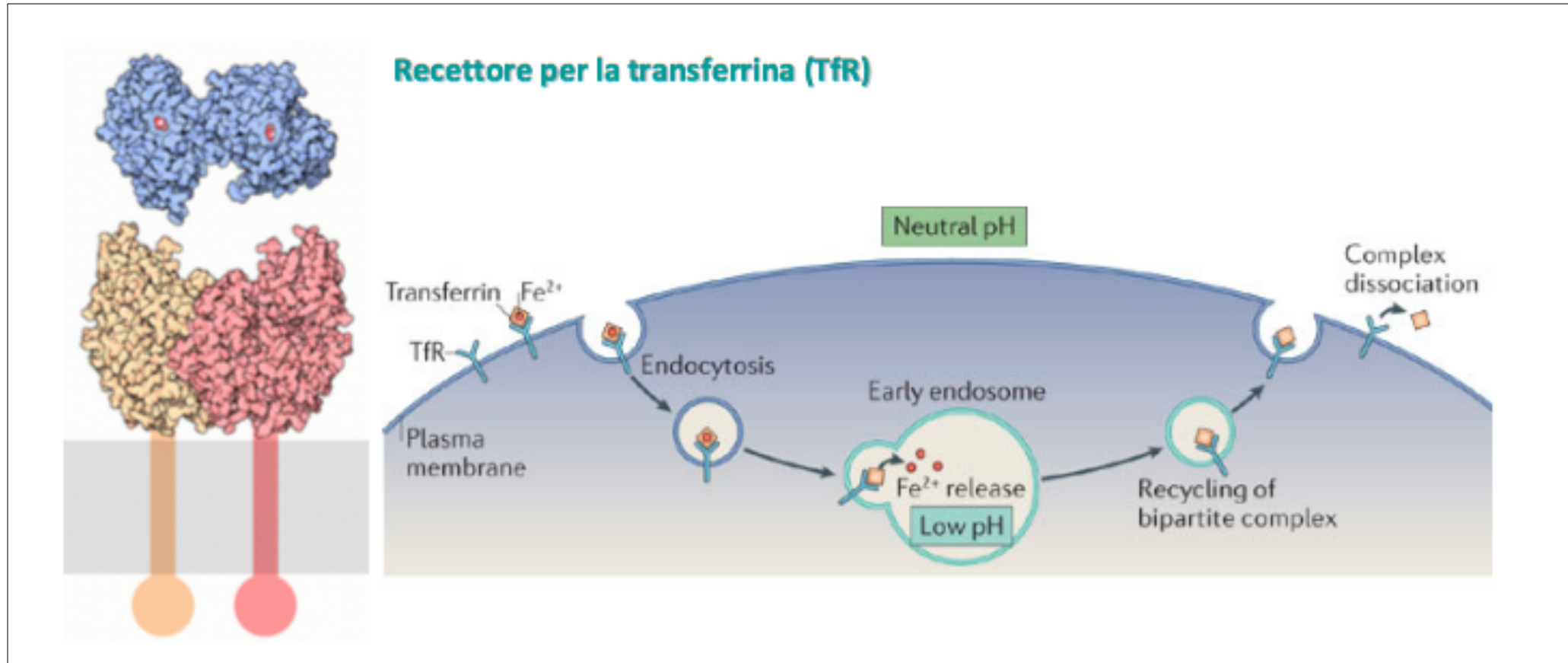
- Solubilizza il Fe^{+++} (insolubile a pH fisiologico)
- Lega il ferro impedendogli di generare radicali tossici
- Permette l'internalizzazione del ferro nella cellula attraverso il suo recettore (TfR1)



Il complesso

Ferro+Transferrina+ TfR1

- viene invaginato nel citoplasma cellulare sotto forma di vescicola
- il ph intravescicolare ne permette la dissociazione
- il Fe è veicolato fuori la vescicola
- il Fe può essere utilizzato dai *mitocondri cellulari*
- il Fe può essere accumulato all'interno della Ferritina



