

## Patologie da sovraccarico di ferro: recenti acquisizioni

Anna Licata, Virna Brucato, Vito Di Marco, Franco Barbaria, Antonio Craxi

Iron overload diseases are due to a progressive increase in total body iron stores that leads to deposition of iron in parenchymal organs and to subsequent damage to these organs. The commonest inherited form of iron overload is hereditary hemochromatosis (HH), an autosomal recessive disorder affecting the white population. Although in the western world and in northern Europe the majority of cases of HH are associated with an HFE gene mutation (C282Y and H63D), there are families with a familial iron overload disorder in whom neither the C282Y nor the H63D mutations were found. Recently, other forms of HH that are not related to HFE, but are due to mutations in genes coding iron transport proteins (ferroportin-1, TFR2, hepcidin) have been described. The clinical presentation of the disorder is highly variable, depending on the severity of iron overload. In fact, the inappropriate absorption and deposition of dietary iron may result in the development of hepatic and non-hepatic end-organ injury, leading to liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma, diabetes, arthritis, skin pigmentation and cardiac diseases.

HH and its sequelae are preventable with an early diagnosis and treatment. Patients with evidence of iron overload, a family history of HH or other risk factors should be screened by genotype testing for the HFE mutation. Nowadays, HH is recognized as being a complex genetic disease with probable significant environmental and genetic modifying factors, such as hepatitis C virus infection and alcohol abuse, and it has been shown that HFE mutations represent an independent risk factor for fibrosis and cirrhosis in chronic hepatitis C.

(Ann Ital Med Int 2004; 19: 145-154)

*Key words:* Hereditary hemochromatosis; HFE gene mutations; Iron overload.

### Metabolismo del ferro

Il contenuto di ferro nell'organismo viene regolato in modo tale che l'assorbimento sia uguale alla perdita. Questo bilancio è variabile da 1 mg/die nell'uomo ad 1.5 mg/die nella donna in età fertile. Quasi tutto il ferro introdotto con la dieta viene assorbito nel duodeno<sup>1</sup>.

Il ferro ferrico ( $Fe^{3+}$ ) viene trasformato da una riduttasi ferrica (Dcytb) presente sulla superficie luminale del duodeno in ferro ferroso ( $Fe^{2+}$ ) e come tale captato da un trasportatore, divalent metal transporter-1 (DMT-1), che si trova sulla superficie apicale degli enterociti, la cui espressione è regolata dai livelli di ferro intracellulari<sup>2</sup>. A questo punto il ferro entra in un pool citosolico-cellulare, dal quale una certa quota viene depositata sotto forma di ferritina e successivamente mobilizzata, oppure perduta attraverso l'esfoliazione delle cellule senescenti della mucosa; l'altra quota, a livello della membrana baso-laterale, è trasportata dalla cellula al circolo ematico dalla ferroportina-1<sup>3</sup>. L'epaestina, una ferrossidasi presente anch'essa a livello baso-laterale, sembra promuovere il trasferimento del ferro, previa ossidazione a  $Fe^{3+}$ , dalla ferroportina alla transferrina<sup>4</sup>. L'ingresso fisiologico del ferro nei reticolociti e negli epatociti dipende dalla presen-

za di recettori della transferrina (TfR) sulla superficie cellulare, i quali legano preferenzialmente il complesso transferrina-ferro. Successivamente il complesso recettore/ $Fe^{3+}$  passa dalla superficie cellulare al compartimento intracellulare, dove il ferro viene rilasciato (Fig. 1).

La proteina HFE, strutturalmente simile alle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità di classe I ed altamente espressa negli enterociti duodenali, normalmente facilita l'uptake del ferro TfR-mediato dal plasma agli enterociti duodenali. Recentemente è stato ipotizzato che l'interazione tra la proteina HFE ed i TfR sulla superficie baso-laterale delle cellule delle cripte intestinali potrebbe avere un ruolo nel determinare i livelli di ferro negli enterociti<sup>5</sup>. Un'altra proteina coinvolta nell'omeostasi del ferro è l'epcidina. Codificata dal gene HAMP e ritenuta implicata nel controllo dell'assorbimento intestinale di ferro, l'epcidina è una proteina ad azione antimicrobica, prodotta ed espressa quasi esclusivamente a livello epatico. La fisiologica risposta dell'organismo all'aumento dei depositi marziali è l'incremento dell'espressione di epcidina, che riduce l'assorbimento intestinale del ferro. Nell'emocromatosi ereditaria tuttavia l'incapacità a determinare un aumento nell'espressione dell'epcidina, dovuto al notevole incremento delle riserve, determina un'azione paradossa, insufficiente ad inibire l'assorbimento marziale e stimolandone uno inappropriatamente elevato.

Cattedra di Gastroenterologia (Direttore: Prof. Antonio Craxi),  
Istituto di Clinica Medica I, Università degli Studi di Palermo  
© 2004 CEPI Srl

## Assorbimento del ferro

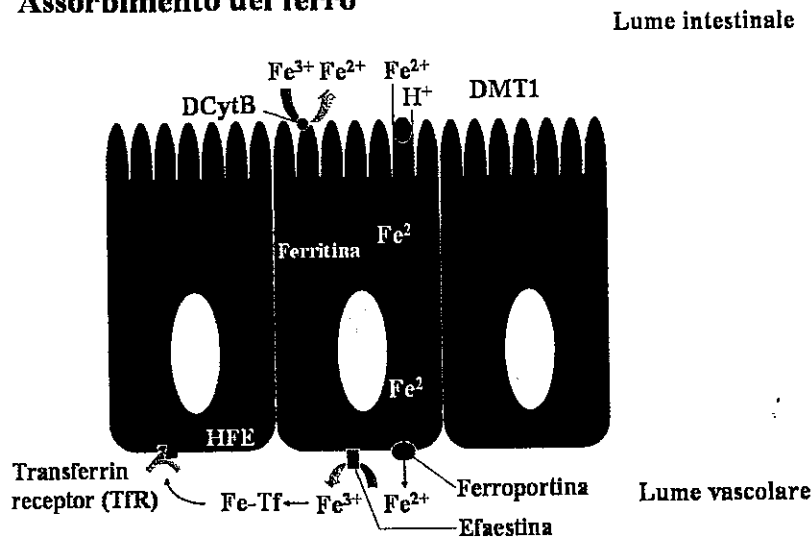


FIGURA 1. Meccanismo di assorbimento del ferro a livello intestinale.

