



Prevalenza e patogenesi dell'anemia nella malattia infiammatoria intestinale

Davide Grataroli, Filippo Costanzo, Gaetano Bergamaschi, Antonio Di Sabatino,
Alessandro Massari, Gino Roberto Corazza

Clinica Medica I, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia

Prevalenza e patogenesi dell'anemia nella malattia infiammatoria intestinale

L'anemia è una frequente complicanza della malattia infiammatoria intestinale (IBD), ma la sua epidemiologia sta cambiando per la maggiore precocità delle diagnosi e la maggiore efficacia delle terapie. Abbiamo studiato la prevalenza e la patogenesi dell'anemia in 263 pazienti ambulatoriali con malattia infiammatoria intestinale (165 con malattia di Crohn, 98 con colite ulcerosa). Prevalenza e patogenesi dell'anemia sono state valutate in rapporto al tempo dalla diagnosi, all'attività di malattia, alla presenza di infiammazione e allo stato del ferro, della vitamina B12 e dell'acido folico. In totale, 104 dei 263 pazienti con malattia infiammatoria intestinale sono risultati anemici. Età, sesso e trattamento con azatioprina non influenzano la prevalenza dell'anemia. Questa è risultata più elevata alla diagnosi (quando è presente nel 65% dei pazienti), si riduce durante i primi 4 anni dalla diagnosi, dopo di che rimane invariata. Il grado di attività della malattia si correla a gravità e prevalenza di anemia. Alla diagnosi la maggior parte dei pazienti anemici è affetta da anemia da malattia cronica; durante il *follow-up* hanno un ruolo maggiore la carenza di ferro e le anemie a patogenesi multifattoriale.

Prevalence and pathogenesis of anemia in inflammatory bowel disease

Anemia is a common complication of inflammatory bowel disease, but its epidemiology may be changing due to earlier diagnosis and improved treatments. We investigated the prevalence and pathogenesis of anemia in 263 out-patients with inflammatory bowel disease (165 with Crohn's disease, 98 with ulcerative colitis). The influence of time from diagnosis, disease activity, inflammation and the status of iron and hematinic vitamins on the level of hemoglobin and prevalence of anemia were evaluated. In all, 104 of the 263 patients with inflammatory bowel disease were anemic. Age, gender and azathioprine treatment had no influence on anemia. The prevalence of anemia was highest at diagnosis (65%), decreased during the first 4 years after disease onset, and was stable thereafter. Active disease was associated with higher rates and more severe forms of anemia. At diagnosis most anemic patients had anemia of chronic disease; during follow-up, however, iron deficiency and multifactorial forms of anemia became more prevalent.

Introduzione

L'anemia è una manifestazione extraintestinale delle malattie infiammatorie intestinali (*Inflammatory Bowel Disease*, IBD), che condiziona negativamente la qualità di vita ed il peso sociale della malattia. Gli eritrociti, prodotti nel midollo osseo, circolano in tutto l'organismo impegnati nello scambio dei gas, nel trasporto dell'ossigeno e nella rimozione dell'anidride carbonica. L'eritropoiesi mantiene sotto controllo i livelli degli eritrociti in modo tale da garantire un adeguato apporto di ossigeno ai tessuti. Questo processo è controllato da un sistema che, in risposta all'ipossia tissutale, induce la produzione di eritropoietina (Epo), ormone di origine renale, che costituisce il principale regolatore dell'eritropoiesi. Quando la produzione di globuli rossi non riesce a compensare la distruzione o le perdite di eritrociti compare anemia.

Conseguenze cliniche

L'anemia rappresenta una manifestazione importante, anche se spesso sottovalutata, di numerose condizioni patologiche. Al contrario di quanto si riteneva in passato, quando spesso si parlava di anemia asintomatica in pazienti anemici che non riferivano sintomi direttamente imputabili all'anemia, e l'assenza di sintomi veniva attribuita ad un adattamento al lento sviluppo dell'anemia ed al suo andamento cronico, oggi si ritiene che il cosiddetto adattamento all'anemia cronica rappresenta di fatto un adattamento ad una più bassa qualità di vita.

I sintomi chiave dell'anemia, come dispnea e tachicardia, sono dovuti ad una riduzione dei livelli di ossigeno nel sangue ed a ipossia periferica. La redistribuzione compensatoria del sangue dal circolo mesenterico agli organi vitali dell'organismo peggiora la perfusione della mucosa intestinale [1]. Disturbi della motilità intestinale, nausea, anoressia e malassorbimento possono essere conseguenza di anemia. Una ridotta efficienza metabolica ed energetica contribuisce alla perdita di peso [2]. Manifestazioni comuni dell'anemia sono la menorragia e l'amenorrea tra le donne e l'impotenza nell'uomo. La perdita di libido può contribuire a una ridotta qualità di vita in entrambi i sessi. L'ipossia centrale può determinare cefalea, capogiri, vertigini, o acufeni. Diversi studi hanno confermato che la correzione dell'anemia migliora la funzione cognitiva [3]. Poiché il ferro non è solo un componente dell'emoglobina e della mioglobina, ma anche dei citocromi e di molti altri enzimi, la carenza di ferro può compromettere le funzioni cognitive anche in assenza di anemia e la correzione della carenza di ferro in giovani donne non anemiche migliora l'apprendimento verbale e la memoria [4].

La fatica cronica

L'anemia riduce la capacità di svolgere le normali attività quotidiane. La fatica cronica è un sintomo comune nelle IBD con anemia, e la carenza di ferro rappresenta dei principali fattori eziologici [5]. La fatica è associata a significative conseguenze fisiche, emozionali, psicologiche e sociali. Nei pazienti anemici trattati con Epo, numerosi studi hanno osservato un miglioramento nella qualità di vita anche in seguito a correzione di livelli modesti di anemia, ad esempio con passaggio dell'emoglobina da 11 g/dl a 13 g/dl [6].

In pazienti anemici con Malattia di Crohn (MC), la correzione dell'anemia mediante trattamento con ferro gluconato ed Epo [7] ha determinato un miglioramento della sensazione di benessere, del tono dell'umore, della abilità fisica, delle attività sociali e della qualità di vita in generale. Inoltre, singoli pazienti hanno ottenuto sollievo dai disturbi del sonno e hanno aumentato l'appetito o la libido.