Il complesso

Transferrina+ TfR1

- Resta nella vescicola fino a quando questa ultima non si rifonderà con la membrana cellulare e potrà essere nuovamente esposto sulla membrana cellulare
- La transferrina si dissocerà dal complesso, tornando nel torrente ematico disponibile per nuovi legami con il Fe
- Il TfR1 può subire all'interno della vescicola un processo di proteolisi che porterà alla separazione della parte extracellulare la quale sarà libera nel plasma (sTfR)
- La concentrazione del sTfR è proporzionale al TfR presente sulla membrana cellulare, regolato dall'omeostasi del Fe intracellulare:

Una riduzione del Fe comporta un aumento del sTfR

- Le cellule maggiormente deputate all'accumulo di Fe sono:
 - Epatociti: possiedono sulla superficie della membrana cellulare un Recettore per la transferrina (TfR2)
 - macrofagi
- Strutturalmente simile al TfR ma associato alla proteina HFE con la quale forma un complesso:
 - Riduce il rilascio di Fe nel citoplasma e quindi la captazione di Fe

Proteina HFE codificata dal gene HFE localizzato sul cromosoma 6 , è costituita da 348 aa, consiste in 2 domini extracellulari (1 e 2) che interagiscono con il TfR. Mutazioni portano a un incremento del Fe

I **macrofagi** accumulano Fe attraverso la fagocitosi dei globuli rossi senescenti ma anche attraverso il plasma e altre vie metaboliche

L'esportazione del Fe dalla cellula necessita della **ceruloplasmina**

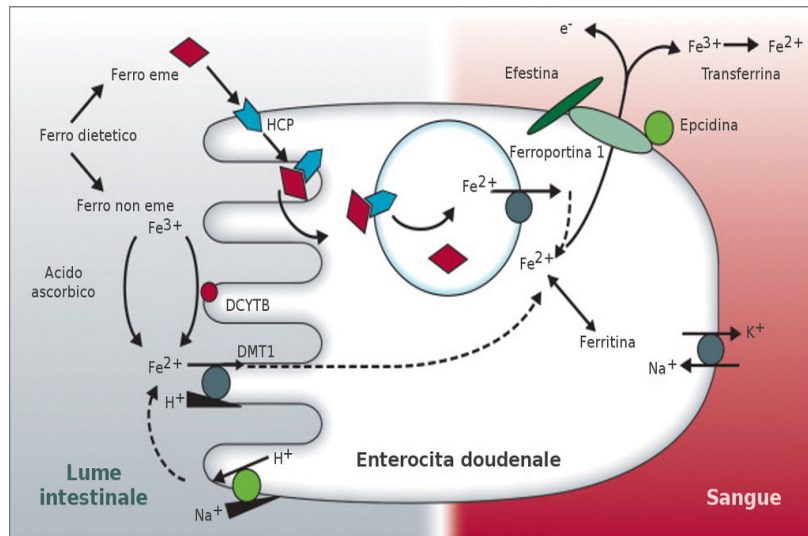
Una ferro-ossidasi che contiene rame e che ossida il Fe^{2+} nella forma Fe^{3+} promuovendone la incorporazione nella transferrina

Valori normali: 16-32 mg/100cm³

Lo stimolo maggiore al rilascio del Fe da parte di epatociti e macrofagi è rappresentato dal fabbisogno dell'eritrono



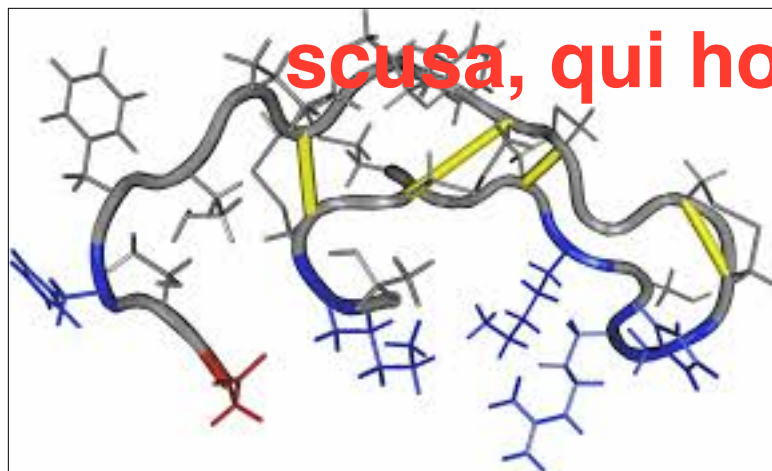
L'insieme costituito dalla massa degli eritrociti circolanti e dalle cellule eritropoietiche del midollo osseo