Per studiare la relazione tra l'epidina e l'assorbimento intestinale del ferro, recentemente alcuni ricercatori australiani hanno studiato l'espressione epatica del gene HAMP (epidina) e del gene IREG1 o SLC11A3 (ferroportina-1) in pazienti con emocromatosi, in controlli sani ed in topi HFE-knockout. Malgrado non sia ancora ben chiaro il meccanismo con cui l'epidina esercita i suoi effetti sull'assorbimento intestinale del ferro, sembra che i topi HFE-knockout non riuscendo ad incrementare l'espressione di epidina sviluppino un sovraccarico di ferro severo tale a quello osservato nell'emocromatosi primitiva. La bassa espressione di epidina che si verifica nell'emocromatosi ereditaria suggerisce che il gene HFE sia coinvolto nella regolazione del gene HAMP in risposta alle modifiche dei depositi marziali.

L'espressione epatica di IREG1 sembra invece notevolmente maggiore nei pazienti con emocromatosi. Inoltre c'è una significativa correlazione tra la concentrazione epatica di ferro (LIC) e l'espressione di HAMP ed IREG1 nei pazienti non trattati. Infatti l'incremento di espressione epatica di IREG1 nell'emocromatosi suggerisce che questo potrebbe funzionare come un meccanismo di compenso, facilitando la rimozione del ferro in eccesso dal fegato<sup>6</sup>.

## Patologie da sovraccarico di ferro

È possibile identificarne tre: nel primo sono incluse le patologie causate da un difetto genetico; nel secondo quelle in cui l'accumulo di ferro è legato ad altre malattie; infine, nell'ultimo gruppo, rientrano alcune rare condizioni intermedie attribuibili all'interazione tra difetti genetici ed ambiente (Tab. I).

TABELLA I. Classificazione delle patologie da sovraccarico di ferro.

<i>Forme primitive o ereditarie</i>
Correlate a HFE
Emocromatosi ereditaria (tipo 1)
Non correlate a HFE
Emocromatosi dell'adulto (tipo 3)
Emocromatosi giovanile (tipo 2)
Emocromatosi SLC11A3 (ferroportina)
Emocromatosi isole Solomon
<i>Forme secondarie</i>
Disordini ematologici
Talassemia major
Anemia sideroblastica
Anemia emolitica cronica
Eccesso trasfusionale e parenterale di ferro
Epatopatie croniche
Epatopatia alcolica
NASH
Epatite HCV-correlata
Cirrosi epatica alcool/HCV-correlata
Shunt porto-cavali
Sindrome dismetabolica
Eccesso dietetico di ferro
<i>Miscellanea</i>
Eccesso di ferro nelle popolazioni africane
Porfiria cutanea tarda
Emocromatosi neonatale
Aceruloplasminemia, atransferrinemia congenita

HCV = epatite da virus C; NASH = steatoepatite non alcolica.

Il primo gruppo è rappresentato da due forme di emocromatosi, quella ereditaria e quella africana. Le emocromatosi ereditarie si dividono in forme correlate a HFE, il cui difetto è localizzato nel gene HFE (cromosoma 6p) e forme non correlate a HFE, in cui l'alterazione coinvolge geni identificati e non, ma diversi da HFE. Le forme se-

condarie sono diverse: quelle dovute e/o associate a difetti nella produzione dei globuli rossi, le epatopatie croniche correlate all'alcool o all'epatite da virus C (HCV), le forme da eccessiva somministrazione di ferro per via parenterale od orale.

#### *Emocromatosi non correlata al gene HFE*

*Emocromatosi SLC11A3.* È una forma legata alla mutazione del gene della ferroportina, SLC11A3 o IREG1 (cromosoma 2q32), ed è trasmessa come carattere autosomico dominante<sup>7</sup>. Infatti caratteristica della malattia da ferroportina è l'accumulo del ferro a livello delle cellule del sistema reticolo-endoteliale, a differenza di quanto accade per l'emocromatosi correlata ad HFE dove il ferro si accumula invece nelle cellule parenchimali<sup>8</sup>.

*Emocromatosi dell'adulto (tipo 3).* Recentemente identificata, è determinata da mutazioni del gene Tfr2, (cromosoma 7q22) e la cui funzione non è ancora definita. Il gene Tfr2, che presenta un'omologia con il Tfr, codifica per una proteina transmembrana che può legare la transferrina con minore affinità rispetto al Tfr. Le mutazioni in stato di omozigosi identificate sono: Y250X, E60X, M172K, AVA 594-597del, Q690P<sup>9,10</sup>.

*Emocromatosi giovanile (tipo 2).* Il suo gene responsabile (cromosoma 2p ?), non è stato ancora identificato. La malattia viene ereditata come carattere autosomico recessivo, come accade nella forma correlata ad HFE, ma a differenza di quest'ultima, l'esordio clinico si ha durante la seconda-terza decade di vita<sup>11</sup>.

#### *Emocromatosi correlata al gene HFE*

L'emocromatosi ereditaria è un sovraccarico primitivo la cui alterazione del gene HFE viene trasmessa come carattere autosomico recessivo. Il progressivo accumulo di ferro causa una precoce elevazione dei livelli di sideremia, un incremento della percentuale di saturazione della transferrina ed un progressivo innalzamento della ferritina. L'espressione clinica della malattia può essere modificata da diversi fattori, cioè dall'introito di ferro con la dieta, dalla perdita ematica associata al ciclo mestruale, dalla gravidanza e dalla donazione di sangue<sup>12</sup>.

È una delle malattie genetiche più comuni, soprattutto nelle popolazioni del Nord Europa. La sua prevalenza è variabile negli altri gruppi etnici, da 1/100 abitanti (Irlanda) ad 1/400 (Francia). In Italia, la prevalenza è soggetta ad ampie differenze tra le popolazioni nordiche (1/500 abitanti), e centro-meridionali (meno di 1 caso su 2000). La malattia è più frequente negli uomini che nelle donne (2/1), ed ha un picco di incidenza tra i 40 e i 60 anni di età<sup>13</sup>.

