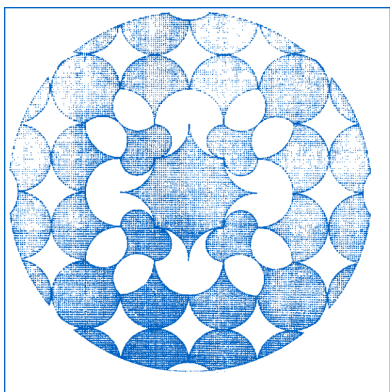


Sped. in A. P. - art.2 comma 20/b legge 662/96 - n°117 - Dicembre 1997 - Direttore responsabile: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems S.p.A. Genova - Contiene I.P. - Stampa: Tipolitografia Nuova ATA Genova

ISSN 0394 3291

Caleidoscopio

Italiano



Serie Mosaici Romani

Gaetano Cairo

La Ferritina



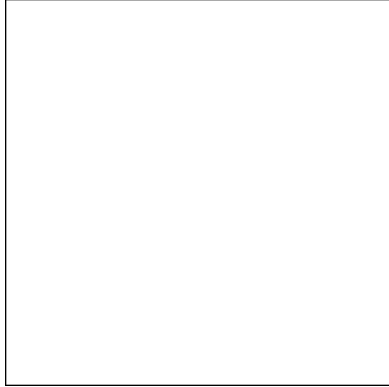
117

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1997

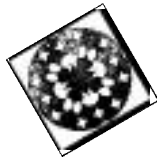
Caleidoscopio

Italiano



Gaetano Cairo

*Centro di Studio sulla Patologia
Cellulare CNR
Via Mangiagalli 31
20133 Milano*



La Ferritina



Direttore Responsabile
Sergio Rassa

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1997

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INFORMAZIONI GENERALI. *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'*International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

TESTO. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

FRONTESPIZIO. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

BIBLIOGRAFIA. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. *J. Nucl. Med. Allied. Sci* 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2 Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): *The Endocrine Hypothalamus*. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi. La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati (Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce ogni eventuale assistenza agli Autori.

TABELLE E FIGURE. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse.

Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

UNITÀ DI MISURA. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

ABBREVIAZIONI. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA. Riporre le fotografie in busta separata, una copia del testo e dei grafici archiviati su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh, se MS-DOS.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera alla Rivista *Caleidoscopio* con diritto di stampare, pubblicare, dare licenza a tradurre in altre lingue in Nazioni diverse rinunciando ai diritti d'Autore.

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

Dott. Sergio Rassa
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari

Caleidoscopio

Italiano

Editoriale

La ferritina viene generalmente considerata una proteina deputata all'accumulo del ferro intracellulare. Tuttavia, piccole quantità di ferritina circolano nel siero degli individui normali ed il ruolo fisiologico della ferritina presente nel siero rimane oscuro.

Nonostante questo limite, la concentrazione di ferritina sierica rappresenta oggi l'indicatore più efficace, economico e meno invasivo delle riserve tissutali di ferro, sebbene esistano alcune riserve.

Infatti pur essendo un buon indicatore del deposito di ferro, poiché diminuisce progressivamente con il ridursi di questo, è uno scarso indicatore del deficit funzionale dello stesso. Infatti quando i depositi sono depleti la ferritina raggiunge un plateau di 12 µg/L e mostra una ulteriore scarsa riduzione quando si riduce il compartimento funzionale cioè: l'emoglobina, la mioglobina, la catalasi, la perossidasi, la ribonucleotidasi etc. Va tenuto presente che il compartimento funzionale contiene circa il 70% del ferro corporeo mentre i depositi di ferro ne costituiscono solo il 30%.

Inoltre, la presenza di una anemia legata ad una malattia cronica (come le infiammazioni acute croniche, le epatite e le neoplasie) ne limita l'uso.

Benché sia certo il ruolo centrale della ferritina nel metabolismo del ferro, negli ultimi anni sono emersi dei nuovi dati che sembrano indicare un possibile ruolo di questa proteina anche nel processo di ematopoiesi e nell'attività del sistema immune.

E' stato infatti dimostrato che la ferritina svolge una azione di inibizione sulla crescita in vitro delle cellule umane progenitrici ematopoietiche e sulla proliferazione dei linfociti T, sempre in vitro.

Del tutto recentemente è stato anche dimostrato che la ferritina agisce in vitro sopprimendo la differenziazione dei linfociti B umani in plasmacellule.

Questa monografia affronta in modo chiaro ed aggiornatissimo tutti gli aspetti legati alla fisiologia ed alla fisiopatologia della ferritina illustrando in modo chiaro le più attuali conoscenze legate a questa proteina, con la chiarezza di chi, su questo campo, studia e lavora incessantemente.

Non vengono peraltro tralasciati anche gli aspetti più strettamente clinici della tematica che vengono illustrati negli ultimi paragrafi. Si tratta pertanto di una monografia completa che sono sicuro susciterà l'interesse dei nostri lettori soprattutto per il rigoroso aggiornamento scientifico.

Il Dr. Cairo, dopo la laurea in Scienze Biologiche presso l' Istituto di Farmacologia dell'Università di Pavia, ha iniziato a frequentare l'Istituto di Patologia Generale dell'Università di Milano dove si è occupato dello studio delle alterazioni della sintesi di RNA e di proteine in modelli di patologia sperimentale epatica. Dopo un periodo trascorso presso l'Istituto Biosintesi Vegetali del C.N.R. allo scopo di preparare la tesi di Laurea in Scienze Agrarie durante il quale ha studiato le proprietà molecolari di una proteina di riserva del mais, il Dr Cairo è ritornato all'Istituto di Patologia Generale dove tuttora lavora come ricercatore presso il Centro di Studio sulla Patologia Cellulare del C.N.R. Qui egli ha iniziato ad applicare le tecniche di ingegneria genetica acquisite studiando geni vegetali all'analisi dei meccanismi molecolari implicati nell'alterata espressione dei geni epatici. Negli ultimi 12 anni in particolare si è interessato proprio al controllo dell'espressione dei geni delle principali proteine del metabolismo del ferro.

Il Dr Cairo è autore di oltre 50 lavori "in extenso" su riviste internazionali, di capitoli di libri ecc. e dal 1994, in qualità di Professore a contratto, insegna Applicazioni Biotecnologiche in Patologia agli studenti della facoltà di Medicina dell'Università di Milano.

Sergio Rassu

Introduzione

Il ferro è essenziale per le più elementari funzioni di ogni organismo, dai procarioti all'uomo. Esso serve infatti come cofattore per molti enzimi, sia sotto forma di non-emo che di emoproteine. Tra le prime, appare sempre più evidente l'importanza delle proteine in cui il ferro è complessato con lo zolfo. Le emoproteine a loro volta sono implicate in un vasto spettro di funzioni biologiche cruciali tra cui il trasporto e l'utilizzo dell'ossigeno.

D'altra parte, il ferro, se non complessato, è anche potenzialmente tossico perchè facilmente catalizza la trasformazione di specie attive dell'ossigeno quali l'anione superossido e l'acqua ossigenata formati durante la normale attività metabolica della cellula in radicali ossidrilici ben più reattivi e pericolosi.

Il metabolismo del ferro tocca quindi molti aspetti della biologia e della medicina: ad esempio, la sintesi delle proteine, la crescita cellulare, i meccanismi di difesa corporei, i processi degenerativi. Di conseguenza, il sovraccarico di ferro è stato indicato come fattore di rischio per processi patologici di grande importanza sociale quali il cancro, la malaria, la malattia di Alzheimer, i danni da ri-perfusione post-trapianto, le infezioni, l'infarto del miocardio. D'altro lato, giova sottolineare che l'anemia da carenza di ferro colpisce il 10% della popolazione mondiale con notevoli ripercussioni sulla capacità di apprendimento, di lavoro, di procreazione, di risposta alle malattie infettive.

Da quanto detto per il ferro si può facilmente dedurre che anche la ferritina, la principale proteina di deposito di questo metallo, modulandone la disponibilità, può avere molteplici ed importanti ruoli. In questa monografia verrà esaminato il ruolo della ferritina nel metabolismo del ferro sia in condizioni normali che patologiche e si accennerà ai complessi meccanismi molecolari che controllano finemente e strettamente l'espressione di questa proteina.

Il metabolismo del ferro e l'importanza della sua conservazione

La prominenza del ruolo del ferro in biologia riflette la sua versatilità chimica, cioè la sua capacità di cambiare valenza. Questa capacità è stata sapientemente sfruttata dalla natura utilizzando il ferro in un'ampia serie di processi biologici fondamentali: creando, ad esempio, una serie di ligandi organici per dotare le proteine che trasportano elettroni di una grande varietà di potenziali di ossidoriduzione. Inoltre, il ferro si ritrova anche nel sito attivo di molti enzimi e di proteine che trasportano ossigeno. Tuttavia, quando milioni di anni fa l'atmosfera terrestre è a poco a poco diventata ossidante, il ferro, nonostante la sua estrema abbondanza, ha incominciato ad essere poco disponibile. Infatti, a pH fisiologico e in condizioni ossidanti, il ferro è estremamente insolubile.

L'importanza funzionale del ferro, accoppiata con la sua scarsa biodisponibilità, ha obbligato gli organismi viventi ad evolvere da un lato sistemi di riciclaggio del metallo, dall'altro proteine che lo tenessero in soluzione ma che, al contempo, evitassero la sua pericolosa disponibilità a fare da catalizzatore nella reazione di formazione di dannosi radicali dell'ossigeno attraverso la reazione indicata in Figura 1. Nei vertebrati questa funzione è esplicata in sede extra-cellulare dalla transferrina, che complessa il ferro in circolo e lo distribuisce ai vari tessuti, e in sede intra-cellulare dalla ferritina che rappresenta la sede di deposito del metallo all'interno della cellula. Ambedue le proteine conservano il ferro nella forma Fe(III) che non catalizza la produzione di radicali; in particolare, la ferritina, che agisce all'interno della cellula, dove risiedono i principali potenziali bersagli del danno ossidativo mediato da ferro, svolge la sua azione trasformando il Fe(II), altamente reattivo, nel meno tossico Fe(III) e sequestrando quest'ultimo al suo interno (46).

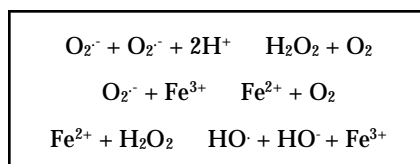


Figura 1. Reazione di Fenton. Formazione di radicali idrossili catalizzata da ferro a partire da anione superossido.