Eziologia dell'anemia nelle IBD

La patogenesi dell'anemia nelle IBD è complessa e spesso multifattoriale; l'anemia da carenza di ferro (IDA) e l'anemia da malattia cronica (ACD) sono le forme di anemia più comunemente osservate nelle IBD.

Anemia da carenza di ferro

Nei soggetti normali, la perdita giornaliera di ferro ammonta a 1-2 mg e questo richiede che sia ricavata dalla dieta una quantità simile. Il ferro introdotto con la dieta si trova in due forme: il ferro eminico (proveniente dalla mioglobina della carne, del pollame e del pesce) e il ferro non eminico (per lo più di origine vegetale) [8]. I meccanismi molecolari dell'assorbimento del ferro sono stati caratterizzati recentemente [9]. L'assorbimento del ferro non eminico dipende da molti fattori, inclusa la presenza delle secrezioni gastriche, di acido ascorbico e di inibitori dell'acido fitico e dei polifenoli. Il ferro eminico è rilasciato dopo digestione enzimatica della mioglobina. Nelle IBD è comune una sensazione di avversione al cibo che influenza la quantità di ferro ottenibile dalla dieta [10-11]. Nell'uomo non esistono meccanismi fisiologici di regolazione dell'escrezione del ferro che, normalmente viene perso dall'organismo attraverso l'eliminazione di cellule contenenti ferro (ad esempio per desquamazione dell'epitelio intestinale) o per fenomeni di sanguinamento fisiologici o patologici (perdite mestruali ed emorragie). La carenza di ferro che si osserva spesso nelle IBD può essere dovuta a riduzione dell'assorbimento o a perdite ematiche da sanguinamento del tubo gastroenterico. La riduzione dell'assorbimento è generalmente mediata da meccanismi flogistici che, attraverso un aumento dei livelli di IL-6, stimolano la produzione da parte del fegato di epcidina, un regolatore negativo dell'assorbimento del ferro. Le perdite ematiche sono in genere dovute alle localizzazioni di malattia. Il ferro è essenziale per l'eritropoiesi, ma è un componente attivo di parecchi enzimi importanti per la proliferazione e la funzione di varie cellule, come le cellule del sistema immunitario. La restrizione ferrica ha effetto sulla proliferazione e sulla differenziazione dei linfociti B e Th1, mentre il sovraccarico di ferro conduce alla disfunzione delle cellule NK, danneggia la citotossicità neutrofila, e altera il rapporto tra linfociti CD4⁺ e CD8⁺ [12-13].

Anemia da malattia cronica

La ACD è la forma più frequente di anemia nei pazienti ospedalizzati e si sviluppa in soggetti che soffrono di malattie associate ad attivazione cronica dell'immunità cellulo-mediata, come le infezioni croniche, disordini infiammatori immuno-mediati o neoplasie maligne [14]. I meccanismi fisiopatologici dell'anemia nell'ACD sono molteplici e verranno brevemente discussi.

- Alterazione del metabolismo del ferro nella ACD.

Il segno laboratoristico caratteristico della ACD è l'iposideremia, espressione di una limitazione nell'apporto di ferro all'eritron. Questa limitazione è dovuta a ritenzione del ferro nei macrofagi del sistema reticolo endoteliale (RES). Così l'ACD può essere facilmente diagnosticata per la presenza di iposideremia con livelli serici di ferritina normali o elevati.

La fonte principale di ferro per i macrofagi è rappresentata dall'eritrofagocitosi [15]. Le citochine infiammatorie causano ritenzione di ferro nel sistema reticolo-endoteliale attraverso la downregolazione dell'espressione di ferroportina 1, l'unico esportatore cellulare di ferro attualmente noto [16-17]. Le proteine della fase acuta, come α 1-antitripsina, ostacolano la captazione del ferro transferrino-mediata nelle cellule progenitrici eritroidi, ma non nelle cellule del RES [18]. L'interleuchina 6, in grado di indurre il peptide epcidina, determina una downregolazione dell'assorbimento del ferro nel duodeno e può interferire con il rilascio di ferro dalle cellule del RES [19]. I monociti/macrofagi hanno un ruolo fondamentale nel metabolismo del ferro. Queste cellule consentono all'organismo di riciclare in modo molto efficiente il ferro che deriva dalla distruzione dei globuli rossi danneggiati o senescenti. In condizioni pa-

tologiche, caratterizzate da infiammazione, i macrofagi trattengono ferro il cui apporto per l'eritropoiesi può risultare significativamente ridotto, contribuendo così all'ACD [20-21]. La ritenzione di ferro da parte dei macrofagi in corso di flogosi ha sempre sollevato interrogativi sullo scopo di questa alterazione del metabolismo del ferro. Un'ipotesi proposta in passato, ma valida ancora oggi, prevede che questo fenomeno abbia lo scopo di ridurre la disponibilità di ferro per vari patogeni, contribuendo alla difesa dell'organismo nell'ambito dei meccanismi dell'immunità innata. Inoltre, la proteina macrofagica NRAMP-1 è stata identificata come un trasportatore di ferro transmembrana che conferisce resistenza nei confronti delle infezioni da patogeni intracellulari [22-23].

- Inibizione della proliferazione e differenziazione dei progenitori eritroidi.

A prescindere dalla modulazione dell'omeostasi del ferro, citochine infiammatorie agiscono direttamente sull'eritropoiesi inibendo la crescita dei progenitori eritroidi. Il TNF- α e gli interferoni di tipo I e II bloccano la crescita in vitro delle *Burst Forming Units-Erythroid* (BFU-E) e delle *Cluster Forming Units-Erythroid* (CFU-E) [24]. L'IFN- γ sembra essere il più potente inibitore dell'eritropoiesi bloccando direttamente la crescita di CFU-E [25]. Nei pazienti con ACD vi è una correlazione inversa tra i livelli di IFN- γ da un lato e concentrazione di emoglobina e conta reticolocitaria dall'altro [26]. L'ossido nitrico (NO), la cui produzione aumenta nel corso di processi infiammatori, può direttamente bloccare l'eritropoiesi grazie all'inibizione delle cellule progenitrici eritroidi e della biosintesi dell'eme [27-28].