Il gene coinvolto, clonato nel 1996, è chiamato HFE. Le mutazioni puntiformi più frequenti sono due: C282Y e H63D. C282Y è quella maggiormente riscontrata nelle popolazioni nord europee (85-100% dei casi di emocromatosi)<sup>14,15</sup>. La sostituzione di una cisteina con una tiroxina in posizione 282, si può associare in eterozigosi con H63D, determinando lo stato di doppia eterozigosi detta anche "compound". L'omozigosi per C282Y e lo stato di eterozigosi compound C282Y/H63D sono responsabili della forma classica. La maggior parte dei pazienti che presenta i criteri fenotipici classici dell'emocromatosi sono però gli omozigoti per C282Y, anche se bisogna considerare che esiste una penetranza incompleta dell'omozigosi C282Y e la definizione di tale penetranza è da considerarsi essenziale<sup>16</sup>. Infatti quando vengono adottate definizioni biochimiche (incremento della saturazione di transferrina e/o ferritina sierica) il 70% degli uomini e il 56% delle donne dovrebbe essere considerato come se esprimesse lo stato di omozigosi. Lo stato di eterozigosi compound di solito corrisponde alle forme lievi di emocromatosi con cofattori di espressione (soprattutto l'alcool). Nelle popolazioni mediterranee la frequenza della mutazione C282Y è invece di circa il 60% dei casi. La mutazione H63D (sostituzione dell'istidina con l'acido aspartico in posizione 63) è frequentemente riscontrata nella popolazione generale, ma il suo ruolo nel metabolismo del ferro e nell'insorgenza della malattia è ancora incerto. La doppia eterozigosi C282Y/H63D ricorre in circa il 5% della popolazione generale, l'1.5% dei portatori di tale mutazione svilupperà una condizione di significativo sovraccarico di ferro<sup>15</sup>. Una mutazione più rara di HFE, coinvolta nel sovraccarico marziale, è S65C. È stato recentemente osservato che i portatori di S65C hanno un sovraccarico marziale lieve-moderato rispetto ai soggetti non mutati, e che lo stato di eterozigosi compound per S65C/C282Y e S65C/H63D non incrementa in maniera significativa il sovraccarico rispetto ai portatori di S65C in eterozigosi<sup>17</sup>.

Il gene HFE codifica per la proteina HFE, strutturalmente simile alle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità di classe I ed altamente espressa negli enterociti duodenali. HFE possiede tre domini alfa, uno dei quali ( $\alpha_3$ ) lega la  $\beta_2$ -microglobulina (Fig. 2). Nell'emocromatosi c'è una perdita funzionale della proteina HFE, che normalmente facilita l'uptake del ferro Tfr-mediato dal plasma agli enterociti duodenali. La mutazione C282Y è responsabile dell'alterazione del dominio  $\alpha_3$ , con conseguente mancata associazione di HFE con la  $\beta_2$ -microglobulina, sicché si blocca il trasporto della proteina sulla superficie cellulare. Questo esita in una riduzione del ferro all'interno delle cellule e quindi in un incremento dell'espressione di DMT-1 e di ferroportina nel duodeno

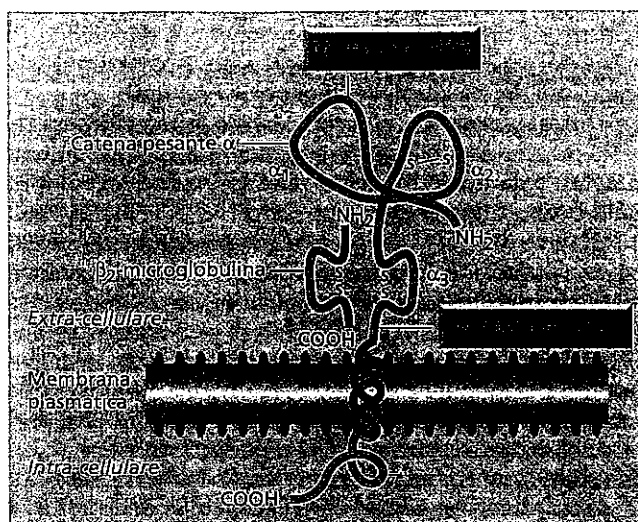


FIGURA 2. Mutazioni C282Y e H63D all'interno della proteina HFE.

che permettono, l'ingresso del metallo dal lume agli enterociti e il suo trasferimento al plasma. Tale meccanismo porta ad un incremento dell'assorbimento del ferro nel duodeno, quindi ad un'umentata deposizione del metallo nei diversi organi<sup>15</sup>.

#### Anatomia patologica

Il grado di sovraccarico di ferro ha un impatto diretto sull'aspettativa di vita dei soggetti con emocromatosi. Le cause di morte più frequenti nei pazienti non trattati sono la cardiomiopatia dilatativa, la cirrosi scompensata e l'epatocarcinoma.

A livello epatico, la fibrosi ed il danno epatocellulare sono direttamente correlati al contenuto di ferro negli epatociti<sup>18</sup>. Il ferro è responsabile dell'aumento dello stress ossidativo intracellulare che determina l'aumentata espressione di transforming growth factor- $\beta_1$ <sup>19</sup> che attiva le cellule epatiche stellate con conseguente rimaneggiamento della matrice extracellulare e produzione di fibre collagene. La gravità della fibrosi è massima nella zona periportale. I depositi di ferro possono essere inizialmente localizzati soltanto negli epatociti periportali e, in grado minore, nelle cellule di Kupffer, per cui, negli stadi iniziali, la fibrosi è limitata alla regione portale con la formazione di setti fibrosi incompleti che circondano gruppi di lobuli (aspetto ad "agrifoglio")<sup>20</sup>, successivamente si sviluppa una cirrosi macronodulare o mista. A livello pancreatico si ha la degenerazione parenchimale, con deposito di ferro nelle cellule acinose, nei macrofagi, nelle cellule di Langerhans. L'atrofia dell'epidermide riduce la cute ad uno strato sottile ed appiattito. La quantità di melanina nello strato basale è caratteristicamente aumentata. Il ferro è generalmente assente nell'epidermide, ma può essere spes-

so osservato negli strati più profondi, specialmente in quello basale. Il tessuto muscolare è estesamente implicato, essendo le fibre muscolari sostituite da una massa di pigmento ferroso all'interno della guaina. La degenerazione delle fibre muscolari è però rara. Le ghiandole endocrine, compresi la corteccia surrenalica, il lobo anteriore dell'ipofisi e la tiroide mostrano un grado variabile di depositi di ferro e lesioni sclerotiche. Il tessuto nervoso, la milza, il midollo osseo e l'epitelio duodenale sono generalmente risparmiati dall'accumulo di ferro.