Il metabolismo del ferro nell'uomo

La figura 2 riporta uno schema dei movimenti del ferro nel corpo umano. Il ferro viene trasportato in circolo dalla transferrina che lo riceve principalmente dalle cellule del sistema reticoloendoteliale e lo cede soprattutto alle cellule del midollo osseo, che usano il ferro per la sintesi di emoglobina. Anche tutte le altre cellule sono però in grado di accettare ferro transferrinico e di utilizzarlo per la sintesi di proteine essenziali per la loro vita (es. per la re-

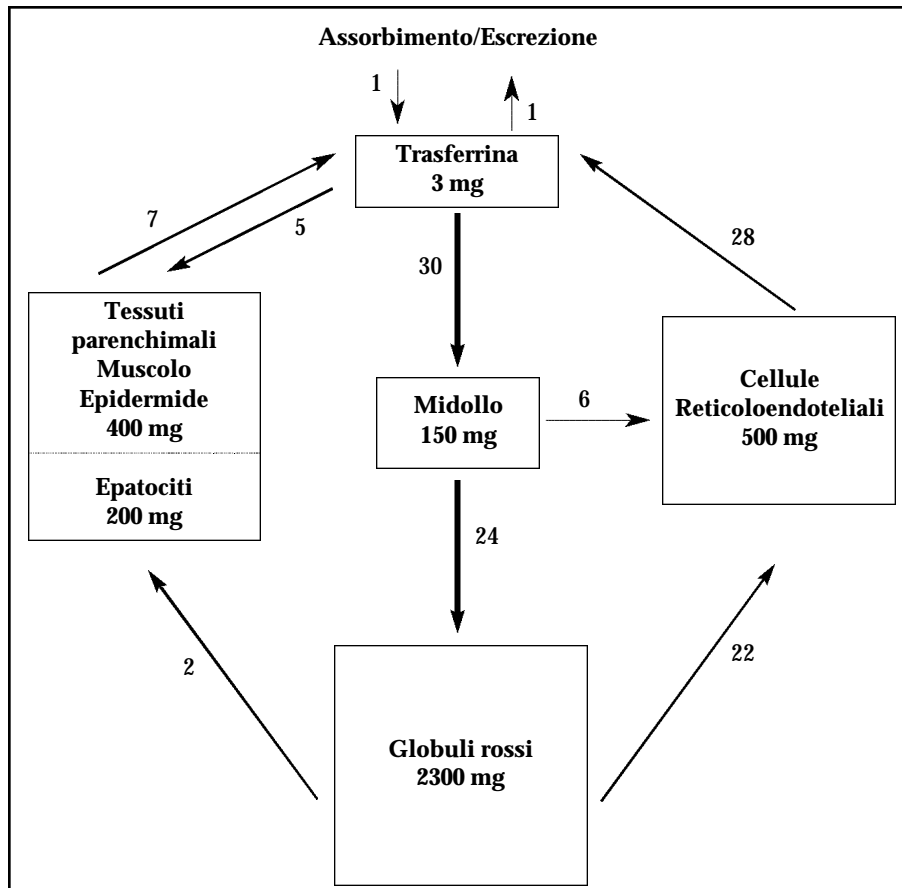


Figura 2. Metabolismo sistemico del ferro. I numeri indicano i mg di ferro scambiati tra i vari compartimenti nelle 24 ore.

spirazione) e per la loro moltiplicazione (es. per la sintesi del DNA). A loro volta le cellule reticoloendoteliali si procurano ferro distruggendo globuli rossi ormai vecchi o danneggiati. Questo interscambio di ferro rappresenta circa l'80% del turnover giornaliero del metallo (42). Una quota molto più piccola proviene dalla dieta e viene assorbita a livello duodenale attraverso meccanismi ancora non noti; l'assorbimento risponde a variazioni nei depositi corporei o nelle richieste del midollo mediate da segnali non ancora identificati (77).

Il ferro transferrinico viene utilizzato dalle cellule grazie alla internalizzazione della transferrina legata ad uno specifico recettore; transferrina e recettore vengono riportati alla superficie cellulare dove la loro unione finisce e la transferrina priva di ferro ritorna in circolo (38). Il ferro liberatosi all'interno della cellula entra in un pool assai mal caratterizzato chiamato pool labile (LIP) e può in seguito essere utilizzato per le necessità metaboliche della cellula o essere conservato all'interno della ferritina.

Struttura e distribuzione della ferritina

La ferritina è forse la proteina del metabolismo del ferro da più tempo e meglio conosciuta, infatti cade quest'anno il 60° anniversario della sua cristallizzazione, le sue caratteristiche sono riassunte nella Tabella 1. La ferritina è una molecola sferica formata da 24 catene polipeptidiche, o subunità, che racchiudono una cavità entro la quale si possono depositare fino a 4000 atomi di ferro (81) (Figura 3). Esistono due tipi di catene, chiamate H e L, che nell'uomo hanno peso molecolare 21000 e 19000, rispettivamente. Le ferritine isolate dai tessuti di mammiferi consistono di una miscela di isoferritine derivate dall'unione delle due subunità in diverse proporzioni (1). In genere le isoferritine ricche in subunità L predominano nei tessuti deputati all'immagazzinamento a lungo termine del ferro (ad es. fegato e milza) e hanno un alto contenuto di ferro; le isoferritine ricche di subunità H sono invece caratteristiche dei tessuti in cui avvengono rapidi scambi di ferro (ad es. tessuto eritroide) e hanno un contenuto di metallo più scarso (46) (vedi Tabella 2). Le caratteristiche delle due subunità spiegano la diversa funzionalità delle varie isoferritine. La funzione primaria della ferritina, cioè il deposito di Fe(III), prevede infatti l'ossidazione del Fe(II) e la sua conservazione all'interno della cavità in forma cristallina come ferridrite. La disponibilità di ferritine ricombinanti omopolimeriche ottenute con tecniche di ingegneria genetica e la possibilità di fare mutagenesi sito-specifica ha permesso di accertare che il primo di questi compiti è opera di siti catalitici localizzati in residui aminoacidici presenti esclusivamente nella subunità H (57). Le subunità L sembrano invece essere importanti per la formazione del nucleo di ferridrite nella cavità (59). Il ruolo complementare delle due catene, rapida

	Proteina assemblata	Subunità	mRNA	Gene	Esoni	Cromosoma
	KDa	KDa	Kbasi	Kbasi		
H	550	21	1	3	4	11
L	480	19	1	3	4	19
G	-	23	-	-	-	-

Tabella 1. Caratteristiche molecolari della ferritina umana.

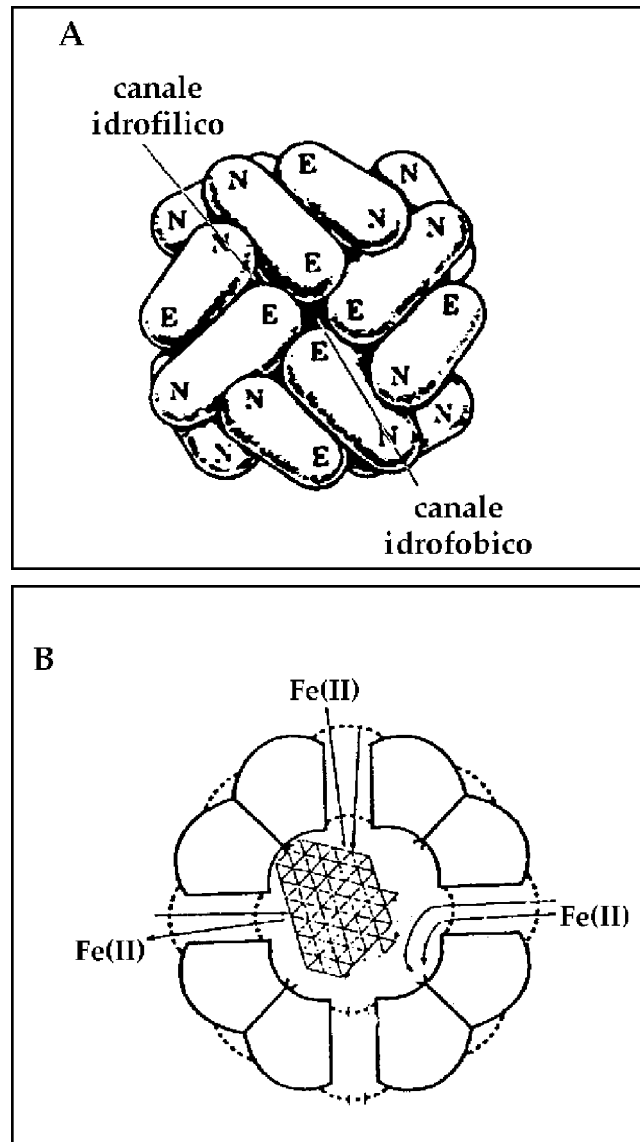


Figura 3. Struttura della ferritina. La figura nel pannello A mostra la disposizione a sfera delle 24 subunità assemblate, nel pannello B viene mostrato uno "spaccato" della ferritina che mette meglio in evidenza la cavità interna in cui, una volta entrato attraverso i canali, si deposita il ferro. N indica l'estremità aminoterminale delle catene; E indica la regione ad elica chiamata E posta all'estremità carbossiterminale delle catene.

	Concentrazione	H/L
Fegato	0.31 mg/g	0.05
Milza	0.58 mg/g	0.1
Rene	0.05 mg/g	0.3
Cuore	0.12 mg/g	1
Eritrociti	0.13 fg/cell.	10
Linfociti	15 fg/cell.	1
Monociti	70 fg/cell.	0.7
Siero	10-300 ng/ml	<0.01
Latte	~1000 ng/ml	8
Colostro	~ 2000 ng/ml	0.5

Tabella 2. Concentrazione e rapporto tra le subunità della ferritina nei vari tessuti e liquidi corporei.

ossidazione del ferro da parte della H ed efficace ritenzione da parte della L, rendono pertanto ragione della presenza esclusiva di eteropolimeri nelle ferritine estratte da tessuti.

Una forma particolare di ferritina, tipica delle condizioni di sovraccarico cellulare, è rappresentata dall'emosiderina. Quest'ultima è probabilmente un prodotto di degradazione lisosomale della ferritina (70). L'emosiderina, a differenza della ferritina, è insolubile e pertanto la notevole quantità di ferro in essa contenuto è poco disponibile. La ferritina infatti non serve a trattenere indefinitamente il ferro ma a conservarlo in maniera disponibile alle necessità metaboliche della cellula e, più in generale, dell'organismo. *In vitro*, il ferro può essere mobilizzato dalla ferritina ad opera di un elevato numero di sostanze riducenti a basso peso molecolare accoppiate a chelanti del Fe(II) (46), ma non è noto quali siano i riducenti che operano *in vivo*. Soprattutto in particolari condizioni fisio-patologiche è inoltre possibile che il ferro sia reso disponibile mediante degradazione proteolitica della ferritina (26, 72, 80).

I geni della ferritina

Nell'uomo e in altri animali esistono copie multiple sia dei geni codificanti la catena L che di quelli per la catena H (2). La maggior parte sono pseudogeni privi di introni, senza significato funzionale. Nell'uomo, il gene attivo della subunità L è stato localizzato sul cromosoma 19, quello della H sul cromosoma 11 (2). Una certa eccitazione fra gli studiosi del ferro era stata suscitata dalla presenza di sequenze ibridizzanti con la sonda molecolare per la subunità H sul cromosoma 6 (78) dove è mappato il locus dell'emocromatosi, una malattia genetica caratterizzata da uno sregolato assorbimento di ferro (76), ma studi successivi hanno chiarito che queste sequenze sul cromosoma 6 non sono espresse (91).

Le strutture regolatrici fiancheggianti i geni della ferritina sono state a lungo trascurate dai ricercatori e quindi se ne conosce ben poco. Nell'uomo è stata analizzata una porzione piuttosto ridotta all'estremità 5' del gene per la catena H nella quale sono stati trovate alcune regioni necessarie per la trascrizione (5, 12) mentre elementi che influenzano positivamente o negativamente la trascrizione sono stati trovati nel promotore del gene per la catena L (36); tuttavia non sono state identificate sequenze importanti per l'espressione tessuto-specifica o per la risposta trascrizionale al ferro o ad altri induttori. Il gene per la subunità H del topo è meglio conosciuto, infatti la regione del promotore è stata analizzata in dettaglio e sono state identificate regioni riconosciute dal fattore di trascrizione ubiquitario NF-Y in maniera dipendente dal differenziamento e dal trattamento con eme (62). Inoltre, il clonaggio molecolare di una regione più estesa ha permesso di identificare una zona regolatrice 4.5 kbasi a monte del gene che ha caratteristiche di un enhancer e che contiene 3 siti importanti, bersaglio rispettivamente della proteina codificata dall'oncogene virale EI-A (82), del fattore trascrizionale eritroide NF-E2 (9) e di proteine nucleari della famiglia NF-kB/rel (56). Un trascritto con una regione 3' inusualmente lunga, frutto dell'uso di un sito di poliadenilazione alternativo, è stato identificato nel cervello, ma il significato fisiologico della sua presenza non è stato chiarito (37).

Regolazione della biosintesi di ferritina

Il fattore che maggiormente influenza la sintesi di ferritina è naturalmente la concentrazione di ferro nel LIP. Come vedremo più avanti, l'azione maggiore è esercitata a livello traduzionale, tuttavia è stata anche ben documentata una risposta trascrizionale con un aumento dell'accumulo dei mRNA sia della subunità H che della subunità L. Questa risposta è stata osservata sia in sistemi sperimentali costituiti da cellule coltivate *in vitro* (20) che in animali da esperimento (86) ed anche in pazienti con sovraccarico di ferro epatico (68).