Omeostasi del ferro è regolata fondamentalmente a due livelli:

1. cellulare: stati ipossici (carenza di Fe) determinano aumento di concentrazione a livello delle membrane cellulari delle duodenali di DMT1 e DCYTB, **evidenzia** cui consegue un aumento del Fe
2. sistemica: **epcidina** è un ormone prodotto dal fegato e metabolizzato a livello renale

Scoperta nel 2001 come proteina con funzione antimicrobica
Costituita da 25 aa, contiene 4 ponti disolfuro con possibilità di assumere conformazioni multiple



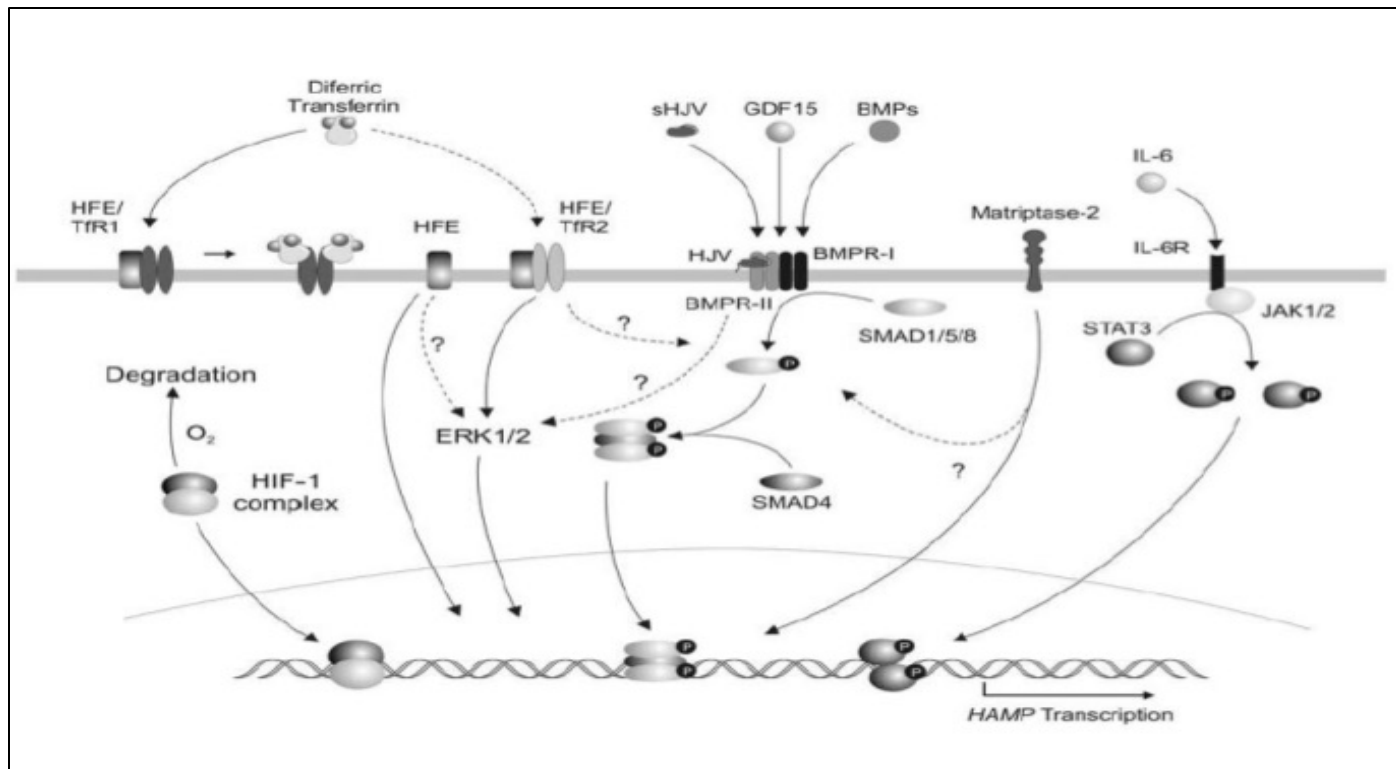
scusa, qui ho evidenziato per sbaglio e non riesco a togli

La funzione principale dell'epcidina è quella di down regolare la ferroportina (FNP): una volta presente nel torrente circolatorio, l'epcidina lega e degrada la FNP.

