

Physiopathologie du métabolisme du fer et génétique de l'hémochromatose

S. Gallati^a, J. Reichen^b

Définition

L'hémochromatose est due à une perturbation héréditaire du métabolisme du fer, qui entraîne une accumulation progressive de cet élément dans les hépatocytes, le pancréas et le cœur. Si cette accumulation atteint un certain niveau, la structure et la fonction des organes deviennent pathologiques. La forme la plus fréquente est due à une homozygotie du C282Y du gène HFE, mais d'autres formes ont également été décrites [1]. Les formes héréditaires sont présentées au tableau 1; les plus importantes seront discutées ci-dessous. Il faut distinguer de l'hémochromatose héréditaire les formes acquises (surtout dans des pathologies hématologiques telles que thalassémie, anémie sidéroblastique, régime, surcharge en fer dans le syndrome métabolique X) et les rares dysprotéïnémies acquises telles que l'acéruplasminémie et l'atransferrinémie.

Importance de l'hémochromatose, hérédité et pénétrance

Dans la population du nord de l'Europe, 1 personne sur 8–10 est porteuse d'une mutation pouvant être en cause dans l'hémochromatose héréditaire; l'hémochromatose est donc la maladie héréditaire autosomale récessive la plus fréquente. Chez au moins 1 couple sur 100, les deux parents sont porteurs d'une mutation.

Leurs enfants ont donc un risque de 25% d'être homozygotes et de développer une hémochromatose.

La question de la pénétrance reste sans réponse précise. Une méta-analyse de 7 études est parvenue à la conclusion que la pénétrance serait de 50% chez les hommes homozygotes et de 44% chez les femmes [2]. Une analyse semblable, postérieure à la découverte du gène HFE, évoque une pénétrance de 40–70% [3]. L'«European Association for the Study of the Liver» (EASL) en conférence-consensus, est partie de l'idée que 95% des homozygotes ont présenté une morbidité significative [1]. Beutler et al. ont au contraire trouvé une pénétrance de 1% [4]. Ce chiffre très bas pourrait être dû à la population examinée (USA, peu de Celtes et d'Européens du Nord) et à leurs témoins (patients d'un HMO, donc prévalence élevée de symptômes associés à l'hémochromatose). Asberg et al. ont trouvé en Norvège la prévalence approximative prévue pour l'hémochromatose phénotypique de 0,34% chez les femmes et 0,68% chez les hommes [5].

Pour pouvoir estimer définitivement la pénétrance, d'autres études sont donc nécessaires, de préférence basées sur la population comme l'étude norvégienne d'Asberg [5].

Métabolisme normal du fer

Le fer est d'une part un minéral essentiel, impliqué dans de nombreuses réactions métaboliques, mais sa toxicité est non négligeable.

^a Unité de Génétique moléculaire humaine, Service de Pédiatrie, Hôpital de l'Île, Berne

^b Institut de Pharmacologie clinique de l'Université de Berne

DMT1 = *divalent metal transporter 1*

Correspondance:
Prof. Dr phil. nat. Sabina Gallati
Directrice de la Génétique
moléculaire humaine
Spécialiste FAMH d'Analytique
médico-génétique
Service universitaire
de Pédiatrie
Hôpital de l'Île
CH-3010 Berne

sabina.gallati@insel.ch

Tableau 1.

Forme	hérédité	chromosome	âge	défaut
HFE1	AR	6p	adulte	C282Y, H63D
HFE2	AR	1q	juvénile	inconnu
HFE3	AR	7q22	adulte	TfR2
HFE4	AD	2q32	adulte	ferroportine

Les différentes formes d'hémochromatose génétique et leur dénomination selon l'OMIM. AR = autosomal récessif et AD = autosomal dominant. L'hémochromatose néonatale ne figure pas dans ce tableau, car elle est létale et sa physiopathologie est mal connue.