Tuttavia, già più di 30 anni fa Drysdale e Munro avevano presentato alcuni risultati che indicavano come il controllo dell'espressione della ferritina prescindesse dalla trascrizione del gene (39). Questi primi studi erano stati poi proseguiti soprattutto dal gruppo diretto da Hamish Munro a Boston e i risultati avevano permesso la costruzione, 10 anni più tardi, di un modello di regolazione traduzionale della sintesi di ferritina (89) che delineava con sconcertante preveggenza quanto poi i risultati di altri 20 anni di ricerche avrebbero chiarito nei dettagli, facendo della regolazione dell'espressione del metabolismo del ferro il modello di regolazione post-trascrizionale meglio conosciuto. La versione più aggiornata di questo modello prevede che, in risposta ad un aumento della concentrazione intracellulare di ferro, i mRNA delle subunità H ed L, che sono in larga parte conservati in forma inattiva nel citoplasma in particelle ribonucleoproteiche, si associno ai polisomi per venire attivamente tradotti. Si ha così una rapida risposta all'ingresso di ferro nella cellula con una pronta sintesi di catene di ferritina senza la necessità di sintetizzare nuovi mRNA (51, 54, 58).

Il clonaggio dei cDNA delle catene H e L ha evidenziato la presenza nella regione non tradotta al 5' del mRNA di una sequenza molto conservata fra le specie che aveva la possibilità di formare una struttura secondaria detta stem-loop e che era essenziale e sufficiente per la risposta traduzionale a variazioni nella concentrazione di ferro. È stato poi accertato che questa regione del mRNA chiamata Iron Responsive Element (IRE) viene riconosciuta e legata da una proteina; non la ferritina stessa, come aveva ipotizzato Munro nel suo modello di autoregolazione, ma una proteina citoplasmatica di peso molecolare 90000 ora conosciuta come Iron Regulatory Protein (IRP) che è anche stata identificata come la controparte citoplasmatica dell'aconitasi, un enzima del ciclo di Krebs (10). Quando il ferro è abbondante IRP è inattiva e, grazie al suo cluster ferro zolfo (4Fe-4S), ha attività aconitasica; non lega

quindi i mRNA della ferritina che vengono così tradotti. In condizioni di carenza di ferro invece non si ha costituzione del cluster, IRP non ha attività enzimatica e, legandosi ai mRNA delle catene H e L, funziona come repressore della sintesi di ferritina (51, 52, 56). La regolazione dell'omeostasi del ferro è quindi regolata tramite la conversione post-traduzionale dell'IRP tra forma enzimatica e forma attiva nel legare RNA, senza cambiamenti dei livelli di proteina. Il sistema non è però così semplice; infatti: i) esistono due IRP con caratteristiche in parte diverse, ii) l'attività di IRP è regolata anche da fattori diversi dal ferro, iii) IRP non lega solo i mRNA delle subunità ferritiniche ma anche, come vedremo in dettaglio, quello del recettore della transferrina, la principale via di ingresso del ferro nella cellula. Riguardo a quest'ultimo punto è stato dimostrato che anche altri mRNA: quello dell'aconitasi mitocondriale, della succinato deidrogenasi (per ora accertato solo in *Drosophila*), della aminolevulinato sintasi eritrocitaria (eALAS) sono regolati dall'interazione IRE/IRP (46, 51). Questo meccanismo di regolazione estende quindi la sua influenza molto più di quanto fosse ipotizzabile e governa il metabolismo del ferro in modo molto ampio (ad esempio controlla tramite l'eALAS l'utilizzo del ferro per la sintesi dell'eme e tramite l'aconitasi i rapporti fra i citrato ed isocitrato che sono ligandi più o meno forti del ferro nel LIP). Il ritrovamento di altri mRNA con un IRE funzionale potrà sperabilmente fornire ulteriori indicazioni sulle vaste ramificazioni metaboliche del metabolismo del ferro.

Regolazione coordinata del metabolismo del ferro

Subito dopo la scoperta delle sequenze IRE nei mRNA delle catene H e L è stata identificata la presenza di 5 strutture simili nella regione non tradotta al 3' del mRNA per il recettore della transferrina. La regolazione dell'espressione del recettore della transferrina segue un andamento coordinato ma opposto a quello della ferritina. Infatti l'IRP in forma attiva, legandosi alle sequenze IRE, protegge il mRNA del recettore della transferrina dall'azione di RNAsi aumentandone la stabilità e quindi l'espressione e portando così ad una maggior ingresso di ferro nella cellula (si ha contemporaneamente anche una maggior disponibilità grazie al blocco della sintesi di ferritina). Viceversa, una repressione dell'attività di IRP da parte del ferro, lasciando via libera alla traduzione dei mRNA della ferritina e alla degradazione del mRNA del recettore della transferrina porta ad una prevalenza del sequestro di ferro nei confronti dell'ingresso di nuovo metallo (51, 54, 58). Ne consegue che la funzione precipua del sistema di regolazione basato sulle IRP è quella di coordinare l'assorbimento e la conservazione del ferro all'interno della cellula in modo tale da mantenere una concentrazione di metallo libero adeguata alle necessità metaboliche della cellula stessa ma al di sotto del livello di guardia oltre il quale il ferro può divenire tossico.

E' stata anche identificata e caratterizzata una seconda IRP: IRP-2 (48, 51). Le principali somiglianze e differenze fra le due IRP sono riassunte nella Tabella 3.

IRP-1		IRP-2
98 kDa	Massa molecolare	104 kDa
9	cromosoma	15
$K_D \sim 60$ pM	affinità per IRE	$K_D \sim 60$ pM
si	cluster 4Fe-4S	?
si	attività aconitasica	no
si	attivazione da agenti riducenti	no
si	regolazione da parte del Fe	si

Tabella 3. Caratteristiche molecolari delle Iron Regulatory Proteins. Affinità e differenze fra IRP-1 e IRP-2.

IRP-2 è solitamente meno abbondante di IRP-1, con cui ha una notevole omologia di sequenza aminoacidica. Nonostante la conservazione di alcuni residui aminoacidi critici per la formazione del cluster in IRP-1, IRP-2 non sembra in grado di formare un cluster 4Fe-4S nè, di conseguenza, sembra avere attività aconitاسica (48, 51). La specificità e l'affinità con cui IRP-2 si lega a motivi IRE sono simili a quelle di IRP-1, ma le modalità di regolazione da parte dei livelli di ferro sono profondamente diverse. Infatti, i livelli di IRP-2 diminuiscono molto in cellule ricche di ferro, in seguito a una degradazione mirata, proteasoma-dipendente, mediata da una sequenza aminoacidica di 73 residui non presenti in IRP-1 (48, 51) (Figura 4).

I ruoli specifici di IRP-2 non sono ancora noti, anche se alcune caratteristiche lasciano intravedere la possibilità che abbia funzioni particolari e non svolga solo un ruolo vicario a quello della più abbondante IRP-1. Infatti, i) la sua distribuzione cellulare non è sovrapponibile a quella di IRP-1 (48, 51), ii) è attivata specificamente in particolari situazioni, quali ad esempio la proliferazione cellulare (22, 45), iii) ha la possibilità, almeno teorica, di riconoscere sequenze IRE diverse da quella canonica con affinità maggiore di quella di IRP-1 (19, 49, 50).

Due studi recenti sottolineano l'importanza di IRP-2: è stata identificata una linea cellulare priva di IRP-1 ma con una perfetta regolazione dell'omeostasi marziale (74); è stato dimostrato che il trattamento di macrofagi murini con citochine provoca un effetto opposto su IRP-1 e IRP-2 ma è la risposta di quest'ultimo che governa il metabolismo del ferro in queste cellule (69).

Dal momento che l'aconitاسa mitocondriale rappresenta un bersaglio per l'attività dell'ossido nitrico (NO) rilasciato da macrofagi attivati, è stata stu-

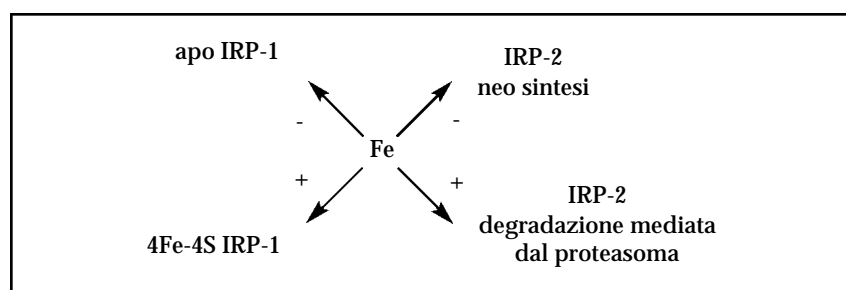


Figura 4. Meccanismi di regolazione dell'attività delle IRP. Il ferro modula il passaggio di IRP-1 tra la forma olo (4Fe-4S) con attività aconitاسica e la forma apo con attività di legame a sequenze IRE senza variazioni dei livelli di proteina. Cambiamenti nei livelli di ferro influiscono invece sulla quantità di IRP-2.

diata anche la risposta dell'IRP a NO. Questo gas, che agisce da mediatore per un vasto spettro di funzioni biologiche, attiva la capacità di IRP di legarsi a sequenze IRE, inibendone al contempo l'attività aconitasica (51). Le implicazioni biologiche di questo effetto del NO sul metabolismo del ferro sono sottolineate anche dal fatto che la trascrizione del gene per la NO sintasi è inducibile dal ferro, dimostrando quindi che, almeno nei macrofagi, il controllo del metabolismo del ferro e NO sono strettamente collegati (85). Ciò potrebbe essere rilevante per la comprensione dei cambiamenti del metabolismo marziale in molti stati patologici, quale ad esempio l'anemia da malattia cronica. L'attività di IRP è influenzata anche dallo stato redox, infatti, *in vitro*, è stimolata da agenti riducenti e inibita da sostanze ossidanti (52, 63) che interreagiscono con residui di cisteina critici per la formazione del cluster (53, 67). Allo stesso modo, anche le specie attive dell'ossigeno (ROS) responsabili dei danni da stress ossidativo influenzano l'attività di IRP. Tuttavia, i dati finora riportati non hanno chiarito appieno quale sia l'effetto delle ROS. Infatti, il trattamento di cellule con acqua ossigenata aumenta la capacità di legame di IRP (61, 66); viceversa, nel fegato di ratti sottoposti a stress ossidativo causato da deplezione di glutazione o da riperfusione post-ischemica, l'attività di IRP è drasticamente diminuita, favorendo così la neosintesi di ferritina (26, 80). Inoltre, dati recenti hanno mostrato che in un sistema cell-free l'anione superossido e l'acqua ossigenata causano una forte inibizione di IRP, senza l'intervento del ferro (21). L'aumento di sintesi di ferritina conseguente all'inibizione di IRP, diminuendo la disponibilità di ferro per la generazione di pericolosi radicali ossidrilici a partire da anione superossido e acqua ossigenata, potrebbe avere un importante ruolo protettivo nei confronti del danno ossidativo secondo lo schema indicato nella figura 5.



Figura 5. Effetti dell'inibizione dell'attività di IRP sulla risposta cellulare allo stress ossidativo.