E' in grado di influenzare negativamente anche il legame fra Ferro e Transferrina

La sua produzione è regolata da alcune proteine:

est
Testo



- HFE
- TFR2
- Emojuvelina (HLV)
- BMP6 (Bone morphogenetic Protein 6)
- Matriptasi 2 (serin proteasi)

Ma anche da alcune condizioni come:

- ipossia
- infiammazione
- eritropoiesi
- quantità di Fe presente nell'organismo

La maggior parte del ferro presente nell'organismo si trova legato all'emoglobina e la fagocitosi degli eritrociti senescenti da parte dei macrofagi garantisce un efficiente riciclo del ferro

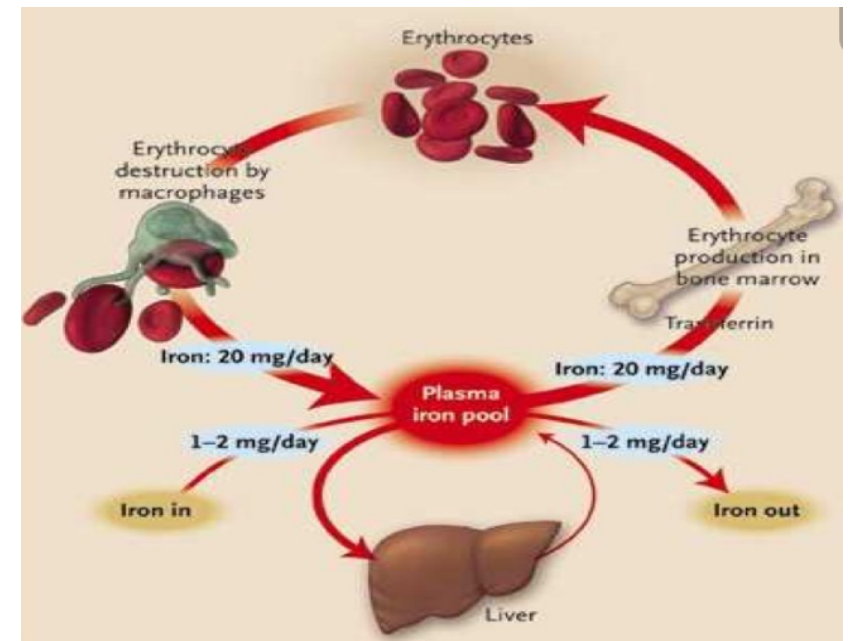
Vengono recuperati circa 20-25 mg di ferro al giorno che verranno utilizzati per la produzione di nuova Hb durante l'eritropoiesi midollare

Durante la permanenza in circolo, i globuli rossi subiscono modificazioni biochimiche a livello della membrana:

- Perossidazione delle lipoproteine
- Perdita di acido sialico
- Esternalizzazione di fosfatidil-serina
- Espressione di antigeni

Tutti questi, costituiscono dei segnali per il macrofago che vanno così ad identificare le cellule che devono essere degradate mediante fagocitosi

Il ferro può rimanere all'interno della cellula, oppure fuoriuscire attraverso la ferroportina per essere captato dalla transferrina plasmatica



La ferritina è una proteina globulare dal diametro di 13 nm con un nucleo di 6 nm in cui è contenuto il ferro. All'interno della struttura a pori, gli ioni ferro rimangono intrappolati e formano il minerale "ferridrite" insieme a fosfati e ioni idrossido.

Il ferro è rinchiuso all'interno di un guscio proteico (apoferritina), che può captare il Fe^{++} ed ossidarlo affinché venga depositato come Fe^{+++} (fino a 4500 atomi/molecola).

È una molecola proteica con un peso molecolare di 440000, costituita da catene L (19 KDa) e H (21 KDa). La preponderanza di catene L è tipica della molecola con funzioni di deposito.