#### Implicazioni diagnostiche

La diagnosi si basa sulla documentazione di un incremento delle LIC in associazione con l'innalzamento dei livelli sierici di ferritina, transferrina e sideremia. Oggi però l'emocromatosi ereditaria può essere geneticamente definita attraverso il riscontro di positività della mutazione in omozigosi C282Y, o della doppia eterozigosi, C282Y/H63D. Nei soggetti negativi per entrambe le mutazioni, ne dovranno essere ricercate altre più rare, quali S65C, E168X e W169X, che hanno una distribuzione geografica peculiare. L'analisi di tutte le mutazioni del gene HFE conferma la diagnosi nell'85% circa dei casi in Italia<sup>21</sup>. Tuttavia, il risultato del test genetico non è sufficiente per confermare o escludere la diagnosi. Infatti, alcuni soggetti con genotipo a rischio, non hanno segni clinici di sovraccarico di ferro ed inoltre esistono forme di emocromatosi non correlata a HFE, alcune delle quali non ancora definite dal punto di vista genetico<sup>12</sup>. L'algoritmo proposto per la diagnosi di emocromatosi procede attraverso tre livelli (Fig. 3): 1) test biochimici (saturazione della transferrina e ferritina sierica); 2) test genetici (analisi molecolare del gene HFE o di altri geni); 3) biopsia epatica (LIC).

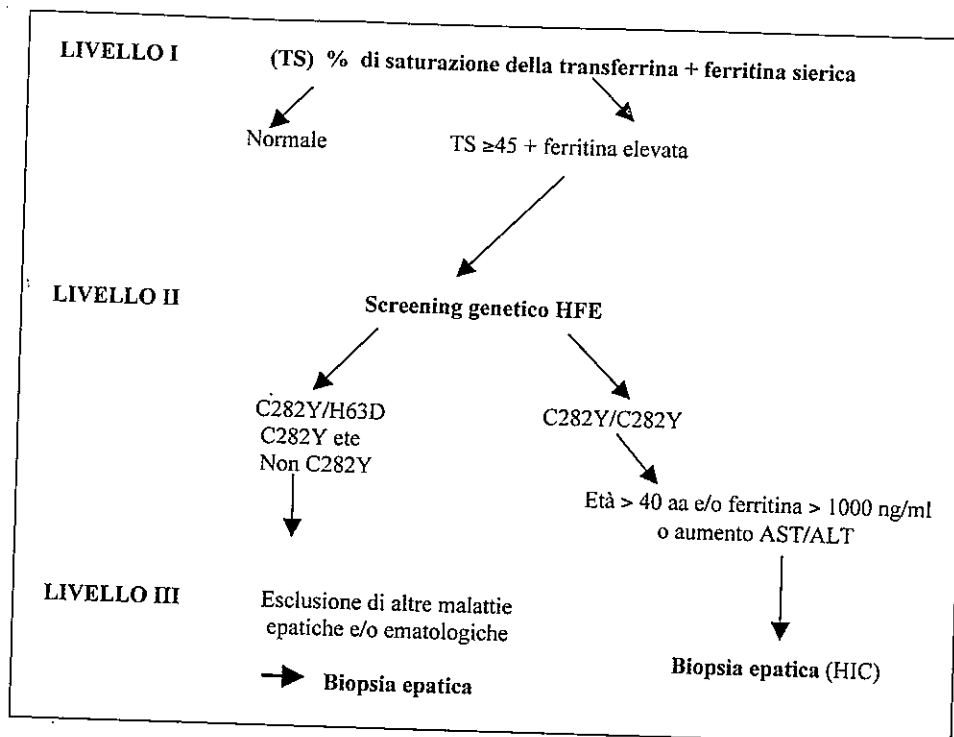


FIGURA 3. Algoritmo diagnostico dell'emocromatosi genetica (linee guida AASLD).  
ALT = alanina aminotransferasi; AST = aspartato aminotransferasi.

L'alterazione dei marker sierologici indiretti dei depositi di ferro, cioè percentuale di saturazione della transferrina, sideremia e ferritina rappresenta l'approccio iniziale. La saturazione della transferrina (rapporto tra sideremia e capacità ferroleghante totale), è un esame semplice, poco costoso e sensibile. Il valore normale è circa il 30% ed il cut-off oltre il quale si deve sospettare un sovraccarico di ferro è oltre il 45%. La ferritina sierica misura l'entità dell'accumulo di ferro: viene considerato patologico un valore > 200 µg/L nella donna e > 300 µg/L nell'uomo; tuttavia valori più bassi possono avere un significato in funzione dell'età e del sesso dell'individuo preso in esame. Una ferritina sierica > 1000 µg/L ha valore predittivo sulla possibile esistenza di un danno epatico, in quanto si accompagna ad un alto rischio di cirrosi. Lo screening iniziale di soggetti con un sospetto sovraccarico di ferro e di quelli che abbiano più di 20 anni e siano parenti di primo grado di soggetti con emocromatosi deve essere fatto con il dosaggio della saturazione di transferrina. Una percentuale di saturazione di transferrina > 45% ed una ferritina superiore ai livelli riportati, rende necessaria la tipizzazione genetica. Lo screening genetico per le mutazioni del gene HFE dovrebbe essere eseguito in tutti i soggetti che presentano uno studio alterato del ferro, su quelli con emocromatosi, e sui parenti di primo grado dei soggetti omozigoti identificati. La biopsia epatica, dopo l'introduzione dello screening genetico, non è più considerata un test diagnostico, ma principalmente prognosti-

co nei casi geneticamente definiti. Nel sospetto di un'emocromatosi geneticamente non definita, è utile per determinare la LIC (valori normali < 1.800 µg/g/d/w), che è una misura quantitativa per valutare i depositi intraepatocitari. La valutazione qualitativa invece viene effettuata sulla biopsia attraverso la colorazione con il blu di Perls. L'indice di ferro epatico fu sviluppato per distinguere l'emocromatosi ereditaria da condizioni cliniche, con le quali può essere confusa, in particolare con l'epatopatia alcolica. L'indice di ferro epatico è dato dal rapporto tra LIC ed età del paziente. Un tasso di indice di ferro epatico > 1.9 µmol/g/anno rappresenta una forte evidenza di emocromatosi ereditaria. Tuttavia il 15% dei soggetti affetti non ha un indice di ferro epatico > 1.9 µmol/g/anno. Lo SQUID (superconducting quantum interference device) è un esame non invasivo che permette di stabilire in modo preciso, paragonabile alla biopsia epatica, l'entità del sovraccarico di ferro. L'utilità dell'esame è limitata alla diagnosi dei casi di sospetta emocromatosi non-HFE in cui non sia possibile eseguire la biopsia epatica. Anche la risonanza magnetica nucleare ha le stesse indicazioni dello SQUID, ma è meno precisa nella definizione dell'entità dell'accumulo di ferro<sup>22</sup>.

