

UNIVERSITE MOHAMMED V –SOUISSI–
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE –RABAT

ANNEE: 2013

THESE N °: 45

MÉTABOLISME DU FER
IMPLICATION DE L'HEPCIDINE DANS SES
PATHOLOGIES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mr DIHI MOUSSA

Né le 20 AVRIL 1986 à GUELIMIM

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT
EN PHARMACIE

MOTS CLES : METABOLISME DU FER- HEPcidine-HEMOCHROMATOSE-
ANEMIE.

MEMBRES DE JURY

Mr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Mme. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

Mme. S. EL HAMZAOUI

Professeur de Microbiologie

Mme. N. MESSAOUDI

Professeur agrégé d'Hématologie biologique

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِكَ مَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI -
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT
Conservateur : Ahmed ZAHIDI

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLI Abdeslam Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie – Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

- 11. Pr. ABROUQ Ali*
- 12. Pr. BENOMAR M'hammed
- 13. Pr. BENSOUA Mohamed
- 14. Pr. BENOSMAN Abdellatif
- 15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

- 16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
- 17. Pr. BALAFREJ Amina
- 18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
- 19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
- 20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

- 21. Pr. BOUCETTA Mohamed*
- 22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
- 23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
- 24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
- 25. Pr. NAJI M'Barek *
- 26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

- 27. Pr. BENJELLOUN Halima
- 28. Pr. BENSaid Younes
- 29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
- 30. Pr. IHRAI Hssain *
- 31. Pr. IRAQI Ghali
- 32. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

- 33. Pr. AJANA Ali
- 34. Pr. AMMAR Fanid
- 35. Pr. CHAHED OUZZANI Houriaép.TAOBANEGastro-Entérologie
- 36. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq
- 37. Pr. EL HAITEM Naïma
- 38. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
- 39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
- 40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
- 41. Pr. LACHKAR Hassan
- 42. Pr. OHAYON Victor*
- 43. Pr. YAHYAOUY Mohamed

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

- 44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib

Chirurgie Pédiatrique

45. Pr. DAFIRI Rachida
 46. Pr. FAIK Mohamed
 47. Pr. HERMAS Mohamed
 48. Pr. TOLOUNE Farida*

Radiologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

49. Pr. ADN AOUI Mohamed
 50. Pr. AOUNI Mohamed
 51. Pr. BENAMEUR Mohamed*
 52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
 53. Pr. CHAD Bouziane
 54. Pr. CHKOFF Rachid
 55. Pr. KHARBACH Aïcha
 56. Pr. MANSOURI Fatima
 57. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda
 58. Pr. SEDRATI Omar*
 59. Pr. TAZI Saoud Anas

Médecine Interne
 Médecine Interne
 Radiologie
 Cardiologie
 Pathologie Chirurgicale
 Urologie
 Gynécologie -Obstétrique
 Anatomie-Pathologique
 Neurologie
 Dermatologie
 Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

60. Pr. AL HAMANY Zaïtounia
 61. Pr. ATMANI Mohamed*
 62. Pr. AZZOUZI Abderrahim
 63. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM
 64. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
 65. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
 66. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif
 67. Pr. BENSOU DA Yahia
 68. Pr. BERRAHO Amina
 69. Pr. BEZZAD Rachid
 70. Pr. CHABRAOUI Layachi
 71. Pr. CHANA El Houssaine*
 72. Pr. CHERRAH Yahia
 73. Pr. CHOKAIRI Omar
 74. Pr. FAJRI Ahmed*
 75. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
 76. Pr. KHATTAB Mohamed
 77. Pr. NEJMI Maati
 78. Pr. OUAALINE Mohammed*
 79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH
 80. Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Néphrologie
 Chirurgie Générale
 Hématologie
 Chirurgie Générale
 Pharmacie galénique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Biochimie et Chimie
 Ophtalmologie
 Pharmacologie
 Histologie Embryologie
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Anesthésie-Réanimation
 Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
 Pharmacologie
 Chimie thérapeutique

Décembre 1992

81. Pr. AHALLAT Mohamed
 82. Pr. BENOUDA Amina

Chirurgie Générale
 Microbiologie

83. Pr. BENSOUDA Adil
84. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
85. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
86. Pr. CHRAIBI Chafiq
87. Pr. DAOUDI Rajae
88. Pr. DEHAYNI Mohamed*
89. Pr. EL HADDOURY Mohamed
90. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
91. Pr. FELLAT Rokaya
92. Pr. GHAFIR Driss*
93. Pr. JIDDANE Mohamed
94. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
95. Pr. TAGHY Ahmed
96. Pr. ZOUHDI Mimoun

Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

97. Pr. AGNAOU Lahcen
98. Pr. AL BAROUDI Saad
99. Pr. BENCHERIFA Fatiha
100. Pr. BENJAAFAR Noureddine
101. Pr. BENJELLOUN Samir
102. Pr. BEN RAIS Nozha
103. Pr. CAOUI Malika
104. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
105. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
106. Pr. EL AOUAD Rajae
107. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
108. Pr. EL HASSANI My Rachid
109. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur
110. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
111. Pr. ERROUGANI Abdelkader
112. Pr. ESSAKALI Malika
113. Pr. ETTAYEBI Fouad
114. Pr. HADRI Larbi*
115. Pr. HASSAM Badredine
116. Pr. IFRINE Lahssan
117. Pr. JELTHI Ahmed
118. Pr. MAHFOUD Mustapha
119. Pr. MOUDENE Ahmed*
120. Pr. OULBACHA Said
121. Pr. RHRAB Brahim
122. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR
123. Pr. SLAOUI Anas

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Générale
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

- 124. Pr. ABBAR Mohamed*
- 125. Pr. ABDELHAK M'barek
- 126. Pr. BELAIDI Halima
- 127. Pr. BRAHMI Rida Slimane
- 128. Pr. BENTAHILA Abdelali
- 129. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
- 130. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
- 131. Pr. CHAMI Ilham
- 132. Pr. CHERKAOUI LallaOuafae
- 133. Pr. EL ABBADI Najia
- 134. Pr. HANINE Ahmed*
- 135. Pr. JALIL Abdelouahed
- 136. Pr. LAKHDAR Amina
- 137. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

- 138. Pr. ABOUQUAL Redouane
- 139. Pr. AMRAOUI Mohamed
- 140. Pr. BAIDADA Abdelaziz
- 141. Pr. BARGACH Samir
- 142. Pr. BEDDOUCHE Amokrane*
- 143. Pr. BENZAZZOUZ Mustapha
- 144. Pr. CHAARI Jilali*
- 145. Pr. DIMOU M'barek*
- 146. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
- 147. Pr. EL MESNAOUI Abbes
- 148. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
- 149. Pr. FERHATI Driss
- 150. Gynécologie Obstétrique
- 151. Pr. HASSOUNI Fadil
- 152. Pr. HDA Abdelhamid*
- 153. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
- 154. Pr. IBRAHIMY Wafaa
- 155. Pr. MANSOURI Aziz
- 156. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
- 157. Pr. RZIN Abdelkader*
- 158. Pr. SEFIANI Abdelaziz
- 159. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie

Médecine Préventive et Santé Publique
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