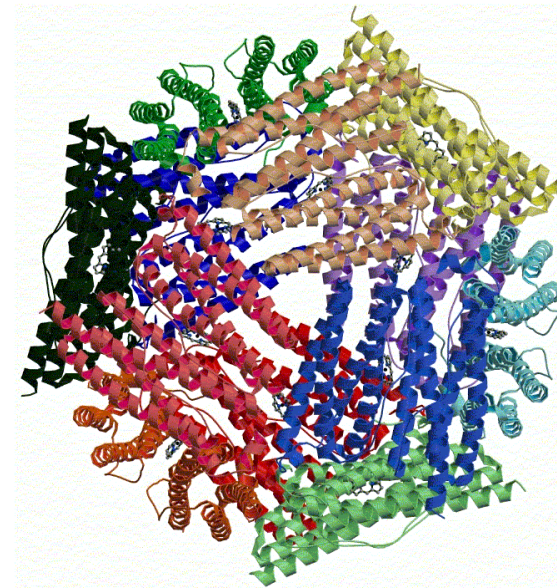
È presente nel siero dove riflette con buona approssimazione i depositi di Fe nell'organismo.

Valori normali: nella donna circa 100 $\mu\text{g}/\text{lt}$

 nell'uomo circa 300 $\mu\text{g}/\text{lt}$

Può aumentare in diverse condizioni:

- Processi infiammatori acuti
- Neoplasie
- Abuso d'alcool
- Necrosi epatocellulare



Nell'organismo il ferro è presente sia in forma ferrosa (Fe^{++}) che in forma ferrica (Fe^{+++})

Distribuzione del ferro nell'organismo	
Compartimento	Contenuto di Fe (mg)
Emoglobina	3000
Depositi di Fe (ferritina, emosiderina)	1000
Mioglobina	130
Pool intracellulare	80
Altri tessuti	8
Ferro di trasporto	3

Perdite fisiologiche di ferro	
Escrezione fecale, desquamazione epitelio intestinale	0,4 mg/die
Su, desquamazione epitelio cutaneo	0,5-1 mg/die
Escrezione urinaria	0,1 mg/die
Flusso mestruale	20 mg
Gravidanza e parto	600 mg a gravidanza
allattamento	150 mg

Il nostro organismo quotidianamente assorbe il ferro tramite l'alimentazione e ne perde circa 1 mg/die mediante urine, bile, sudorazione, e il normale turnover cellulare. Nei casi in cui la perdita sia $>$ di quello assorbito (emorragie) si instaura prima una condizione di sideropenia, e quindi, se continua, di anemia sideropenica

La diagnostica di laboratorio nelle alterazioni del metabolismo del ferro si avvale essenzialmente del dosaggio di *ferritina, sideremia, transferrinemia e recettore solubile della transferrina*

Ferritina:

- proteina globulare presente principalmente nel fegato che può immagazzinare ioni di Fe^{+++}
- la molecola di ferritina è composta da unità secondarie pesanti e leggere, che circondano un nucleo cristallino che contiene ossido e fosfato di ferro
- i livelli di ferritina hanno una correlazione diretta con la quantità totale di ferritina immagazzinata nel corpo, rappresenta quindi, l'indice più accurato per la valutazione dei depositi corporei di ferro
- la tecnica utilizzata per la determinazione è immunoenzimatica
- viene misurata attraverso un ELISA TEST basato sulla cattura simultanea della Ferritina da parte di 2 anticorpi monoclonali, 1 immobilizzato su una piastra e l'altro coniugato con una perossidasi; dopo incubazione, si effettua un lavaggio. L'enzima presente nella parte che resta adesa catalizza una reazione sviluppando una colorazione, l'intensità della stessa è proporzionale alla concentrazione di ferritina presente nel campione
- valori normali di ferritina:
 - 26-306 ng/ml nell'uomo
 - 7-146 ng/ml nella donna e nel bambino
 - diminuisce in caso di:
 - carenza marziale
 - aumenta in caso di
 - epatopatie con citolisi
 - emosiderosi
 - leucemie e linfomi
 - tumori solidi

io queste righe ripetute le toglierei

La diagnostica di laboratorio nelle alterazioni del metabolismo del ferro si avvale essenzialmente del dosaggio di *ferritina, sideremia, transferrinemia e recettore solubile della transferrina*