La scoperta e la caratterizzazione del sistema regolatore basato sull'interazione fra IRE ed IRPs ha permesso di comprendere numerosi dettagli sulla regolazione coordinata dell'assunzione, utilizzazione e conservazione del ferro da parte delle cellule ed ha anche rappresentato un utilissimo sistema modello per indagare i meccanismi della regolazione post-trascrizionale dell'espressione genica. Accanto al consolidato modello della regolazione delle proteine del metabolismo del ferro da parte dei livelli di metallo nel pool regolatore sembra anche che si vada sempre più affermando il concetto secondo il quale vari tipi di segnali, provenienti sia dall'esterno che dall'interno della cellula (es.: la proliferazione cellulare, lo stress ossidativo, l'azione delle citochine e di NO), agiscono direttamente, sia a livello trascrizionale che post-trascrizionale (alterando l'attività dell'IRP in maniera ferro-indipendente), per modulare l'espressione del recettore della transferrina e, soprattutto, della ferritina (Figura 6). In questo modo si può avere una modulazione ferro-indipendente del pool libero ed esercitare quindi conseguenze notevoli su numerosi processi metabolici di vitale importanza per la cellula. Un'ulteriore analisi di queste interconnessioni tra il controllo dell'omeostasi intracellulare del ferro e altri importanti processi metabolici potrà sperabilmente portare ad una miglior comprensione delle basi molecolari e cellulari di numerosi processi patologici in cui il ferro può avere un ruolo importante.

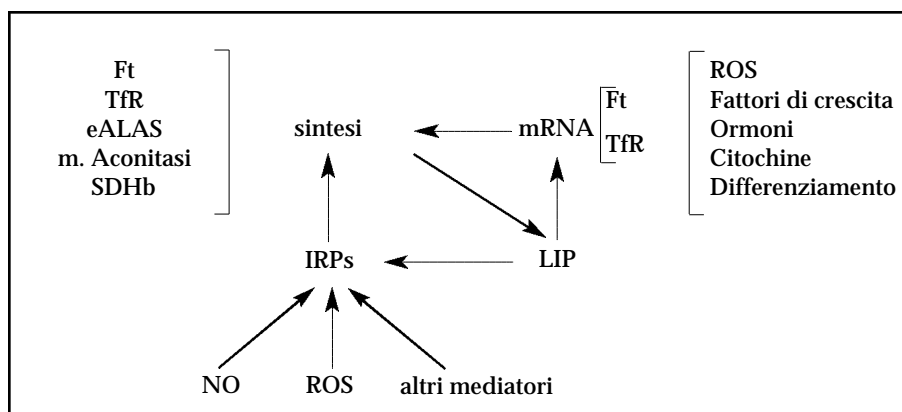


Figura 6. Effetti di varie condizioni fisiopatologiche sul metabolismo intracellulare del ferro. Meccanismi trascrizionali e post-trascrizionali attivati da segnali ferro-ndipendenti possono concorrere a modulare il ferro nel pool libero intracellulare (LIP) con effetti su altre vie metaboliche quali la sintesi dell'eme mediata dall'aminoevulinato sintasi (eALAS), il ciclo dell'acido citrico in cui intervengono l'aconitasi mitocondriale e la succinato deidrogenasi (SDHb)

Regolazione ferro-indipendente della sintesi di ferritina

L'espressione della ferritina può essere condizionata anche da stimoli che non prevedono significative variazioni dei livelli intracellulari di ferro (64, 88). Infatti la sintesi di ferritina è stimolata a vari livelli durante lo sviluppo, il differenziamento cellulare, ed è influenzata dalla velocità di crescita cellulare da vari ormoni e citochine. Inoltre essa è influenzata anche da varie condizioni patologiche quali l'infiammazione (23) e lo stress ossidativo (26, 80). In particolare, per quanto riguarda gli stimoli ormonali, è stata ben documentata l'azione stimolatrice sulla sintesi di catene H da parte del TSH in cellule di tiroide (29) e del progesterone nell'utero durante la gravidanza (92). E' interessante notare come l'espressione dei geni per ambedue le catene di ferritina sia regolata da citochine infiammatorie a livello traduzionale come avviene per il controllo ferro-dipendente ma mediante sequenze diverse dall'IRE (71). Il legame tra ferritina e controllo della crescita cellulare è stato recentemente e direttamente messo in evidenza dalla dimostrazione di uno stretto legame fra l'espressione dei geni della ferritina e quella della ribonucleotide reductasi, l'enzima che fornisce i deossiribonucleotidi essenziali per la sintesi di DNA (40). L'attivazione di pathways di trasduzione del segnale mediata da fosforilazione PKC dipendente potrebbe essere coinvolta in questi eventi (65). Dagli esempi riportati risulta evidente che spesso questi stimoli provocano una variazione dei livelli di mRNA della catena H. Inoltre, molto spesso un cDNA della catena H è stato "casualmente" identificato durante esperimenti che prevedevano tecniche di screening differenziale di mRNA indotti o repressi da vari stimoli.

Anche la composizione delle isoferritine nei vari tessuti è, almeno in parte dovuta ad un diverso accumulo dei mRNA per le subunità H e L, esiste quindi un controllo trascrizionale per l'espressione tessuto-specifica dei rispettivi geni (7, 24). Tuttavia, come ricordato prima, non sono state identificate le sequenze geniche regolatrici che servono per la risposta specifica ai vari stimoli, né, tanto meno, i fattori trascrizionali coinvolti, con l'eccezione della recente descrizione del ruolo di fattori nucleari nella regolazione della trascrizione del gene H di topo durante il differenziamento eritroide (62).

Altre funzioni biologiche della ferritina

Come già ricordato, la tossicità del ferro risiede in primo luogo nella sua capacità di promuovere la formazione di ROS, i principali agenti del danno ossidativo.

Il ferro contenuto all'interno della ferritina è relativamente inerte nella formazione di ROS ma può diventare attivo se rilasciato nel citoplasma per azione di sostanze riducenti o per rottura delle molecole di ferritina. In questo caso il ferro ferritinico può portare alla perossidazione lipidica con notevole danno, se non la morte, per la cellula e quindi la ferritina svolgerebbe un'azione proossidante, anche se bisogna sottolineare che manca ancora un'evidenza diretta *in vivo* di questo ruolo.

Alcuni dati recenti ottenuti utilizzando cellule in coltura sembrano invece indicare un ruolo antiossidante per la ferritina. Infatti ferritine sintetizzate dalle cellule stesse in seguito a trattamento con ferro o aggiunte esogenamente al mezzo di coltura rendevano cellule endoteliali in coltura più resistenti a stress ossidativi (4, 84). Inoltre, osservazioni simili sono state fatte valutando l'effetto protettivo dell'induzione della catena H da parte del TNF- sull'effetto citotossico, mediato dalle ROS, del TNF stesso (83).

In generale, la catena H, che, grazie alla sua attività ferrossidasica, può direttamente regolare il pool del ferro libero, sembra più implicata nella risposta al danno ossidativo. Bisogna anche ricordare che probabilmente la situazione *in vivo* è più complessa, infatti abbiamo dimostrato che in seguito a danno ossidativo epatico indotto sia da deplezione di glutatione che da riperfusione post-ischemica la ferritina può svolgere, in momenti diversi, sia un'azione proossidante che antiossidante (26, 80).

Esperimenti fatti *in vitro*, ma che riproducono abbastanza fedelmente situazioni patologiche frequentemente riscontrabili in patologia umana quali lo stress ossidativo da riperfusione post-ischemica, hanno dimostrato un ruolo particolare della ferritina nella risposta allo stress ossidativo (21). Infatti incubando estratti citoplasmatici con xantina ossidasi, l'enzima che si forma *in vivo* nel corso della riperfusione post-ischemica per conversione proteolitica della xantina deidrogenasi, si osserva una forte inibizione dell'attività dell'IRP, un fenomeno che dovrebbe portare ad un aumento della sintesi di ferritina e ad una diminuzione dell'espressione del recettore della transferrina con conseguente diminuzione del ferro nel LIP e riduzione della possibilità del ferro di catalizzare la formazione di ROS (vedi sopra). L'aggiunta alla reazione di ferritina, ma non di apoferritina, accentua

l'effetto inibitore sull'attività di IRP della xantina ossidasi. Il meccanismo con cui la ferritina esercita questo effetto non è tuttavia il rilascio di ferro ma la stimolazione della sintesi di anione superossido mediata dal ferro in essa contenuto. In questo modo la ferritina, per via del suo contenuto di ferro, paradossalmente contribuisce alla formazione di superossido e, così facendo, grazie alla conseguente inibizione di IRP, abbassa i livelli di ferro libero e quindi previene la formazione di ben più dannosi radicali ossidrilici. Sembra pertanto che esista fra anione superossido e ferritina una sorte di cooperazione tesa a limitare le reazioni tossiche in favore di adattamenti protettivi.

Broxmeyer nel 1981 propose che le ferritine, in particolare quelle acide, possono avere un ruolo regolatore sulla produzione di granulociti e macrofagi (17). Dapprima l'uso di anticorpi monoclonali specifici e poi la disponibilità di ferritine ricombinanti omopolimeriche hanno permesso di confermare il ruolo esclusivo della subunità H nell'inibizione della proliferazione di progenitori midollari della serie mieloide (18). Le cellule di pazienti con patologie ematologiche sono meno sensibili all'azione della ferritina, favorendo così la progressione della malattia (16). Si pensa che l'effetto sia dovuto all'importanza del ferro per il funzionamento della ribonucleotide reductasi, enzima chiave per la sintesi del DNA.

In particolare, la subunità H eserciterebbe la sua funzione attaccandosi a recettori specifici sulla superficie cellulare ed interferendo, grazie alla sua attività ferroossidasi, con l'assorbimento cellulare di ferro. Altri studi hanno mostrato invece che la crescita di alcuni tipi cellulari in medium senza siero è favorita dalla presenza di ferritina (13). In questo caso si pensa che l'effetto a favore della proliferazione sia dovuto al ferro contenuto nella ferritina.

Recentemente, la dimostrazione che la ferritina purificata da fegato di ratto può legarsi ad un vasto spettro di mRNA (47) ha evidenziato un suo possibile ruolo generale nella regolazione del metabolismo del RNA e della sintesi proteica, come in precedenza suggerito dalla dimostrazione che particelle ribonucleiche avevano un effetto inibitorio sulla traduzione (33).

Il problema della sieroferritina

Gli studi accennati sopra sugli effetti che la presenza di ferritina nei terreni di coltura può avere sulla crescita cellulare ci introducono direttamente al problema delle ferritine extracellulari e, in particolare, a quello della ferritina sierica.

Completamente oscuri sono sia l'origine cellulare che i meccanismi di secrezione della ferritina extracellulare presente nel siero e in tutti i più importanti liquidi biologici (46). Non sono stati infatti trovati trascritti della catena H o L contenenti le sequenze segnale canoniche caratteristiche delle proteine destinate all'esportazione extracellulare.

Le ferritine extracellulari sono povere in ferro e hanno composizioni in subunità diverse: le ferritine nel latte, ad esempio, sono ricche di subunità H, che invece è del tutto assente nel siero (3, 73) (vedi Tabella 2). Sembra infatti che esistano proteine seriche in grado di legare specificamente le ferritine ricche di subunità H accelerandone molto la clearance (11, 34). Nel siero è stata invece identificata e parzialmente caratterizzata una subunità specifica glicosilata (subunità G), di peso molecolare 23000, immunologicamente simile alla subunità L (35, 73) (vedi Tabella 1).

Gli anticorpi usati comunemente per la determinazione della sieroferritina sono specifici per la subunità L e garantiscono quindi un efficace riconoscimento. Solo con lo sviluppo di saggi immunoradiometrici nei primi anni 70 la ferritina sierica ha cominciato a venire determinata routinariamente con tecniche isotopiche radioimmunologiche in cui veniva marcata la ferritina (RIA) o l'anticorpo (IRMA). La disponibilità di anticorpi monoclonali ha poi indotto molti laboratori ad adottare stabilmente quest'ultima metodica. Questi dosaggi, pur sensibili e specifici, presentavano tutti gli svantaggi e le limitazioni date dall'uso di radioisotopi e quindi il dosaggio della sieroferritina è stato negli ultimi 10 anni molto facilitato dall'introduzione di metodiche non isotopiche. Oltre all'allargamento della possibilità di eseguire il dosaggio anche da parte di laboratori non autorizzati all'uso dei traccianti radioattivi, anche l'automatizzazione della procedura ha contribuito a far sì che questa determinazione rientri sempre più nella routine degli esami ematochimici.