C'est pourquoi les stocks de fer sont normalement strictement adaptés aux besoins de l'organisme [6]. Cette régulation se fait là où le fer est résorbé, dans les entérocytes du duodénum et du jéjunum proximal (fig. 1). La résorption du fer alimentaire se fait toujours sous sa forme bivalente, après réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} par le vecteur protonique DMT1 (divalent metal transporter 1), qui transporte le fer divalent et d'autres métaux lourds. Le fer peut également être capté directement par l'hème intact; une troisième voie de transport (mobilferrine) n'a pas encore vu sa structure moléculaire définitivement établie. Ensuite de quoi le fer, toujours sous forme bivalente, passe dans la circulation sanguine par la ferroportine. Cette ferroportine

Figure 1.

Métabolisme du fer dans les entérocytes. Le fer est réduit par une réductase membranaire avant d'être capté sous forme bivalente par le DMT1 – *divalent metal transporter 1*. Il est stocké dans la cellule dans la ferritine. A la surface basolatérale, il peut être réoxydé par l'héphaestine pour être exporté sous forme trivalente, ou directement sous forme bivalente par la ferroportine. Ce dernier est ensuite oxydé par la céruloplasmine et d'autres ferroxidases. Le fer est transporté dans le sang lié à la transferrine; une molécule de transferrine lie deux molécules de fer.

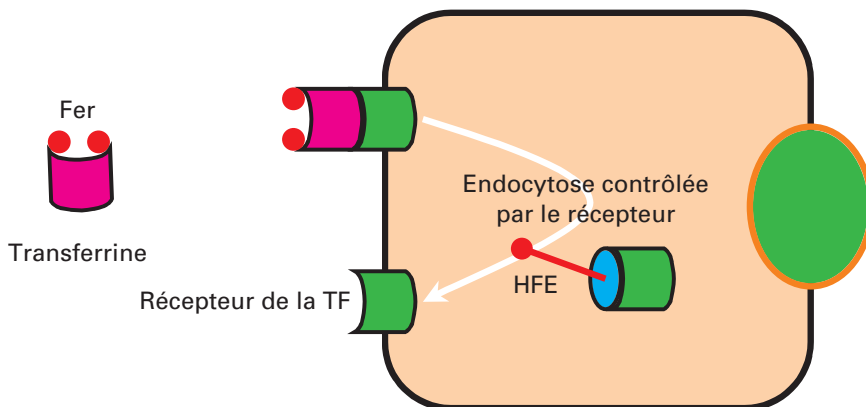
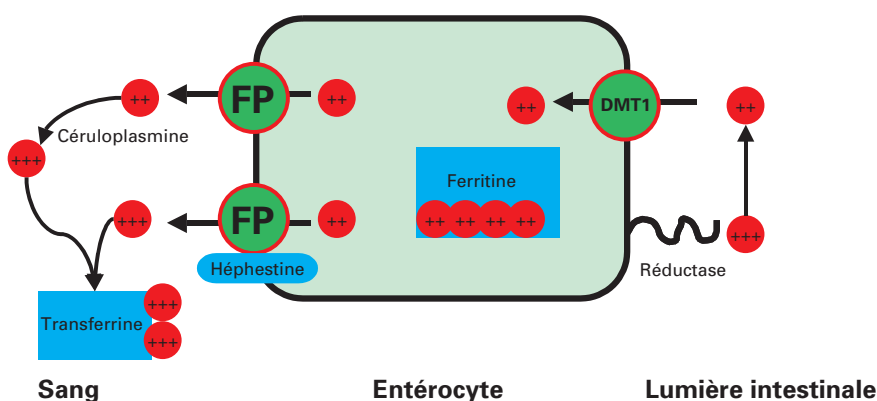


Figure 2.

Régulation possible de la captation du fer dans les cellules de l'organisme. La captation du fer se fait par endocytose induite par le récepteur de la transferrine. Le fer est ensuite libéré dans la cellule pour être incorporé dans des ferroprotéines. Le produit génique HFE forme un complexe avec le récepteur de la transferrine, selon les besoins en fer de la cellule. Dessin selon Salter-Cid [7].



peut être associée à la ferroxidase hephaestine qui réoxyde le fer en Fe^{3+} ; ceci peut aussi se produire dans le sang sous l'effet de la céruloplasmine et d'autres ferroxidases.