- Risposta eritropoietinica ridotta.

Nei pazienti con ACD i livelli serici di Epo sono spesso bassi per il grado di anemia e questo è stato dimostrato sia per la MC che per la Colite Ulcerosa (CU) [29-30]. Le citochine infiammatorie possono inibire direttamente la produzione di Epo a livello renale [31]. Oltre a ciò, la responsività all'Epo delle cellule progenitrici eritroidi può essere ridotta in presenza di IFN- γ o TNF- α [32].

- Riduzione dell'emivita dell'eritrocita.

L'applicazione delle dosi subletali di TNF- α o endotossina al topo riduce l'emivita degli eritrociti. È stato ipotizzato che anche nell'uomo durante i processi flogistici vi possa essere una riduzione della vita media dei globuli rossi.

Carenze di vitamina B12 e di folati

La vitamina B12 o cobalamina e l'acido folico sono vitamine che, come coenzimi, sono coinvolte in complesse reazioni biochimiche, inclusa la sintesi del DNA. L'evidenza clinica di carenza di vitamina B12 si sviluppa tardivamente, non appena i depositi corporei sono ridotti a meno del 10%. La vitamina B12 è assorbita principalmente nell'ileo terminale sotto forma di un complesso con il fattore intrinseco derivato dallo stomaco. L'infiammazione cronica o la resezione dell'ileo, particolarmente nella MC, possono portare a carenza della vitamina [33]. L'acido folico è assorbito nel duodeno e nel digiuno e la carenza può essere dovuta ad una dieta inadeguata, a malassorbimento, o a interazioni tra farmaci (sulfasalazina, metotrexate).

Anemia correlata al trattamento

Indipendentemente dalla carenza di folato, la terapia delle IBD con sulfasalazina o acido 5-aminosalicilico si associa a un minor grado di emolisi o aplasia [34-37]. Tuttavia, la 6-mercaptopurina e l'azatioprina hanno, farmaci utilizzati nella terapia delle IBD, hanno un effetto mielosoppressivo. Il rischio di sviluppare leucopenia o aplasia è elevato negli individui con bassa attività di tiopurina metiltransferasi (TPMT) [38]. L'attività enzimatica di TPMT è geneticamente determinata e la genotipizzazione è stata proposta come un metodo di valutazione del rischio di sviluppare aplasia midollare [39].

Qualità della vita

Nelle malattie croniche un obiettivo terapeutico cui si deve tendere sempre più spesso è rappresentato dal mantenimento di una qualità di vita del paziente il più possibile vicino alla norma. L'esperienza in campo oncologico ha dimostrato, nel corso degli ultimi anni, che la correzione dell'anemia incide significativamente sulla qualità di vita del paziente, anche quando si tratta di forme lievi di anemia [7]. Siccome la maggior parte dei pazienti con IBD sono giovani, possono avere la necessità di mantenere *performances* fisiche e cognitive più elevate rispetto ai pazienti neoplastici. La normalizzazione del livello di emoglobina (12 g/dl nella donna e 13.5 g/dl nell'uomo) dovrebbe quindi essere perseguita in tutti i pazienti con IBD. Nell'IDA e nelle forme carenziali la terapia sostitutiva è chiaramente indicata, anche se la modalità ideale per la supplementazione di ferro dovrà essere valutata caso per caso. Il problema maggiore è rappresentato dal trattamento dell'ACD che richiederebbe un intervento su più fronti: contrastare l'alterazione dell'omeostasi del ferro associata all'ACD, rendere adeguata la produzione di Epo per il grado di anemia, neutralizzare la soppressione dell'eritropoiesi mediata da citochine infiammatorie.

Aspetti associati alla supplementazione di ferro nelle IBD

Poiché l'omeostasi del ferro e l'immunità cellulare sono collegati, la supplementazione marziale con differenti regimi terapeutici può avere effetti sulla funzione immunitaria e sulla infiammazione intestinale nelle IBD. Il ferro inibisce l'attività dell'IFN- γ e in tal modo può interferire con la funzione dei macrofagi e sulla risposta Th1 e potrebbe attenuare l'infiammazione intestinale Th1-mediata nelle IBD. Questa teoria è supportata dal fatto che la supplementazione di ferro endovena a pazienti dializzati ha ridotto significativamente i livelli circolanti di TNF- α e perossidi [40] e un trattamento combinato dell'anemia, in soggetti con artrite reumatoide attiva, con ferro ed Epo ha ridotto l'attività di malattia [41].

Nelle IBD, tuttavia, il ferro per *os* può determinare uno stress ossidativo nel lume intestinale, aumentando la produzione intestinale di citochine proinfiammatorie [42-43]. Poiché la maggior parte del ferro presente negli alimenti, ed ancor più di quello somministrato per *os* come supplementazione farmacologica, non viene assorbito e giunge quindi a contatto con la mucosa dell'ileo e del colon, il contatto di questo ferro con la parete intestinale ulcerata può incrementare la produzione locale di specie reattive dell'ossigeno ed intensificare l'infiammazione. Questo fatto è stato dimostrato in modelli animali di IBD [44] come nei pazienti con MC [45]. Benché no siano disponibili dati a tale proposito, riteniamo che la supplementazione marziale effettuata per via parenterale, in particolare endovenosa, non determini danni di tipo ossidativo.

Scopo del lavoro

Abbiamo studiato pazienti ambulatoriali affetti da IBD nell'intento di definire l'impatto dell'anemia durante la storia naturale delle IBD in termini di patogenesi, gravità e frequenza.

Materiali e metodi

Pazienti

La prevalenza e la patogenesi dell'anemie sono state indagate in 263 pazienti ambulatoriali valutati presso l'ambulatorio delle IBD del nostro Istituto nel periodo 2006-2007. Lo studio è stato approvato dalla Comitato Istituzionali Etico sugli studi nell'uomo, in accordo coi criteri stabiliti dalla dichiarazione di Helsinki (1983). Tutti i pazienti hanno fornito il consenso informato per consentire l'utilizzo di dati clinici e di laboratorio relativi alla propria patologia.

Le diagnosi di MC e CU erano basate sui classici criteri clinici [46,47]. L'attività di malattia è stata determinata impiegando il *Crohn's Disease Activity Index* (CDAI) per la MC [48] ed il *Clinical Activity Index* (CAI) per la RCU. Uno score CDAI ≤ 150 indica malattia quiescente, mentre uno score superiore a 150 corrisponde a MC attiva. Nella RCU l'attività di malattia è indicata da uno score CAI superiore a 4. La presenza di insufficienza renale, neoplasie maligne, malattie del tessuto connettivo, o condizioni ematologiche che possono causare anemia sono stati criteri di esclusione.

Definizione di anemia

L'anemia è definita da livelli di emoglobina inferiori a 13.0 g/dl per l'uomo e a 12.0 g/dl per la donna. In accordo coi criteri stabiliti dalla *World Health Organization* (WHO) anemia lieve corrisponde a una emoglobina (Hb) ≥ 9.5 g/dl, anemia moderata è definita da una Hb ≥ 8 g/dl ma < 9.5 g/dl, mentre anemia grave è presente quando l'Hb è inferiore a 8.0 g/dl.

La diagnosi di ACD è stata posta in presenza di una ridotta saturazione della transferrina (TfSat $< 16\%$) con normale o aumentata concentrazione di ferritina sierica (> 100 mcg/l). L'anemia da carenza di ferro (IDA) era caratterizzata da una riduzione dei livelli sia di TfSat ($< 16\%$) sia di ferritina sierica (< 30 mcg/l). L'associazione di IDA e ACD è stata definita da una TfSat inferiore al 16%, ridotta transferrina e da ridotta a normale ferritina sierica (valori compresi fra 30 e 100 mcg/l).

Indagini di laboratorio

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a una valutazione clinica ed ai seguenti esami ematochimici: esame emocromocitometrico, valutazione dello stato del ferro corporeo mediante determinazione di sideremia, transferrina, saturazione della transferrina, ferritina sierica, dosaggio di folati e vitamina B12 nel siero, proteina C-reattiva (PCR) e la velocità di sedimentazione eritrocitaria (VES). In un sottogruppo di 39 pazienti non selezionati (22 con malattia di Crohn e 17 con colite ulcerosa) ed in 29 volontari sani utilizzati come controlli è stata determinata la concentrazione sierica di proepcidina (mediante *Hepcidin ELISA kit DRG*, Heidemberg, Germania).

Analisi statistica

Le variabili continue sono state confrontate mediante Student's t-test, F test (*one-way* analisi di varianza), Mann-Whitney U test, Wilcoxon test e Kruskal-Wallis test. Per variabili categoriche sono stati usati il Chi-square test e il Fisher's exact test. Correlazioni tra variabili continue sono state espresse mediante il coefficiente di correlazione di Paerson o lo Spearman R test. I dati sono stati riportati come medie ± 1 deviazione standard (SD). Valori di $P < 0.05$ sono stati considerati statisticamente significativi.

Risultati

Lo studio della prevalenza e della patogenesi dell'anemia in pazienti ambulatoriali affetti da IBD ha incluso 165 pazienti con malattia di Crohn e 98 soggetti con colite ulcerosa. Le informazioni generali riguardanti questi pazienti sono riportati in Tabella 1. Settantuno pazienti con MC (43%) erano anemici rispetto a 33 pazienti con CU (34%), ma la differenza non è risultata significativa. L'anemia era lieve in 85 pazienti, moderata in 15, grave in 4, senza differenze nella gravità dell'anemia tra MC e RCU. Età, sesso e concomitante terapia con azatioprina non hanno influenzato la prevalenza dell'anemia, nonostante le donne presentassero livelli di emoglobina mediamente più bassi rispetto ai maschi (11.9 ± 1.8 g/dl rispetto a 13.4 ± 1.9 g/dl, $P < 0.001$). L'anemia è risultata essere più comune alla diagnosi che durante il *follow-up* (65% e 35% dei pazienti rispettivamente, $P = 0.001$, Tabella 1). Durante i primi 4 anni dalla diagnosi la percentuale dei pazienti anemici è gradualmente diminuita ($P = 0.007$); in questo stesso periodo l'emoglobina correlava con la durata dell'intervallo di tempo trascorso dalla diagnosi ($r = 0.301$, $P < 0.001$), rimanendo poi stabile negli anni successivi (Figura 1).

Sia nella MC che nella CU l'anemia si associava a riduzione dell'MCV, a ridotta TfSat e ad aumentati valori di VES, PCR e score CDAI o CAI (Tabella 2). Il grado di attività della malattia espresso dal CDAI e dal CAI era inversamente correlato al livello di Hb (Figura 2). Quando il CDAI è stato ridefinito escludendo dal calcolo il contributo dell'ematocrito (CDAI modificato), la correlazione con l'emoglobina era ancora presente, ma ad un più basso livello di significatività (risultato non presentato). Il CDAI modificato, comunque, è rimasto significativamente più elevato nella malattia attiva (195 ± 78) che in quella inattiva (49 ± 33 , $P < 0.001$) e correlava con VES e PCR. Nella MC l'anemia non era influenzata dalla localizzazione di malattia o dal suo comportamento (Tabella 3). Al contrario, nella CU la proporzione dei pazienti con pancolite era più alta nel sottogruppo anemico (61% vs 34%, $P = 0.029$, Tabella 3) e i pazienti con pancolite avevano minori livelli di emoglobina rispetto ai pazienti con colite localizzata a sinistra/proctite (12.4 ± 2.3 g/dl e 13.5 ± 1.8 g/dl rispettivamente, $P = 0.017$).

La maggior parte dei pazienti anemici era affetta da ACD o da IDA (Tabella 1), seguite per frequenza dalle carenze di vitamine e da forme di anemia a patogenesi multifattoriale. L'ACD si associava a valori più elevati di VES e PCR rispetto all'IDA. Tuttavia, non sono state evidenziate differenze tra i pazienti con ACD e quelli con IDA nel grado di attività di malattia valutato mediante CDAI e CAI per la MC e la RCU, rispettivamente (Tabella 4); i pazienti con l'associazione carenza di ferro ed ACD presentavano valori di VES e PCR intermedi tra quelli dei pazienti con IDA e quelli dei pazienti affetti da ACD. Alla diagnosi la maggior parte dei casi di anemia erano dovuti a pazienti con ACD isolata (54%), rispetto al 21% durante il *follow-up* ($P = 0.002$). La differenza risultava più significativa nella MC. I pazienti alla diagnosi avevano più alti livelli di VES (44 ± 27 rispetto a 24 ± 21 , $P < 0.001$), PCR (5.02 ± 4.75 rispetto a 1.67 ± 2.65 mg/dl, $P < 0.001$), e ferritina sierica (148 ± 130 rispetto a 134 ± 512 mcg/l, $P = 0.021$) rispetto ai pazienti osservati durante il *follow-up*, e la differenza era ancora più significativa quando i pazienti anemici alla diagnosi venivano confrontati con i pazienti osservati durante il *follow-up* (risultati non presentati). I casi di anemia multifattoriale sono risultati più comuni durante il *follow-up* della malattia che alla diagnosi (20 su 80 casi di anemia durante il *follow-up* rispetto a 1 su 24 casi alla diagnosi, $P = 0.026$). Nella MC la frequenza di carenza di ferro come causa di anemia è aumentata durante il *follow-up* rispetto alla diagnosi (42% e 12% rispettivamente, $P = 0.030$).

La concentrazione sierica di proepcidina (precursore dell'epcidina, il regolatore negativo dell'assorbimento di ferro che contribuisce all'alterazione dell'omeostasi del ferro nell'anemia dell'infiammazione) è risultata più elevata nelle IBD che nei controlli sani (96 ± 53 rispetto a 54 ± 29 ng/ml, $P=0.007$) e correlava con la PCR ($r=0.427$, $P=0.007$). Nella MC la proepcidina è risultata più elevata tra i pazienti con malattia attiva (123 ± 64 rispetto a 66 ± 17 ng/ml nella malattia in remissione, $P=0.033$) e correlava con la ferritina sierica ($r=0.4293$, $P=0.038$). I pazienti con MC e ACD avevano più elevate concentrazioni di proepcidina rispetto a quelli con IDA (136 ± 75 rispetto a 72 ± 35 ng/ml) ma la differenza non è risultata statisticamente significativa.

Discussione

In questo studio abbiamo indagato la distribuzione e la fisiopatologia dell'anemia in una casistica di pazienti ambulatoriali affetti da IBD. L'analisi di questi pazienti fornisce una panoramica sull'impatto dell'anemia, in termini di gravità e di frequenza, durante la storia naturale della malattia. Complessivamente abbiamo trovato una prevalenza di anemia del 40% ed abbiamo confermato che l'anemia è una complicanza comune nelle IBD. Nella maggior parte dei casi l'anemia è risultata lieve (emoglobina superiore a 9.5 g/dl) ma, dato che la popolazione in studio ha incluso solo pazienti ambulatoriali, ci sono probabilmente sfuggiti alcuni pazienti con anemia più grave, per i quali è stato necessario un ricovero in ambiente ospedaliero.

Abbiamo osservato un peculiare trend temporale nella prevalenza e patogenesi dell'anemia, caratterizzato da una più alta frequenza di anemia alla diagnosi, e da una successiva riduzione durante i primi 4 anni dalla diagnosi. Nello stesso periodo c'è stato un lieve incremento nel livello medio di Hb. L'infiammazione è risultata la principale causa di anemia alla diagnosi, risultato in accordo con l'osservazione che alla diagnosi si rilevano indici di infiammazione più elevati. L'aumento della frequenza di IDA durante il *follow-up*, associato ad una riduzione dell'incidenza di ACD, può essere collegato a episodi di sanguinamento intestinale cronico e/o al malassorbimento di ferro, il quale può impiegare da mesi ad anni per indurre carenza di ferro ed anemia. È noto che gli stati infiammatori inibiscono l'assorbimento del ferro, e nei pazienti con MC attiva l'assorbimento del ferro introdotto per *os* risulta compromesso. Questa compromissione dell'assorbimento del ferro si associa ad un aumento dell'escrezione urinaria di epcidina [49], il peptide prodotto dal fegato che inibisce l'assorbimento di ferro [50]. In un sottogruppo di pazienti abbiamo misurato la concentrazione di proepcidina sierica come sostituto per l'epcidina; i livelli di proepcidina sono risultati più alti nei pazienti con IBD rispetto ai soggetti normali e si correlavano a PCR e CDAI. Pertanto, ipotizziamo che oltre a causare direttamente ACD, ricorrenti riacutizzazioni dei processi infiammatori in occasione di episodi di ripresa di malattia possano ridurre sostanzialmente l'assorbimento del ferro e, nel corso degli anni, possano portare ad una carenza di ferro che può persistere durante i periodi di remissione di malattia.

Poiché il duodeno è la principale sede di assorbimento di ferro e di folati [51], malassorbimento e carenze di questi nutrienti possono essere conseguenza di un coinvolgimento del tratto gastrointestinale superiore nella MC. Un coinvolgimento del tratto gastrointestinale superiore nelle IBD è considerato una complicanza rara, presente nello 0.5-4% dei pazienti [52], ma alcuni studi pediatrici segnalano un coinvolgimento gastroduodenale in più del 40% dei pazienti con MC, spesso in una forma subclinica [53-54]. Così, rispetto alla situazione alla diagnosi quando l'anemia è solitamente dovuta a isolate ACD o IDA, il corso delle IBD è caratterizzato da una riduzione dell'eritropoiesi dovuta a una varietà di meccanismi, come suggerito dalla aumentata prevalenza di pazienti con anemia dovuta a differenti associazioni di IDA, ACD e carenze vitaminiche che si osservano durante il *follow-up*. I nostri pazienti affetti da IBD non vengono routinariamente trattati con supplementazione di ferro e/o vitamine, a

meno che le valutazioni laboratoristiche eseguite in seguito di una diagnosi di anemia non documentino una specifica carenza ematinica. Questo può parzialmente spiegare il *trend* che abbiamo osservato nella prevalenza di IDA e la più elevata prevalenza di anemia nella nostra casistica rispetto ad altri lavori [55-57]. L'utilità della supplementazione di ferro come profilassi dell'anemia nelle IBD, mediante somministrazione per via orale, è ancora oggetto di discussione per la possibilità che il ferro contribuisca ad accentuare la flogosi intestinale.

Tabelle e figure

Tabella 1. Cause di anemia nei pazienti con IBD.

Tipo di anemia (diagnosi/follow-up)	MC (N=71)	CU (N=33)
IDA	2/23	4/9
ACD	10/12	3/5
Deficit di cobalamina/folati	2/3	0/3
IDA + ACD	0/9	1/5
Deficit di cobalamina/folati + IDA or ACD	0/4	0/2
Indeterminato	2/4	0/1

Tabella 2. Sintesi delle caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti con IBD esaminati in questo lavoro.

	Malattia di Crohn		Colite ulcerosa		Valori di riferimento
	Non anemici	Anemici	Non anemici	Anemici	
Pazienti (Pts)	94	71	65	33	
*Pazienti alla diagnosi	6	16	7	8	
Età (anni)	38.9±15.1	39.9±14.4	40.9±15.1	40.2±12.7	
Intervallo dalla diagnosi (anni)	8.0±6.6	9.0±8.8	7.5±6.6	7.4±6.7	
Maschi/Femmine	53/41	36/35	44/21	17/16	
*Emoglobina (g/dl)	13.8±1.2	10.8±1.4	14.2±1.2	10.8±1.3	13.0-17.5 M 12.0-16.5 F
*MCV (fL)	88±6	82±12	89±5	80±11	82-98
CDAI	137±9	206±94			≤150
*CAI			4.7±3.3	8.0±3.0	≤4
*PCR (mg/dl)	1.53±2,56	3.29±4.27	1.02±1.44	3.72±3.72	<0.8
*VES (mm/ora)	19±17	40±26	16±16	42±24	1-15
*sTfr (%)	30±16	16±10	29±11	12±5	15-45
Ferritina sierica (mcg/l)	169±664	171±499	76±68	85±106	15-250 M 10-150 F
°Proepcidina (ng/ml)	113±7	94±8	91±45	70±35	54±29
Terapia con azathioprina (Pts)	13	15	3	3	
<p>Note: I valori riportati corrispondono al numero di pazienti o alle medie ±1 SD.</p> <p>Legenda: *indica differenze statisticamente significative tra pazienti anemici e non anemici; °indica una differenza significativa tra i pazienti ed un gruppo di riferimento comprendente 29 soggetti sani.</p>					

Tabella 3. Prevalenza dell'anemia nell'IBD in relazione a estensione/localizzazione e comportamento della malattia.

Localizzazione/comportamento di malattia	Pazienti anemici	Pazienti non anemici
<i>Malattia di Crohn</i>		
Ileale	16	26
Ileocolica	43	50
Colite di Crohn	12	18
Fistolizzante	10	11
Fibro-stenotica	16	12
Infiammatoria	27	23
<i>Colite ulcerosa*</i>		
Pancolite	21	22
Colite del colon discendente/proctite	13	43

*La prevalenza dell'anemia nei pazienti con pancolite ed in quelli con colite del colon discendente/proctite sono significativamente diverse ($P=0.0113$).

Tabella 4. Informazioni su stato del ferro, attività di malattia e stato infiammatorio in pazienti con IBD e diverse forme di anemia.

	Eziologia dell'anemia					
	IDA (Pts 38)	ACD (Pts 30)	Carenza di folati/ co- balamina (Pts 8)	IDA+ACD (Pts 15)	Carenza di folati/ co- balamina + IDA o ACD (Pts 6)	Indeter- minata (Pts 7)
*Età, anni	34.7±13.1	47.6±16.8	43.0±9.1	35.8±7.9	38.0±18.2	45.5±4.0
Maschi/Femmine	15/23	18/12	5/3	9/6	3/3	3/4
Emoglobina (g/dl)	10.8±1.8	11.0±1.1	11.3±1.1	10.9±1.2	10.9±1.1	11.7±0,8
Sideremia (mcg/dl)	68±61	49±32	93±23	40±17	71±39	84±23
sTfr (%)	11±2	11±5	37±12	12±6	18±8	32±14
Ferritina sierica (ng/ml)	12±10	399±725	109±83	48±13	93±135	51±56
CDAI	193±70	231±117	241±30	202±70	154±114	190±35
CAI	8±3	9±2	5±4	8±4	6±4	7
*VES (mm/ora)	23±15	60±23	66±39	37±17	41±25	31±21
PCR (mg/dl)	1.57±2.83	6.04±5.09	5.41±9.00	2.64±2.21	2.34±2.09	1.81±2.17

*i pazienti affetti da IDA erano significativamente più giovani rispetto a quelli affetti da ACD ($P=0.0012$) e presentavano valori di VES e PCR più bassi ($P<0.001$). VES e PCR erano più elevate nel gruppo di pazienti con IDA + ACD rispetto al gruppo con IDA isolata ($P<0.05$ e $P=0.0082$, rispettivamente).

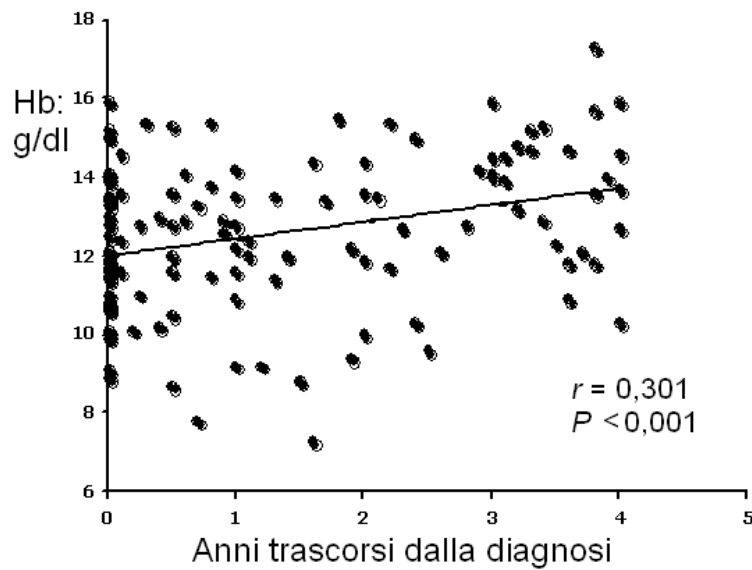


Figura 1. Andamento temporale della concentrazione di Hb nei pazienti con IBD durante i primi 4 anni dalla diagnosi. L'Hb aumenta col tempo e la prevalenza dell'anemia diminuisce.