Le più recenti metodiche prevedono l'uso di test immunoenzimatici (ELISA) con lettura in fluorescenza o in chemiluminescenza. Sono disponibili kit già pronti e standardizzati che consistono solitamente di una fase solida a cui viene legato un anticorpo specifico per la ferritina e di una fase solubile rappresentata dal siero in esame e da un anticorpo anti immunoglobuline

umane coniugato ad un enzima (es. fosfatasi alcalina) che possa dare una reazione chemiluminescente una volta che venga aggiunto l'adatto substrato. L'uso di anticorpi monoclonali per la ferritina fornisce un'elevata specificità mentre la possibilità di automatizzare i dosaggi garantisce una ottima riproducibilità, inoltre, la recente introduzione da parte del WHO di un nuovo standard internazionale, basato sulla catena L della ferritina umana prodotta tramite DNA ricombinante, dovrebbe garantire una calibrazione più riproducibile ed accurata e quindi ulteriormente migliorare la qualità dei dosaggi immunologici.

Parte della ferritina circolante deriva probabilmente, aspecificamente, da cellule danneggiate ma la presenza di subunità glicosilate che non si ritrovano nella ferritina intracellulare, la sua stretta dipendenza dalla concentrazione di ferro tissutale e la sua risposta a varie condizioni infiammatorie indicano che la maggior parte della ferritina sierica è attivamente secreta o perlomeno rilasciata specificamente.

Un dato che è stato spesso addotto a giustificazione della specificità del ritrovamento di ferritina in circolo è la presenza di mRNA per ambedue le catene su polisomi legati al reticolo endoplasmico (27, 75, 90), dove vengono sintetizzate le proteine destinate alla secrezione. Nonostante l'assenza di sequenze segnale di cui si è fatta menzione prima, il legame dei mRNA della ferritina ai polisomi legati è specifico e risponde a variazioni nella concentrazione di ferro e a segnali fisiologici quali gli stimoli infiammatori (75); tuttavia le catene di ferritina sintetizzate dai polisomi legati alle membrane non vengono inserite nelle membrane e non vanno incontro a processamenti quali il taglio del peptide segnale o la glicosilazione (79).

Inoltre la microiniezione di mRNA sia per la catena H che per la L in oociti di *Xenopus laevis*, che sono in grado di processare e secernere proteine esogene con grande efficienza, non ha portato alla comparsa di ferritina nel medium di incubazione (60). Il significato dell'abbondante presenza di mRNA della ferritina legato alla membrana del reticolo endoplasmico resta quindi oscuro. Un'indicazione sulla specificità dell'esistenza di ferritine extracellulari si ritiene che sia data dall'identificazione, anche se non dalla caratterizzazione, di recettori per la ferritina sulla superficie di diversi tipi cellulari (46). Bisogna tuttavia sottolineare che gli studi di interazione fra ferritine e recettori hanno sempre fatto uso di ferritine purificate da cellule o di ferritine intracellulari ricombinanti.

Collegata strettamente alla questione della sieroferritina è la recente descrizione di alcune iperferritinemia di origine genetica riscontrate in famiglie francesi ed italiane (14, 44). Queste forme famigliari, ereditate in forma autosomica dominante, sono caratterizzate da livelli di ferritina circolante molto alti e da cataratta congenita. L'iperferritinemia non è ferro-correlata dal momento che non viene corretta dalla flebotomia. L'identificazione di una mutazione nella sequenza di DNA codificante per l'IRE localiz-

zato al 5' del mRNA della catena L ha permesso di chiarire la causa dell'elevata ferritinemia (8, 28, 43). La mutazione infatti sottrae la catena L alla regolazione traduzionale esercitata dall'IRP consentendone un'espressione incontrollata. Livelli elevati di catene L sono stati anche ritrovati in tutti i tessuti esaminati; la correlazione fra ferritina sierica e tissutale dimostra quindi convincentemente che uno stesso gene (alterato) codifica per ambedue le ferritine. Se ne deduce che la maggior parte delle catene L sono sintetizzate nel citoplasma e restano all'interno della cellula mentre una (piccola) quota è indirizzata al reticolo endoplasmico dove viene probabilmente glicosilata e destinata alla secrezione.

Giova a questo proposito ricordare che nella catena L c'è un sito potenziale di glicosilazione nella porzione N terminale (46). Inoltre, è possibile che un segmento idrofobico di aminoacidi, dall'alanina in posizione 14 alla fenilalanina in posizione 37, possa funzionare come peptide segnale interno; l'inefficienza del sito di glicosilazione e del peptide segnale in posizione non canonica potrebbero rendere ragione dell'esigua quota di ferritina che viene secreta.

Significato clinico della sieroferritina

Nonostante sia quantitativamente irrilevante rispetto a quella intracellulare (meno del 1%, vedi Tabella 2) e contenga pochissimo ferro, la sieroferritina è clinicamente importante. Infatti, il dosaggio della sieroferritina è largamente, e giustamente, usato nella pratica clinica per la valutazione dei depositi corporei di ferro in quanto fornisce l'indice più accurato dei depositi di ferro dell'organismo (87). Infatti la concentrazione di ferritina nel siero è strettamente correlata con la quantità di ferritina intracellulare che è a sua volta prodotta in funzione dei livelli di ferro intracellulare. Recentemente abbiamo dosato la ferritina nei monociti di soggetti controllo e di pazienti con sovraccarico di ferro sia di natura genetica che secondaria (25). Le cellule del sistema reticoloendoteliale infatti rappresentano una delle maggiori sedi di deposito del ferro e si ritiene che i livelli di ferro al loro interno siano inversamente proporzionali all'assorbimento di ferro nell'intestino. Il ritrovamento di una correlazione statisticamente significativa fra ferritina sierica e ferritina monocitaria sia nei soggetti controllo che nei pazienti (Figura 7) ribadisce il ruolo fondamentale della ferritina serica come indicatore del ferro di deposito.

Nonostante una certa variabilità tra soggetti, si ritiene che 1 $\mu\text{g}/\text{l}$ di ferritina corrisponda a circa 10 μg di ferro di deposito. Da quanto detto si deduce che il dosaggio della ferritina circolante, anche per la sua semplicità e non invasività, risulta utilissimo in un grandissimo numero di situazioni cliniche. Si ricorda qui la grande presenza nella popolazione di patologie legate ad alterazioni dei depositi di ferro nell'organismo. Infatti il sovraccarico, sia secondario che di origine genetica, è molto diffuso: il primo è legato alla patologia alcolica, alle sindromi che richiedono trasfusioni ripetute, a vari tipi di anemie (15); l'emocromatosi ereditaria dal canto suo, con lo 0.3% di omozigoti, è probabilmente la malattia genetica più frequente al mondo (6). Ancora più diffusa è la carenza di ferro, specialmente nelle zone in via di sviluppo dove è causata sia da ipoalimentazione che da altre cause che limitano l'assorbimento di ferro (30). Anche nei paesi sviluppati tuttavia la carenza di ferro, è largamente riscontrata, specialmente tra le donne. Il dosaggio della ferritina circolante dovrebbe pertanto far sempre parte, con la valutazione della sideremia e la determinazione della transferrina, degli esami eseguiti quando si vuole accertare lo stato del metabolismo marziale.

Nei soggetti normali la concentrazione di ferritina nel siero varia da 10 a 300 $\mu\text{g}/\text{l}$ e riflette le modificazioni dell'equilibrio del ferro corporeo dovute

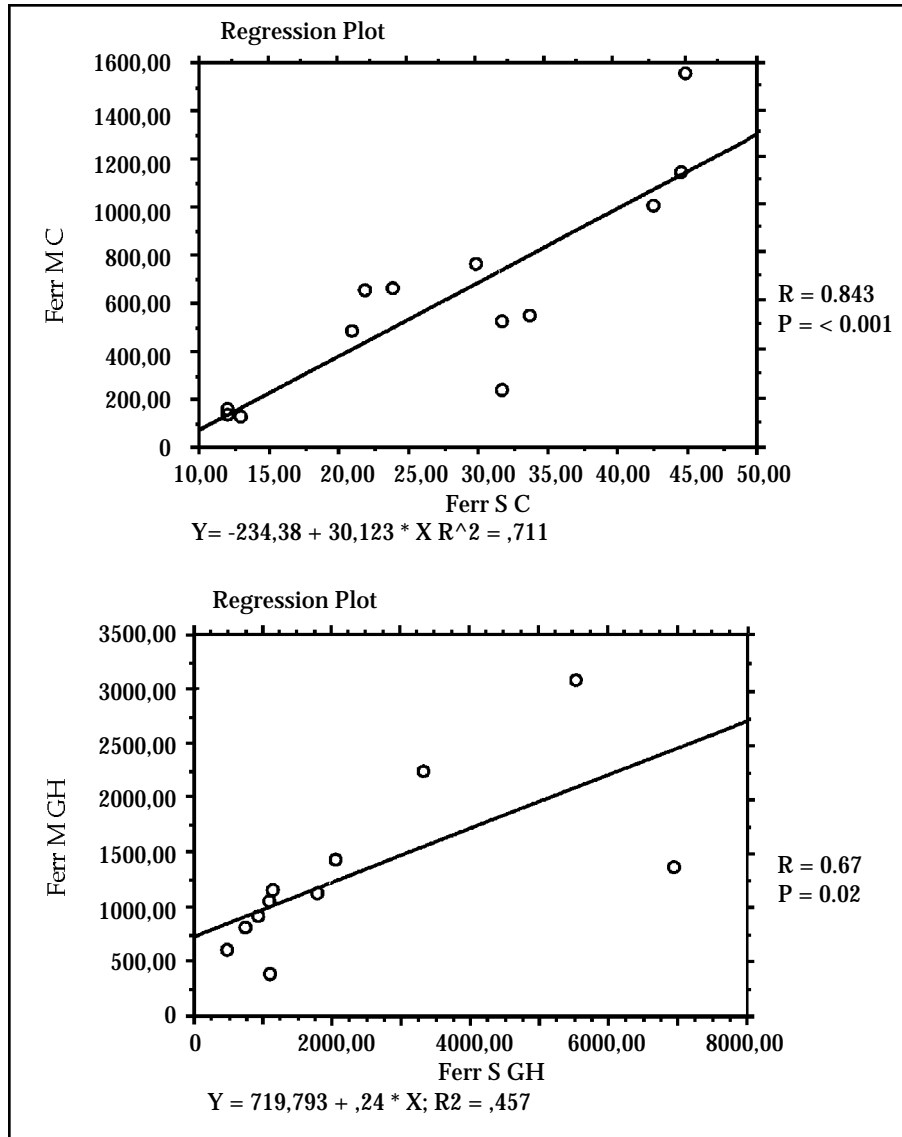


Figura 7. Correlazione fra livelli di ferritina monocitaria e di ferritina serica in soggetti sani e in pazienti con emocromatosi genetica. L'analisi di regressione mostra la correlazione fra la concentrazione della ferritina serica (in ascissa) e quella della ferritina contenuta nei monociti (in ordinata sia nei soggetti controllo (pannello superiore) che in pazienti affetti da emocromatosi genetica (pannello inferiore)).

all'età, alla dieta e al sesso (87). Nella carenza di ferro la ferritinemia può abbassarsi al di sotto dei 10 µg/l, valori che consentono di diagnosticare senza dubbi una sideropenia, l'unica condizione che porta ad una riduzione di ferritinemia, escludendo rari casi di ipotiroidismo e scorbuto.

La capacità della concentrazione di ferritina sierica di riflettere le riserve di ferro permette, tramite la sua determinazione, di scoprire una carenza di ferro prima che essa porti allo sviluppo dell'anemia. Tuttavia, benché bassi livelli di sieroferrina siano eccellenti indicatori di una deplezione di ferro, ci sono alcune limitazioni al suo uso esclusivo per la diagnosi di una anemia ferro-privata. Infatti la sieroferrina non indica la severità della mancanza di ferro, pertanto, in un paziente anemico, bassi livelli di siero ferritina possono indicare una deplezione delle riserve del metallo ma non individuano la causa dell'anemia, specialmente in quei soggetti prone alla deficienza di ferro quali le donne in gravidanza o i bambini in fase di crescita. A questo riguardo il dosaggio del recettore della transferrina nel siero, una volta stabilmente entrato nella pratica clinica come parametro indipendente dello "status" del ferro, potrà essere di grande aiuto. Infatti, la concentrazione del recettore solubile è direttamente proporzionale alla sua espressione sulla membrana delle cellule, a sua volta indice della quantità di ferro cellulare, specialmente delle cellule deputate all'eritropoiesi.

