

Iperferritinemia

Alberto Piperno

University of Milano-Bicocca
School of Medicine and Surgery
S.Gerardo Hospital – Monza
Centre for Rare Diseases



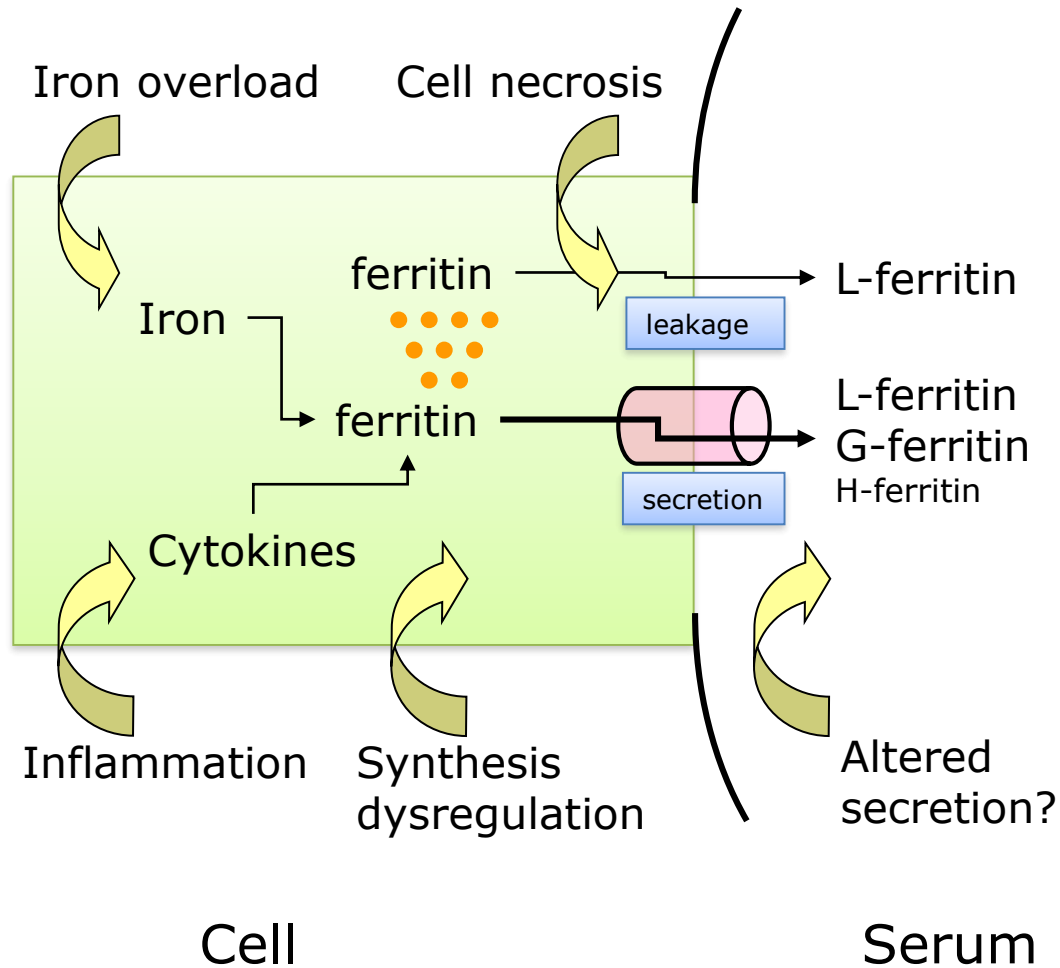
Ferritin is the main iron storage protein in tissues

Ferritin

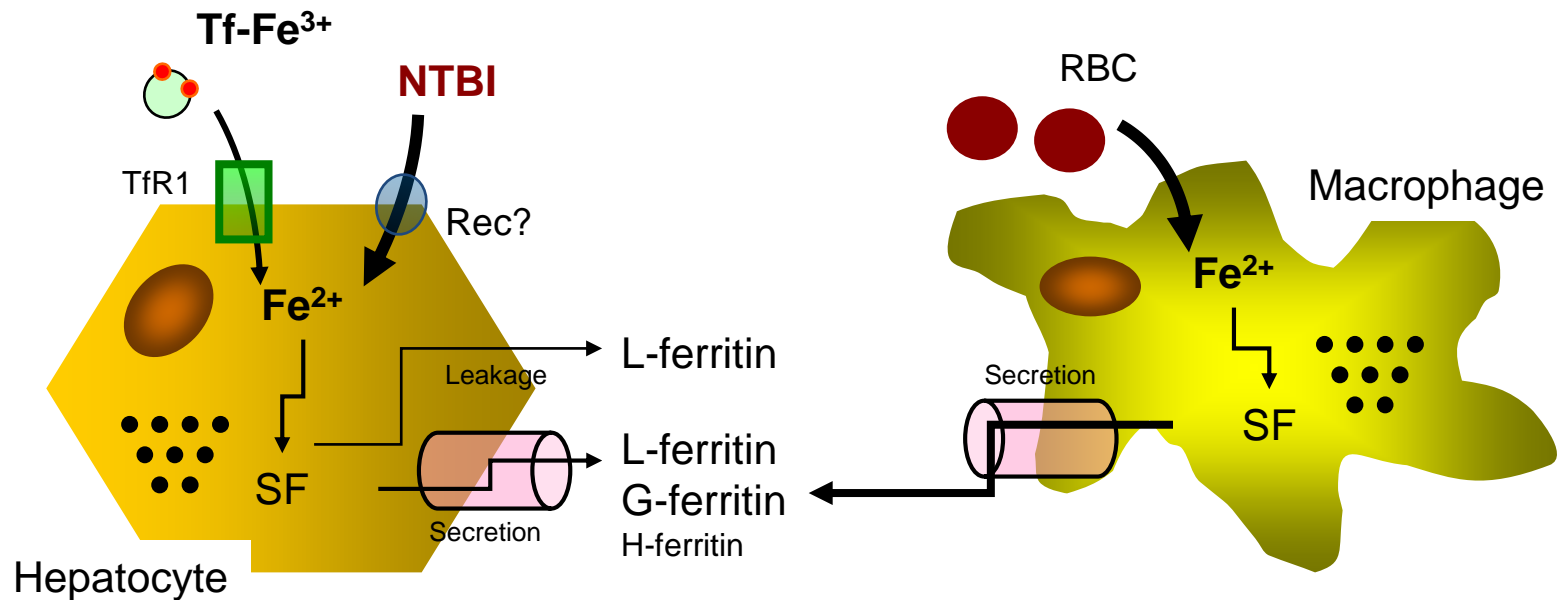


U.S. National Library of Medicine

Physiopathology of hyperferritinemia



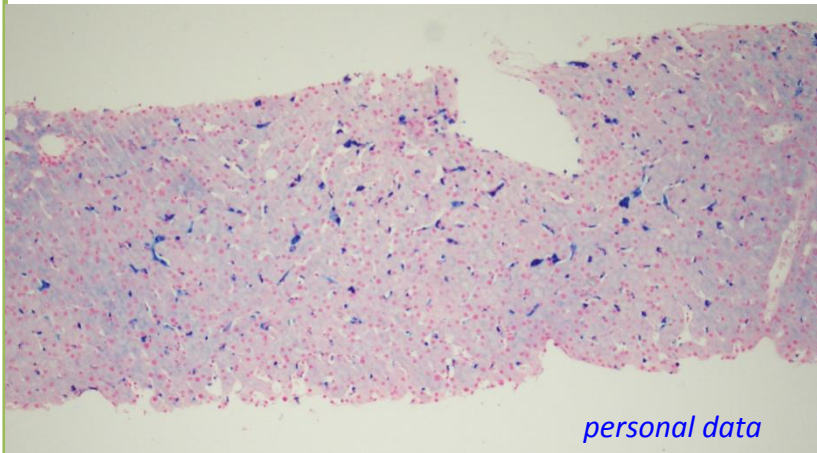
Serum ferritin mainly derives from hepatocytes and macrophages



Serum ferritin levels differ according to sites of IOL

Ferroportin disease type A

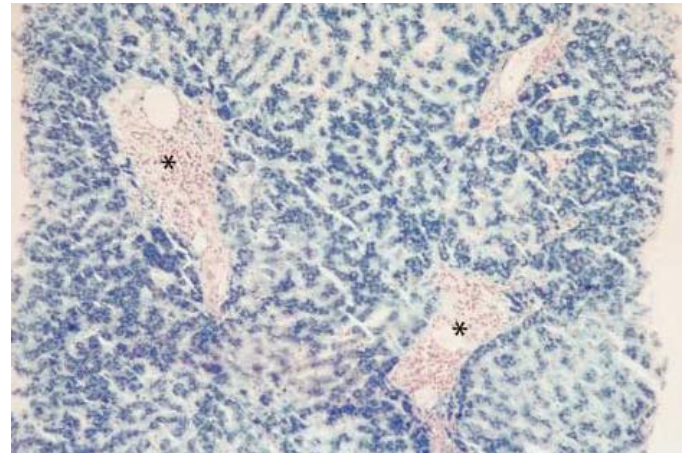
22-year-old woman
Tf saturation 24%; SF 3,200 $\mu\text{g/L}$;
LIC 3.9 mg Fe/g dry wt