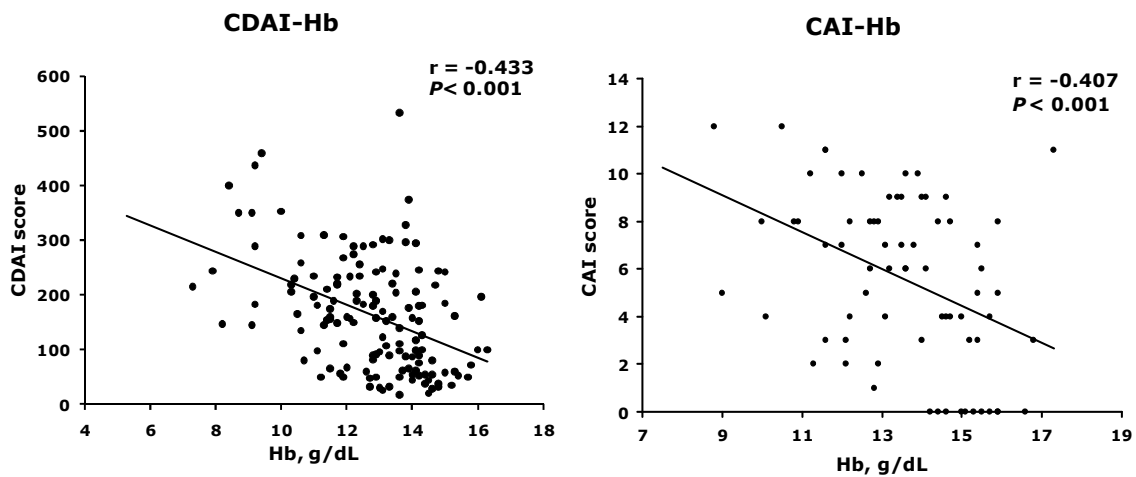


Figura 2. Correlazioni tra gli indici di attività di malattia e l'emoglobina in pazienti con IBD. La correlazione tra CDAI ed emoglobina è meno significativa quando il contributo dell'ematocrito al punteggio è rimosso (CAI corretto in alto a destra).

Bibliografia

1. Vatner SF. Effects of hemorrhage on regional blood flow distribution in dogs and primates. *J Clin Invest* 1974;54:225-235.
2. Daneryd P, Svanberg E, Komer U, et al. Protection of metabolic and exercise capacity in unselected weight-losing cancer patients following treatment with recombinant erythropoietin: a randomized prospective study. *Cancer Res* 1998;58:5374-5379.
3. Ludwig H, Strasser K. Symptomatology of anemia. *Semin Oncol* 2001;28(suppl. 8):7-14.
4. Pickett JL, Theberge DC, Brown WS, et al. Normalizing hematocrit in dialysis patients improves brain function. *Am J Kidney Dis* 1999;33:1122-1130.
5. Bruner AB, Joffe A, Duggan AK, et al. Randomised study of cognitive effects of iron supplementation in non-anaemic iron-deficient adolescent girls. *Lancet* 1996;348:992-996.

6. Demetri GD, Kris M, Wade J, et al. Quality-of-life benefit in chemotherapy patients treated with epoetin alfa is independent of disease response or tumor type: results from a prospective community oncology study. Procrit Study Group. *J Clin Oncol* 1998;16:3412-3425.
7. Crawford J, Cella D, Cleeland CS, et al. Relationship between changes in hemoglobin level and quality of life during chemotherapy in anemic cancer patients receiving epoetin alfa therapy. *Cancer* 2002;95:888-895.
8. Monsen ER, Hallberg L, Layrisse M, et al. Estimation of available dietary iron. *Am J Clin Nutr* 1978;31:134-141.
9. Parkkila S, Niemela O, Britton RS, et al. Molecular aspects of iron absorption and HFE expression. *Gastroenterology* 2001;121:1489-1496.
10. Mishkin S. Dairy sensitivity, lactose malabsorption, and elimination diets in inflammatory bowel disease. *Am J Clin Nutr* 1997;65:564-567.
11. Ballegaard M, Bjergstrom A, Brondum S, et al. Self-reported food intolerance in chronic inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:569-571.
12. Seligman PA, Kovar J, Gelfand EW. Lymphocyte proliferation is controlled by both iron availability and regulation of iron uptake pathways. *Pathobiology* 1992;60:19-26.
13. de Sousa M. Immune cell functions in iron overload. *Clin Exp Immunol* 1989;75:1-6.
14. Weiss G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. *Blood Rev* 2002;16:87-96.
15. Moura E, Verheul AF, Marx JJ. A functional defect in hereditary haemochromatosis monocytes and monocyte-derived macrophages. *Eur J Clin Invest* 1998;28:164-173.
16. Ludwiczek S, Aigner E, Theurl I, et al. Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells. *Blood* 2003;101:4148-4154.
17. Yang F, Liu XB, Quinones M, et al. Regulation of reticuloendothelial iron transporter MTP1 (Slc11a3) by inflammation. *J Biol Chem* 2002;277:39786-39791.
18. Graziadei I, Gaggl S, Kaserbacher R, et al. The acute-phase protein alpha antitrypsin inhibits growth and proliferation of human early erythroid progenitor cells (burst-forming units-erythroid) and of human erythroleukemic cells (K562) in vitro by interfering with transferrin iron uptake. *Blood* 1994;83:260-268.
19. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102:783-788.
20. Iron metabolism in health and disease. *WB Saunders Co Ltd*, Philadelphia 1994.
21. Molecular and cellular iron transport. *Marcel Decker Inc*, New York 2002.
22. Forbes JR, Gros P. Divalent-metal transport by NRAMP proteins at the interface of host-pathogen interactions. *Trends Microbiol* 2001;9:397-403.
23. Blackwell JM, Searle S, Goswami T, et al. Understanding the multiple functions of Nramp1. *Microbes Infect* 2000;2:317-321.
24. Means RTJ, Krantz SB. Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease. *Blood* 1992;80:1639-1647.
25. Wang CQ, Udupa KB, Lipschitz DA. Interferon-gamma exerts its negative regulatory effect primarily on the earliest stages of murine erythroid progenitor cell development. *J Cell Physiol* 1995;162:134-138.
26. Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, et al. Immune activation and the anaemia associated with chronic inflammatory disorders. *Eur J Haematol* 1991;46:65-70.
27. Maciejewski JP, Selleri C, Sato T, et al. Nitric oxide suppression of human hematopoiesis in vitro. Contribution to inhibitory action of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha. *J Clin Invest* 1995;96:1085-1092.
28. Rafferty SP, Domachowske JB, Malech HL. Inhibition of haemoglobin expression by heterologous production of nitric oxide synthase in the K562 erythroleukemic cell line. *Blood* 1996;88:1070-1078.
29. Gasche C, Reinisch W, Lochs H, et al. Anemia in Crohn's disease. Importance of inadequate erythropoietin production and iron deficiency. *Dig Dis Sci* 1994;39:1930-1934.
30. Gasche C, Dejaco C, Reinisch W, et al. Sequential treatment of anemia in ulcerative colitis with intravenous iron and erythropoietin. *Digestion* 1999;60:262-267.
31. Faquin WC, Schneider TJ, Goldberg MA. Effect of inflammatory cytokines on hypoxia-induced erythropoietin production. *Blood* 1992;79:1987-1994.
32. Means RTJ, Krantz SB. Inhibition of human erythroid colony-forming units by gamma interferon can be corrected by recombinant human erythropoietin. *Blood* 1991;78:2564-2567.
33. Kraus J, Schneider R. Pernicious anemia caused by Crohn's disease of the stomach. *Am J Gastroenterol* 1979;71:202-205.
34. Laidlaw ST, Reilly JT. Antilymphocyte globulin for mesalazine-associated aplastic anaemia. *Lancet* 1994;343:981-982.
35. Anttila PM, Valimaki M, Pentikainen PJ. Pure-red-cell aplasia associated with sulphasalazine but not 5-aminosalicylic acid. *Lancet* 1985;2:1006.
36. van Hees PA, van Elferen LW, van Rossum JM, et al. Hemolysis during salicylazosulfapyridine therapy. *Am J Gastroenterol* 1978;70:501-505.
37. Bernstein CN, Artinian L, Anton PA, et al. Low-dose 6-mercaptopurine in inflammatory bowel disease is associated with minimal hematologic toxicity. *Dig Dis Sci* 1994;39:1638-1641.
38. Black AJ, McLeod HL, Capell HA, et al. Thiopurine methyltransferase genotype predicts therapy-limiting severe toxicity from azathioprine. *Ann Intern Med* 1998;129:716-718.