La concentrazione nel siero della ferritina e del recettore della transferrina sono quindi inversamente proporzionali. In particolare, il dosaggio di quest'ultima proteina è utilissimo per il monitoraggio del passaggio tra un iniziale depauperamento della riserva marziale e lo sviluppo di una condizione di anemia. Un indice che tenga conto del rapporto fra le concentrazioni sieriche delle due proteine sembra pertanto essere un buon indicatore dello "status" del ferro di un individuo (32).

Al di sopra dei 300 µg/l si ha sovraccarico marziale che in alcuni casi può portare a ferritinemie ben al di sopra dei 1000 µg/l. La sieroferrina può essere influenzata anche da condizioni patologiche in cui il ferro non è coinvolto direttamente: si tratta dei processi infiammatori, delle epatopatie e delle neoplasie. L'infiammazione e l'infezione causano, tramite l'azione di numerose citochine, una riduzione dell'assorbimento di ferro e una maggior ritenzione nelle cellule reticoloendoteliali che provocano iposideremia e innalzamento dei valori di ferritina sierica (55).

La ridotta disponibilità di ferro per la sintesi di emoglobina può poi portare alla anemia da malattia cronica in cui non si ha una carenza di ferro assoluta ma solo una sua alterata distribuzione e una ridotta biodisponibilità. La ferritinemia quindi in questo caso non è correlata ai depositi di ferro e la ferritina può quindi essere quasi considerata una proteina di fase acuta. Anche in questo caso il dosaggio del recettore della transferrina solubile può essere importante, infatti esso non sembra risentire delle condizioni infiammatorie. Anche nei soggetti epatopatici la elevata ferritinemia

non rispecchia un aumento del ferro di deposito. Il fegato è particolarmente ricco di ferritina e quindi la citolisi che spesso accompagna le epatopatie, unitamente alla ridotta sintesi di proteine epatiche che contribuiscono alla clearance della sieroferritina dovuta alla compromissione della funzionalità epatica, può essere ritenuta la causa principale dell'innalzamento della ferritinemia in queste patologie. Gli stessi eventi, cioè il blocco reticolo-endoteliale del ferro dovuto ad uno stato infiammatorio cronico e la notevole citolisi associata ad intensa attività proteino-sintetica si riscontrano anche nelle cellule tumorali e quindi la causa dei valori elevati di sieroferritina riscontrati in pazienti affetti da vari tipi di neoplasie è probabilmente dovuta ad un non specifico passaggio in circolo di ferritina intracellulare.

Sono state descritte anche altre forme di iperferritinemia non ereditaria e apparentemente non dovuta a sovraccarico di ferro generalizzato. L'identificazione della mutazione a carico del gene dell'emocromatosi in soggetti affetti da alcune di queste iperferritinemie fa sì che sia possibile che alcuni di questi pazienti siano inquadrabili in particolari gruppi di emocromatosici senza alterazioni della saturazione della transferrina (41).

La determinazione della ferritinemia può avere rilevanza anche per la valutazione dello "status" del ferro in alcune situazioni non francamente patologiche, ad esempio negli sportivi. E' piuttosto diffuso il concetto che un'intensa pratica sportiva, in particolare quella con prevalente carattere aerobico, possa avere effetti negativi sullo stato ematologico provocando quella che viene definita anemia da sport. Dal momento che la carenza di ferro è una causa comune di anemia, un valore di sieroferritina piuttosto basso è visto come sintomo preoccupante da parte dello sportivo, dell'allenatore e, spesso, anche del medico sportivo. Tuttavia, numerosi studi hanno evidenziato come valori anche intorno ai 10 µg/l di ferritinemia, ma in presenza di livelli normali di emoglobina, non riducano il massimo consumo di ossigeno e non siano limitanti la performance atletica (31). Ne consegue la raccomandazione che atleti con intensa attività sportiva prevenano possibili gravi carenze di ferro con una dieta adeguatamente ricca di ferro, in particolare ferro eminico, ma non vadano indiscriminatamente trattati con terapie marziali che, in considerazione dei possibili effetti tossici del sovraccarico di ferro, se non necessarie, sono sempre da evitare.

Conclusioni

La distribuzione ubiquitaria della ferritina in tutti gli organismi che contengono ferro indica chiaramente come essa sia necessaria per l'omeostasi intracellulare del ferro. La struttura della ferritina è specificamente adattata per mantenere il ferro in forma solubile e disponibile.

Praticamente tutte le ferritine, con la probabile eccezione della sieroferritina, hanno attività ferrossidasi, cioè trasformano il pericoloso Fe(II) nel meno tossico Fe(III). Questo è importante non solo per facilitare il sequestro del ferro, ma anche per regolare la reattività chimica del metallo. La necessità per tutte le cellule, anche quelle che non sono specificamente deputate alla conservazione del ferro, di avere ferritina può essere dovuta al suo duplice ruolo: regolare la tossicità del ferro e al contempo facilitare la formazione di forme di deposito da cui il metallo possa essere facilmente reso biodisponibile.

I recenti dati sulla regolazione coordinata del metabolismo intracellulare del ferro aprono poi nuove prospettive per capire il ruolo della ferritina. Infatti, l'IRP è il sensore dello stato cellulare del ferro e la ferritina è probabilmente una delle molecole che attivamente regolano i livelli di ferro. Tale regolazione è probabilmente dinamica e complessa e coinvolge modulazioni sia nell'assunzione che nel rilascio di ferro, alterazioni nello stato ossidoriduttivo e interazioni con altri componenti cellulari ancora ignoti. La conoscenza delle funzioni biologiche della ferritina in qualità di proteina principale dello scomparto cellulare destinato a conservare il ferro potrà essere rilevante non solo per lo studio dei processi fisiologici normali ma anche per la comprensione dei fenomeni patologici presenti nelle numerose malattie associate ad alterazioni del metabolismo del ferro

Ringraziamenti

L'autore ringrazia per la preziosa collaborazione scientifica tutti i colleghi, sia dell'Istituto di Patologia Generale che di altre Istituzioni, con cui negli ultimi anni ha affrontato lo studio del metabolismo del ferro; un apprezzamento particolare alla Dott. Stefania Recalcati che ha prestato un valido aiuto anche alla stesura di questa monografia.

Bibliografia

- 1) Arosio P., Adelman T.G., Drysdale J.W.: On ferritin heterogeneity-further evidence for heteropolymers. *J. Biol. Chem.* 1978; 253: 4451-4458.
- 2) Arosio P., Cairo G., Levi S.: The molecular biology of iron binding proteins, pp 55-79 in de Sousa M., Brock J.H. (Eds.) *Iron in immunity, cancer and inflammation*, Chichester, John Wiley & Sons Ltd. 1989.
- 3) Arosio P., Ponzzone A., Ferrero R., Renoldi I., Levi S.: Characteristics of ferritins in human milk secretions: similarities to serum and tissue iso-ferritin. *Clin. Chim. Acta* 1986; 161: 201-208
- 4) Balla G., Jacob H.S., Balla J., Rosenberg M., Nath K., Apple F., Eaton J.W., Vercellotti G.M.: Ferritin: a cytoprotective antioxidant stratagem of endothelium. *J Biol Chem* 1992; 267:18148-18153.
- 5) Barresi R., Siritto M., Karsenty G., Ravazzolo R.: A negative cis-acting G-fer element participates in the regulation of expression of the human H-ferritin -encoding gene (FERH). *Gene*, 1994; 140: 195-201.
- 6) Barton J.C., Bertoli L.F.: Hemochromatosis: the genetic disorder of the twenty-first century. *Nature Med.* 1996; 2: 394-395.
- 7) Beaumont C., Dugast I., Renaudie F., Souroujon M. and Grandchamp B.: Transcriptional regulation of ferritin H and L subunits in adult erythroid and liver cells from mouse. *J. Biol. Chem.* 1989; 264: 7498-7504.
- 8) Beaumont C., Leneuve P., Devaux I., Scoazec J., Berthier M., Loiseau M., Grandchamp B., Bonneau D.: Mutation in the iron responsive element of the L ferritin mRNA in a family with dominant hyperferritinaemia and cataract. *Nature Genet.* 1995; 11: 444-446.
- 9) Beaumont C., Seyhan A., Yachou A., Grandchamp B., Jones R.: Mouse ferritin H subunit gene. Functional analysis of the promoter and identification of an upstream regulatory element active in erythroid cells. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 20281-20288.
- 10) Beinert H., Kennedy M.C.: Aconitase, a two-faced protein: enzyme and iron regulatory factor. *FASEB J.* 1993; 7: 1442-1449.

- 11) Bellotti V., Arosio P., Cazzola M., Cozzi A., Levi S., Meloni F., Zappone E.: Characteristics of a ferritin binding protein present in human serum. *Br. J. Haematol.* 1987; 65: 489-493.
- 12) Bevilacqua M.A., Faniello M.C., D'Agostino P., Quaresima B., Tiano M.T., Pignata S., Russo T., Cimino F., Costanzo F.: Transcriptional activation of the H-ferritin gene in differentiated Caco-2 cells parallels a change in the activity of the nuclear factor Bbf. *Biochem. J.* 1995; 311: 769-773.
- 13) Blatt J., Wharton V. J.: Stimulation of growth of neuroblastoma cells by ferritin in vitro. *Lab. Clin. Med.* 1992; 119: 139-143.
- 14) Bonneau D., Winter-Fuseau I., Loiseau M., Amati P., Berthier M., Oriot D., Beaumont C.: Bilateral cataract and high serum ferritin: a new dominant genetic disorder? *J. Med. Genet.* 1995; 32: 778-779.
- 15) Bothwell T.H., Charlton R.W., Cook J.D., Finch C.A.: *Iron metabolism in man.* Oxford. Blackwell, 1979.
- 16) Broxmeyer H.E.: Suppressor cytokines and regulation of myelopoiesis. *Biology and possible clinical uses.* *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 1992; 14: 22-30.
- 17) Broxmeyer H.E., Bognacki J., Ralph P., Dorner M.H., de Sousa M.: Identification of leukaemia-associated inhibitory activity as acidic isoferritins. *J. Exp. Med.* 1981; 153: 1426-1444.
- 18) Broxmeyer H.E., Cooper S. Levi S., Arosio P.: Mutated recombinant human heavy-chain ferritins and myelosuppression in vitro and in vivo: a link between ferritin ferroxidase activity and biological function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991; 88: 770-774.
- 19) Butt J., Kim H.Y., Basilion J.P., Cohen S., Iwai K., Philpott C.C., Altschul S., Klausner R.D. and Rouault T.A.: Differences in the RNA binding sites of iron regulatory proteins and potential target diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 4345-4349.
- 20) Cairo G., Bardella L., Schiaffonati L., Arosio P., Levi S. and Bernelli-Zazzera A.: Multiple mechanisms of iron induced ferritin synthesis in HeLa cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1985; 133: 314-321.
- 21) Cairo G., Castrusini E., Minotti G. and Bernelli-Zazzera A.: Superoxide and hydrogen peroxide dependent inhibition of Iron Regulatory Protein

- activity: a protective stratagem against oxidative injury. *FASEB J.* 1996; 10: 1326-1335.
- 22) Cairo G., Pietrangelo A.: Transferrin receptor gene expression during rat liver regeneration. Evidence for post-transcriptional regulation by iron regulatory factor B a second iron responsive element binding protein. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 6405-6409.
- 23) Cairo G., Pietrangelo A.: Nitric oxide-mediated activation of iron-regulatory protein activity controls hepatic iron metabolism during acute inflammation. *Eur. J. Biochem.* 1995; 232: 358-363.
- 24) Cairo G., Rappocciolo E., Tacchini L., Schiaffonati L.: Expression of the genes for the ferritin H and L subunits in rat liver and heart: evidence for tissue-specific regulations at pre- and post-translational levels. *Biochem. J.* 1991; 275: 813-816.
- 25) Cairo G., Recalcatti S., Montosi G., Castrusini E., Conte D., Pietrangelo A.: Inappropriately high Iron Regulatory Protein activity in monocytes of patients with genetic hemochromatosis. *Blood*, 1997; 89, 2546-2553.
- 26) Cairo G., Tacchini L., Pogliaghi G., Anzon E., Tomasi A., Bernelli-Zazzera A.: Induction of ferritin synthesis by oxidative stress. Transcriptional and post-transcriptional regulation by expansion of the free iron pool. *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 700-703.
- 27) Campbell C.H., Solgonick R., Linder M.C.: Translational regulation of ferritin synthesis in rat spleen: effects of iron and inflammation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1989; 160: 453-459.
- 28) Cazzola M., Bergamaschi G., Tonon L., Arbustini E., Grasso M., Barosi G., Bianchi P.E., Cairo G., and Arosio P.: Hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome: relationship between phenotypes and specific mutations in the iron responsive element of ferritin light chain mRNA *Blood* 1997; 90, 814-821.
- 29) Chazenbalk G.D., Wadsworth H.L., Foti D., Rapoport B.: Thyrotropin and adenosin 3', 5'-monophosphate stimulate the activity of the ferritin-H promoter. *Mol. Endocrinol.* 1990; 4: 1117-1124.
- 30) Cook J.D., Skikne B.S., Lynch S.R., Reusser M.E.: Estimates of iron sufficiency in the US population. *Blood* 1986; 68: 726-731.