Kupffer cell IOL

Ferroportin disease type B

30-year-old men
Tf saturation 88%; SF 5600 $\mu\text{g/L}$;
LIC 14.5 mg Fe/g dry wt



Hepatocellular IOL

Defining and monitoring the amount of iron overload

Biochemical indices

- Transferrin saturation
- NTBI
- Serum ferritin



Qualitative, not quantitative index



Correlates with body iron, but influenced by many factors

Non-invasive methods

- Quantitative MRI
- SQUID
- Magnetic Iron Detector



Reliable, can be applied to different organs



Reliable for liver; not easily available

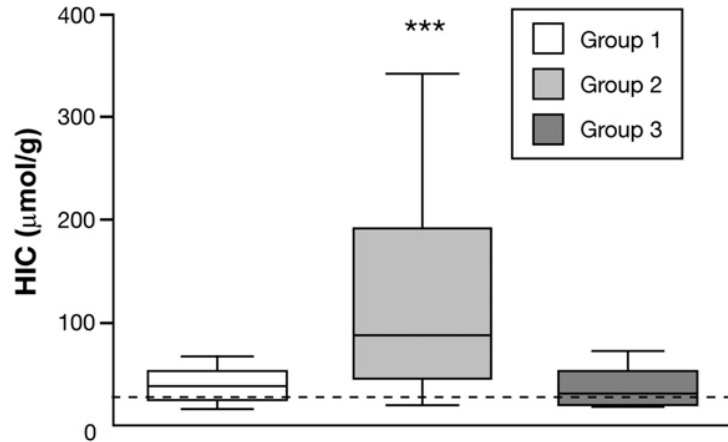


Liver biopsy



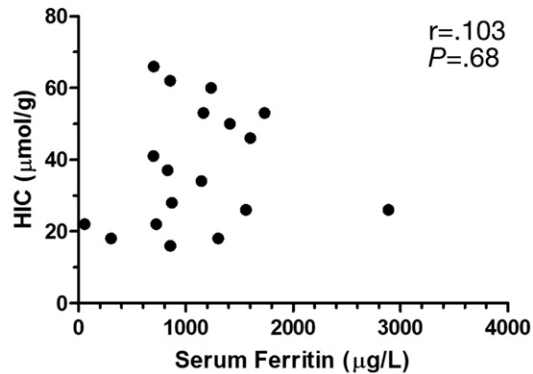
Gold standard for LIC; allows evaluation of iron distribution, liver damage and associated pathologies; invasive and not repeatable; can be replaced by non invasive methods (Fibroscan).

Ferritina e Sovraccarico di Ferro

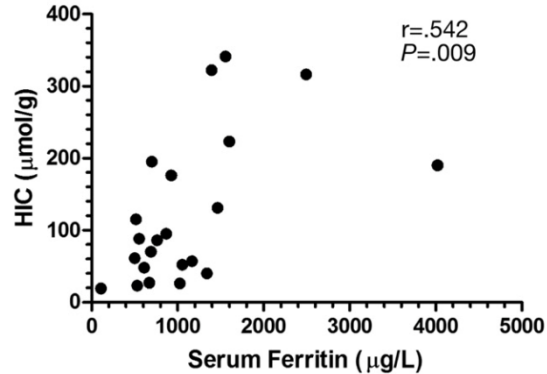


La ferritina sierica è un indicatore del sovraccarico di ferro, ma è soggetto a variabilità a seconda delle diverse condizioni cliniche

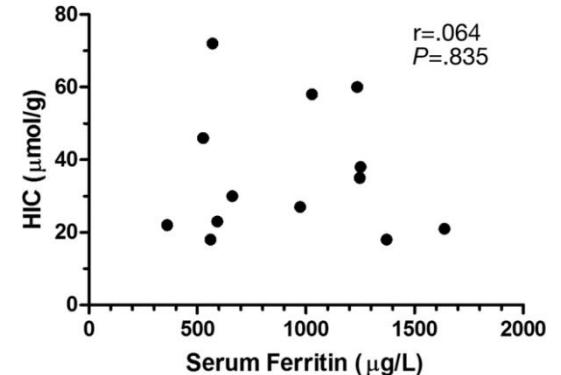
Ferritin versus HIC in hyperferritinemic subjects without HFE HH (Group 1)



Ferritin versus HIC in hyperferritinemic subjects with HFE HH (Group 2)



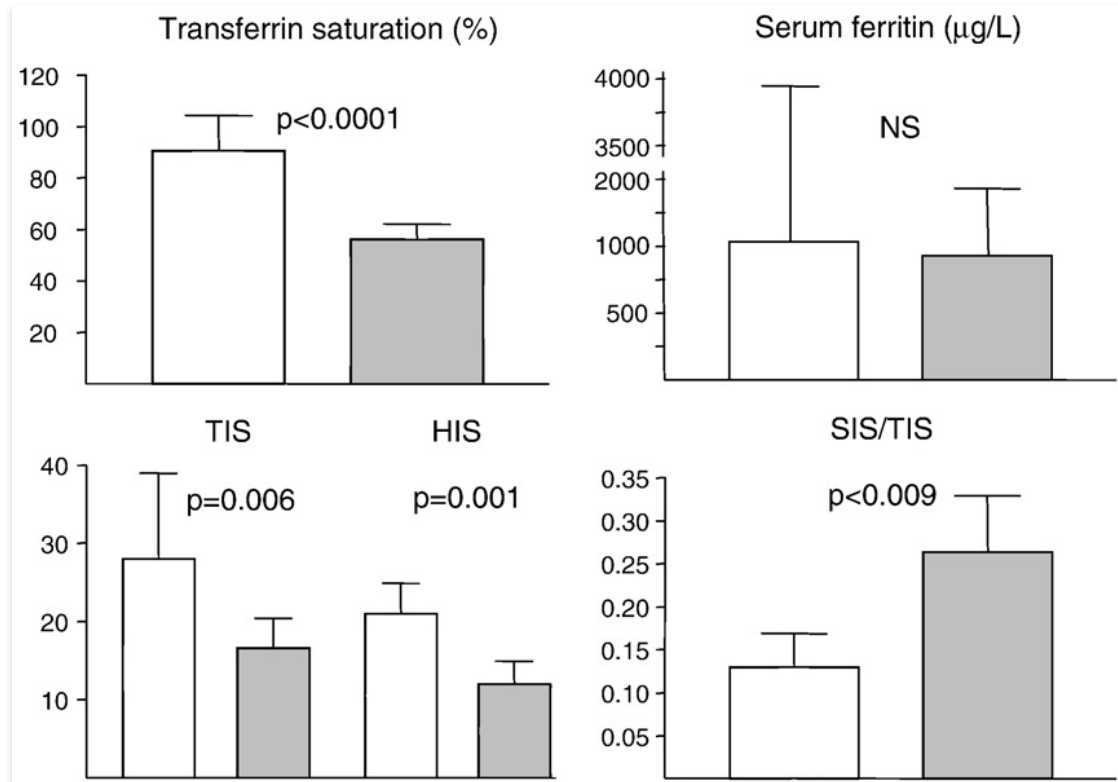
Ferritin versus HIC in subjects with isolated hyperferritinemia (Group 3)



Ferritina e Sovraccarico di Ferro

HFE-HH
p.[C282Y]+[other]

DIOS
p.[C282Y]+[=]



Come misurare il sovraccarico di ferro: ferritina sierica

Fig 1 *Relation between the serum ferritin levels and liver iron concentrations in 19 children included in the chelator trial ($r = 0.75$, $P < 0.001$).*