- 160. Pr. AMIL Touriya*
- 161. Pr. BELKACEM Rachid
- 162. Pr. BELMAHI Amin

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Chirurgie réparatrice et plastique

163. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
164. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
165. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
166. Pr. GAOUZI Ahmed
167. Pr. MAHFOUDI M'barek*
168. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
169. Pr. MOHAMMADI Mohamed
170. Pr. MOULINE Soumaya
171. Pr. OUADGHIRI Mohamed
172. Pr. OUZEDDOUN Naima
173. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Parasitologie
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumo-phtisiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

174. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
175. Pr. BEN AMAR Abdeselem
176. Pr. BEN SLIMANE Lounis
177. Pr. BIROUK Nazha
178. Pr. BOULAICH Mohamed
179. Pr. CHAOUIR Souad*
180. Pr. DERRAZ Said
181. Pr. ERREIMI Naima
182. Pr. FELLAT Nadia
183. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
184. Pr. HAIMEUR Charki*
185. Pr. KANOUNI NAWAL
186. Pr. KOUTANI Abdellatif
187. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
188. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
189. Pr. NAZI M'barek*
190. Pr. OUAHABI Hamid*
191. Pr. SAFI Lahcen*
192. Pr. TAOUFIQ Jallal
193. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
O.R.L.
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Physiologie
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
Neurologie
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

194. Pr. AFIFI RAJAA
195. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
196. Pr. ALOUANE Mohammed*
197. Pr. BENOMAR ALI
198. Pr. BOUGTAB Abdesslam
199. Pr. ER RIHANI Hassan
200. Pr. EZZAITOUNI Fatima
201. Pr. KABBAJ Najat
202. Pr. LAZRAK Khalid (M)

Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-Laryngologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

203. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
204. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
205. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

Janvier 2000

206. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
207. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
208. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
209. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
210. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
211. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
212. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
213. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
214. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie
215. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
216. Pr. EL OTMANY Azzedine	Chirurgie Générale
217. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
218. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
219. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
220. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
221. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
222. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
223. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
224. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

225. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
226. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
227. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
228. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
229. Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie
230. Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
231. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
232. Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
233. Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
234. Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
235. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
236. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
237. Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
238. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
239. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
240. Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie

241. Pr. MAHASSINI Najat
242. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
243. Pr. NASSIH Mohamed*
244. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

245. Pr. ABABOU Adil
246. Pr. AOUAD Aicha
247. Pr. BALKHI Hicham*
248. Pr. BELMEKKI Mohammed
249. Pr. BENABDELJLIL Maria
250. Pr. BENAMAR Loubna
251. Pr. BENAMOR Jouda
252. Pr. BENELBARHDADI Imane
253. Pr. BENNANI Rajae
254. Pr. BENOUACHANE Thami
255. Pr. BENYOUSSEF Khalil
256. Pr. BERRADA Rachid
257. Pr. BEZZA Ahmed*
258. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
259. Pr. BOUHOUCHE Rachida
260. Pr. BOUMDIN El Hassane*
261. Pr. CHAT Latifa
262. Pr. CHELLAOUI Mounia
263. Pr. DAALI Mustapha*
264. Pr. DRISSI Sidi Mourad*
265. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
266. Pr. EL HIJRI Ahmed
267. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
268. Pr. EL MADHI Tarik
269. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
270. Pr. EL OUNANI Mohamed
271. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
272. Pr. ETTAIR Said
273. Pr. GAZZAZ Miloudi*
274. Pr. GOURINDA Hassan
275. Pr. HRORA Abdelmalek
276. Pr. KABBAJ Saad
277. Pr. KABIRI EL Hassane*
278. Pr. LAMRANI Moulay Omar
279. Pr. LEKEHAL Brahim
280. Pr. MAHASSIN Fattouma*
281. Pr. MEDARHRI Jalil
282. Pr. MIKDAME Mohammed*
283. Pr. MOHSINE Raouf

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale

284. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
285. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
286. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
287. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
288. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
289. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie
290. Pr. TAZI MOUKHA Karim	Urologie

Décembre 2002

291. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
292. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
293. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
294. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
295. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
296. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
297. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
298. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
299. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
300. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
301. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
302. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
303. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
304. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
305. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
306. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
307. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
308. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
309. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
310. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
311. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
312. Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
313. Pr. IKEN Ali	Urologie
314. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
315. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
316. Pr. KRIOULE Yamina	Pédiatrie
317. Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
318. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
319. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
320. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
321. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
322. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
323. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
324. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
325. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
326. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie

327. Pr. RHOUE Hakima
328. Pr. SIAH Samir *
329. Pr. THIMOU Amal
330. Pr. ZENTAR Aziz*
331. Pr. ZRARA Ibtisam*

Néphrologie
Anesthésie Réanimation
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

332. Pr. ABDELLAH El Hassan
333. Pr. AMRANI Mariam
334. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
335. Pr. BENKIRANE Ahmed*
336. Pr. BENRAMDANE Larbi*
337. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
338. Pr. BOULAADAS Malik
339. Pr. BOURAZZA Ahmed*
340. Pr. CHAGAR Belkacem*
341. Pr. CHERRADI Nadia
342. Pr. EL FENNI Jamal*
343. Pr. EL HANCHI ZAKI
344. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
345. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
346. Pr. HACHI Hafid
347. Pr. JABOUIRIK Fatima
348. Pr. KARMANE Abdelouahed
349. Pr. KHABOUZE Samira
350. Pr. KHARMAZ Mohamed
351. Pr. LEZREK Mohammed*
352. Pr. MOUGHIL Said
353. Pr. NAOUMI Asmae*
354. Pr. SAADI Nozha
355. Pr. SASSENOU ISMAIL*
356. Pr. TARIB Abdelilah*
357. Pr. TIJAMI Fouad
358. Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Chimie Analytique
Anesthésie Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Neurologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Cardiologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Gastro-Entérologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

359. Pr. ABBASSI Abdellah
360. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
361. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
362. Pr. ALLALI Fadoua
363. Pr. AMAR Yamama

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Néphrologie

364. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
365. Pr. AZIZ Nouredine*	Radiologie
366. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
367. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
368. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
369. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
370. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
371. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
372. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
373. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
374. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
375. Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
376. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
377. Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
378. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
379. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
380. Pr. KENDOSSI Mohamed*	Cardiologie
381. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
382. Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
383. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
384. Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
385. Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
386. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam	Ophtalmologie
387. Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
424. Pr. AFIFI Yasser	Dermatologie
425. Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra	Dermatologie
427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429. Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAOUI Younes	Chirurgie Cardio – Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation
441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine	Microbiologie

442. Pr. JROUNDI Laila
443. Pr. KARMOUNI Tariq
444. Pr. KILI Amina

Radiologie
Urologie
Pédiatrie

445. Pr. KISRA Hassan
446. Pr. KISRA Mounir
447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
450. Pr. MANSOURI Hamid*
451. Pr. NAZIH Naoual
452. Pr. OUANASS Abderrazzak
453. Pr. SAFI Soumaya*
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
455. Pr. SEFIANI Sana
456. Pr. SOUALHI Mouna
457. Pr. TELLAL Saida*
458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Médecine Interne
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
O.R.L
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Anatomie Pathologique
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
462. Pr. BAITE Abdelouahed *
463. Pr. TOUATI Zakia
464. Pr. OUZZIF Ezzohra *
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *
466. Pr. SELKANE Chakir *
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
469. Pr. EL ABSI Mohamed
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
473. Pr. GHARIB Noureddine
474. Pr. TABERKANET Mustafa *
475. Pr. ISMAILI Nadia
476. Pr. MASRAR Azlarab
477. Pr. RABHI Monsef *
478. Pr. MRABET Mustapha *
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *
480. Pr. SEFFAR Myriame
481. Pr. LOUZI Lhoussain *
482. Pr. MRANI Saad *