- 31) Cook J.D.: The effect of endurance training on iron metabolism. *Semin. Hematol.* 1994; 31: 146-154.
- 32) Cook J.D., Skikne B.S. and Baynes R.D.: Serum transferrin receptor. *Annu. Rev. Med.* 1993; 44, 63-74.
- 33) Coux O., Camoin L., Northwang H. G., Bey F., Silva Pereira I., Keith G., Strosberg A.D. and Scherrer K.: The protein of Mr 21000 constituting the prosome-like particle of duck erythroblasts is homologous to apoferritin. *Eur. J. Biochem.* 1992; 207, 823-832.
- 34) Covell A.M., Jacobs A., Worwood M.: Interaction of ferritin with serum: implications for ferritin turnover. *Clin. Chim. Acta* 1984; 139: 75-84.
- 35) Cragg S.J., Wagstaff M., Worwood M.: Detection of a glycosylated subunit in human serum ferritin. *Biochem. J.* 1981; 199: 565-571.
- 36) D'Agostino P, Faniello M.C., Quaresima B., Bevilacqua M.A., Tiano M.T., Ammendola R., Cimino F., Costanzo F.: Negative and positive elements in the promoter region of the human apoferritin L gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995; 215: 329-337.
- 37) Dhar M., Chauthaiwale V., Joshi J.G.: Sequence of a cDNA encoding the ferritin H-chain from an 11-week human fetal brain. *Gene* 1993; 126: 275-278.
- 38) De Silva D.M., Askwith C.C., Kaplan J.: Molecular mechanism of iron uptake in eukaryotes. *Physiol. Rev.* 1996; 73: 31-47.
- 39) Drysdale J.W., Munro H.N.: Regulated synthesis and turnover of ferritin in rat liver. *J. Biol. Chem.* 1966, 241: 3630-3637.
- 40) Fan H., Villegas C., Wright J.A.: A link between ferritin gene expression and ribonucleotide reductase R2 protein, as demonstrated by retroviral vector mediated stable expression of R2 cDNA. *FEBS Lett* 1996; 382: 145-148.
- 41) Fargion S., Sampietro M., Fracanzani A.L., Cairo G., Arosio P., Lupica L., Corbetta N., Fiorelli G.: Iron overload with normal transferrin saturation: a subset of genetic hemochromatosis? *J. Hepatol.* 1997; 26 (suppl.1) p: 173.
- 42) Finch C.A., Huebers H.: Perspectives in iron metabolism. *N. Engl. J. Med.* 1982; 306: 1520-1528.

- 43) Girelli D., Corrocher R., Bisceglia L., Olivieri O., De Franceschi L., Zelante L. Gasparini P.: Molecular basis for the recently described hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome: a mutation in the iron responsive element of ferritin L subunit gene (the Verona mutation). *Blood* 1995; 86: 4050-4053.
- 44) Girelli D., Olivieri O., De Franceschi L., Corrocher R., Bergamaschi G., Cazzola M.: A linkage between hereditary hyperferritinaemia not related to iron overload and autosomal dominant congenital cataract. *Br. J. Haematol.* 1995; 90: 931-934.
- 45) Guo B., Yu Y., Leibold E.A.: Iron regulates cytoplasmic levels of a novel iron-responsive element binding protein without aconitase activity. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 24252-24260.
- 46) Harrison P.M., Arosio P.: The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim. Biophys Acta* 1996; 1275: 161-203.
- 47) Heise T., Nath A., Jungermann K. and Christ B.: Purification of RNA-binding protein from rat liver. identification as ferritin L chain and determination of the RNA/protein binding characteristics. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272, 20222-20229.
- 48) Henderson B.R.: Iron regulatory proteins 1 and 2. *Bioessays* 1996; 18: 739-746.
- 49) Henderson B.R., Menotti E, and Kuhn L.C.: Iron regulatory proteins 1 and 2 bind distinct sets of RNA target sequences *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 4900-4908.
- 50) Henderson B.R., Menotti E., Bonnard C. and Kuhn L.C.: Optimal sequence and structure of iron responsive elements. Selection of RNA stem-loops with high affinity for iron regulatory factor. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 17481-17489.
- 51) Hentze, M.W. and Kuhn, L.C.: Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA based regulatory circuits operated by iron, nitric oxide and oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996; 93: 8175-8182.
- 52) Hentze, M.W., Rouault, T.A., Harford, J.B. and Klausner, R.D.: Oxidation-reduction and the molecular mechanism of a regulatory RNA-protein interaction. *Science* 1989; 244: 357-359.

- 53) Hirling H., Henderson B.R., Kuhn L.C.: Mutational analysis of the 4Fe-4S cluster converting iron regulatory factor from its RNA-binding form to cytoplasmic aconitase. *EMBO J.* 1994; 13: 453-461.
- 54) Klausner R.D., Rouault T.A., Harford J.B.: Regulating the fate of mRNA: the control of cellular iron metabolism. *Cell* 1993; 72: 19-28.
- 55) Konijn A.M.: Iron metabolism in inflammation. *Baillière's Clin. Haematol.* 1994; 7: 829-849.
- 56) Kwak, E.L., Larochelle D.A., Beaumont C., Torti S.V. and Torti F.M.: Role of NFkB in the regulation of ferritin H by tumor necrosis factor-. *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 15285-15293.
- 57) Lawson D.M., Artymiuk P.J., Yewdall S.J., Smith J.M.A., Livingstone J.C., Treffry A. Luzzago A., Levi S., Arosio P., Cesareni G., Thomas C.D. Shaw W.V, Harrison P.M.: Solving the structure of human H ferritin by genetically engineering intermolecular crystal contacts. *Nature* 1991; 349: 541-544.
- 58) Leibold E.A., Guo B.: Iron dependent regulation of ferritin and transferrin receptor expression by the iron responsive elements binding proteins. *Annu. Rev. Nutr.* 1992; 12: 345-368.
- 59) Levi S., Corsi B., Rovida E., Cozzi A., Santambrogio P., Albertini A., Arosio P.: Construction of ferroxidase center in human ferritin L chain. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 30334-30339.
- 60) Linder M.C., Madani N., Middleton R., Miremadi A., Cairo G., Tacchini L., Schiaffonati L. Rappocciolo E.: Ferritin synthesis on polyribosomes attached to the endoplasmic reticulum. *J. Inorg. Biochem.* 1992; 47: 229-240.
- 61) Martins, E.A., Robalinho R.L., Meneghini R.: Oxidative stress induces activation of a cytosolic protein responsible for control of iron uptake. *Arch. Biochem. Biophys.* 1995; 316: 128-134.
- 62) Marziali G., Perrotti E., Ilari R., Testa U., Coccia E.M., Battistini A.: Transcriptional regulation of the ferritin heavy-chain gene: the activity of the CCAAT binding factor NF-Y is modulated in heme-treated Friend leukemia cells and during monocyte-to macrophage differentiation. *Mol. Cell. Biol.* 1997; 17: 1387-1395.

- 63) Mullner, E.W., Rothenberger, S., Muller, A.M. and Kuhn, L.C.: In vivo and in vitro modulation of the mRNA-binding activity of iron-regulatory factor. *Eur. J. Biochem.* 1992; 208: 597-605.
- 64) Munro H.N.: The ferritin genes: their response to iron status. *Nutr. Rev.* 1993; 51: 65-73.
- 65) Pang J.S., Wu C., Chau L.: Post-transcriptional regulation of H-ferritin gene expression in human monocytic THP-1 cells by protein kinase C. *Biochem. J.* 1996; 319: 185-189.
- 66) Pantopoulos K., Weiss G., Hentze M.W.: Nitric oxide and oxidative stress (H₂O₂) control mammalian iron metabolism by different pathways. *Mol. Cell. Biol.* 1996; 16: 3781-3788.
- 67) Philpott, C.C., Haile, D., Rouault, T.A. and Klausner, R.D.: Modification of free Fe-S cluster cysteine residue in the active iron-responsive element-binding protein prevents RNA binding. *J. Biol. Chem.* 1993; 268: 17655-17658.
- 68) Pietrangelo A., Rocchi E., Ferrari A., Ventura E., Cairo G.: Regulation of hepatic transferrin, transferrin receptor and ferritin genes in human siderosis. *Hepatology* 1991; 14: 1083-1089.
- 69) Recalcati S., Taramelli D., Conte D., Cairo G.: Nitric oxide-mediated induction of ferritin synthesis in J774 macrophages by inflammatory cytokines: role of selective IRP-2 down-regulation. *Blood* 1998, in press
- 70) Richter G.W.: Studies of iron overload. Rat liver siderosome ferritin. *Lab. Invest.* 1984; 50: 26-35.
- 71) Rogers J.T.: Ferritin translation by interleukin-1 and interleukin-6: the role of sequences upstream of the start codons of the heavy and light subunit genes. *Blood* 1996; 87: 2525-2537.
- 72) Sakaida I., Kyle M.E., Farber J.L.: Autophagic degradation of protein generates a pool of ferric iron required for the killing of cultured hepatocytes by an oxidative stress. *Mol. Pharmacol.* 1990; 37: 435-442.
- 73) Santambrogio P., Cozzi A., Levi S., Arosio P.: Human serum ferritin G-peptide is recognized by anti-L ferritin subunit antibodies and concanavalin-A. *Br. J. Haematol.* 1987; 65: 235-237.