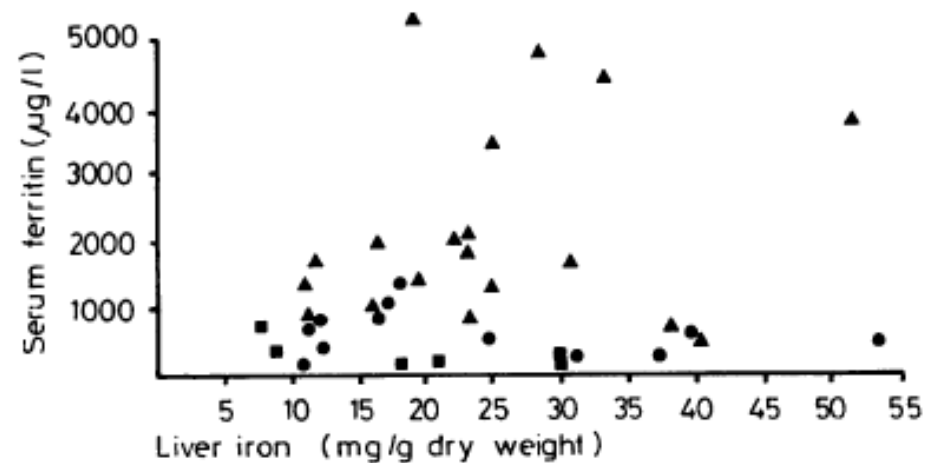
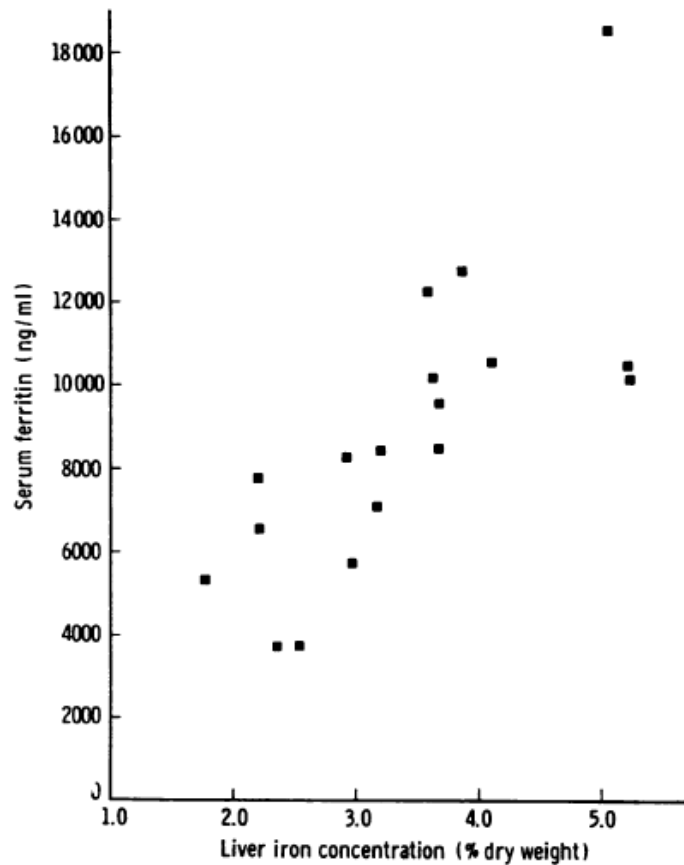


Fig. 3 *Serum ferritin levels and liver iron concentrations in regularly transfused thalassaemic children ($r=0.159$; NS). Siderosis (■), chronic persistent hepatitis (CPH) (●), chronic aggressive hepatitis (CAH) (▲).*

▶ Saturazione della transferrina

indice qualitativo e non quantitativo del sovraccarico di ferro

può suggerire il meccanismo patogenetico del sovraccarico

influenzata dalla necrosi epatocitaria, infiammazione e deficit di sintesi

▶ Ferritina sierica

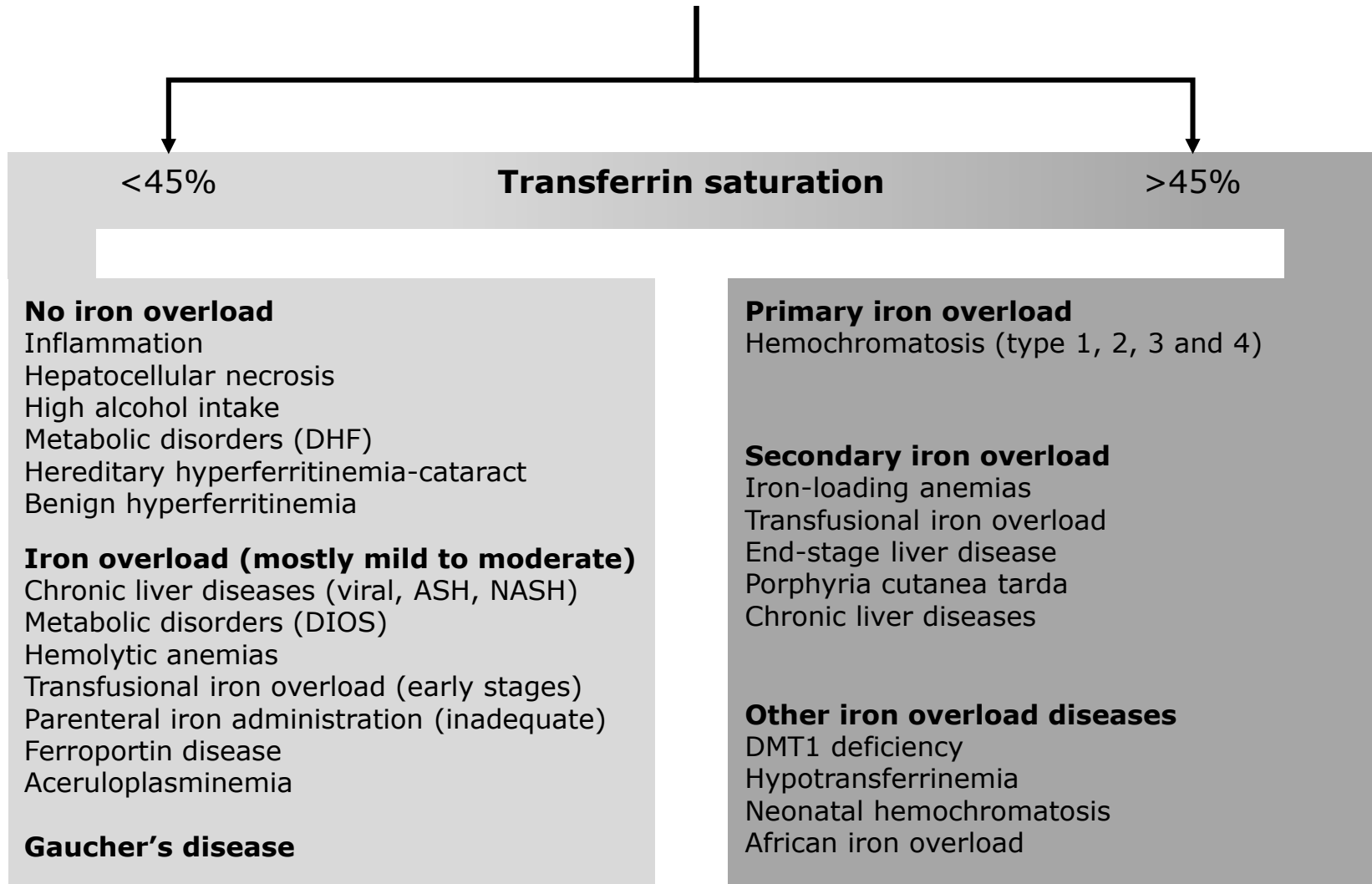
è correlata al ferro di deposito, ma:

è influenzata da svariati fattori che possono renderla poco affidabile

la relazione con il ferro di deposito varia a seconda delle diverse malattie da accumulo (parenchimale, reticoloendoteliale, misto)

più informativa nel follow-up del singolo soggetto che come dato singolo

Increased Serum Ferritin

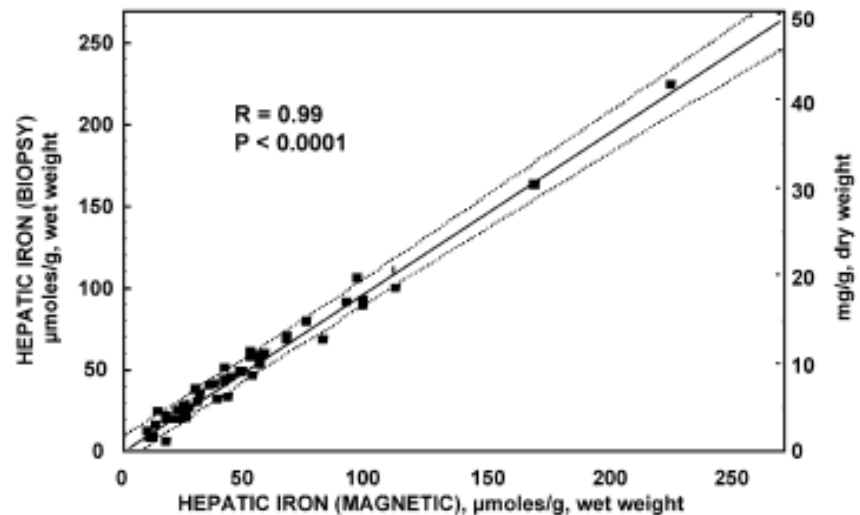


Come misurare il sovraccarico di ferro: oltre la ferritina

- SQUID

- Metodica calibrata, validata [comparandola con il LIC ottenuto da biopsie a fresco (wet-weight)] e utilizzata in studi clinici.
- La complessità, il costo e la ridotta disponibilità ne limitano l'uso

Recenti controversie relative alla possibile sottostima del LIC misurato con lo SQUID rispetto al LIC da biopsia costituiscono un'ulteriore criticità: “ .. on average, the LIC data obtained from BLS and biopsy were related by a factor of 0.46” and “overall, LIC from biopsy was generally larger than that obtained from BLS” [(Piga et al, Blood 2005 (abstract))]



Seth S. *Pediatr Radiol* 2003;33:373–377

Come misurare il sovraccarico di ferro: oltre la ferritina

- Risonanza Magnetica

- Si basa sull'effetto di accorciamento indotto dall'interazione di molecole contenenti ferro (in particolare ferritina e emosiderina) con i nuclei di idrogeno (prevalentemente nelle molecole di acqua) sul tempo di rilassamento T2.
- Il ferro depositato può essere quantificato misurando il rapporto dell'intensità del segnale rispetto ad un tessuto di riferimento (per es. il muscolo paraspinale). Questi rapporti (SIRs: signal intensity ratio) possono essere derivati da diverse sequenze: spin-echo (SE) T2-pesate o gradient recalled-echo (GRE) T2*-pesate.
- Il ferro può anche essere determinato con la misurazione diretta del tempo di rilassamento (relaxometry) sia T2 [o $1/T2$ (R2)] da sequenze SE o T2* [o $1/T2^*$ (R2*)] da sequenze GRE. E' anche possibile misurare entrambe (metodi ibridi).