Anatomie pathologique
Anesthésie réanimation
Anesthésier réanimation
Anesthésie réanimation
Anesthésie réanimation
Cardiologie
Biochimie
Biochimie
Chirurgie cardio vasculaire
Chirurgie cardio vasculaire
Chirurgie cardio vasculaire
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Chirurgie plastique
Chirurgie vasculaire périphérique
Dermatologie
Hématologie biologique
Médecine interne
Médecine préventive santé publique et hygiène
Microbiologie
Microbiologie
Microbiologie
Virologie

483. Pr. GANA Rachid
 484. Pr. ICHOU Mohamed *
 485. Pr. TACHFOUTI Samira
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 487. Pr. MELLAL Zakaria
 488. Pr. AMMAR Haddou *
 489. Pr. AOUI Sarra
 490. Pr. TLIGUI Houssain
 491. Pr. MOUTAJ Redouane *
 492. Pr. ACHACHI Leila
 493. Pr. MARC Karima
 494. Pr. BENZIANE Hamid *
 495. Pr. CHERKAOUI Naoual *
 496. Pr. EL OMARI Fatima
 497. Pr. MAHI Mohamed *
 498. Pr. RADOUANE Bouchaib*
 499. Pr. KEBDANI Tayeb
 500. Pr. SIFAT Hassan *
 501. Pr. HADADI Khalid *
 502. Pr. ABIDI Khalid
 503. Pr. MADANI Naoufel
 504. Pr. TANANE Mansour *
 505. Pr. AMHAJJI Larbi *

Neuro chirurgie
 Oncologie médicale
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie
 ORL
 Parasitologie
 Parasitologie
 Parasitologie
 Pneumo phtisiologie
 Pneumo phtisiologie
 Pharmacie clinique
 Pharmacie galénique
 Psychiatrie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Réanimation médicale
 Réanimation médicale
 Traumatologie orthopédie
 Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes
 Pr. AZENDOUR Hicham *
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BOUHSAIN Sanae *
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. LAMSAOURI Jamal *
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. AMAHZOUNE Brahim*
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
 Pr. BOUNAIM Ahmed *
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. CHTATA Hassan Toufik *
 Pr. BOUI Mohammed *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. DOGHMI Kamal *
 Pr. ABOUZAHER Ali*

Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Biochimie
 Cardiologie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Dermatologie
 Gastro-entérologie
 Gynécologie obstétrique
 Hématologie biologique
 Hématologie biologique
 Hématologie clinique
 Médecine interne

Pr. ENNIBI Khalid *
 Pr. EL OUENNASS Mostapha
 Pr. ZOUHAIR Said*
 Pr. L'kassimiHachemi*
 Pr. AKHADDAR Ali *
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
 Pr. AGADR Aomar *
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
 Pr. BASSOU Driss *
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
 Pr. KADI Said *

Médecine interne
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Neuro-chirurgie
 Neurologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pneumo-phtisiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Rhumatologie
 Traumatologie orthopédique
 Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. CHERRADI Ghizlan
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. KANOUNI Lamya
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. BOUSSIF Mohamed*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. RAISSOUNI Zakaria*
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. LEZREK Mounir
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. ZOUAIDIA Fouad
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. CHADLI Mariama*

Médecine interne
 Gastro entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie réanimation
 Radiothérapie
 Radiologie
 Radiologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Médecine aérologique
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Chirurgie pédiatrique
 Urologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Ophtalmologie
 Hématologie
 Anatomie pathologique
 Anatomie pathologique
 Physiologie
 Biochimie chimie
 Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI LallaChadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootchnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biotechnologie
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

**** Enseignants Militaires***

Dédicaces

A Mes Très Chers Parents

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée.

Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.

A mon frère et mes sœurs

Vous m'aviez toujours aidé et ces quelques lignes sont insuffisantes pour exprimer mon profond amour et ma reconnaissance pour les honorables services soutenus.

Que cette thèse vous traduise ma profonde affection.

A ma grande famille

En témoignage de mon respect et de mon amour.

A mes amis

En souvenir des agréables moments partagés

Remerciement

A notre maitre et président de thèse

Monsieur le professeur M. ZOUIDJ

*Professeur de microbiologie à la faculté de médecine et de
pharmacie de rabat*

Nous sommes très sensibles à l'honneur et au privilège que vous nous accordez en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Nous sommes fortes impressionnés par vos grandes qualités humaines qui n'ont d'égales que votre haute compétence.

Veillez trouver dans ce travail le témoignage de notre profond respect et de notre haute estime.

A notre maitre et rapporteur de thèse

Madame le professeur S. TELLAL

*Professeur de biochimie à la faculté de médecine et de
pharmacie de rabat*

Votre compétence, votre droiture et votre simplicité sont autant de qualité qui font de vous quelqu'un d'exceptionnel.

Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail et de veiller à son élaboration en ne ménageant ni votre temps ni vos conseils.

Aucune dédicace ne saurait exprimer à sa juste valeur notre gratitude et nos vifs remerciements.

A notre maitre et juge de thèse

Madame le professeur S. EL HAMZAOU

*Professeur de microbiologie à la faculté de médecine et de
pharmacie de rabat*

Tout l'honneur est pour nous de vous voir siéger parmi nos juges.

Votre gentillesse et vos qualités humaines ont toujours suscité notre admiration.

Veillez trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre respect.

A notre maitre et juge de thèse

Madame le professeur N. Messaoudi

*Professeur agrégé d'hématologie biologique à la faculté
de médecine et de pharmacie de rabat*

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde et respectueuse reconnaissance.

Liste des figures

Figure 1. L'absorption intestinale du fer.....	11
Figure 2. Endocytose du fer lié à la Tf par RTf.....	12
Figure 3. Structure de l'hémoglobine humaine adulte ($\alpha_2\beta_2$).....	14
Figure 4. Érythrophagocytose et recyclage du fer.....	15
Figure 5. Entrée et sortie du fer de l'hépatocyte.....	17
Figure 6. Représentation schématique de la molécule de RTf.....	20
Figure 7. Structure et produits de clivage de RTf1.....	22
Figure 8. Proportion des sous-unités lourdes (H) et légères (L) composant la ferritine dans différents tissus.....	25
Figure 9. Rôle de la ferroportine dans le contrôle de l'homéostasie du fer.....	30
Figure 10. Catabolisme de l'hème: mode d'action de l'hème oxygénase et de la biliverdine réductase.....	36
Figure 11. Régulation de l'absorption intestinale du fer «modèle de la crypte ».....	44
Figure 12. Modèle de régulation via l'hepcidine.....	46
Figure 13. Représentation schématique de l'impact de la modulation du statut cellulaire en fer sur l'expression du récepteur de la transferrine et sur celle de la ferritine.....	49