#### Trattamento

L'istituzione della salassoterapia, prima che si sviluppi la cirrosi o il diabete, riduce significativamente la mor-

bilità e la mortalità<sup>23</sup>. Inoltre è importante la precoce identificazione e il trattamento tempestivo dei soggetti a rischio. Questo include il trattamento tanto dei soggetti asintomatici con emocromatosi ereditaria e marker del sovraccarico di ferro alterati, quanto degli altri, con evidenza di livelli potenzialmente tossici di ferro epatico<sup>24</sup>. Il regime terapeutico iniziale prevede la rimozione di una unità di sangue (circa 400 mL nell'uomo e 350 mL nella donna) alla settimana; ogni mL di sangue intero rimosso corrisponde a circa 0.5 g di ferro rimosso. Questo regime terapeutico standard può essere comunque ridotto per frequenza o entità dei salassi adattandolo al singolo individuo. La saturazione della transferrina rimane elevata finché i depositi di ferro non sono stati eliminati. La ferritina sierica, che dovrebbe essere eseguita solo dopo 10-12 salassi negli stadi iniziali del trattamento, all'inizio può avere valori fluttuanti, ma poi con la mobilizzazione del ferro, comincia a ridursi progressivamente. Si ottiene una ferrodeplezione completa, quando i valori di ferritina sono > 50 ng/mL. Per livelli di ferritina < 25 ng/mL bisogna sospendere temporaneamente i salassi, e va iniziata una fase di mantenimento. La frequenza dei salassi di mantenimento è variabile a seconda degli individui, a seconda dell'accumulo di ferro. In alcuni casi specifici, come la cirrosi epatica si può ricorrere alla salassoterapia con reinfusione del plasma, all'eritrocitoferesi o all'uso di eritropoietina in supporto alla salassoterapia. Nei casi in cui non è possibile ricorrere alla salassoterapia (cardiopatía, cirrosi di grado avanzato, anemia associata) ci si può avvalere dei chelanti del ferro (desferrossamina, 20-40 mg/kg/die per infusione sottocutanea continua)<sup>22</sup>. Le aritmie cardiache e la cardiomiopatia sono le più comuni cause di morte improvvisa negli stati di sovraccarico di ferro, ed il rischio di queste complicanze può essere incrementato durante la mobilizzazione rapida del ferro<sup>25</sup>. La cirrosi non regredisce con la rimozione del ferro ed una malattia di fegato scompensata è un'indicazione per il trapianto. Tuttavia la sopravvivenza dei trapiantati per emocromatosi è più bassa di quella dei trapiantati per altre cause<sup>26</sup>. La maggior parte delle morti avviene nel periodo perioperatorio per complicanze cardiache o correlate ad infezioni. Non si conosce ancora se questi problemi siano correlati ad una inadeguata rimozione del ferro prima del trapianto di fegato<sup>27</sup>.

#### **Co-fattori dell'espressione clinica delle mutazioni del gene HFE**

##### *Alcool*

In un modello sperimentale di epatopatia alcolica, l'aggiunta di ferro nella dieta esita in cirrosi<sup>28</sup>. L'accumulo di ferro nell'epatopatia alcolica è dovuto all'aumentato as-

sorbimento che consegue all'assunzione di alcool<sup>29</sup> e non sembra correlato alla mutazione C282Y<sup>30</sup>, malgrado la frequenza delle mutazioni HFE sia alta negli alcolisti. È stato recentemente rilevato da uno studio spagnolo che il sovraccarico marziale tra gli alcolisti è indipendente dalla presenza delle mutazioni del gene HFE<sup>31</sup>.

##### *Epatite da virus C*

Il ruolo del ferro nell'epatite C è sottolineato dal fatto che il salasso riduce le transaminasi e previene la progressione della fibrosi, ma non ha effetto sulla clearance virale. È stato inoltre osservato che i soggetti con emocromatosi ed infezione da HCV precocemente mostrano l'insorgenza della fibrosi e/o della cirrosi, confermando l'ipotesi che l'HCV nell'emocromatosi acceleri la fibrogenesi<sup>32</sup>. Molti pazienti con infezione da HCV presentano spesso un'alterazione del metabolismo del ferro, suggerendo un'associazione tra HCV e il sovraccarico marziale<sup>33,34</sup>. Tuttavia non è ancora chiaro se l'elevazione dei marker di sovraccarico di ferro sia un epifenomeno del danno epatico indotto da HCV, ovvero del processo flogistico cronico indotto dalla replicazione virale, oppure se le mutazioni HFE hanno un ruolo come fattori di comorbilità nell'evoluzione dell'epatopatia da HCV<sup>35</sup>. Uno studio recentemente condotto da Erhardt et al.<sup>36</sup>, suggerisce che le mutazioni HFE influenzino la progressione della fibrosi in corso di epatite C.

##### *Trait talassemico*

I portatori di trait hanno un elevato assorbimento di ferro, perché l'eritropoiesi è un fenomeno fisiologico che compensa l'anemizzazione. Il riscontro di maggiori livelli di ferritina nei pazienti portatori di trait talassemico ed omozigoti per H63D rispetto a quelli con trait ma senza mutazioni del gene, suggerisce che H63D potrebbe avere un effetto modulante sull'assorbimento del ferro<sup>37</sup>.