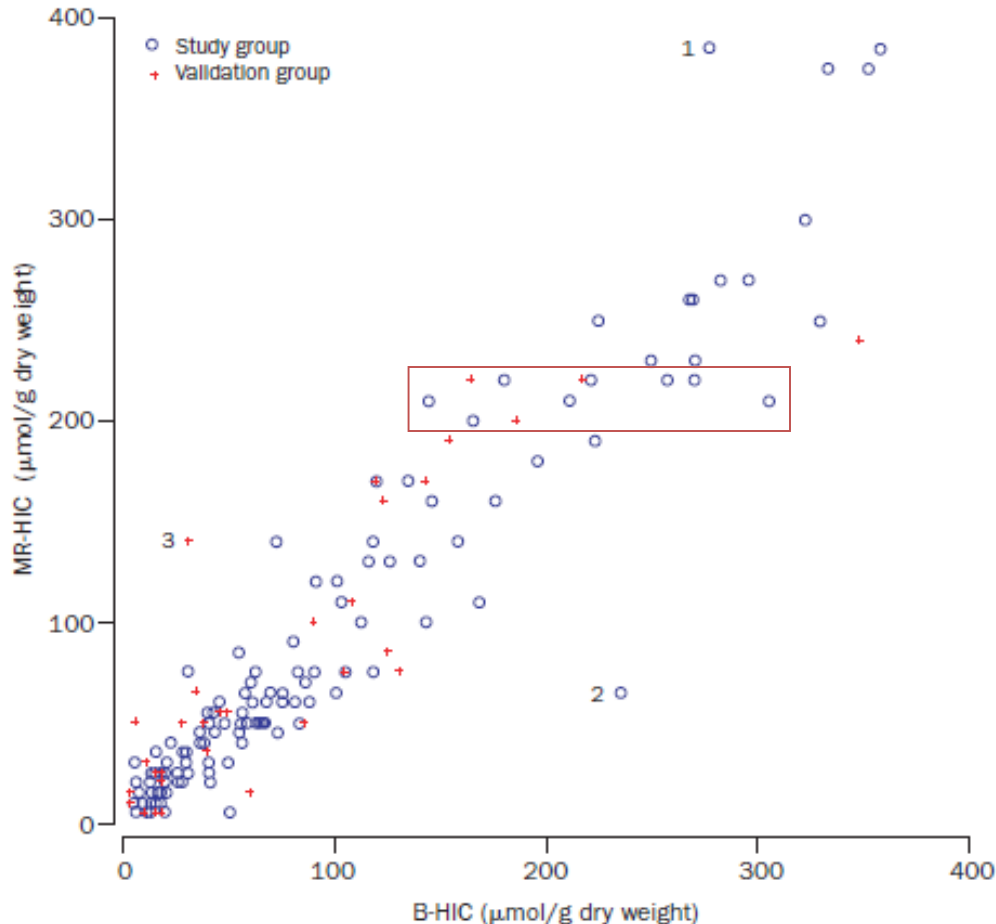
Tziomalos & Perifanis. WJG 2010; Wood et al. Blood 2005; St Pierre et al. Blood 2005

Come misurare il sovraccarico di ferro: oltre la ferritina

- Risonanza Magnetica
- La tecnica MRI può essere disponibile in numerose strutture, tuttavia richiede ancora speciali attenzioni e competenza da parte dell'operatore.
- Richiede una calibrazione sul LIC tissutale
- E' applicabile a diversi tessuti e non solo sul fegato [cuore in particolare, pancreas, encefalo].
- L'accuratezza delle varie metodiche [SIR derivate da sequenze SE o GRE, relaxometry methods] nella misurazione del ferro epatico è influenzata in diverso modo dalla presenza di fibrosi/cirrosi e dall'entità del sovraccarico di ferro, in alcuni casi dalla presenza di grasso (steatosi).

Come misurare il sovraccarico di ferro: oltre la ferritina

- Risonanza Magnetica: Fegato

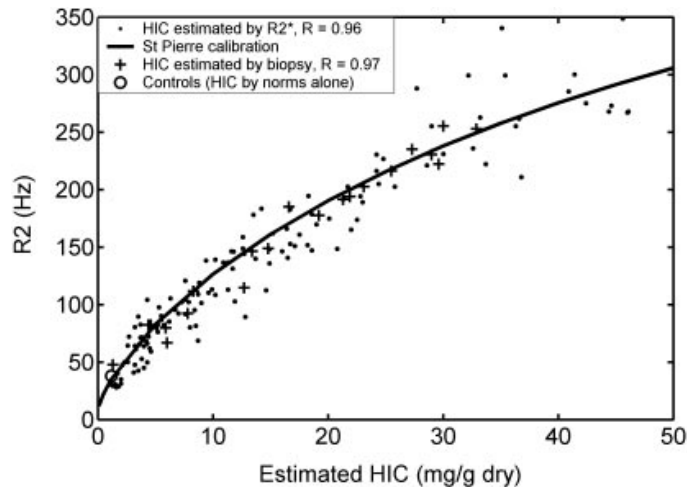
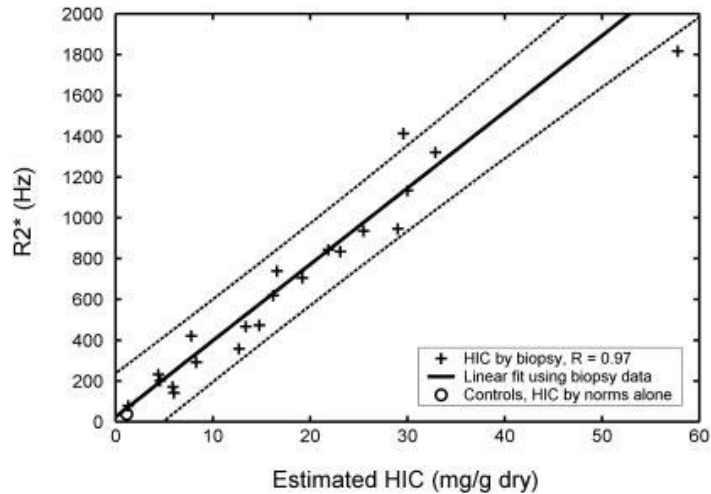


- ▶ MRI with GRE sequences (L/M ratio) on a 1.5 T magnet.
- ▶ Affidabilità da 60 $\mu\text{mol/g}$ a 375 $\mu\text{mol/g}$.
- ▶ Non apparente influenza della fibrosi e della steatosi (solo 6 casi con steatosi > 30%), ma gli outlier avevano la cirrosi.
- ▶ La dispersione aumenta con l' aumentare del LIC.

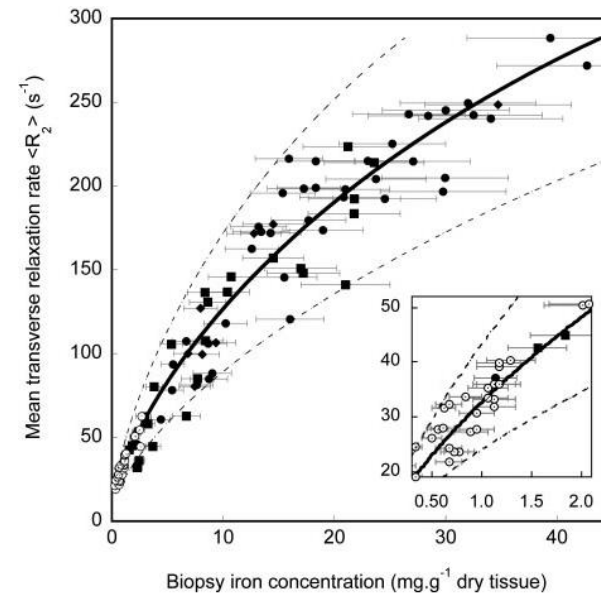
Gandon et al. Lancet 2004

Come misurare il sovraccarico di ferro: oltre la ferritina

- Risonanza Magnetica: Fegato



R2 o R2* sembra la metodologia più accurata nel sovraccarico di ferro severo. E' probabile che il coefficiente di variazione di R2 sia misura della variabilità della concentrazione del ferro nel fegato.