Figure 14. Représentation schématique de l'impact de la modulation, par le statut cellulaire en fer, de l'interaction entre les IRPs et les IRE localisés respectivement sur les zones localisées dans les régions 5' et 3', non codantes des ARNm de la ferritine et du récepteur 1 de la transferrine.....	50
Figure 15. Phénotype des souris <i>Usf2</i> ^{-/-}	67
Figure 16. Phénotype des souris <i>TTR-Hepc1</i>	68
Figure 17. Structure tridimensionnelle et séquence de la protéine hepcidine humaine.....	70
Figure 18. Séquence de l'hepcidine mature de différentes espèces.....	71
Figure 19. Internalisation et dégradation de la ferroportine-GFP par l'hepcidine.....	74
Figure 20. Axe fonctionnel hepcidine-ferroportine dans le contrôle du fer circulant et conséquences de sa dérégulation.....	76
Figure 21. Site d'expression de l'hepcidine.....	78
Figure 22. Représentation schématique de l'action de l'hepcidine.....	82
Figure 23. Mutations du gène humain de l'hepcidine (HAMP).....	85
Figure 24. La structure de l'hémojuvéline et les mutations du gène humain de l'hémojuvéline.....	87
Figure 25. Représentation schématique des différents domaines de <i>TMPRSS6</i> et de son implication dans la régulation de synthèse de l'hepcidine	93

Figure 26. Représentation de la voie de signalisation des « Bone Morphogenetic Protein ».....	96
Figure 27. Schéma de régulation de l'hépcidine.....	104
Figure 28. Représentation schématique de la position des protéines des gènes mutés au cours des hémochromatoses génétiques identifiés.....	110
Figure 29. Les deux grands mécanismes sous-tendant le développement des surcharges génétiques en fer.....	113
Figure 30. Interrelation du fer et de l'hépcidine dans l'étiologie des hémochromatoses et de l'anémie chronique inflammatoire.....	117
Figure 31. Schéma de régulation du métabolisme du fer via HFE, RTf2, HJV et l'hépcidine.....	118
Figure 32. Mécanisme physiopathologique de la surcharge en fer post-transfusionnelle.....	120
Figure 33. Schéma de l'interaction du métabolisme du fer et de l'inflammation.....	125

Liste des tableaux

Tableau I : Contenu en fer de l'organisme.....	7
Tableau II : Aliments riches en fer (taux moyens en mg/100 g).....	9
Tableau III : Principaux ligands de la cubiline et de la mégaline.....	38
Tableau IV : Outils disponibles pour le clinicien dans le cadre du diagnostic d'une pathologie du métabolisme du fer.....	52
Tableau V : Principales surcharges génétiques en fer.....	109
Tableau VI : Variations des paramètres sériques lors de l'anémie chronique inflammatoire et l'anémie ferriprive.....	122

Table des matières

Introduction.....	1
Partie 1 : Métabolisme du fer	4
1)- Généralités.....	5
2)-l'absorption, l'utilisation, le recyclage et le stockage du fer....	8
2-1)- l'absorption intestinale du fer.....	10
2-2)- l'utilisation du fer via le cycle Tf /RTf.....	11
2-3)- érythropoïèse et synthèse de l'hémoglobine.....	13
2-4)- le recyclage du fer : l'érythrophagocytose.....	14
2-5)- le stockage du fer.....	16
3)- molécules impliquées dans le métabolisme du fer.....	18
3-1)- protéine de liaison du fer : la transferrine(Tf).....	18
3-2)- les récepteurs de la transferrine : RTf1 et RTf2.....	19
3-2-1)- récepteur 1 de la transferrine (TfR1).....	21
3-2-2)- récepteur 2 de la transferrine (TfR2).....	22
3-3)- ferritine : la protéine de stockage.....	23
3-4)- les transporteurs membranaire de fer : DMT1, Nramp1et ferroportine.....	25
3-4-1)- DMT1.....	25
3-4-2)- Nramp1.....	26
3-4-3)- Ferroportine.....	28

3-5)- les ferriréductase : Dcyt b et Steap 3.....	31
3-5-1)- Dcyt b.....	31
3-5-2)- Steap 3.....	31
3-6)- les ferroxidases : la céruloplasmine et l'héphaestine.....	32
3-6-1)- la céruloplasmine.....	32
3-6-2)- l'héphaestine.....	33
3-7)- transport de l'hème : l'haptoglobine et l'hémopexine.....	33
3-8)- l'hème oxygénase(HO) : enzyme de dégradation de l'hème.....	35
3-9)- mégaline-cubiline.....	38
3-10)- IRP1 et IRP2 (Iron Regulatory Protein).....	39
3-11)- HFE.....	40
3-12)- hémojuvéline (HJV, RGMc).....	42
4)- Régulation du métabolisme du fer.....	42
4-1)- régulation systémique.....	43
4-1-1)- Modèle de la crypte.....	43
4-1-2)- Modèle de régulation via l'hepcidine.....	45
4-2)- système IRP/IRE.....	46
5)- Outils diagnostiques des pathologies du métabolisme du fer.....	51
5-1)- Absorption intestinale du fer.....	52
5-2)- détermination de la biodisponibilité du fer : Fer circulant.....	53
5-3)- Fer hématopoïétique.....	55

5-4)- détermination du stock en fer : Fer de réserve.....	57
5-5)- dosage de l'hepcidine.....	59
5-6)- céruloplasmine et activité ferroxidase.....	60
5-7)- dosage des formes anormales du fer.....	60
5-8)- mise en évidence de mutations.....	60

Partie 2 : L'Hepcidine : hormone clé du métabolisme du fer.....62

1)- Hepcidine : Découverte, structure, fonction(s) biologique(s) et mutations.....	63
1-1)- découverte de l'hepcidine.....	63
1-2)- du (des) gène(s) à la protéine hepcidine.....	69
1-3)- Mode d'action de l'hepcidine : Interaction avec la ferroportine.....	72
1-4)- site d'expression de l'hepcidine.....	77
1-5)- production et détection de l'hepcidine.....	78
1-6)- fonction(s) biologique(s) de l'hepcidine.....	81
1-7)- mutations de l'hepcidine.....	83
2)- Régulation de l'hepcidine.....	86

2-1)- le fer.....	86
2-1-1)- l'hémojuvélène.....	86
2-1-2)- la voie de signalisation des « bone morphogenic protein » BMP.....	94
2-2)- l'érythropoïèse.....	97
2-2-1)- l'érythropoïétine.....	97
2-2-2)- GDF15.....	98
2-2-3)- TWSG1.....	99
2-3)- l'hypoxie.....	99
2-3-1)- HIF1 α	99
2-3-2)- HIF2 α	100
2-4)- l'inflammation.....	101
2-4-1)- la voie de l'IL6.....	102
2-4-2)- la voie des BMPs.....	102

Partie 3 : Hpcidine et désordres du métabolisme

 martial.....	105
1)- hpcidine et hémochromatose héréditaire.....	106
1-1)- hémochromatose héréditaire.....	106
1-1-1)- introduction.....	106

1-1-2)- contexte historique.....	106
1-1-3)- principales formes d'hémochromatoses héréditaires.....	107
1-1-4)- bases physiologiques et moléculaires des hémochromatoses héréditaires.....	111
1-2)- hepcidine et hémochromatose héréditaire.....	115
2)- hepcidine et autres surcharges en fer.....	119
2-1)- surcharge en fer secondaires.....	119
2-2)- surcharge en fer liée à l'alcool.....	121
3)- hepcidine et anémies.....	121
3-1)- anémies ferriprives.....	121
3-2)- anémies chroniques inflammatoires.....	123
4)- Hpcidine et thérapeutique.....	127
Conclusion.....	129

Résumé

Bibliographies

Abréviations

ACD : anemia of chronic disease.

ADN : L'acide désoxyribonucléique

ADP : L'adénosine diphosphate

β2m : β2-microglobuline

BFU-E : Burst Forming Unit-Erythroid

BMP : Bone Morphogenetic Protein

CBP: CREB binding protein.

CHr: Teneur en hémoglobine des réticulocytes

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CO : monoxyde de carbone

CP : céruloplasmine

CST : coefficient de saturation de la transferrine.

CUB : urchin embryonic growth factor: Facteur de croissance embryonnaire de l'oursin.

Dcytb: Duodenal cytochrome b reductase

DMT1: Divalent Metal Transporter 1

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

EPO: Erythropoïétine.

Ferroportine-GFP: ferroportine-green fluorescent protein

FPR: fer plasmatique réactif : **LPI**: Labile plasma iron.

GDF15: Growth differentiation Factor 15.

GPI: glycoposphatidylinositol.

GR: Globule Rouge

HAMP : Hepcidin AntiMicrobial Peptide

Hb: hémoglobine.

HBD : Hepcidin Binding Domain

HH : Hémochromatose Héritaire

HIF : Hypoxia Inducible Factor

HJV : hémojuvénine

HO: Hème-Oxygénase

HRE : Hypoxia Responsive Element

IL : interleukine

IRE : Iron Responsive Element

IREG1 : Iron Regulated Protein 1 = ferroportine

IRP : Iron Regulatory Protein

JAK: proteins Kinases Janus.

KI : knock-in

KO : knock-out

LDLRA : low-density lipoprotein receptor : Récepteurs aux lipoprotéines de faibles densités

LPI : Labile Plasma Iron

LPS : Lipopolysaccharide

MH1 : Mad Homology 1.

mk : microcytic anemia, anémie microcytaire

MTP1 : Metal Transporter Protein 1 = ferroportine

NLS : Nuclear localization signal.

NO : le monoxyde d'azote

Nramp: Natural resistance associated macrophage protein.

NTBI : Non Transferrin Bound Iron = fer non lié à la transferrine : **FNLT**

IRIDA : iron-refractory iron deficiency anemia

IRM : imagerie par résonance magnétique

RGM : Repulsive Guidance Molecule.

RTf1: récepteur transferrine 1: **TfR2**

RTf2: récepteur transferrine 2: **TfR1**

RTfs : **RsTf** : récepteur soluble ou sérique de la transferrine.

SBE : SMAD binding element.

SFBC: Société Française de Biologie Clinique.

siRNA : small interfering RNA: petits ARN interférents

Slc11a3: solute carrier family 11 member 3.

Slc40a1: solute carrier family 40 member 1.

SMAD : Homo sapiens mothers against decapentaplegic homolog

STAT: Signal Transducers and Activators of Transcription.

STEAP: Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate

TCMH :Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine

Tf : transferrine

TGF- β : Transforming Growth Factor β

TLR4: Récepteur Toll-like 4

TMPRSS6: Transmembrane protease, serine 6. (La sérine protéase membranaire 6).

TNF : Tumour Necrosis Factor

TTR : transthyrétine

TWSG1: Twisted gastrulation protein homolog 1.

USF2 : Upstream Stimulatory Factor 2

VHL : Von Hippel-Lindau

UVA: ultra-violet A

VGM : volume globulaire moyen

INTRODUCTION

Dans un organisme en bonne santé, le fer est en mouvement permanent entre les sites où il est absorbé (le duodénum), où il est utilisé (principalement la moelle osseuse) et où il est stocké (le foie et la rate). L'homéostasie de ces mouvements de fer repose sur le contrôle strict de plusieurs paramètres tels que l'absorption intestinale du fer, son utilisation pour l'érythropoïèse, le recyclage du fer à partir des globules rouges défectueux ou en fin de vie, et enfin la bonne gestion des stocks de fer par les hépatocytes et les macrophages. Les maladies humaines qui affectent l'homéostasie du fer sont invariablement des désordres qui affectent ces mouvements et la distribution du fer dans les différents organes. L'anémie ferriprive, les hémochromatoses et les anémies des états inflammatoires chroniques entrent tous dans cette catégorie.

Ce travail est centré sur une hormone, l'hepcidine, dont l'histoire a commencé, avec la purification du peptide par deux laboratoires indépendants qui cherchaient à identifier de nouveaux peptides antimicrobiens. L'hepcidine tient son nom de son site majeur de production, « hep » pour hépatique, et « idine » de son activité bactéricide. Si aujourd'hui le rôle de l'hepcidine dans le métabolisme du fer n'est plus à démontrer, en revanche la fonction antimicrobienne du peptide ne semble pas compatible avec ses faibles concentrations circulantes chez les mammifères.

Dans la première partie de ce travail nous rappellerons les différents mécanismes du métabolisme du fer, nous traiterons ensuite dans la deuxième partie l'hepcidine comme hormone clé du métabolisme du fer et nous insisterons plus particulièrement sur les nouvelles données concernant la régulation de l'expression de cette hormone. Ces données concernant les mécanismes de régulation de l'hepcidine sont fondamentales car elles constituent autant de pistes thérapeutiques pour pouvoir moduler, en plus ou en moins, l'expression

et/ou l'activité de l'hormone dans différentes situations pathologiques associées à des désordres du métabolisme du fer.



PARTIE 1 : MÉTABOLISME DU FER

1)- Généralités :

Durant la dernière décade, la connaissance du métabolisme du fer a rapidement progressé. Les données obtenues permettent aujourd'hui de mieux comprendre comment le stock en fer de l'organisme, sa répartition entre les organes et les différents types cellulaires, ainsi que sa distribution dans la cellule sont maîtrisés. Ces données éclairent d'un nouveau jour un grand nombre de pathologies qui sont liées, ou associées, à une altération du métabolisme du fer [1].

Le fer est un cofacteur qui joue un rôle critique dans de nombreux processus biologiques, tels que le transport d'oxygène, le transport d'électrons ou la synthèse d'ADN. Lorsqu'il est sous forme libre, il est susceptible d'être engagé dans des réactions d'oxydoréduction conduisant à la formation de radicaux libres, pouvant générer un stress oxydatif lorsque les défenses antioxydantes de la cellule sont dépassées. Pour éviter la toxicité du fer, les organismes vivants ont développé des systèmes protéiques pour le transporter au travers des membranes cellulaires et le stocker sous une forme non toxique et facilement mobilisable en cas de besoin. Ainsi, une part importante du fer (65 % de la quantité totale de fer dans l'organisme) se trouve sous une forme héminique dans l'hémoglobine, la myoglobine et les enzymes respiratoires (cytochromes, oxydases, peroxydases, etc.). Le fer des réserves (forme non héminique, 35 % du total) est totalement capté par la ferritine, la protéine majeure de stockage intracellulaire. Enfin, une faible fraction du fer est présente dans le plasma associée à la transferrine (Tf), une protéine plasmatique le transportant vers les cellules (tableau I). Il existe

une autre forme de fer qui joue un rôle non négligeable dans l'homéostasie du fer mitochondrial: il s'agit des structures fer-soufre (Fe-S), assemblées dans la mitochondrie, qui sont des cofacteurs pour de nombreuses protéines mitochondriales (enzymes de la chaîne respiratoire) et quelques protéines cytosoliques.