Dans le sang, le fer est lié à la transferrine avant de passer à l'intérieur des cellules par les récepteurs de la transferrine. La cellule exprime son besoin en fer par les IRP (iron regulatory proteins) qui contrôlent l'expression de la transferrine, de ses récepteurs et de la ferritine. Le gène HFE est probablement impliqué lui aussi dans ce mécanisme; la figure 2 présente un schéma d'un éventuel mécanisme proposé par Salter-Cid [7]. Nous pensons actuellement que dans l'hémochromatose, la captation duodénale et jéjunale du fer se fait sans être inhibée; normalement la ferritine, reflet des stocks de fer de l'organisme, est en corrélation inverse avec l'expression duodénale du DMT1; dans l'hémochromatose génétique, le DMT1 est trop élevé vu qu'il n'est pas freiné [8].

Les besoins de l'organisme sont contrôlés par au moins trois mécanismes au niveau du grêle [6]. L'un est appelé bloc du fer (la captation est diminuée en cas d'offre abondante), et les deux autres sont des facteurs solubles encore mal caractérisés, le régulateur du stock et le régulateur érythropoïétique. Un candidat possible pour le régulateur du stock est l'hepcidine [9]. L'organisme de l'adulte contient environ 4 g de fer, dont la moitié se trouve dans l'hémoglobine, un quart dans la ferritine (comme fer de réserve) et le dernier quart dans d'autres protéines contenant du fer (myoglobine, cytochromes, etc.). Les pertes quotidiennes de 1-2 mg sont compensées par une résorption équivalente. Avec des règles normales, la femme perd environ 30 mg de fer, et 500 ml de sang contiennent environ 250 mg de fer.

Génétique de l'hémochromatose

En 1996, un gène a été localisé sur le bras court du chromosome 6, à proximité du complexe HLA, aujourd'hui appelé gène HFE et codé pour une protéine transmembranaire [10]. Cette protéine présente une certaine homologie avec les protéines MHC de classe I, elle est reliée par un pont disulfure à la β_2 -microbuline et se présente à la surface des cellules (fig. 3). Une mutation ponctuelle a été trouvée sur ce gène HFE, qui concerne le 282^e acide aminé de cette protéine et qui se retrouve selon les populations chez 60-100% des patients ayant une hémochromatose [10-12]. Cette mutation donne un échange de nucléotides guanine contre adénine, et d'acides aminés cystéine contre tyrosine (C282Y), ce qui empêche par destruction d'un pont disulfure l'interaction avec la β_2 -microglobuline et de ce fait la présentation de la protéine à la surface des cellules [13]. La pro-