Monitoring iron overload

Quantitative MRI: Liver

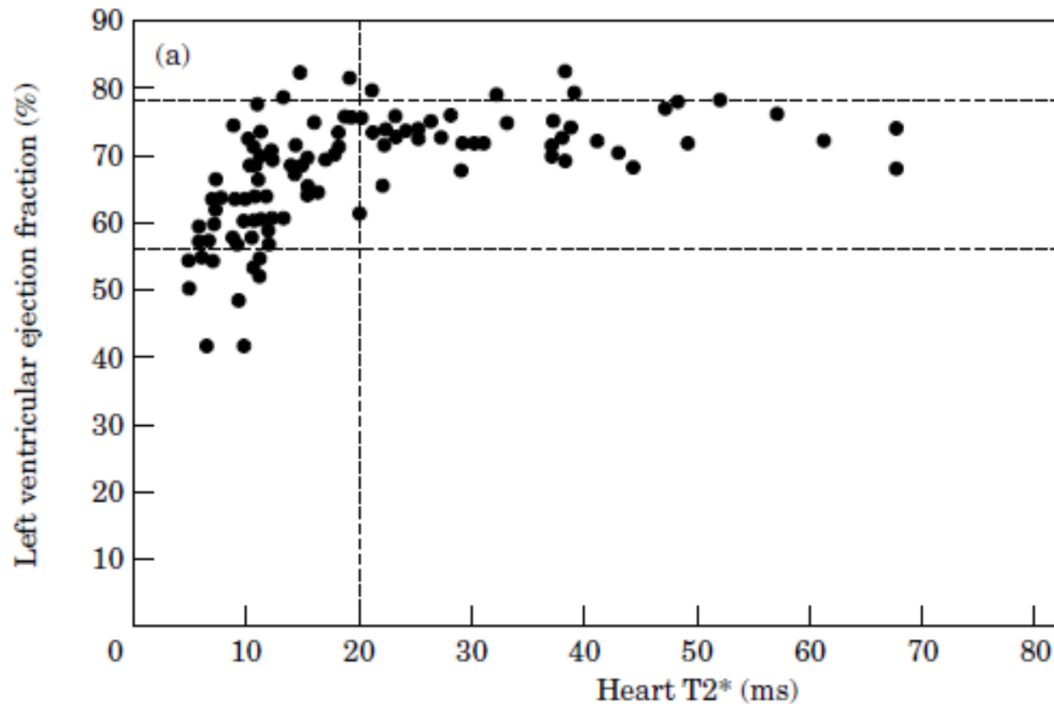
Table 2. Hepatic iron concentration

Patient by concentration category	Biopsy	R2*	R2	R2'	R2-R2*
Low					
17	1.3	2.2	2.0	1.0	2.1
Optimal 3.2 mg/g					
11	4.4	6.1	3.5	5.5	5.5
6	4.6	5.3	4.7	4.1	5.1
10	5.9	4.5	4.9	3.1	4.6
9	6.0	3.8	3.5	6.4	3.6
Increased 7.0 mg/g					
20*	7.8	10.9	5.9	11.2	8.4
13	8.3	7.6	8.1	7.6	7.9
19	12.7	9.3	8.4	8.5	8.9
1	13.4	12.1	12.7	11.2	12.4
15	14.8	12.2	13.0	10.5	12.6
High 15 mg/g					
12	16.6	19.0	18.9	19.1	19.0
21	19.2	18.1	17.6	17.8	17.9
2b	21.3	20.4	20.2	20.7	22.7
7	21.9	21.6	20.6	21.8	21.1
4	23.1	21.4	22.2	21.1	21.8
2a	25.5	24.0	25.0	24.0	24.5
16b	27.3	32.5	29.4	35.8	31.0
18	29.0	24.2	28.1	23.4	26.2
16a	29.6	36.1	26.3	36.0	31.2
3	30.0	29.0	34.2	28.8	31.6
5	32.9	33.8	33.5	34.9	33.7
8	57.8	46.0	38.2	50.3	42.3
14	16.2	15.9	—	—	—

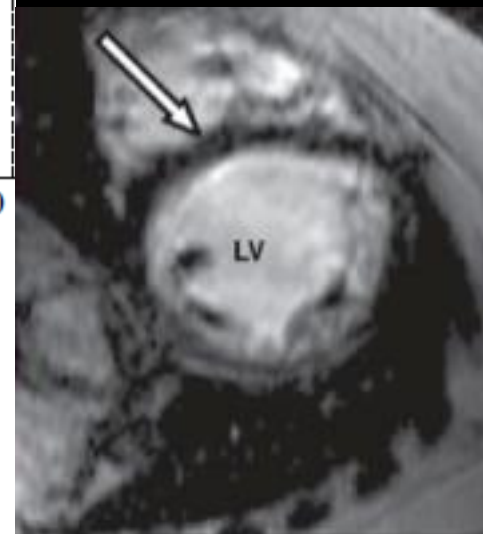
- Highly accurate for noninvasive estimates of hepatic iron over the entire clinically relevant range.
- It allows correct classifications of IOL in different class of risk.
- For this reason, liver biopsy for the sole purpose of iron determination is not required when MRI is available.
- Biopsy is still indicated when histology is important for patient management.

Define the amount of iron overload

Quantitative MRI: Heart



Cardiac T2* value of 6.9 ms in a severe iron overloaded heart

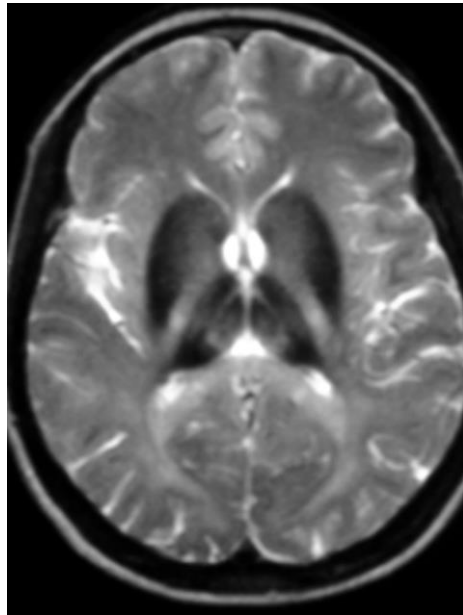


- ▶ Myocardial T2* values <20 ms are associated with significant decline in LVEF

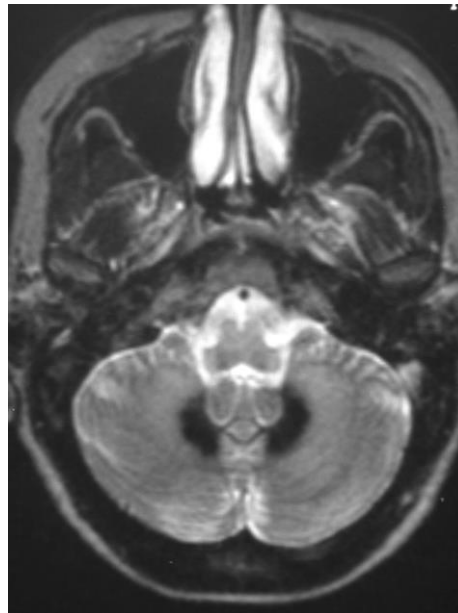
Define and monitoring iron overload

Quantitative MRI: Brain

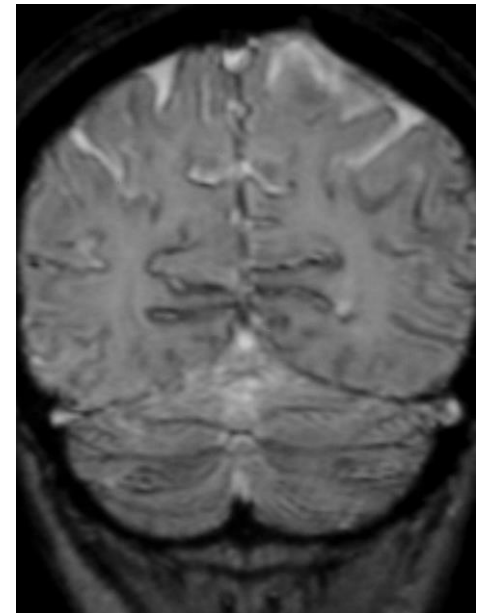
- ▶ Diagnosis and monitoring of brain iron accumulation in systemic (aceruloplasminemia) and focal hereditary or acquired IOL



Thalamus and Putamen



Dentate nuclei



Cerebral cortex

Iperferritinemia: Casi clinici

M, 66 aa, ferritina 707 $\mu\text{g/L}$

TS sat 35%, indici ematologici ndp; ALT 64 U/L

obeso (BMI: 32.7), intolleranza glucidica, dislipidemia, steatosi ecografica
[Analisi HFE: wild type]

Biopsia epatica: steatosi 50% epatociti; depositi di ferro parenchimali e sinusoidali 40% epatociti; ferro rimosso: 4 g

Diagnosi: Dysmetabolic Hepatic Iron Overload Syndrome (DHIOS)

M, 21 aa, ferritina 1138 $\mu\text{g/L}$

TS sat 40%

Familiarità per cataratta precoce

Cataratta bilaterale

Analisi genetica regione IRE gene L-ferritina: mutazione puntiforme nella regione CAGUG

Diagnosi: Sindrome Iperferritinemia e Cataratta Ereditaria (HHCS)

Casi clinici

F, 65 aa, ferritina 850 $\mu\text{g/L}$

TS sat 16 %, Hb 10.2 g/dl, MCV 76 fl, PCR e VES normali

Recenti disturbi dell'equilibrio

Ceruloplasmina non dosabile

RM fegato: HIC 200 $\mu\text{mol/g}$; RM encefalo: depositi di ferro nei nuclei della base e corteccia cerebrale

Diagnosi: aceruloplasminemia

M, 45 aa, ferritina 1298 $\mu\text{g/L}$

TS sat 43%

GOT: 218 U/L, GPT 276 U/L, GGT 48 U/L

HCVAb e HCV RNA pos; Biopsia epatica: infiltrato infiammatorio portale linfocitario, epatite da interfaccia, necrosi epatocitaria, fibrosi 3, modesti accumuli di ferro epatocitari e kuppferiani.

Diagnosi: Epatite C con sovraccarico di ferro lieve secondario

M, 61 aa, ferritina 2138 $\mu\text{g/L}$

TS sat 35%, Hb 12.6 g/dl; MCV 106 fl

GOT: 97 U/L, GPT 52 U/L, GGT 578 U/L, epatomegalia

Introito alcolico: 100 g/die, RM fegato: HIC 65 $\mu\text{mol/g}$

Diagnosi: Iperferritinemia da abuso alcolico


M.R.B donna, 48 anni -

Ipertensione arteriosa in terapia con ACE-i + b-bloccante. Prurito essenziale. Potus: no. Peso 68 kg h.158 cm, BMI 27.3 kg/m².

[45 anni; 1996]. Ecografia addome: fegato e milza ndp; piccolo calcolo 15 mm, mobile. Ricovero per colecistectomia (Chirurgia HSG). Esami ematochimici: AST 41->23 U/L, ALT 42->20 U/L, γ GT 146->34 U/L, Hb 10.9->12.1 g/dL, MCV 89 fL, Leuc 6000/ μ L, PLTs 145000/ μ L, VES 15->13, PCR neg, AP 79%, Alb. 4.1 g/dL, γ -Glob 1.76 g/dL, glicemia 106->104 mg/dL. Restanti esami nella norma.

Ferritina 1079->1395 μ g/L, sideremia 57->80 μ g/dL, saturazione della transferrina 17->26%.

[46 aa]: esegue 3 salassi in un mese



Hb 11.6 g/dL, Leucociti 3700->5080/ μ L, PLTs 135000->138000/ μ L, ferritina 893->715 μ g/L, sideremia 74 μ g/dL, saturazione della transferrina 24%. Restanti esami normali, invariati.

[47 anni]. Ricovero c/o ginecologia H. Vimercate per asportazione cisti ovarica (istologico neg per npl). Esami non disponibili.

[47 anni]. Ricovero HSR per rivalutazione clinica in merito a iperferritinemia. Ferritina 928 μ g/L, sideremia 128 μ g/dL; Hb 12.3 g/dL, MCV 92 fL, Leuc 4200/ μ L, PLTs 109000/ μ L. Analisi gene HFE: p.C282Y e p.H63D wild-type. Ecografia addome: fegato, milza, .. ndp. Restanti esami non disponibili.

Diagnosi alla dimissione:

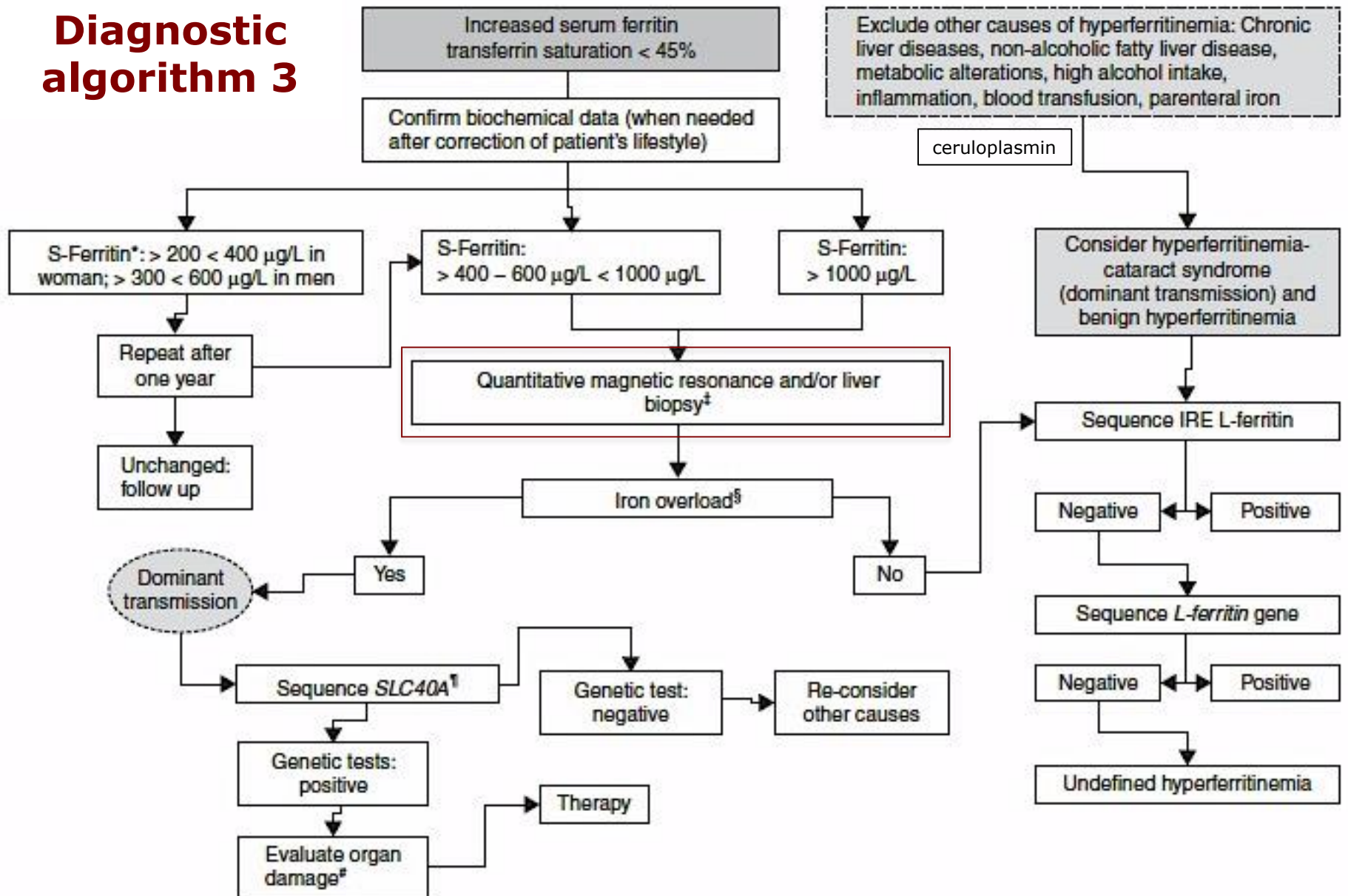
“.. si ritiene probabile la diagnosi di emocromatosi genetica, verosimilmente attribuibile a mutazione genica in altro locus..” (*emocromatosi non-HFE, ndr*).

**Giunge all'osservazione presso ambulatorio
metabolismo del ferro HSG**

[48 anni]. Ferritina 858 $\mu\text{g/L}$, sideremia 107 $\mu\text{g/dL}$, TS 33% Hb 11.3 g/dL, MCV 92 fL, Leuc 6400/ μL , PLTs 141000/ μL . VES 12, PCR neg, γ -Glob 1.76 g/dL mm, glicemia 116 mg/dL, peptide C 1.8->4; restanti esami nella norma. Ecografia addome: fegato a fitti echi stipati, milza nei limiti, .. ndp. Peso 68 kg, h 158 cm (BMI 27.3).

Hyperferritinemia and normal TS

Diagnostic algorithm 3



Biopsia epatica:

“quadro compatibile con malattia da accumulo di materiale PAS positivo diastasi resistente (probabile morbo di Gaucher). Modesti e sporadici accumuli di emosiderina nelle presunte cellule di Gaucher e nelle cellule di Kupffer”.