- 74) Schalinske K.L., Blemings K.P., Steffen D.W., Chen O.S., Eisenstein R.S.: Iron Regulatory Protein 1 is not required for the modulation of ferritin and transferrin receptor expression by iron in a murine Pro-B lymphocyte cell line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94; 10681-10686.
- 75) Schiaffonati L., Rappocciolo E., Tacchini L., Bardella L., Arosio P., Cozzi A., Cantù G.B., Cairo G.: Mechanisms of regulation of ferritin synthesis in rat liver during experimental inflammation. *Exp. Mol. Pathol.* 1988; 48: 174-181.
- 76) Simon M., Le Mignon L., Fauchet R., Yaouanq J., David V., Edan G., Bourel M.: A study of 609 HLA haplotypes marking for hemochromatosis gene: (1) Mapping of the gene near the HLA-A locus and characters required to define a heterozygous population and (2) hypothesis concerning the underlying cause of hemochromatosis-HLA association. *Am. J. Hum. Genet.* 1987; 41: 89-105.
- 77) Skikne B.S., Whittaker P., Cooke A., Cook J.D.: Ferritin excretion and iron balance in humans. *Brit. J. Haematol.* 1995; 90: 681-687.
- 78) Summers K.M., Tam K.S. Bartley P.B. Drysdale J. W., Zoghbi H.Y., Halliday J.W., Powell L.W.: Fine mapping of a human chromosome 6 ferritin heavy chain pseudogene: relevance to haemochromatosis. *Hum. Genet.* 1991; 88: 175-178.
- 79) Tacchini L., Rappocciolo E., Ferrero M., Schiaffonati L., Cairo G.: Ferritin mRNAs on rat liver membrane-bound polysomes synthesize ferritin that does not translocate across membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 1992; 1131: 133-138.
- 80) Tacchini L., Recalcati S., Bernelli-Zazzera A., Cairo G.: Induction of ferritin synthesis in ischemic-reperfused rat liver: analysis of the molecular mechanisms. *Gastroenterology* 1997; 113: 946-953.
- 81) Theil E.C.: Ferritin: structure, function and regulation. *Annu. Rev. Biochem.* 1987; 56: 289-315.
- 82) Tsuji Y., Akebi N., Lam T.K., Nakabeppu Y., Torti S.V. Torti F.M.: FER-1, an enhancer of the ferritin H gene and a target of E1A-mediated transcriptional repression. *Mol. Cell. Biol.* 1995; 15: 5152-5164.
- 83) Tsuji Y., Miller L.L., Miller S.C., Torti S.V., Torti F.M. Tumor necrosis factor- and interleukin 1- regulate transferrin receptor in human di-

- ploid fibroblasts: relationship to the induction of ferritin heavy chain. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 7257-7261.
- 84) Vile G.F., Tyrrel R.M.: Oxidative stress resulting from ultraviolet A irradiation of human skin fibroblasts leads to a heme oxygenase-dependent increase in ferritin. *J Biol Chem* 1993;268:14678-14681.
- 85) Weiss G., Wachter H., Fuchs D.: Linkage of cell-mediated immunity to iron metabolism. *Immunol. Today* 1995; 16: 495-500.
- 86) White K., Munro H.N.: Induction of ferritin subunit synthesis by iron is regulated at both the transcriptional and translational levels. *J. Biol. Chem.* 1988; 263: 8938-8942.
- 87) Worwood M.: Ferritin in human tissues and serum. *Clin. Haematol.* 1982; 11: 275-307.
- 88) Worwood M.: An overview of iron metabolism at a molecular level. *J. Intern. Med.* 1989; 226: 381-391.
- 89) Zahringer J., Baliga B.S., Munro H.N.: Novel mechanism for translational control in regulation of ferritin synthesis by iron. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1976; 73: 857-861.
- 90) Zahringer J., Baliga B.S., Drake R.L., Munro H.N.: Distribution of ferritin mRNA and albumin mRNA between free and membrane-bound rat liver polysomes *Biochim. Biophys. Acta* 1977; 474: 234-244.
- 91) Zheng H., Bhavsar D., Volz A., Ziegler A., Drysdale J.W.: Exclusion of ferritins and iron responsive elements (IRE)-binding proteins as candidates for hemochromatosis gene, *Hum. Genet.* 1994; 94: 159-164.
- 92) Zhu L., Bagchi M.K., Bagchi I.C.: Ferritin heavy chain is a progesterone-inducible marker in the uterus during pregnancy. *Endocrinology* 1995; 136: 4106-4115.

Indice

Editoriale	pag.	3
Introduzione	»	5
Il metabolismo del ferro e l'importanza della sua conservazione	»	6
Una breve descrizione del metabolismo del ferro nell'uomo	»	7
Struttura e distribuzione della ferritina	»	9
I geni della ferritina	»	12
Regolazione della biosintesi di ferritina	»	13
Regolazione coordinata del metabolismo del ferro	»	15
Regolazione ferro-indipendente della sintesi di ferritina	»	19
Altre funzioni biologiche della ferritina	»	20
Il problema della sieroferritina	»	22
Significato clinico della sieroferritina	»	25
Conclusioni	»	29
Bibliografia	»	30
Indice	»	39

Caleidoscopio

Italiano

1. Rasso S.: *Principi generali di endocrinologia*. Gennaio '83
2. Rasso S.: *L'ipotalamo endocrino*. Giugno '83
3. Rasso S.: *L'ipofisi*. Dicembre '83
4. Alagna., Masala A.: *La prolattina*. Aprile '84
5. Rasso S.: *Il pancreas endocrino*. Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza)*. Luglio '84.
7. Rasso S.: *L'obesità*. Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P., Bolelli G.F., Bulletti C.: *Aspetti morfofunzionali dell'ovaio*. Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima*. Gennaio '85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda*. Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima*. Aprile '85.
13. Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.: *Il TSH*. Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La -endorfina plasmatica e liquorale*. Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1)*. Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda*. Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale*. Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica*. Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti*. Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica*. Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma*. Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia*. Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimologico e fluoroimmunologico*. Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche*. Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rasso S.: *Le banche dati in medicina*. Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea*. Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale*. Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche*. Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica*. Novembre '87.
31. Kubasik N.P.: *Ibridomi ed anticorpi monoclonali*. Gennaio '88.
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: *Diagnostica del carcinoma mammario*. Febbraio '88.
33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.: *Neuroendocrinologia dello stress*. Marzo '88.
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: *La fecondazione in vitro*. Maggio '88.

35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: *Il gozzo nodulare*. Giugno '88.
36. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (2)*. Luglio '88.
37. Piantino P., Pecchio F.: *Markers tumorali in gastroenterologia*. Novembre '88.
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: *Le leucemie acute infantili*. Gennaio '89.
39. Sommariva D., Branchi A.: *Le dislipidemie*. Febbraio '89.
40. Butturini U., Butturini A.: *Aspetti medici delle radiazioni*. Marzo '89.
41. Caffero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: *Diagnostica delle neoplasie colo-rettali*. Aprile '89.
42. Palleschi G.: *Biosensori in Medicina*. Maggio '89.
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: *HTLV-I*. Giugno '89.
44. Fanetti G.: *Emostasi: fisiopatologia e diagnostica*. Luglio '89.
45. Contu L., Arras M.: *Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie*. Settembre '89.
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: *Immunologia dell'occhio*. Ottobre '89.
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: *Infezioni opportunistiche in corso di AIDS*. Gennaio '90.
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: *La coriagonadotropina umana*. Febbraio '90.
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: *L'immunologia del diabete mellito*. Marzo '90.
50. Cappi F.: *La trasfusione di sangue: terapia a rischio*. Aprile '90.
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: *I micobatteri*. Maggio '90.
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: *Anticorpi antinucleo*. Giugno '90.
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: *Le macchine in terapia intensiva*. Luglio '90.
54. Goracci E., Goracci G.: *Gli allergo-acari*. Agosto '90.
55. Rizzetto M.: *L'epatite non A non B (tipo C)*. Settembre '90.
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: *Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali*. Ottobre '90.
57. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (I)*. Gennaio '91.
58. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (II)*. Febbraio '91.
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: *Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti*. Marzo '91.
60. Bedarida G., Lizioli A.: *La neopterina nella pratica clinica*. Aprile '91.
61. Romano L.: *Valutazione dei kit immunochimici*. Maggio '91.
62. Dondero F. e Lenzi A.: *L'infertilità immunologica*. Giugno '91.
63. Bologna M. Biordi L. Martinotti S.: *Gli Oncogeni*. Luglio '91.
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: *Infezione-malattia da HIV in Africa*. Agosto '91.
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: *L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni*. Settembre '91.
66. Gentilomi G.A.: *Sonde genetiche in microbiologia*. Ottobre '91.
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Basaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: *Le sonde di DNA e la virulenza batterica*. Gennaio '92.
68. Zilli A., Biondi T.: *Il piede diabetico*. Febbraio '92.
69. Rizzetto M.: *L'epatite Delta*. Marzo '92.
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: *Gli screening neonatali*. Aprile '92.
71. Tavani A., La Vecchia C.: *Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari*. Luglio '92.
72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita*. Agosto '92.
73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*. Settembre '92.
74. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio I*. Ottobre '92.

75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*. Novembre '92.
76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II*. Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Ipertensione Arteriosa*. Febbraio '93.
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin*. Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*. Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: *Terapia antiretrovirale*. Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C*. Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*. Ottobre '93.
83. Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow*. Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza*. Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: *Applicazioni degli esami immunologici*. Gennaio '94.
86. Arras M., Contu L.: *Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I Infociti B*. Febbraio '94.
87. Rossetti R.: *Gli streptococchi beta emolitici di gruppo B (SGB)*. Marzo '94.
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: *Marcatori biochimici del rimodellamento osseo*. Aprile '94.
89. Fanetti G.: *Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare*. Settembre '94.
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: *Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario*. Ottobre '94.
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: *Helicobacter pylori*. Novembre '94.
92. Parazzini F.: *L'epidemiologia della patologia ostetrica*. Febbraio '95.
93. Proietti A., Lanzafame P.: *Il virus di Epstein-Barr*. Marzo '95.
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P., Romano L.: *Immunoflogosi nell'asma bronchiale*. Maggio '95.
95. Manduchi I.: *Steroidi*. Giugno '95.
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: *Sindromi tossiche sostenute da principi di origine vegetale*. Luglio '95.
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: *Le biotecnologie nella diagnosi delle infezioni da retrovirus umani*. Ottobre '95.
98. La Vecchia C., D'avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: *Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica*. Dicembre '95.
99. Zilli A., Biondi T., Conte M.: *Diabete mellito e disfunzioni conoscitive*. Gennaio '96.
100. Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: *Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma*. Marzo '96.
101. Cogato I. Montanari E.: *La Sclerosi Multipla*. Aprile '96.
102. Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: *Malattie a trasmissione sessuale*. Maggio '96.
103. Fiori G.M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin*. Giugno '96.
104. Marcante R., Dalla Via L.: *Il virus respiratorio sinciziale*. Luglio '96.
105. Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: *Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tissutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative*. Ottobre '96.
106. Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: *Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale*. Novembre '96.
107. Morganti R.: *Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali*. Dicembre '96.
108. Andreoni S.: *Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti*. Gennaio '97.
109. Salemi A., Zoni R.: *Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi*. Febbraio '97.
110. Meisner M.: *Procalcitonina*. Marzo '97.

111. Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: *Malattie a trasmissione sessuale (2)*. Aprile '97.
112. Palleschi G. Moscone D., Compagnone D.: *Biosensori elettrochimici in Biomedicina*. Maggio '97.
113. Valtriani C., Hurle C.: *Citofluorimetria a flusso*. Giugno '97.
114. Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barcucci P.: *Alcol e problemi correlati*. Settembre '97.
115. Piccinelli M.: *Depressione Maggiore Unipolare*. Ottobre '97.
116. Pepe M., Di Gregorio A.: *Le Tiroiditi*. Novembre '97.
117. Cairo G.: *La Ferritina*. Dicembre '97.



Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 15, numero 117

Direttore Responsabile

Sergio Rasso
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel.-Fax 079 270464
Tel. mobile 0338 2202502
E-mail: rasso@ssnet.it

Responsabile Ufficio Acquisti

Alessandra Pater

Consulenti di Redazione

Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione

Letizia Cuccuru

Servizio Abbonamenti

Fina Grandeppieno
Flavio Damarciasi

EDITORE

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. (010) 83401 Numero Verde 167 801005 (senza prefisso);
Telex 270310 Ideal I.
Telefax (010) 803498- 809070.

Internet URL: <http://medicalsistemas.editoria.com>; <http://www.vol.it/pandora> e
<http://www.medicalsistemas.it>

La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Journal of Clinical Ligand Assay,
Guida Pratica Immulite[®], Caleidoscopio, Kaleidoscope, Caleidoscopio letterario, Pandora,
Journal of Preventive Medicine and Hygiene, Tribuna Biologica e Medica.

Stampa

Tipolitografia ATA
16143 Genova - Via G. Torti, 32 c.r.
Tel. (010) 513120 - Fax (010) 503320

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Dicembre 1997
Sped. in Abb. Post. 50%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e
scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento
professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano