

Avencos en l'estudi de les anèmies microcítiques hereditàries

El ferro és un micronutrient essencial amb propietats oxidoreductores que el fan vital en processos biològics que requereixen transferència d'electrons, com són el transport d'oxigen, la fosforilació oxidativa, la biosíntesi de DNA i el metabolisme de xenobiòtics. Tanmateix, aquest element també pot esdevenir prooxidant i tòxic. Per prevenir-ne la toxicitat, el metabolisme del ferro està estrictament controlat. Les mutacions de les proteïnes implicades en aquest metabolisme poden portar a l'hemocromatosi (malaltia genètica de sobrecàrrega de ferro) o a l'anèmia microcítica hipocròmica, que sovint es presenta amb una sobrecàrrega de ferro, predominantment al fetsge.

Escrit per
Mayka Sánchez
Institut de Medicina
Predictiva
i Personalitzada
del Càncer (IMPPC)

PREMI JOSEP M. SALA-TREPAT

L'ANÈMIA microcítica constitueix un grup molt heterogeni de malalties que poden ser adquirides o heretades. Aquest tipus d'anèmia és la més freqüent en la pràctica mèdica general. La deficiència nutricional de ferro i la talassèmia són les principals causes en pediatria, mentre que els trastorns de la coagulació i l'anèmia de les malalties cròniques són comunes en l'edat adulta. Les anèmies microcítiques es caracteritzen per una reducció del volum corpuscular mitjà (VCM) dels glòbuls vermells, que reflecteix una reducció de la síntesi d'hemoglobina. Aquest fet pot tenir diverses causes, com ara un defecte en els gens de la globina (hemoglobinopaties o talassèmies), en la síntesi del grup hemo, en la disponibilitat de ferro o bé en l'adquisició de ferro per part dels precursors eritroides. Les anèmies microcítiques es poden classificar en anèmies microcítiques sideroblàstiques o no sideroblàstiques, depenent de la presència o de l'absència de sideroblasts en anell a la medul·la òssia (dipòsits de ferro als mitocondris que es localitzen al voltant del nucli).

Durant els darrers anys, nous descobriments provinents de l'estudi de pacients humans o de models animals han posat de manifest la implicació dels components del metabolisme del ferro en l'anèmia microcítica hereditària. En aquest

article revisarem les formes hereditàries d'anèmies microcítiques causades per defectes en el metabolisme del ferro o del grup hemo (**taula 1**). Aquesta informació és útil en el diagnòstic, el tractament i la classificació d'aquestes patologies.

1. Anèmies microcítiques sideroblàstiques

L'anèmia microcítica sideroblàstica és un grup de trastorns caracteritzats per una població variable d'eritròcits hipocròmics (amb poc color) i microcítics (de mida petita) en la sang perifèrica, i de sideroblasts en anell a la medul·la òssia. Aquesta retenció de ferro en el mitocondri i l'anèmia hipocròmica associada reflecteixen un defecte en la síntesi mitocondrial del grup hemo o en la síntesi i l'assemblatge dels clústers de ferro i sofre (**figura 1**).

El grup hemo és un grup prostètic present en diverses proteïnes i enzims, com ara l'hemoglobina, la mioglobina, el citocrom P450, la catalasa i la peroxidasa. El grup hemo se sintetitza en un procés amb diversos passos, que s'inicia amb la condensació de glicina i succinil-CoA per l'enzim ALAS per formar l'àcid δ -aminolevulínic (ALA), en presència d'un fosfat de piridoxal (vitamina B6) com a cofactor que catalitza la reacció. δ -ALA s'exporta al citoplasma, i els passos següents de

Tipus i gen	Nom de la malaltia	Herència	Orpha	OMIM	Casos
Sideroblàstica					
ALAS2	Anèmia sideroblàstica lligada al cromosoma X (XLSA)	Lligada al X	75563	301300	> 70
ABCB7	Anèmia sideroblàstica lligada al cromosoma X amb atàxia (XLSA/A)	Lligada al X	2802	301310	10
GLRX5	Anèmia sideroblàstica amb sobrecàrrega hepàtica de ferro	Autosòmica recessiva	1047	609588	1
SLC25A38	Anèmia congènita sideroblàstica no sindròmica	Autosòmica recessiva	98362	610819	18
No sideroblàstica					
DMT1 (SLC11A2)	Anèmia microcítica i hipocròmica amb sobrecàrrega hepàtica de ferro	Autosòmica recessiva	83642	206100	4
TMPRSS6	Anèmia deficient de ferro refractària a ferro (IRIDA)	Autosòmica recessiva	209981	206200	31
TF	Hipo- o atransferrinèmia	Autosòmica recessiva	1195	209300	10
CP	Aceruloplasminèmia	Autosòmica recessiva	48818	604290	> 30

la formació de grups hemo tenen lloc al citosol fins que el coproporfirinogen III és transportat dins del mitocondri. En l'últim pas, la inserció de ferro en l'anell de protoporfirina IX (PPIX) és catalitzada per la ferroquelatasa (FECH).

Els clústers de ferro i sofre són uns altres grups prostètics presents en diverses proteïnes implicades en múltiples vies metabòliques. A més, són essencials per a la funció de proteïnes mitocondrials (complexos de la cadena respiratòria, aconitasa, succinat-deshidrogenasa, ferroquelatasa) i de proteïnes citosòliques (aconitasa, xantina-oxidasa). El procés de biosíntesi del grup de ferro i sofre i el seu assemblatge s'han estudiat àmpliament en llevat, però molt poc en mamífers.

1.1. Anèmia sideroblàstica lligada al cromosoma X (XLSA)

Aquesta és la forma més freqüent d'anèmia hereditària lligada al cromosoma X (XLSA) i està causada per mutacions en el gen ALAS2, que s'expressa específicament en els eritròcits i que controla la síntesi del grup hemo. Aquesta anèmia pertany al grup d'anèmies amb sobrecàrrega de ferro. S'han descrit diverses mutacions en el gen ALAS2, de manera que poden

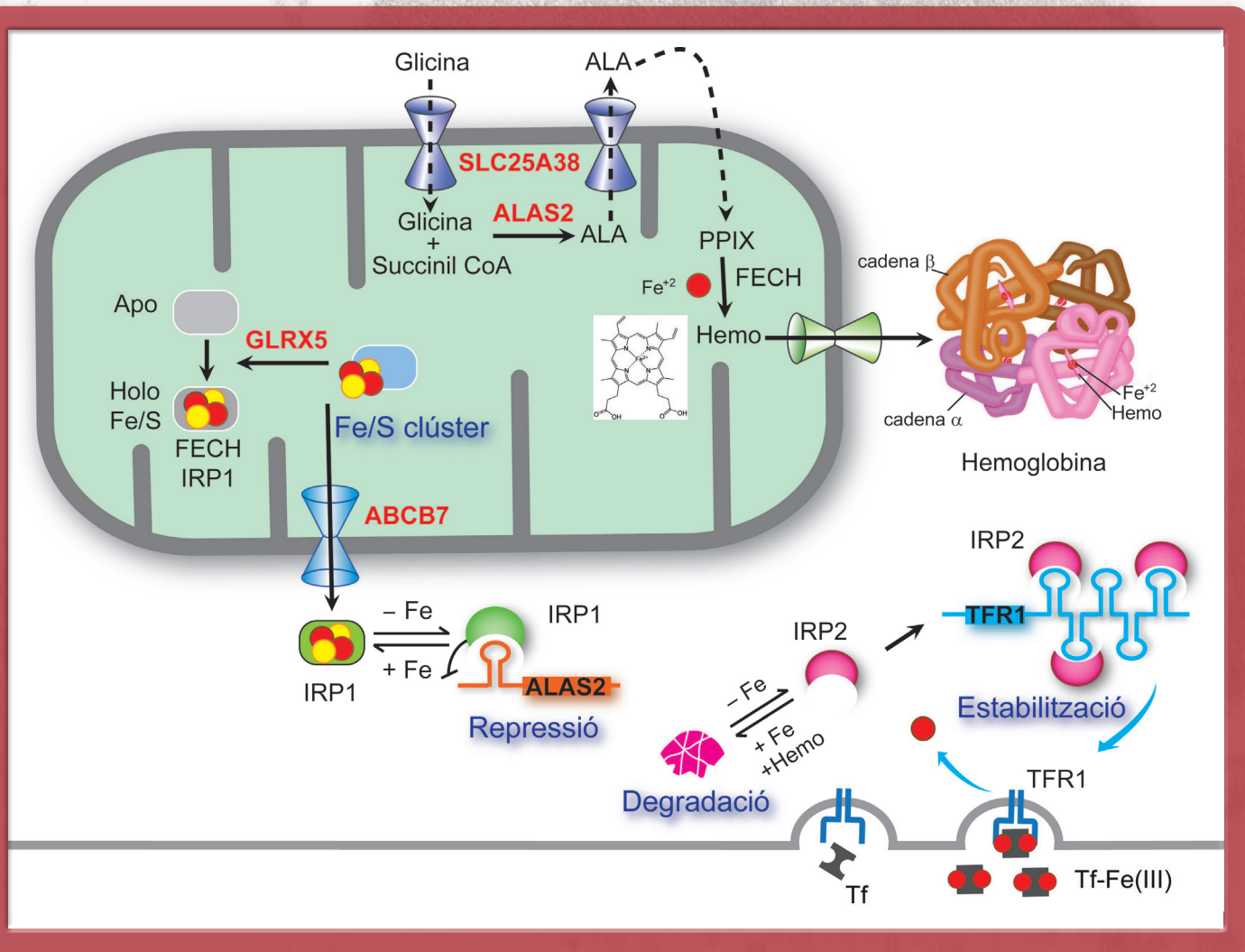
afectar l'afinitat de l'enzim pel seu cofactor, el piridoxal-5-fosfat; o poden disminuir el procésament o l'estabilitat de l'enzim (disminuint-ne la producció), o afectar-ne la interacció amb altres proteïnes. Només en el cas de les mutacions que afecten l'afinitat pel cofactor, els pacients responen a la piridoxina, molècula que es metabolitza en piridoxal-5-fosfat. La major part dels dipòsits de ferro dels mitocondris perinuclears dels sideroblasts en anell s'emmagatzema en la ferritina mitocondrial. Aquesta acumulació porta a l'augment de les espècies reactives d'oxigen (ROS) i a l'escurçament de la vida cel·lular. Els sideroblasts, per tant, no poden progressar en la diferenciació a eritròcits, fet que provoca l'anèmia. Les característiques d'aquesta afecció indiquen, en primer lloc, que la malaltia és detectable en nadons, però de vegades la simptomatologia clínica es presenta a l'edat madura o més tard, tot i que en pocs casos. En segon lloc, els pacients moren d'hemocromatosi a una edat relativament jove, però el nombre de transfusions rebudes no pot explicar la massiva sobrecàrrega de ferro que presenten. Finalment, també es troba una gran abundància de sideròcits en la sang perifèrica després d'una esplenectomia.

▲ **Taula 1.** Anèmies microcítiques hereditàries causades per defectes en el metabolisme del ferro.

Orpha: Orphanet, base de dades de malalties rares.

OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man, registre de malalties humanes.

Casos: nombre de casos publicats en la literatura.



▲ **Figura 1.** Anèmies congènites microcítiques i sideroblàstiques. Les proteïnes defectuoses en aquestes malalties estan remarcades en vermell.

1.2. Anèmia sideroblàstica lligada al cromosoma X amb atàxia (XLSA/A)

Es tracta d'una forma rara d'anèmia hereditària sindròmica i sideroblàstica d'iniciació ràpida, associada amb un progrés lent o nul de l'atàxia espinocerebel·losa i amb una hipoplàsia greu del cerebel. L'anèmia microcítica i hipocròmica dels XLSA/A és generalment lleu, cosa que fa que en molts casos no es diagnostiqui fins després d'observar l'afectació neurològica. Aquesta forma d'anèmia sideroblàstica és conseqüència de defectes en el gen ABCB7 (figura 1). La deficiència de la proteïna ABCB7 provoca l'acumulació mitocondrial de ferro, l'elevació dels nivells de protoporfirina IX (PPIX) lliure i una alteració en la maduració dels clústers de ferro i sofre (ISC) citosòlic. I és que aquesta proteïna ABCB7 és un component essencial de la maquinària d'exportació d'aquests clústers. L'atàxia dels pacients amb deficiència d'ABCB7 pot

estar relacionada amb el dany mitocondrial generat per la càrrega de ferro en les cèl·lules neuronals.

1.3. Noves formes d'anèmies microcítiques sideroblàstiques

Recentment s'han descrit dues noves formes d'anèmies sideroblàstiques causades per mutacions en els gens GLRX5 (glutaredoxina 5) i SLC25A38, que impliquen defectes en la maquinària de síntesi dels ISC i en la síntesi del grup hemo, respectivament.

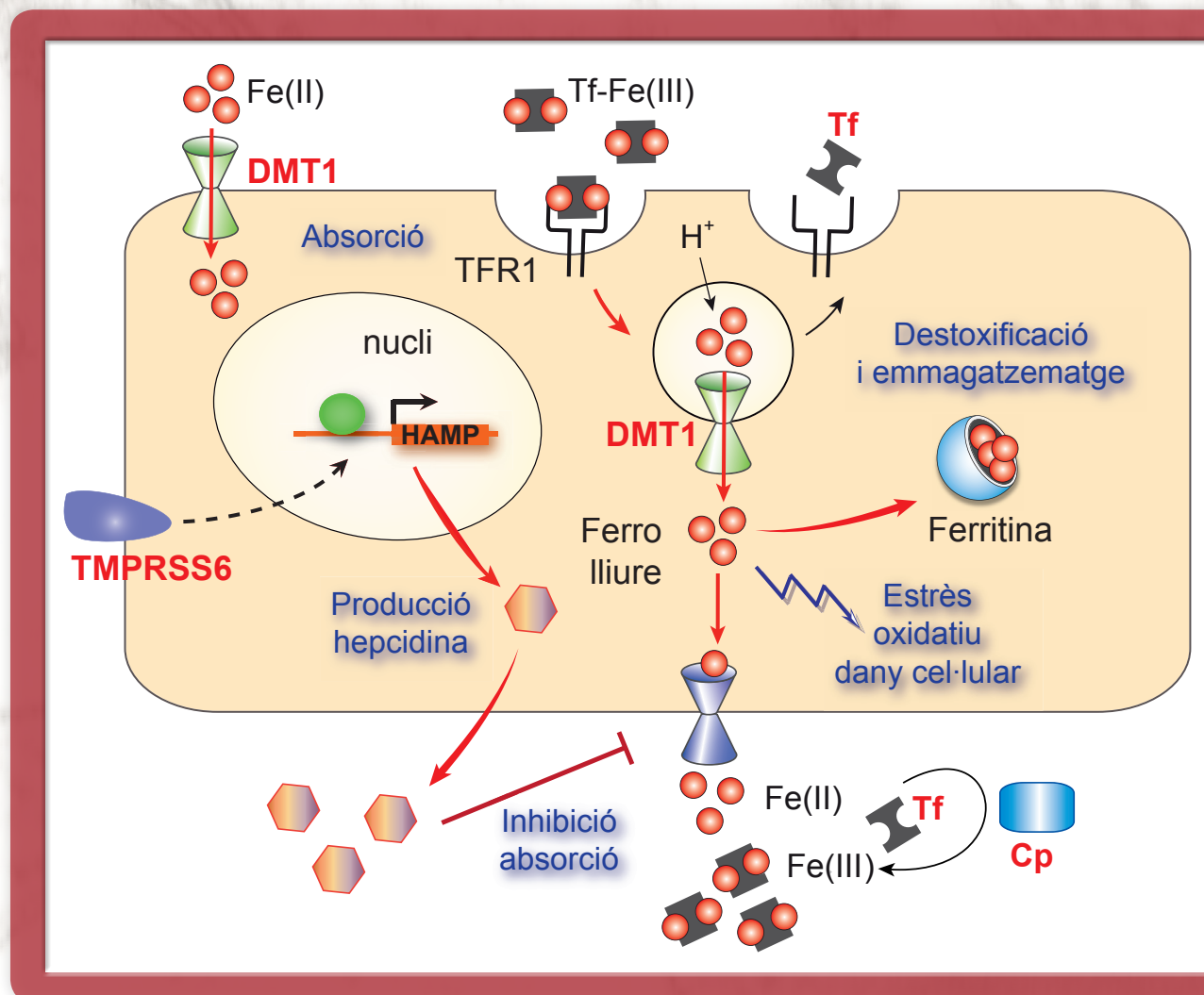
Les glutaredoxines són petites oxidoreductases que utilitzen glutatió reduït (GSH) com a donador d'electrons i que formen part de la maquinària d'assemblatge dels ISC. Fins ara només s'ha descrit un únic pacient amb una mutació en el gen GLRX5 que interfereix amb l'empalament de l'intró 1 i que redueix els nivells

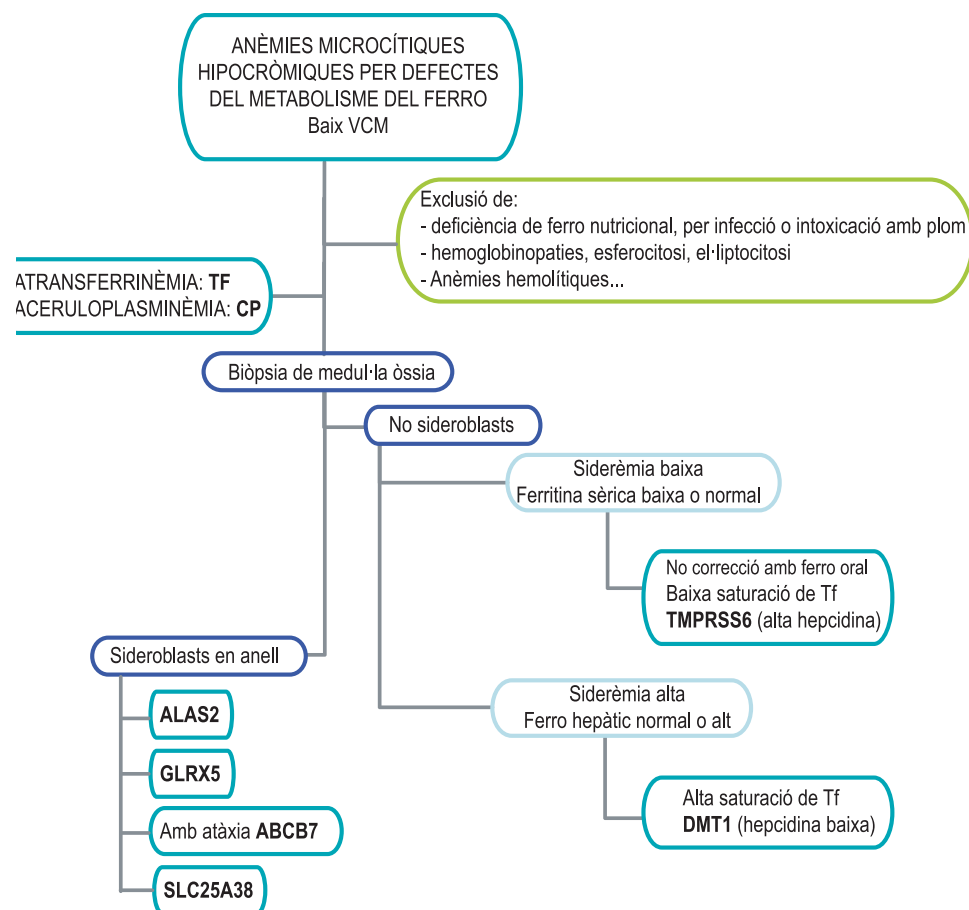
d'RNA missatger (mRNA) de GLRX5. Aquest pacient pateix d'una anèmia microcítica lleu associada amb una sobrecàrrega de ferro i un baix nombre de sideroblasts en anell. El seu nivell d'hemoglobina havia anat disminuint progressivament amb l'edat fins al punt d'esdevenir dependent de transfusions. De manera sorprenent, l'anèmia va revertir, en part, amb la quelació del ferro. Aquest cas clínic ha establert un model de regulació en què intervenen les proteïnes reguladores de ferro (IRP). En les cèl·lules eritroides, la falta de ferro provoca l'activació de la proteïna IRP1, que reprimeix l'mRNA d'ALAS2 i, per tant, la síntesi d'aquest enzim. Els nivells baixos de grup hemo activen la IRP2, que estableix l'mRNA del receptor de transferrina 1 (TFR1), cosa que porta a un nou augment

de l'absorció de ferro que es diposita en els mitocondris i causa la formació dels sideroblasts en anell (figura 1). Aquest cercle viciós podria ser alleujat pel tractament amb el quelant de ferro DFO (desferroxa-mina), perquè aquesta molècula redistribueix el ferro dels mitocondris al citosol, amb la qual cosa modula l'activitat de la IRP2, millorant l'hemoglobinització dels eritròcits i disminueix els sideroblasts en anell.

Els pacients amb mutacions en el transportador mitocondrial específic de cèl·lules eritroides (SLC25A38) presenten una anèmia sideroblàstica congènita microcítica greu amb sobrecàrrega sistèmica de ferro en la primera infància. La majoria d'aquests pacients requereix transfusions.

▼ **Figura 2.** Anèmies congènites microcítiques i no sideroblàstiques. Les proteïnes defectuoses en aquestes malalties estan remarcades en vermell.





▲ **Figura 3.** Arbre de decisions per a anèmies congènites microcítiques causades per deficiències en el metabolisme del ferro. Aquest arbre es basa en l'experiència de la autora i és susceptible de modificacions amb els futurs descobriments de noves entitats clíniques en anèmies microcítiques hereditàries. En pacients amb anèmia microcítica hipocròmica, definida a partir d'un baix VCM (volum corpuscular mitjà) i una baixa HCM (hemoglobina corpuscular mitjana), i després d'excloure causes secundàries, s'han d'estudiar els nivells de transferrina i ceruloplasmina en sang. Si aquests valors fossin normals, una biòpsia de medul·la òssia permetrà la classificació de l'anèmia en sideroblàstica o no sideroblàstica, depenent de la detecció de sideroblasts en anell, per la qual cosa es proposa orientar les anàlisis genètiques a les dels gens descrits en la figura.

Sembla que la funció d'aquesta proteïna SLC25A38 és facilitar la producció de del-ta-ALA mitjançant la importació de glicina en els mitocondris o per l'intercanvi de glicina per ALA a través de la membrana mitocondrial interna (figura 1). Aquesta funció connecta la malaltia amb la síntesi del grup hemo i explicaria un fenotip semblant al trobat en XLSA.

2. Anèmies hereditàries microcítiques no sideroblàstiques

Les anèmies microcítiques no sideroblàstiques són causades per mutacions en gens que codifiquen proteïnes amb un paper important en el metabolisme del ferro.

2.1. Anèmia microcítica i hipocròmica amb sobrecàrrega hepàtica de ferro (DMT1)

Les mutacions al transportador de ferro DMT1, el nom oficial del qual és SLC11A2,

donen lloc a una anèmia microcítica hipocròmica greu causada per un defecte en l'absorció del ferro a l'intestí i en l'adquisició i la utilització del ferro en els teixits perifèrics, incloent-hi els precursors dels glòbuls vermells (figura 2). Fins ara, s'han descrit quatre afectats amb mutacions al gen DMT1, tres dels quals presenten una sobreacumulació de les reserves de ferro al fetge. En aquests pacients, l'anèmia és present des del naixement, i tenen una saturació de transferrina alta, una ferritina sèrica lleugerament elevada o normal i uns nivells d'hepcidina, hormona que controla l'absorció del ferro, massa baixos pels alts nivells de ferro acumulats al fetge, cosa que explicaria la contínua absorció de ferro intestinal. En aquests casos la teràpia de quelació per reduir la càrrega de ferro hepàtic no és eficaç i porta a una davallada dels nivells d'hemoglobina. Sembla que aquests pacients responen a l'administració d'eritropoetina, i, encara que el tractament no evita l'acumulació de ferro

hepàtic, sí que en millora la utilització per part dels eritroblasts, probablement perquè es redueix el grau o la intensitat de l'apoptosi i es redueixen els nivells de ferritina sèrica.

2.2. Anèmia deficient de ferro refractària al ferro (IRIDA)

Molt recentment s'han identificat mutacions en el gen *TMPRSS6* en individus amb anèmia ferropènica refractària al ferro (IRIDA). Aquests pacients es caracteritzen per una anèmia hipocròmica i microcítica amb valors sèrics de ferro molt baixos i nivells normals o lleugerament elevats d'hepcidina, tot i patir d'una anèmia greu. Aquests pacients són refractaris al tractament amb ferro per via oral i responen parcialment a l'administració de ferro per via parenteral. En la major part dels casos, l'anèmia no és detectada en el naixement. El principal lloc d'expressió de *TMPRSS6* és el fetge, on es regula els nivells d'hepcidina (figura 2).

2.3. Atransferrinèmia hereditària

Es tracta d'un trastorn extremament poc freqüent caracteritzat per defectes en la transferrina, la proteïna plasmàtica que transporta ferro (figura 2). La falta de transferrina causa una reducció de l'aportació de ferro als precursors eritroides de la medulla òssia i una disminució de la síntesi d'hemoglobina, factors que provoquen l'anèmia microcítica. Fins ara només s'ha descrit aquesta malaltia en deu pacients, que pertanyen a vuit famílies, i en quatre casos se n'ha descrit la base molecular. Les característiques clíniques predominants d'aquesta deficiència són pal·lidesa, fatiga i augment de la sensibilitat a infeccions. En el plasma hi ha una mica de ferro en forma no lligada a la transferrina que causa

una sobrecàrrega de ferro massiva al fetge, al pàncrees i al cor. Això es veu agreujat per l'augment de l'absorció intestinal del ferro com a conseqüència de la disminució de la producció d'hepcidina. La correcció de l'anèmia i la reducció parcial de la sobrecàrrega de ferro s'han aconseguit amb infusions mensuals de plasma humà o d'apotransferrina.

2.4. Aceruloplasminèmia hereditària

És una malaltia rara autosòmica recessiva caracteritzada per anèmia, sobrecàrrega de ferro i una neurodegeneració progressiva. Aquesta malaltia és conseqüència de l'absència de ceruloplasmina, una ferroxidasa multicore que catalitza l'oxidació de l'ió ferro II a ferro III, un canvi necessari per a la unió del ferro a la transferrina plasmàtica (figura 2). La ceruloplasmina és important per a la mobilització de les reserves de ferro. Els pacients amb aceruloplasminèmia hereditària tenen dipòsits de ferro al fetge, al pàncrees, als ganglis basals i en altres òrgans. A més, desenvolupen diabetis *mellitus*, degeneració de la retina, atàxia i demència en edats avançades. Una característica constant d'aquests malalts és la presència d'una anèmia de grau lleu a moderat, amb ferro sèric baix i ferritina sèrica elevada. L'aceruloplasminèmia s'ha descrit principalment en pacients japonesos i és molt poc freqüent en persones caucàsiques.