Sideremia:

- si intende il dosaggio del ferro circolante (ferro legato alla transferrina, essendo la quota libera trascurabile)
- la tecnica utilizzata per la determinazione è colorimetrica
- Separazione del ferro dalla transferrina, trasformazione in stato ferroso, formazione del complesso colorato, l'intensità del colore sarà direttamente proporzionale alla concentrazione di ferro e può essere misurata fotometricamente
- valori normali di sideremia:
 - 50-180 $\mu\text{g/dl}$
 - diminuisce in caso di:
 - aumentata perdita (emorragie)
 - diminuito apporto o assorbimento
 - Malattie infettive acute e croniche, malattie autoimmuni, infarto, neoplasie (il ferro viene captato dai monociti e dai macrofagi coinvolti in queste alterazioni)
 - aumenta in caso di
 - Condizioni iperemoliche
 - Epatopatie con citolisi

La diagnostica di laboratorio nelle alterazioni del metabolismo del ferro si avvale essenzialmente del dosaggio di *ferritina, sideremia, transferrinemia e recettore solubile della transferrina*

Transferrina:

- è la principale proteina di trasporto del ferro⁺⁺⁺ nel sangue (alta affinità)
- è proporzionale al TIBC (plasma total iron binding capacity), è la capacità totale di legare il ferro (notevole variazioni fisiologiche)
- la tecnica utilizzata per la determinazione è l'immunodiffusione
- valori normali di transferrina:
 - 200-360 mg/dl
 - diminuisce in caso di:
 - attransferrinemia congenita
 - malnutrizione e cachessia neoplastica
 - malattie infiammatorie acute e croniche (il ferro viene captato dai monociti e dai macrofagi coinvolti)
 - epatopatie
 - aumenta in caso di
 - gravidanza
 - situazioni in cui aumentano le richieste di ferro (anemia sideropenica)

La diagnostica di laboratorio nelle alterazioni del metabolismo del ferro si avvale essenzialmente del dosaggio di *ferritina, sideremia, transferrinemia e recettore solubile della transferrina*

- glicoproteina prodotta dalle cellule eritropoietiche, che si ottiene dal clivaggio del TfR, è circolante nel plasma dove svolge un ruolo di reclutamento del ferro
- è un marcatore sensibile della concentrazione del ferro funzionalmente attivo
- È inversamente proporzionale alla quantità di ferro contenuto nelle cellule e direttamente proporzionale alla attività di eritropoiesi (aumenta nella anemia sideropenica dove si ha carenza di ferro, diminuisce nelle anemie da malattia cronica, dove c'è una ridotta eritropoiesi midollare)

	Carenza di ferro	Carenza da patologia cronica	Sovraccarico di ferro
ferritina	↓	N ↑	↑ ↑ ↑
sideremia	↓	N ↓	↑
transferrina	↓	N ↓	↑
recettore solubile transferrina		N	

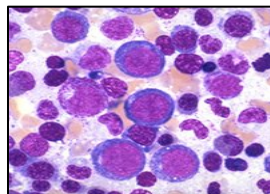
Esame del midollo osseo

L'aspirato midollare e/o la biopsia ossea con l'esecuzione della colorazione di Perls o al blu di Prussia permette di valutare l'accumulo di ferro nell'interstizio e nei macrofagi midollari

L'assenza di ferro colorabile permette la diagnosi di *deficit di ferro* senza altri test di laboratorio

Considerato il gold standard per la diagnosi di deficit di ferro, ampiamente specifico nonostante le sue limitazioni:

- metodo costoso ed invasivo
- può provocare gravi conseguenze al paziente
- richiede una lettura attenta e diligente
- non è proponibile per una pratica diagnostica routinara



Colorazione di Perls o al blu di Prussia

Questa tecnica serve per rivelare il ferro che si localizza nelle cellule sotto forma di granuli di emosiderina. La reazione di Perls si basa sulla liberazione degli ioni Fe associati alle proteine mediante l'azione dell'acido cloridrico; questi ioni una volta liberati reagiscono con il ferrocianuro di potassio formando un precipitato blu detto ferrocianuro ferrico o blu di Prussia