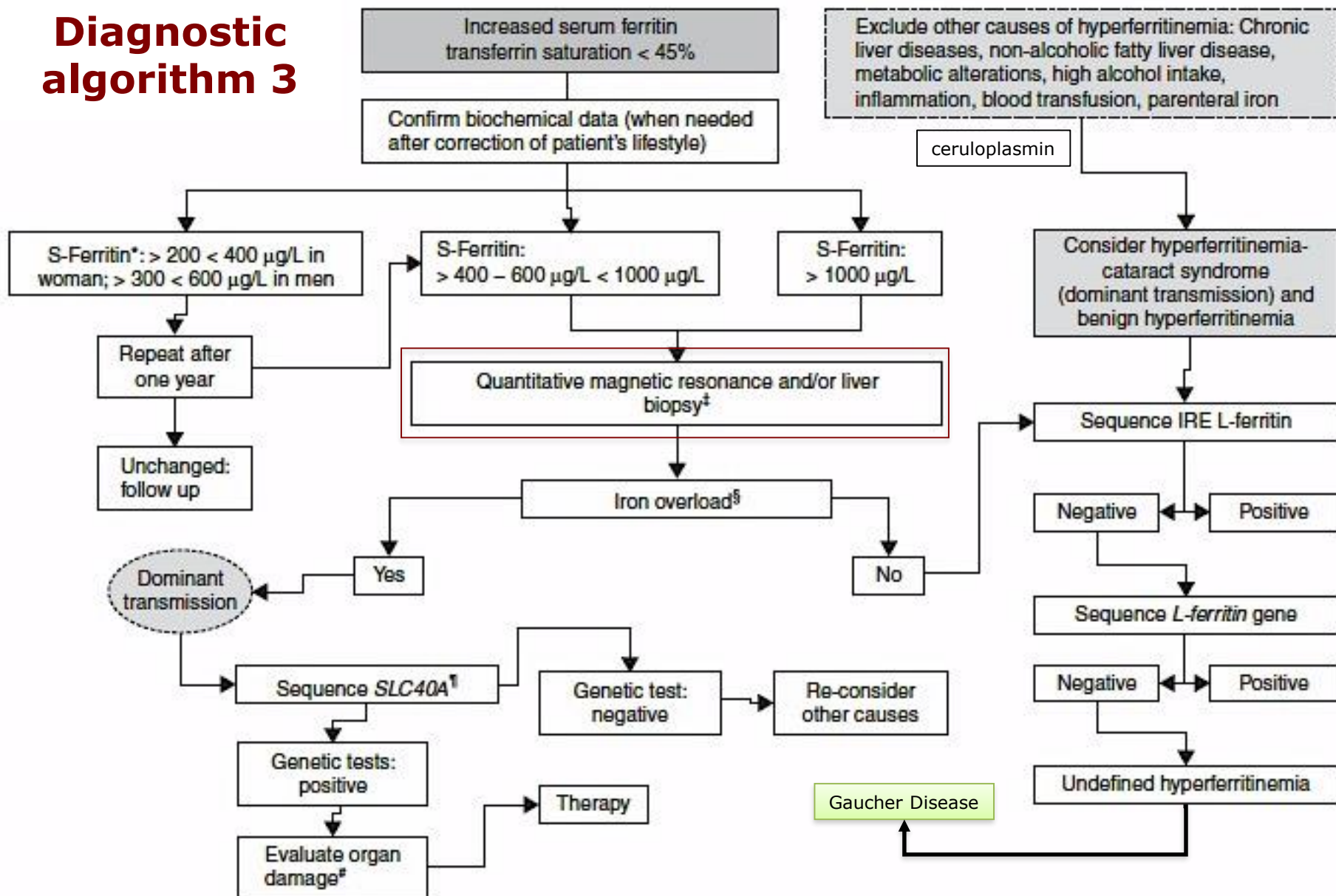
Analisi biochimica c/o H Gaslini:

β -glucosidasi leucociti: 1.1 nmoli/mg/h (vn 18.4 ± 6.8).
Chitotriosidasi plasma: assente

Malattia di Gaucher tipo 1 non neurologico. La signora è portatrice di una variante genetica della chitotriosidasi responsabile di un'attività plasmatica assente. Si consiglia monitoraggio indici ematici, epatici e sintomatologia a carico dell'osso. Utile calo ponderale.

Hyperferritinemia and normal TS

Diagnostic algorithm 3



V.R. 41 anni, ♂-

32 aa primo riscontro di lieve ipertransaminasemia confermata poi negli anni successivi con alti e bassi. Allora pesava fino a 98 kg per 177 cm; vino: uso saltuario.

[35-40 anni] 2007-2012. Esami ematochimici: ALT (min 42 – max 105 U/L), γ GT (32-72 U/L), Hb 15-16 g/dl, MCV 90-92 fl, VES 7-5, ferritina 562 fino a max 843 μ g/L, saturazione della transferrina 39-51%. Glicemia, colesterolo, trigliceridi nella norma. Ecografia fegato: steatosi moderata nel 2004. Analisi gene HFE: eterozigosi p.H63D.


**Giunge all'osservazione presso ambulatorio
metabolismo del ferro HSG**

2012: TS 42 %, ferritina 642 µg/L; Hb 15.8 g/dL, Leucociti 3920/µL, PLTs 186000 µL; AST 32 e ALT 64 U/L, lieve ipercolesterolemia, glicemia e trigliceridi nella norma. Sovrappeso 94 kg per 177 cm (BMI 30 kg/m²). Ecografia: fegato iperecogeno con attenuazione fascio in profondità come per steatosi epatica.

Conclusione: iperferritinemia associata agli stati dismetabolici. Esclusa diagnosi di emocromatosi. Possibile steato-epatite non alcolica. Consigliata dieta adeguata e attività fisica.

44 aa (2016): si ripresenta all'osservazione per iperferritinemia. Dal 2013 ha proseguito le indicazioni dietetiche e attività fisica. Peso attuale 78 kg x 178 cm (stabile da 6 mesi).

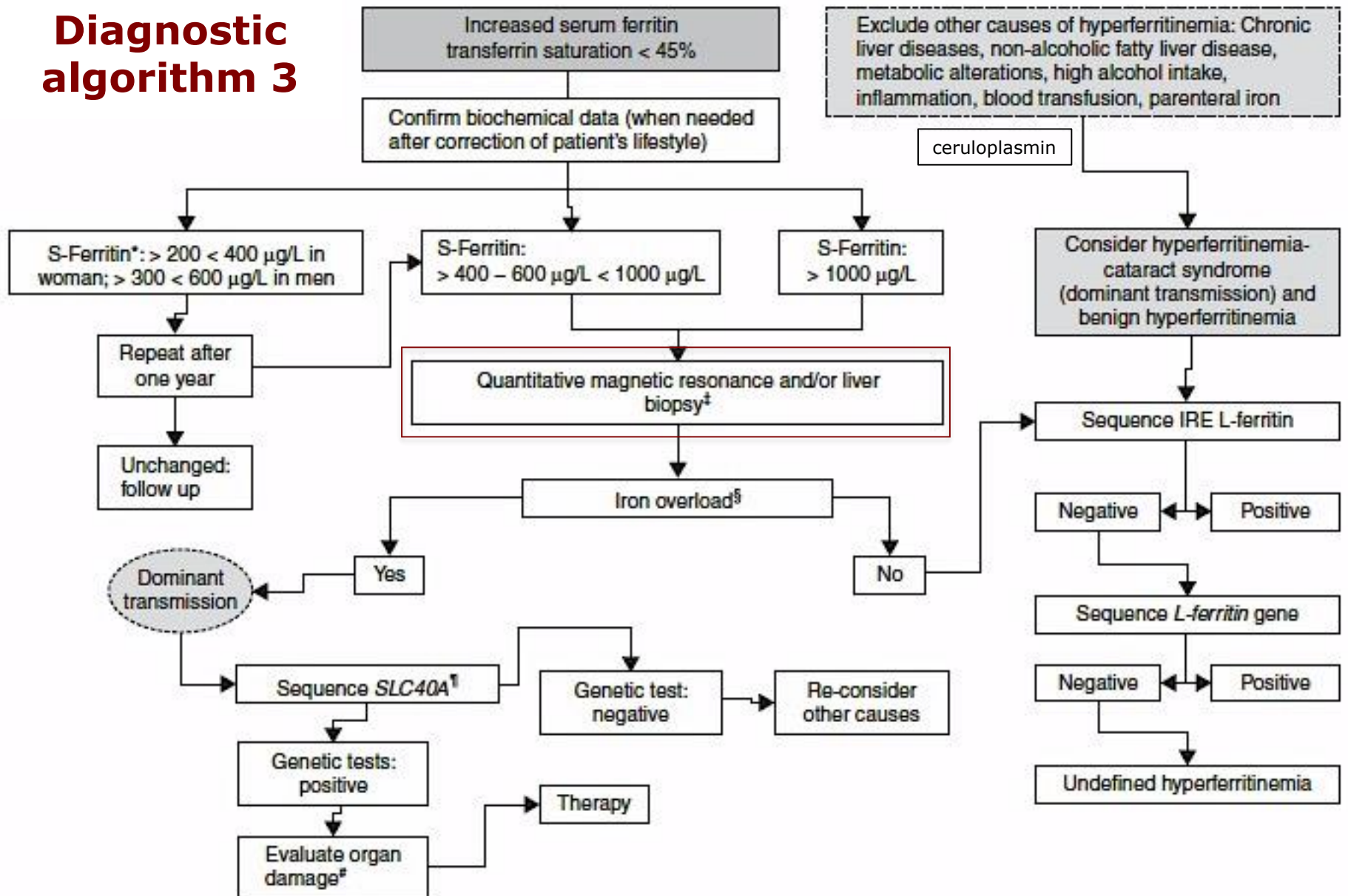
Esami: Hb 14.6 g/dL, Leuc 3330-3000/ μ L, PLTs 160000-141000/ μ L, ferritina 606-745 μ g/L, TS 30-44%, AST 20-19, ALT 23-22, GGT 16-18 U/L; restanti esami nella norma. Ecografia (2015): non più steatosi.