#### **Frequenza delle mutazioni del gene HFE nella clinica**

##### *Steatoepatite non alcolica*

È controverso quello che risulta dagli studi riguardo al possibile ruolo patogenetico svolto dal ferro nel fegato. Bacon et al.<sup>38</sup> documentarono un aumento della ferritina e/o della saturazione della transferrina nel 58% dei pazienti con steatoepatite non alcolica (NASH), alcuni dei quali avevano un modesto aumento della LIC. Alcuni studi supportano un'associazione fra la mutazione del gene HFE, il sovraccarico di ferro e la NASH. George et al.<sup>39</sup>

scoprirono che la mutazione C282Y dell'HFE era presente nel 31% dei pazienti con NASH e valutarono una serie di interessanti associazioni tra sesso maschile, mutazione suddetta, aumento della saturazione della transferrina, aumentata LIC e rischio di fibrosi. Constatarono pure che l'incremento del ferro ossidato nel fegato era significativamente associato al rischio di fibrosi nella NASH indipendentemente dalla mutazione C282Y.

#### *Epatocarcinoma*

È l'ultimo stadio di storia naturale di un'epatopatia cronica spesso virale, ma può essere anche la complicanza di una malattia da accumulo quale l'emocromatosi; comunque i dati disponibili in letteratura relativi alla relazione tra epatocarcinoma e mutazioni HFE sono limitati. Gli omozigoti C282Y presentano un rischio maggiore di sviluppare la neoplasia, al contrario delle altre mutazioni<sup>40</sup>.

#### *Porfiria cutanea tarda*

La causa di sovraccarico di ferro è sconosciuta. In alcune popolazioni l'aumentata sideremia è associata ad un'elevata frequenza di omozigosi ed eterozigosi per la mutazione C282Y di HFE. Uno studio francese ha analizzato la relazione tra le mutazioni del gene HFE e le alterazioni biochimiche presenti nella porfiria, nonché le interazioni esistenti tra tali mutazioni ed altri fattori scatenanti della porfiria. L'eterozigosi compound ed in misura minore l'omozigosi H63D spiegava il più alto sovraccarico di ferro in questi pazienti contribuendo così all'espressione clinica della malattia. Questo sovraccarico di ferro dovuto alle mutazioni HFE è un nuovo fattore scatenante della porfiria, indipendentemente dai fattori classici quali, alcool, HCV ed i farmaci<sup>41</sup>.

#### *Cardiomiopatie*

Bisogna distinguere le forme ischemico-coronariche e le dilatative. Per quanto riguarda la malattia coronarica esistono pareri discordanti; infatti Rasmussen et al.<sup>42</sup> sostengono che gli individui portatori della mutazione C282Y sono soggetti, già in condizioni di eterozigosi, ad un rischio quasi doppio di sviluppare tale patologia, rispetto a quelli non mutati, supportando così l'ipotesi che il ferro svolga un ruolo importante nel danno ischemico; altri studiosi, invece, sostengono che non ci sono evidenze consistenti che le mutazioni HFE siano associate ad un incremento del rischio della malattie cardiovascolari e con lo sviluppo dell'arteriosclerosi<sup>43</sup>. Nei pazienti con cardiomiopatia dilatativa idiopatica la frequenza della mutazione H63D è significativamente maggiore; essa potrebbe avere un ruolo modulatore considerato che tale mutazione ha un qualche effetto sull'omeostasi del ferro<sup>44</sup>.

#### *Celiachia*

Dal momento che la malattia celiaca e l'emocromatosi ereditaria sono delle condizioni HLA-linked, comuni nel Nord Europa, recentemente uno studio inglese<sup>45</sup> ha voluto determinare se esisteva una relazione genetica tra le due malattie e se le mutazioni del gene HFE erano protettive verso lo stato di deficienza marziale che comunemente si verifica nella malattia celiaca. Sono state ricercate le due mutazioni del gene HFE, H63D ed C282Y, e sono stati tipizzati per gli alleli HLA di classe I e II 145 pazienti di razza bianca affetti da celiachia e 187 controlli. Al momento della diagnosi nei celiaci sono anche stati dosati i livelli di sideremia ed emoglobina. Le mutazioni H63D, o C282Y sono state identificate in 70 pazienti celiaci (48.3%) e 61 (32.6%) controlli. Al momento della diagnosi i pazienti celiaci con la mutazione C282Y avevano più alti valori di emoglobina e di sideremia rispetto ai soggetti senza mutazioni. Questa correlazione non è stata osservata con la mutazione H63D. Pertanto si concludeva che nel morbo celiaco le mutazioni del gene HFE sono comuni e si trovano in *linkage disequilibrium* con gli alleli HLA se confrontati con i controlli. Veniva così definito un aplotipo specifico di malattia, portatore di C282Y e DQB1\*02, ed inoltre che la mutazione C282Y non soltanto aveva un ruolo protettivo nei confronti dell'anemia sideropenica riscontrata nei celiaci, ma ritardava l'esordio della malattia<sup>45</sup>.

#### *Cancro del colon-retto*

L'incidenza del carcinoma del colon nei pazienti con mutazioni HFE è maggiore rispetto ai soggetti senza le mutazioni. L'intensità dell'effetto è simile per entrambe le mutazioni. Il rischio di cancro del colon associato alle mutazioni del gene HFE è simile sia per i pazienti con storia familiare di cancro del colon sia per quelli senza familiarità. Inoltre, tra i soggetti con mutazioni HFE, il rischio di carcinoma aumenta con l'età e con l'aumentato introito di ferro<sup>46</sup>.

#### *Artrite reumatoide*

I dati disponibili in letteratura sono molto pochi. Uno studio canadese ha cercato di individuare se le mutazioni C282Y e H63D di HFE determinano maggiore suscettibilità a sviluppare l'artrite reumatoide, ma i risultati ottenuti richiedono conferma con ulteriori studi<sup>47</sup>.

È importante distinguere l'artrite reumatoide dall'artropatia che si manifesta in corso di emocromatosi principalmente perché i pazienti con emocromatosi ereditaria non necessitano di terapia con corticosteroidi ed inoltre, in caso di erronea diagnosi di artrite reumatoide, la fle-

botomia non viene iniziata precocemente e lo screening genetico familiare non viene preso in considerazione. Quindi nei soggetti di sesso maschile con positività per il fattore reumatoide ed artropatie associate ad epatopatia la diagnosi di emocromatosi ereditaria dovrebbe essere presa in considerazione, pertanto in questi soggetti sarebbe giustificato lo screening genetico<sup>48</sup>.

#### *Leucemie, linfomi e mielodisplasie*

Dagli studi pubblicati in letteratura sembra che non vi sia associazione fra le neoplasie ematologiche e le mutazioni HFE. Infatti nello studio di Hannuksela et al.<sup>49</sup> la frequenza di C282Y era molto bassa nel gruppo di pazienti con leucemia mieloide acuta (4%), ma era alta in quelli con trombocitemia essenziale (16%), mentre nella leucemia linfoblastica acuta era normale (7%). La differenza di frequenza della C282Y tra il gruppo di soggetti con leucemia mieloide acuta e quello con trombocitemia essenziale sottolinea la necessità di verificare la frequenza delle mutazioni HFE in gruppi di pazienti ematologici più numerosi e soprattutto omogenei. La leucemia mieloblastica acuta e il linfoma di Hodgkin negli adulti non sembrano mostrare un'associazione con HFE, a differenza di quanto avviene nei bambini maschi, dove anche la sola condizione di eterozigosi per C282Y mostra una forte associazione con la leucemia linfoblastica acuta<sup>50</sup>.

#### *Malattia di Alzheimer e tumori cerebrali*

Diversi studi hanno ipotizzato che la mutazione H63D abbia un ruolo sull'età di esordio clinico della forma sporadica del morbo di Alzheimer<sup>51</sup>. Infatti, l'età di comparsa della malattia nei portatori di H63D in omo o in eterozigosi era < 5 anni rispetto a quella dei pazienti con genotipo HFE wild-type<sup>52</sup>. Inoltre, considerando l'elevata frequenza di mutazioni di HFE tra le neoplasie, è stato osservato che H63D si riscontra spesso nel glioma maligno<sup>53</sup>.

#### **Riassunto**

Le patologie da sovraccarico marziale conseguono al progressivo deposito di ferro nell'organismo determinando un'alterata funzionalità degli organi parenchimali (fegato, pancreas, cuore, rene). La forma più comune è l'emocromatosi ereditaria (HH), una malattia che si trasmette con carattere autosomico recessivo. Sebbene nel Nord Europa la maggior parte dei casi di HH siano associati alla mutazione del gene HFE (C282Y e/o H63D), esistono gruppi familiari affetti da sovraccarico marziale in cui queste mutazioni non sono state identificate. Recentemente infatti, sono state descritte altre forme di HH

non correlate al gene HFE, ma alla mutazione dei geni che codificano per le proteine di trasporto del ferro (ferroportina, TFR2, epcidina).

I soggetti affetti, a seconda della gravità del sovraccarico, possono avere una presentazione clinica diversa che può essere caratterizzata da un danno sia epatico (cirrosi epatica, epatocarcinoma) che extraepatico (diabete, malattie cardiovascolari artrite). Le forme di HH, sia quelle associate che quelle non associate a HFE possono essere prevenute attraverso una diagnosi precoce ed un trattamento efficace.

Oggi l'HH viene riconosciuta come una malattia genetica complessa per l'intervento di co-fattori sia genetici (mutazioni dei geni interessati) che ambientali (infezione da virus dell'epatite C-HCV, abuso di alcool, talassemia) che ne modificano la storia naturale. Inoltre, a questo proposito è stato dimostrato che le mutazioni HFE rappresentano un fattore di rischio indipendente per la fibrosi e la cirrosi nelle epatiti croniche HCV-correlate, quindi tutti i pazienti con segni di sovraccarico di ferro, storia familiare di emocromatosi o con altri fattori di rischio (HCV, talassemia, ecc.) dovrebbero essere sottoposti allo screening genetico per la ricerca delle mutazioni del gene HFE.

*Parole chiave:* Emocromatosi ereditaria; Ferro; Mutazioni del gene HFE; Sovraccarico marziale.

#### **Bibliografia**

1. Parkilla S, Niemela O, Britton RS, et al. Molecular aspects of iron absorption and HFE expression. *Gastroenterology* 2001; 121: 1489-96.
2. Zoller H, Pietrangelo A, Vogel W, et al. Duodenal metal-transporter (DMT-1, NRAMP-2) expression in patients with hereditary haemochromatosis. *Lancet* 1999; 353: 2120-2.
3. McKie AT, Marciani P, Rolfs A, et al. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000; 5: 299-309.
4. Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet* 1999; 21: 195-9.
5. Bacon BR, Powell LW, Adams PC, et al. Molecular medicine and hemochromatosis: at the crossroads. *Gastroenterology* 1999; 116: 193-207.
6. Bridle K, Frazer D, Wilkins S, et al. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet* 2003; 361: 669-73.
7. Montosi G, Donovan A, Totaro A, et al. Autosomal-dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001; 108: 619-23.
8. Pietrangelo A. Haemochromatosis. *Gut* 2003; 52 (Suppl 2): 23-30.
9. Camaschella C, Roetto A, Cali A, et al. The gene TFR2 is mutated in a new type of hemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet* 2000; 25: 14-5.