De plus, le fer étant peu éliminé par les voies urinaires, l'organisme en limite les apports en maintenant son absorption intestinale très basse et en favorisant son stockage dans le foie et les macrophages de la rate par un mécanisme hautement contrôlé. L'Hepcidine, un peptide de 25 acides aminés synthétisé par le foie, sécrété dans le plasma et rapidement éliminé dans les urines, est l'élément principal de ce mécanisme de contrôle. [2].

Tableau I : Contenu en fer de l'organisme. [3]

	En mg (chez un être humain de 75kg)	mg/kg
Fer «fonctionnel»		
● Hémoglobine	2300	31
● Myoglobine	320	4
● Enzymes «héminique»	80	1
● Enzymes «non héminique»	100	1
	2800	37
Stock de fer (essentiellement foie)		
● Ferritine	700	9
● Hémosidérine	300	4
	1000	13
Total	3800	50
Pertes physiologiques de fer	1–2	
● Desquamation de la peau		
● Menstruations		

2)- L'absorption, l'utilisation, le recyclage et le stockage du fer :

Pour maintenir une quantité suffisante de fer dans l'organisme, et en particulier dans le pool métabolique (globules rouges et moelle hématopoïétique), il faut remplacer les pertes par des apports alimentaires. Si les apports sont insuffisants par rapport aux pertes, il s'installe un déséquilibre avec une carence en fer qui a des conséquences sur la santé. L'équilibre du statut en fer est très dépendant des niveaux de besoin en fer de l'organisme, qui varient au cours de la vie. Ces besoins sont plus élevés chez les enfants et les adolescents du fait de la croissance rapide, chez les femmes, de la puberté à la ménopause, du fait des pertes supplémentaires en fer dues aux menstruations, et chez les femmes enceintes à cause des besoins du fœtus et des transformations de l'organisme de la femme. Le fer apporté par l'alimentation peut se trouver sous deux formes, le fer héminique qui se trouve dans les viandes et les poissons (là où on trouve de l'hémoglobine ou de la myoglobine), fer bien absorbé par l'organisme appelé pour cela fer biodisponible (10 à 30 %) et le fer non héminique qui se trouve dans les céréales, les légumes secs, les fruits, les légumes, les œufs et les produits laitiers, fer beaucoup moins bien absorbé (1 à 5 %, fer peu biodisponible). Les aliments les plus riches en fer sont les abats, le sang (boudin noir), les viandes et les légumes secs, mais les légumes verts (notamment les épinards !) sont plutôt pauvres en fer (tableau II) [4].

Tableau II – Aliments riches en fer (taux moyens en mg/100 g) [4].

Levure de bière sèche	18
Boudin noir cuit	14
Poudre de cacao sans sucre	12
Foie de mouton	11
Foie de volaille	9
Farine de soja	9
Lentille crue sèche	8
Foie de veau	8
Moule cuite	7,5
Pâté de campagne	6,5
Jaune d'œuf	6,5
Persil	6
Haricot blanc	6
Pois cassé	6
Abricot sec	5,5
Huitre	5,5
Amande	5
Noisette	4,5
Bœuf rôti	4,5
Figue sèche	4
Sardine	3,5
Noix	3
Épinard	3
Côte de bœuf	3
Datte	3

2-1)- L'absorption intestinale du fer (*figure1*)

Le fer alimentaire est absorbé au niveau de la partie proximale de l'intestin grêle, le duodénum, par les entérocytes. Il est dans un premier temps réduit par la réductase Dcytb puis transporté à travers la membrane apicale de l'entérocyte par DMT1 (Divalent Metal Transporter1). Une fois dans la cellule, il peut être stocké dans la ferritine ou transporté de nouveau au pôle basolatéral vers le pool sanguin par le transporteur transmembranaire ferroportine. Dans la circulation sanguine, la transferrine permet de véhiculer le fer dans tout l'organisme. Pour cela, le fer doit être préalablement oxydé par la ferroxidase héphaestine située sur la membrane basolatérale de l'entérocyte. L'héphaestine est une protéine homologue à la céruloplasmine, ferroxidase circulante produite par le foie. Le fer lié à la transferrine (holotransferrine) est distribué aux cellules somatiques via le récepteur à la transferrine 1 (RTf1). [5, 6]

Le fer peut également être absorbé sous forme hémique et métabolisé grâce à une enzyme appelée l'hème oxygénase dont l'isoforme majeure est hème oxygénase 1 (HO-1), libérant ainsi l'atome de fer. L'absorption de l'hème est plus efficace que l'absorption du fer inorganique mais le mécanisme est encore mal connu. [2]

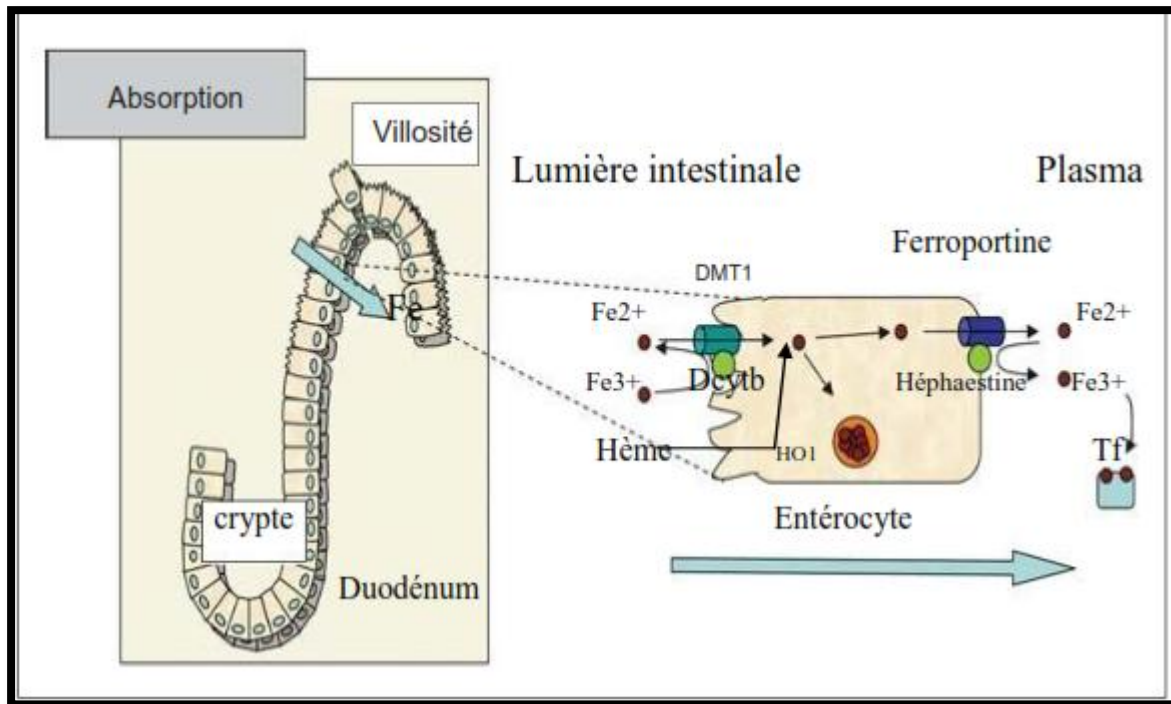


Figure 1. L'absorption intestinale du fer. [6]

Le fer est absorbé au niveau du duodénum par les entérocytes situés au sommet des villosités duodénales. Dans la lumière intestinale, le fer alimentaire est d'abord réduit par Dcytb, puis transporté par DMT1. Dans l'entérocyte, le fer peut soit être stocké dans la ferritine, soit transporté par la ferroportine vers le plasma. Il est ensuite oxydé avant d'être pris en charge par la transferrine circulante.

2-2)- L'utilisation du fer via le cycle Tf /RTf (figure 2)

La captation du fer-transferrine plasmatique par les cellules fait intervenir le récepteur 1 de la transferrine (TFRc). La protéine issue du gène TFRc est constituée de deux sous-unités identiques associées par des ponts disulfure et exprimée à la membrane cellulaire où elle joue le rôle de récepteur pour la transferrine. Le complexe transferrine-récepteur de la transferrine est internalisé au cours d'un processus d'endocytose. Le pH abaissé au sein de vésicules permet la libération du fer. Celui-ci sera alors exporté vers le cytoplasme grâce à DMT1. Cet export du fer nécessite une conversion du Fe^{3+} libéré de la

transferrine en Fe^{2+} . Celle-ci fait intervenir la protéine STEAP3 (six-transmembrane epithelial antigen of prostate 3) qui est une ferriréductase. Ce mécanisme de capture du fer est retrouvé dans l'ensemble des cellules, en dehors des érythrocytes au sein desquels l'incorporation de fer associé à l'hémoglobine s'est effectuée durant la phase de maturation des érythroblastes. Le fer non lié à la transferrine est capté par une voie indépendante du récepteur de la transferrine. [1, 5]

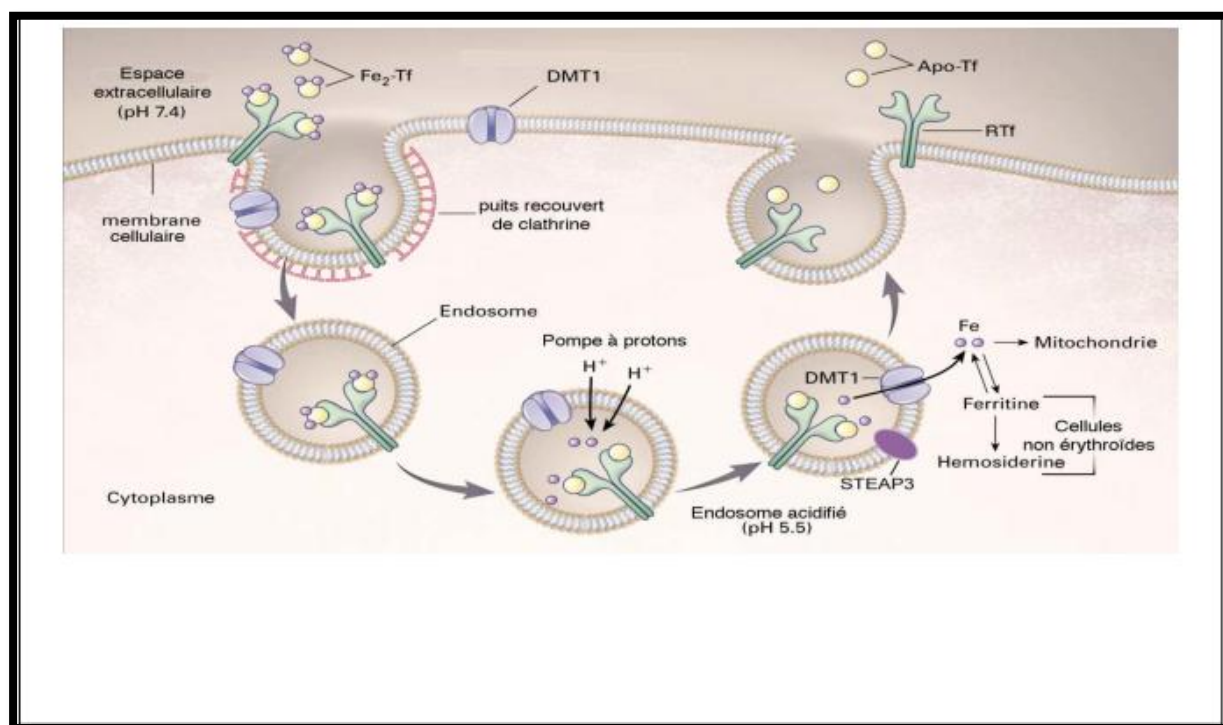


Figure 2. Endocytose du fer lié à la Tf par RTf [7].

L'holotransferrine ($\text{Fe}_2\text{-Tf}$) est reconnue par le récepteur de la transferrine (RTf) (en vert) à la surface de la cellule. Le complexe RTf- $\text{Fe}_2\text{-Tf}$ subit une endocytose dans une vésicule recouverte de clathrine. Dans l'endosome, à la faveur d'un pH acide, le fer se dissocie de la transferrine. Le fer serait réduit ensuite par une ferriréductase, probablement STEAP3 dans les précurseurs érythroïdes, puis transportée vers le cytoplasme par DMT1. Le récepteur et l'apo-transferrine (Apo-Tf) sont finalement recyclés par fusion de la vésicule à la membrane plasmique de la surface cellulaire.

2-3)- Erythropoïèse et synthèse de l'hémoglobine

Environ 200 milliards de globules rouges matures doivent être produits chaque jour par la moelle osseuse pour compenser la destruction des globules rouges sénescents par les macrophages tissulaires.