45 aa. Studio familiare: no iperferritinemia genitori e fratelli/sorelle. Ecografia addome: normalità, in particolare non splenomegalia, né steatosi

Hyperferritinemia and normal TS

Diagnostic algorithm 3



45 aa.

RM quantitativa ferro epatico: lieve sovraccarico di ferro - LIC 3.2 mg/g (v.n. <1.8 mg/g)

Conclusione: Presumibile Dysmetabolic Iron Overload Syndrome.

Indicazioni terapeutiche: mantenere attenzioni dietetiche; blanda salassoterapia.

Simultaneous liver iron and fat measures by MRI in patients with hyperferritinemia

Table I. Characteristics of the 67 patients with hyperferritinemia who underwent MRI and liver biopsy.

Parameter	Results ^a
Age at liver biopsy (years)	50.5 (45.2–60)
Males	59 (88)
Fibrosis (grade)	
0–1	4 (6)
2–4	50 (75)
5–6	13 (19)
Hepatic iron	
Total iron score	15 (12–25)
Liver iron concentration ^b (μmol/g)	44.6 (26.4–81.6)
Hepatic fat	
Grading of fatty hepatocytes (%)	70.0 (25.0–90.0)
Area of steatosis (%)	9.5 (3.2–17.1)

^aResults are reported as *n* (%) or median (I–III quartile).

^bLIC_{biopsy} was missing in 11 subjects.

Abbreviation: LIC = Liver iron concentration.

Methods

Magnetic resonance examinations were performed on a 1.5T whole-body scanner (Achieva 1.5T SE; Philips Medical Systems, Best, the Netherlands) close to liver biopsy (median = -20 days from biopsy). No therapies were started during this period. A 20 echo Gradient-

Echo sequence was employed and was performed in breath-hold, resulting in a total acquisition time of around 20s. Images were analyzed using Image J (National Institute of Health, USA) and Datafit 7.1 (Oakdale, CA, USA) software.

The relaxation rate $R2^* = 1/T2^*$, that is directly proportional to iron amount, was used for LIC. Fat fraction (FF), that is, the percentage of S_f on the total signal, was used for expressing the hepatic lipid content: $FF = 100[S_f/(S_w+S_f)]$.

Agreement between observed and predicted values of hepatic iron and fat by MRI

LIC _{biopsy}	LIC _{MRI}				Total
	Absent	Mild	Moderate	Severe	
Absent	14	3	0	0	17
Mild	2	26	0	0	28
Moderate	0	1	3	1	5
Severe	0	0	1	5	6
Total	16	30	4	6	56 ^a

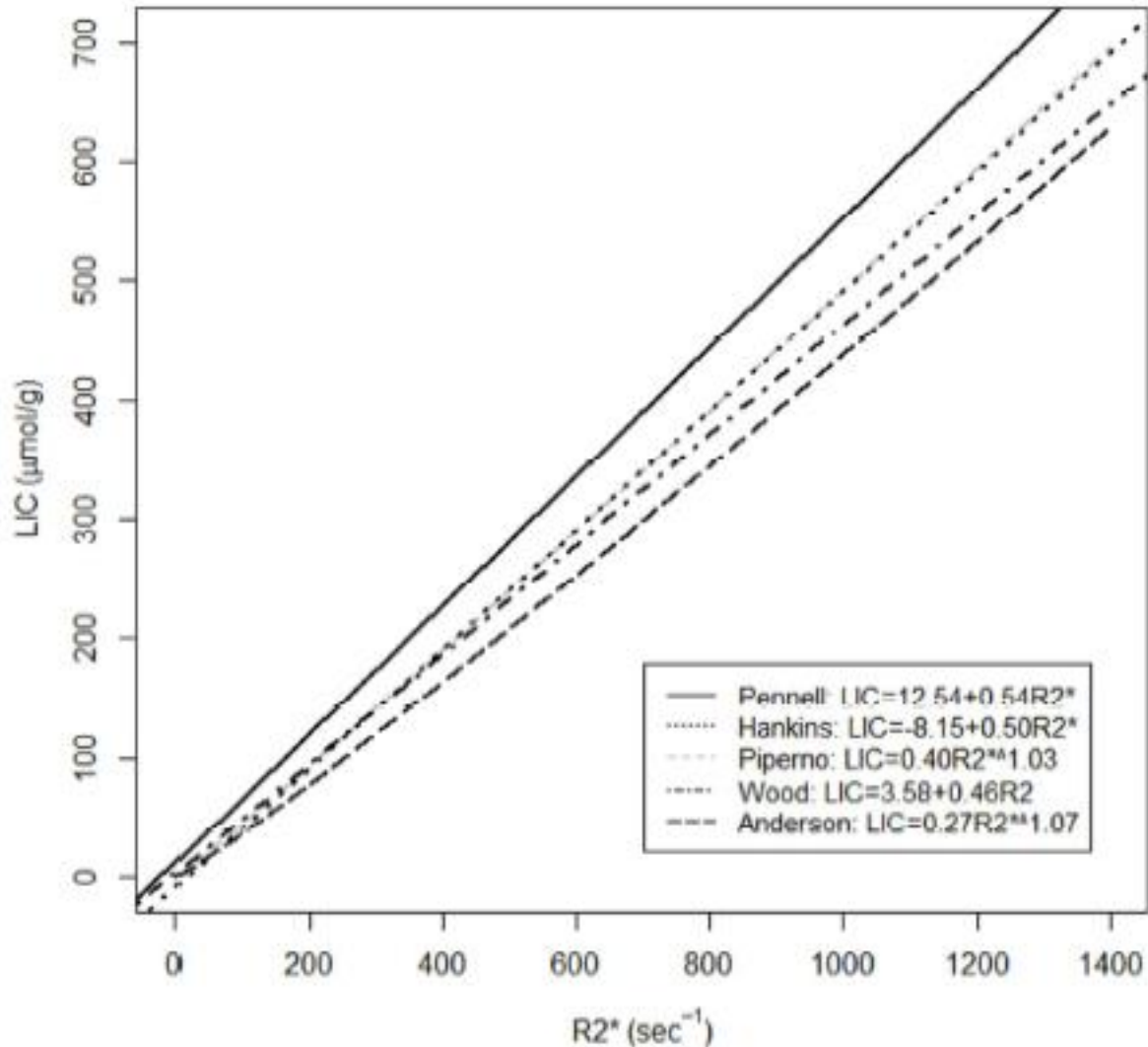
AOS _{biopsy}	AOS _{MRI}				Total
	Absent	Mild	Moderate	Severe	
Absent	4	1	0	0	5
Mild	1	9	1	0	11
Moderate	0	0	17	3	20
Severe	0	0	3	17	20
Total	5	8	22	21	56 ^b

Table III. Hepatic iron and fat values obtained by biopsy and predicted by MRI in the validation sample. Classes of severity of steatosis and iron overload are also reported.

ID	FF (%)	AOS _{biopsy} (%)		AOS _{MRI} (%)		R2* (sec ⁻¹)	LIC _{biopsy} (μmol/g)		LIC _{MRI} (μmol/g)		LIC _{MRI-AOS} (μmol/g)	
7	-	0.11	A	<2	A	369.46	118.0	Mo	175.81	Mo	193.15	Mo
3	3.53	0.18	A	0.78	A	161.39	87.6	M	74.91	M	93.97	M
6	-	1.20	A	<2	A	611.59	93.3	M	295.46	S	299.46	S
5	-	1.73	A	<2	A	761.32	256.4	S	370.22	S	362.31	S
8	6.32	3.06	M	3.28	M	68.25	27.4	A	30.87	M	44.44	M
1	11.07	6.22	Mo	7.56	Mo	143.36	66.9	M	66.31	M	65.36	M
10	20.98	13.93	Mo	16.48	S	101.17	36.9	M	46.31	M	31.71	M
9	25.26	21.34	S	20.33	S	65.74	15.9	A	29.70	A	21.79	A
2	21.90	22.49	S	17.31	S	48.36	22.2	A	21.65	A	16.69	A
4	24.36	34.53	S	19.52	S	65.62	27.8	A	29.65	A	21.76	A

Abbreviations: A = Absent; AOS = Area of steatosis; FF = Fat fraction; LIC = Liver iron concentration; M = Mild; Mo = Moderate; S = Severe.

Calibration equations for the prediction of LIC based on R2* proposed by different Authors.



Università degli Studi di Milano-Bicocca ASST-Monza H. S.Gerardo

Centro Malattie Rare

Disordini del Metabolismo del Ferro, Anemie ereditarie,
Malattie Metaboliche ereditarie