39. Colombel JF, Ferrari N, Debuysere H, et al. Genotypic analysis of thiopurine S-methyltransferase in patients with Crohn's disease and severe myelosuppression during azathioprine therapy. *Gastroenterology* 2000;118:1025-1030.
40. Weiss G, Meusbarger E, Radacher G, et al. Effect of iron treatment on circulating cytokine levels in ESRD patients receiving recombinant human erythropoietin. *Kidney Int* 2003;64:572-578.
41. Kaltwasser JP, Kessler U, Gottschalk R, et al. Effect of recombinant human erythropoietin and intravenous iron on anemia and disease activity in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2001;28:2430-2436.
42. Oldenburg B, Berge Henegouwen GP, Rennick D, et al. Iron supplementation affects the production of pro-inflammatory cytokines in IL-10 deficient mice. *Eur J Clin Invest* 2000;30:505-510.
43. Emerit J, Pelletier S, Likforman J, et al. Phase II trial of copper zinc superoxide dismutase (CuZn SOD) in the treatment of Crohn's disease. *Free Radic Res Commun* 1991;12-13(Pt 2):563-569.
44. Papadaki HA, Kritikos HD, Valatas V, et al. Anemia of chronic disease in rheumatoid arthritis is associated with increased apoptosis of bone marrow erythroid cells: improvement following anti-tumor necrosis factor-alpha antibody therapy. *Blood* 2002;100:474-482.
45. Erichsen K, Hausken T, Ulvik RJ, et al. Ferrous fumarate deteriorated plasma antioxidant status in patients with Crohn disease. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:543-548.
46. Caprilli R, Gassull MA, Escher JC, et al. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Special situations. *Gut* 2006;55(suppl. 1):I36-58.
47. Kornbluth A, Sachar DB, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American College of Gastroenterology Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2004;99:1371-1385.
48. Best WR, Beckett JM, Singleton JW, et al. Development of a Crohn's disease activity index: National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 1976;70:439-444.
49. Semrin G, Fishman DS, Bousvaros A et al. Impaired intestinal iron absorption in Crohn's disease correlates with disease activity and markers of inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12:1101-1106.
50. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *PNAS* 2002;99:4596-4601.
51. Qiu A, Jansen M, Sakaris A, et al. Identification of an intestinal folate transporter and the molecular basis for hereditary folate malabsorption. *Cell* 2006;127:917-928.
52. Isaacs KL. Upper gastrointestinal tract endoscopy in inflammatory bowel disease. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2002;12:451-462.
53. Mashako MN, Cezard JP, Navarro J, et al. Crohn's disease lesions in the upper gastrointestinal tract: correlation between clinical, radiological, endoscopic, and histological features in adolescents and children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1989;8:442-446.
54. Ruuska T, Vaajalahti P, Arajärvi P, et al. Prospective evaluation of upper gastrointestinal mucosal lesions in children with ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1994;19:181-186.
55. Schreiber S, Howaldt S, Schnoor M, et al. Recombinant erythropoietin for the treatment of anemia in inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 1996;334:619-623.
56. Lakatos L, Pandur T, David G, et al. Association of extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease in a province of western Hungary with disease phenotype: Results of a 25-year follow-up study. *World J Gastroenterol* 2003;9:2300-2307.
57. Ebinger M, Leidl R, Thomas S, et al. Cost of outpatient care in patients with inflammatory bowel disease in a German university hospital. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:192-199.