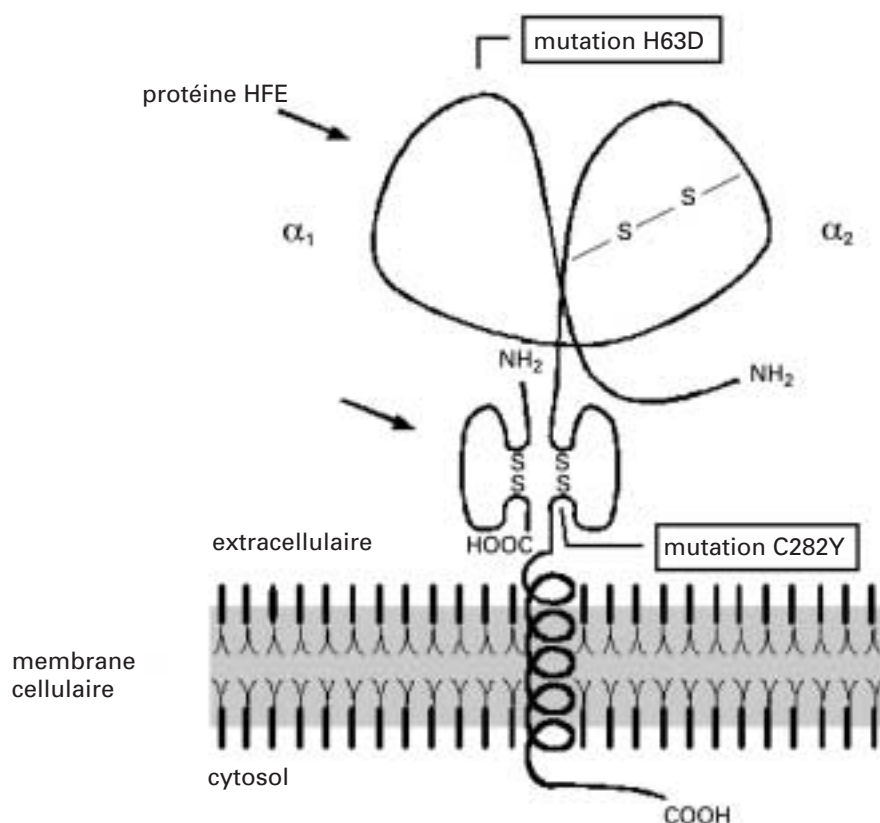


Figure 3.
Modèle de la protéine HFE selon
Feder et al. [10].

téine HFE normale se lie au récepteur de la transferrine (TfR) et diminue ainsi son affinité pour la transferrine chargée de fer; la protéine HFE-C282Y ne peut pas former cette liaison [14].

Une deuxième mutation (H63D), qui fait l'échange du 63^e acide aminé histidine contre un aspartate, a un effet moins marqué que la mutation C282Y. La protéine H63D est exprimée à la surface des cellules, mais n'a pas la même interaction avec le TfR que la protéine de type sauvage, ce qui entraîne également un dépôt de fer accru dans les cellules [15]. Une troisième substitution de bases, qui substitue à l'acide aminé sérine la cystéine (S65C) et qui se voit chez quelque 1,5% de la population européenne, est considérée à elle seule comme un polymorphisme plutôt bénin. Mais en association à une mutation C282Y, elle peut éventuellement augmenter le risque de maladie et participer à un phénotype d'hémochromatose discret [16].

Les différentes formes d'hémochromatose

Comme des mutations du gène HFE ne sont pas démontrables chez tous les patients présentant les signes cliniques nets d'une hémochromatose, il doit donc y avoir d'autres gènes dont les

mutations produisent elles aussi une surcharge en fer. Les candidats potentiels sont p.ex. la β_2 -microglobuline et le récepteur de la transferrine (TfR), qui interagissent avec la protéine HFE. Chez quelques familles siciliennes, une mutation «nonsense» (Y250X), qui donne une interruption prématurée de la translation et donc un produit génique plus court, a été trouvée dans un second gène du TfR (TfR2) [17]. Cette protéine présente une homologie de 66% avec le vrai TfR; mais nous ne connaissons pas la fonction du TfR2 dans le métabolisme du fer. Deux groupes de chercheurs ont décrit récemment, indépendamment l'un de l'autre, une mutation «missense» A77D et N144H dans exon 3 et 5 resp. du gène de la ferroportine (SLC11A3) dans la région chromosomique 2q32 dans deux grandes familles présentant une hémochromatose héréditaire autosomale dominante [18, 19]. Les formes d'hémochromatose actuellement connues avec leur dénomination OMIM sont présentées dans le tableau 1.

Diagnostic moléculaire de l'hémochromatose

Le «goldstandard» international est la démonstration des mutations C282Y et H63D sur le gène HFE. Les autres mutations et gènes ne doivent être analysés que si l'indication clinique est posée, et exigent une interprétation différenciée. La démonstration directe d'une mutation peut se faire selon plusieurs méthodes. La plus courante est qu'après isolement de l'ADN à partir de sang total, ou de cellules de la muqueuse buccale par PCR (polymerase chain reaction), sont amplifiés exon 2 pour la H63D et exon 4 pour la C282Y avec des «primers» spécifiques, et analysés après scission par enzymes de restriction. Dans la séquence type sauvage d'exon 4, il y a une interface pour l'enzyme de restriction RsaI. La mutation C282Y donne une interface supplémentaire. Après séparation des produits d'amplification par gels d'agarose ou de polyacrylamide, la dimension et le nombre des bandes permettent d'affirmer la présence de la mutation, ou l'hétéro- ou l'homozygotie (fig. 4). La séquence d'exon 2 contient une interface pour l'enzyme de restriction BspHI. Cette interface est détruite par cette mutation H63D, et en présence de la mutation le produit PCR est intact (208 bp) (fig. 4). Cette analyse de longueur des fragments par restriction permet de mettre ces deux mutations en évidence en quelques heures.

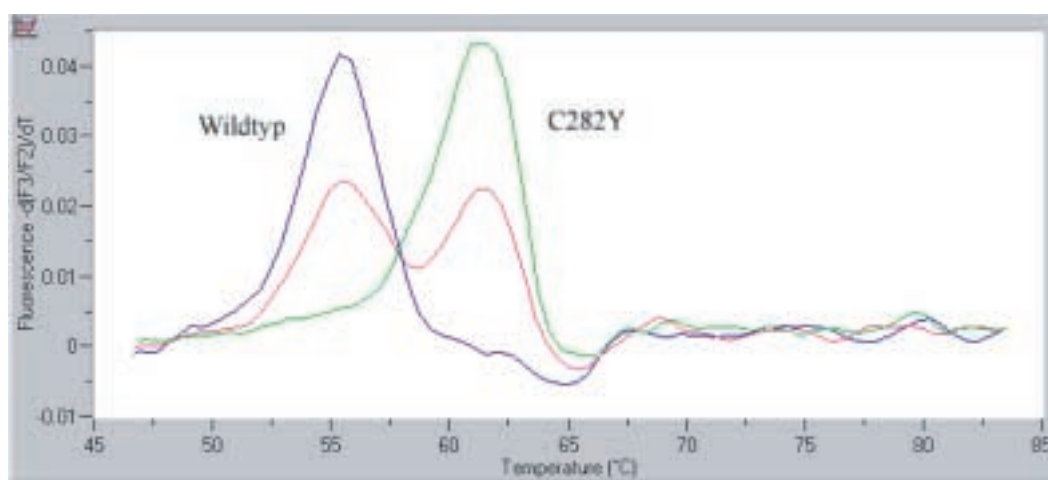
Une méthode encore plus efficace utilise les oligonucléotides marqués par fluorescence, complémentaires à la séquence type sauvage ou mutée, qui permet de mettre les deux mutations C282Y et H63D par PCR rapide suivie d'une

Figure 4.

Mise en évidence directe de la mutation C282Y après scission par l'enzyme de restriction RsaI. Le type sauvage a un fragment des paires de bases 111 bp et 29 bp. La mutation C282Y crée une interface supplémentaire au niveau du fragment 140 bp, ce qui donne deux fragments de 111 bp et 29 bp (ce dernier non visible).

**Figure 5.**

Analyse des courbes de fusion dans le système LightCycler pour mettre les mutations C282Y et H63D en évidence.



analyse des courbes de fusion dans un système LightCycler (fig. 5).

En Suisse, aucune de ces deux mutations C282Y et H63D ne peut être démontrée chez 4–9% des patients ayant des signes cliniques d'hémochromatose. Après exclusion d'autres facteurs pouvant également être en cause dans une surcharge en fer, tels que transfusions sanguines ou alcoolisme, il est possible de rechercher d'autres mutations sur le gène HFE, ou d'autres gènes impliqués dans le métabolisme du fer, si la suspicion d'hémochromatose génétique est toujours présente.

80–85% des patients ayant une hémochromatose sont homozygotes pour la mutation C282Y. Et comme cette maladie est si fréquente, un screening des patients est recommandé de manière à dépister à temps un éventuel risque de maladie chez leurs enfants. Ce screening est également indiqué dans la fratrie du patient, pour diagnostiquer les homozygotes éventuellement encore asymptomatiques et les porteurs sains.

4–5% des patients présentent une hétérozygotie *compound* (C282Y/H63D), et 1–2% une

homozygotie pour la mutation H63D [20]. Comme cette mutation a moins d'influence sur la fonction protéique que la mutation C282Y, il ne faut pas s'attendre à avoir absolument une forme classique d'hémochromatose héréditaire, mais plutôt une forme plus discrète. Mais si elle est présente avec la mutation C282Y, ou à l'état homozygote, le risque de maladie augmente très nettement par rapport à la population générale. Le même screening que chez les homozygotes C282Y est de mise pour le diagnostic des membres de la famille et le/la partenaire.