L'estudi de totes les malalties esmentades, totes rares, té implicacions sobre els diagnòstics i la classificació. Alhora, aquests treballs també tenen aplicacions terapèutiques potencials per al tractament dels trastorns del ferro, tant de les sobrecàrregues de ferro per hemocromatosi primària com de les anèmies amb sobrecàrrega de ferro i de l'anèmia causada per una malaltia crònica. I

Referències bibliogràfiques

- BEKRI, S.; KISPAL, G.; LANGE, H.; FITZSIMONS, E.; TOLMIE, J.; LILL, R.; BISHOP, D. F. (2000). «Human ABC7 transporter: gene structure and mutation causing X-linked sideroblastic anemia with ataxia with disruption of cytosolic iron-sulfur protein maturation». *Blood*, núm. 96, p. 3256-3264.
- BEUTLER, E.; GELBART, T.; LEE, P.; TREVINO, R.; FERNANDEZ, M. A.; FAIRBANKS, V. F. (2000). «Molecular characterization of a case of atransferrinemia». *Blood*, núm. 96, p. 4071-4074.
- CAMASCHIELLA, C.; CAMPANELLA, A.; DEFALCO, L.; BOSCHETTO, L.; MERLINI, R.; SILVESTRI, L.; LEVI, S.; IOLASCON, A. (2007). «The human counterpart of zebrafish shiraz shows sideroblastic-like microcytic anemia and iron overload». *Blood*, núm. 110, p. 1353-1358.
- CAMASCHIELLA, C. (2008). «Recent advances in the understanding of inherited sideroblastic anaemia». *British Journal of Haematology*, núm. 143, p. 27-38.
- DOMENICO, I DE; MCVEY WARD, D.; KAPLAN, J. (2008). «Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders». *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, núm. 9, p. 27-38.
- FINBERG, K. E.; HEENEY, M. M.; CAMPAGNA, D. R.; AYDINOK, Y.; PEARSON, H. A.; HARTMAN, K. R.; MAYO, M. M.; SAMUEL, S. M.; STROUSE, J. J.; MARKIANOS, K. [et al.] (2008). «Mutations in *TMPRSS6* cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA)». *Nature Genetics*, núm. 40, p. 569-571.
- GUERNSEY, D. L.; JIANG, H.; CAMPAGNA, D. R.; EVANS, S. C.; FERGUSON, M.; KELLOGG, M. D.; LACHANCE, M.; MATSUOKA, M.; NIGHTINGALE, M.; RIDEOUT, A. (2009). «Mutations in mitochondrial carrier family gene *SLC25A38* cause nonsyndromic autosomal recessive congenital sideroblastic anemia». *Nature Genetics*, núm. 41, p. 651-653.
- XU, X.; PIN, S.; GATHINJI, M.; FUCHS, R.; HARRIS, Z. L. (2004). «Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis». *Ann N Y Acad Sci*, núm. 1012, p. 299-305.

Mayka Sánchez

(Tarragona, 1974)



Mayka Sánchez és doctora en biologia per la Universitat de Barcelona (2002). La seva tesi doctoral es va centrar en l'hemocromatosi hereditària, una malaltia genètica de sobrecàrrega de ferro. Ha passat més de set anys com a investigadora postdoctoral en tres centres internacionals de recerca a Heidelberg (Alemanya), entre els quals es troben el Laboratori Europeu de Biologia Molecular (EMBL) i la Unitat de l'Associació de Medicina Molecular (MMPU), de l'EMBL i la Universitat de Heidelberg. Els seus estudis postdoctorals es van centrar en l'estudi del sistema regulador de ferro IRP/IRE, cosa que li va permetre de descobrir nous mRNA relacionats amb el ferro que connecten el metabolisme d'aquest element amb altres vies metabòliques. Actualment és investigadora Ramón y Cajal i cap de grup a l'Institut de Medicina Predictiva i Personalitzada del Càncer (IMPPC), a Badalona.