10. Roetto A, Daraio F, Alberti F, et al. Hemochromatosis due to mutations in transferrin receptor 2. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29: 465-70.
11. De Gobbi M, Caruso R, Daraio F, et al. Diagnosis of juvenile hemochromatosis in an 11-year-old child combining genetic analysis and non-invasive liver iron quantitation. *Eur J Pediatr* 2003; 162: 96-9.
12. Olynk JK, Cullen DJ, Aquilia S, et al. A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999; 341: 718-24.
13. Piperno A, Sampietro M, Pietrangelo A, et al. Heterogeneity of hemochromatosis in Italy. *Gastroenterology* 1998; 114: 996-1002.
14. Rochette J, Pointon JJ, Fisher CA, et al. Multicentric origin of hemochromatosis gene (HFE) mutations. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 1056-62.
15. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. Milestones in liver disease: the discovery of the new hemochromatosis gene. *J Hepatol* 2003; 38: 704-9.
16. Maccari S, Plancher AC. Significance of "minor" genetic mutations in hereditary hemochromatosis: 2 case reports. *Ann Ital Med Int* 2000; 15: 221-5.
17. Holmstrom P, Marmur J, Eggertsen G, Gafvels M, Stal P. Mild iron overload in patients carrying the HFE S65C gene mutation: a retrospective study in patients with suspected iron overload and healthy controls. *Gut* 2002; 51: 723-30.
18. Iancu TC, Deugnier Y, Halliday JV, et al. Ultrastructural sequences during liver iron overload in genetic hemochromatosis. *J Hepatol* 1997; 27: 628-38.
19. Houghlum K, Ramm GA, Crawford DH, et al. Excess iron induces hepatic oxidative stress and transforming growth factor beta-1 in genetic hemochromatosis. *Hepatology* 1997; 26: 605-10.
20. Ramm GA, Crawford DH, Powell LW, et al. Hepatic stellate cell activation in genetic hemochromatosis. *J Hepatol* 1997; 26: 584-92.
21. Bacon BR, Olynk JK, Brunt EM, et al. HFE genotype in patients with hemochromatosis and other liver diseases. *Ann Intern Med* 1999; 130: 953-62.
22. Tavill A. Diagnosis and management of hemochromatosis. *Hepatology* 2001; 33: 1323-5.
23. Niederau C, Fischer R, Purschel A, et al. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996; 110: 1107-19.
24. Adams PC, Deugnier Y, Moirand R, Brissot P. The relationship between iron overload, clinical symptoms, and age in 410 patients with genetic hemochromatosis. *Hepatology* 1997; 25: 162-6.
25. Cao A, Gabutti V, Galanello R, et al. Management protocol of the treatment of thalassemia patients. Nicosia, Cyprus: Thalassemia International Federation, 1997.
26. Farrell FJ, Nguyen KM. Outcome of liver transplantation in patients with hemochromatosis. *Hepatology* 1994; 20: 404-10.
27. Kowdley KV, Hassanein T, Kaur S, et al. Primary liver cancer and survival in patients undergoing liver transplantation for hemochromatosis. *Liver Transplant Surg* 1995; 1: 237-41.
28. Tsukamoto H, Horne W, Kamimura S, et al. Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron. *J Clin Invest* 1995; 96: 620-30.
29. Duane P, Raja KB, Simpson RJ, Peters TJ. Intestinal iron absorption in chronic alcoholics. *Alcohol Alcohol* 1992; 27: 539-44.
30. Gordon HM, Wallace DF, Walker AP, et al. The role of HFE mutation in determining predisposition to alcohol-related cirrhosis in a Celtic population [abstract]. *Hepatology* 1998; 28: 199A.
31. Campos FJ, Gonzalez QA, Fernandez de Troconiz LL, et al. Mutation in the HFE gene (C282Y, H63D, S65C) in alcoholic patients with finding of iron overload. *Rev Clin Esp* 2000; 202: 534-9.
32. Diwakaran HH, Befeler AS, Britton RS, et al. Accelerated hepatic fibrosis in patients with combined hereditary hemochromatosis and chronic hepatitis C infection. *Hepatology* 2002; 36: 687-91.
33. Piperno A, Sampietro M, D'Alba R, et al. Iron stores, response to alpha-interferon therapy, and effects of iron depletion in chronic hepatitis C. *Liver* 1996; 16: 248-54.
34. Pietrangelo A. Hemochromatosis gene modifies course of hepatitis C viral infection. *Gastroenterology* 2003; 124: 1509-23.
35. Bonkonwsky HL, Banner BF, Rothman AL, et al. Iron and chronic viral hepatitis. *Hepatology* 1997; 25: 759-68.
36. Erhardt A, Maschner-Olberg A, Mellenthin C, et al. HFE mutations and chronic hepatitis C: H63D and C282Y heterozygosity are independent risk factors for liver fibrosis and cirrhosis. *J Hepatol* 2003; 38: 335-42.
37. Melis MA, Cau M, Deidda F, et al. H63D mutation in the HFE gene increases iron overload in beta-thalassemia carriers. *Haematologica* 2002; 87: 242-5.
38. Bacon B, Farahvash M, Janney C, et al. Non-alcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-9.
39. George DK, Goldwurm S, MacDonald GA, et al. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology* 1998; 114: 311-8.
40. Cauza E, Peck-Radosavljevic M, Ulrich-Pur H, et al. Mutations of the HFE gene in patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 442-7.
41. Skowron F, Berard F, Grezard P, Wolf E, Morel Y, Perrot H. Role of the hemochromatosis gene in porphyria cutanea tarda. Prospective study of 56 cases. *Ann Dermatol Venereol* 2001; 128: 600-4.
42. Rasmussen ML, Folasom AR, Catellier DJ, et al. A prospective study of coronary heart disease and the hemochromatosis gene (HFE) C282Y mutation: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis* 2001; 154: 739-46.
43. Hetet G, Elbaz A, Garipey J, et al. Association studies between hemochromatosis gene mutations and the risk of cardiovascular diseases. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 382-8.
44. Mahon NG, Coonar AS, Jeffery S, et al. Hemochromatosis gene mutations in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Heart* 2000; 84: 541-7.
45. Butterworth JR, Cooper BT, Rosenberg WM, et al. The role of hemochromatosis susceptibility gene mutations in protecting against iron deficiency in celiac disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 444-9.
46. Shaheen NJ, Silverman LM, Keku T, et al. Association between hemochromatosis (HFE) gene mutation carrier status and the risk of colon cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 154-9.
47. Li J, Zhu Y, Singal DP. HFE mutations in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000; 27: 2074-7.
48. Lonardo A, Neri P, Mascia MT, Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis masquerading as rheumatoid arthritis. *Ann Ital Med Int* 2001; 16: 46-9.
49. Hannuksela J, Savolainen ER, Koistinen P, et al. Prevalence of HFE genotypes, C282Y and H63D, in patients with hematologic disorders. *Haematologica* 2002; 87: 131-5.

50. Dorak MT, Burnett AK, Worwood M. Hemochromatosis gene in leukemia and lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2002; 43: 467-77.
51. Moalem S, Percy ME, Andrews DF, et al. Are hereditary hemochromatosis mutations involved in Alzheimer disease? *Am J Med Genet* 2000; 93: 58-66.
52. Sampietro M, Caputo L, Casatta A, et al. The hemochromatosis gene affects the age of onset of sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22: 563-8.
53. Martinez di Montemuro F, Tavazzi D, Salsano E, et al. High frequency of the H63D mutation of the hemochromatosis gene (HFE) in malignant gliomas. *Neurology* 2001; 57: 1342.

Manoscritto ricevuto il 18.12.2003; accettato il 27.3.2004.

Per la corrispondenza:

Dr.ssa Anna Licata, Cattedra di Gastroenterologia, Istituto di Clinica Medica I, Università degli Studi, Piazza delle Cliniche 2, 90127 Palermo.  
E-mail: annalisalicata@yahoo.com