Une personne qui présente deux mutations de l'hémochromatose héréditaire transmet de toute façon l'une de ses mutations à ses descendants, qui ne seront à coup sûr que des porteurs sains. Si l'autre parent est également porteur d'une mutation de l'hémochromatose héréditaire, le risque de maladie pour leurs enfants est de 50%. Si les deux partenaires sont porteurs d'une hémochromatose héréditaire, leurs enfants auront un risque de maladie de 25%.

Si le diagnostic est posé précocement, il n'est

pas possible de dire avec certitude si la maladie va se manifester ou pas. Mais la présence de deux mutations de l'hémochromatose héréditaire prédispose sans aucun doute à une surcharge en fer, ce qui fait que dans de telles situations, il faut contrôler régulièrement les

paramètres du fer, ce qui permettra de faire immédiatement le diagnostic et de mettre en route le traitement à temps. Il vaut encore mieux conseiller à ces patients d'être donneurs réguliers de sang, pour prévenir une accumulation de fer.

Références

- Adams P, Brissot P, Powell L. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis – Part II. Expert document. *J Hepatol* 2000;33:487–96.
- Bradley LA, Haddow JE, Palomaki GE. Population screening for hemochromatosis: A unifying analysis of published intervention trials. *J Med Screen* 1996;3:178–84.
- Hanson EH, Imperatore G, Burke W. HFE gene and hereditary hemochromatosis: A HuGE review. *Am J Epidemiol* 2001;154:193–206.
- Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G to A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutations in the USA. *Lancet* 2002;359:211–8.
- Åsberg A, Hveem K, Thorstensen K, Ellekjær E, Kannelonning K, Fjosne U, et al. Screening for hemochromatosis: High prevalence and low morbidity in an unselected population of 65,238 persons. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:1108–15.
- Parkkila S, Niemelä O, Britton RS, Fleming RE, Waheed A, Bacon BR, et al. Molecular aspects of iron absorption and HFE expression. *Gastroenterology* 2001;121:1489–96.
- Salter-Cid L, Brunmark A, Li YH, Leturcq D, Peterson PA, Jackson MR, et al. Transferrin receptor is negatively modulated by the hemochromatosis protein HFE: Implications for cellular iron homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:5434–9.
- Zoller H, Pietrangelo A, Vogel W, Weiss G. Duodenal metal-transporter (DMT-1, NRAMP-2) expression in patients with hereditary haemochromatosis. *Lancet* 1999;353:2120–3.
- Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:8780–5.
- Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hemochromatosis. *Nature Genet* 1996;13:399–408.
- Jazwinska EC, Cullen LM, Busfield F, Pyper WR, Webb SI, Powell LW, et al. Hemochromatosis and HLA-H. *Nature Genet* 1996;14:249–51.
- Carella M, D'Ambrosio L, Totaro A, Grifa A, Valentino MA, Piperno A, et al. Mutation analysis of the HLA-H gene in Italian hemochromatosis patients. *Am J Hum Genet* 1997;60:828–32.
- Feder JN, Tsuchihashi Z, Irrinki A, Lee VK, Mapa FA, Morikang E, et al. The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts β_2 -microglobulin interaction and cell surface expression. *J Biol Chem* 1997;272:14025–8.
- Lebrón JA, Bennett MJ, Vaughn DE, Chirino AJ, Snow PM, Mintier GA, et al. Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 1998;93:111–23.
- Feder JN, Penny DM, Irrinki A, Lee VK, Lebrón JA, Watson N, et al. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:1472–7.
- Mura C, Ragueneas O, Férec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: Evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis. *Blood* 1999;93:2502–5.
- Camaschella C, Roetto A, Cali A, De Gobbi M, Garozzo G, Carella M, et al. The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nature Genet* 2000;25:14–5.
- Montosi G, Donovan A, Totaro A, Garuti C, Pignatti E, Cassanelli S, et al. Autosomal-dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001;108:619–23.
- Njajou OT, Vaessen N, Joosse M, Berghuis B, Van Dongen JWF, Breuning MH, et al. A mutation in SLC11A3 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Nature Genet* 2001;28:213–4.
- Lyon E, Frank EL. Hereditary hemochromatosis since discovery of the HFE gene. *Clin Chem* 2001;47:1147–56.