Les besoins en fer sont très importants au cours de l'érythropoïèse (environ 25 à 30 mg), principalement pour assurer la synthèse d'hème et la formation de l'hémoglobine. Les précurseurs érythropoïétiques de la moelle osseuse, qui ne peuvent acquérir leur fer que sous forme de complexes fer-transferrine, expriment un très grand nombre de récepteurs à la transferrine (RTf1) à leurs surfaces. La fixation du complexe Fe_2 - transferrine sur son récepteur entraîne la formation d'une vésicule d'endocytose et l'internalisation du complexe. L'acidification progressive de l'endosome sous l'action d'une H^+ ATPase et la réduction du fer entraînent la dissociation du fer de sa liaison à la transferrine. Une ferriréductase endosomale de la famille Steap réduit le Fe(III) en Fe(II) permettant ensuite le transport de l'ion Fe(II) ainsi libéré vers le cytoplasme par Nramp2/DMT1, un co-transporteur des ions H^+ et du Fe(II) appartenant à la famille Nramp (natural resistance associated macrophage protein). À pH acide, la transferrine reste fixée sur son récepteur et se trouve recyclée vers le plasma par fusion de l'endosome avec la membrane plasmique. Après son export dans le cytosol, la majorité du fer de l'érythroblaste est a dressée à la mitochondrie par un mécanisme encore mal élucidé et incorporé dans la protoporphyrine IX pour former la molécule d'hème. Cette réaction est catalysée par la ferrochélatase, la dernière enzyme de la chaîne de biosynthèse de l'hème. Après sa synthèse, l'hème est exporté vers le cytosol pour être associée aux chaînes de

globine ou aux apo-cytochromes. L'export de l'hème de la mitochondrie pourrait être assuré par des protéines de type ABC-transporteur. [8]

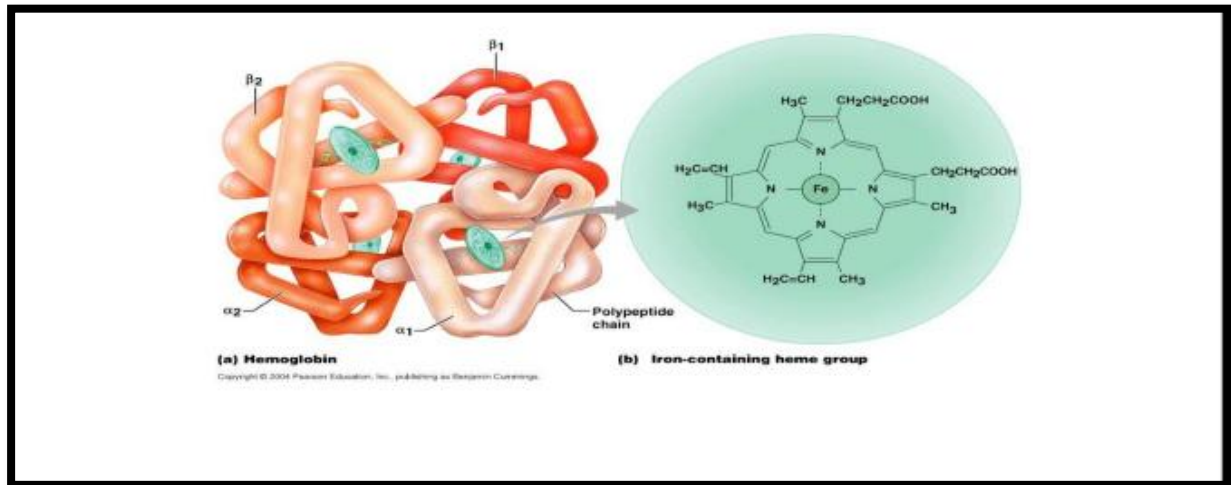


Figure 3 : Structure de l'hémoglobine humaine adulte ($\alpha_2\beta_2$)

L'hémoglobine (a) est constituée de 4 chaînes de globine (2 chaînes α et 2 chaînes β) portant chacune un groupement prosthétique hème (b) contenant un atome de fer.

(<http://legacy.owensboro.kctcs.edu/gcaplan/anat2/notes/notes6%20blood%20cells.htm> Hemoglobin proteins)

2-4)- Le recyclage du fer : l'érythrophagocytose (figure 4)

Le macrophage, par le processus d'érythrophagocytose, peut fournir en permanence du fer au plasma. En effet, au cours de ce processus, les macrophages vont:

- phagocyter les érythrocytes ayant atteint leur durée de vie (environ 120 jours).
- en libérer l'hémoglobine puis le fer lui-même grâce notamment à l'activité de l'hème-oxygénase.

À ce stade, le fer peut être orienté vers la ferritine, protéine de stockage cellulaire du fer, ou être dirigé vers le plasma. La libération plasmatique du fer

est médiée par la ferroportine, protéine transmembranaire qui exporte le fer cellulaire sous forme de Fe^{2+} .

Celui-ci est alors oxydé en Fe^{3+} par la céruloplasmine ce qui permet la prise en charge du fer par la transferrine et son transport dans le plasma. La céruloplasmine est une protéine plasmatique membre de la classe des «multicopper » oxydase, synthétisée par l'hépatocyte. Les atomes de cuivre qu'elle porte sont requis pour son activité ferroxidasique.

Le macrophage est donc en permanence capable de fournir du fer au plasma pour compenser ce qui a été extrait par les cellules [5].

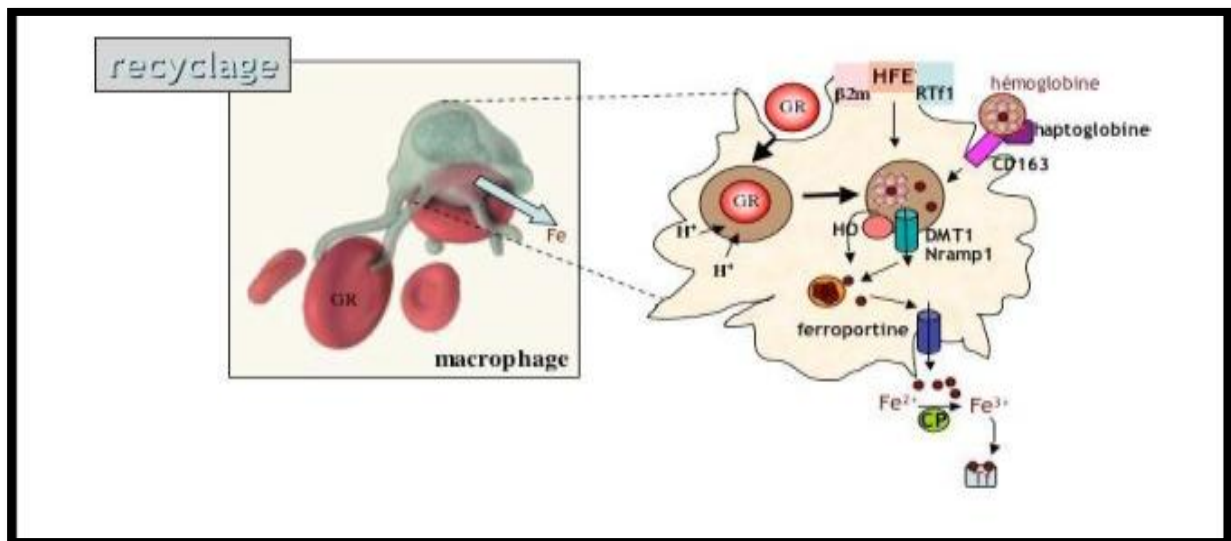


Figure 4. Érythrophagocytose et recyclage du fer [10].

Les globules rouges (GR) sénescents sont phagocytés par le macrophage. Ils sont dégradés et, à l'aide de l'hème oxygénase (HO), le fer est libéré de l'hémoglobine. D'autres voies possibles d'entrée du fer dans le macrophage impliquent le complexe HFE- β 2m-RTf1 et le complexe haptoglobine-hémoglobine circulant qui se lie au récepteur CD163 et subit l'endocytose. L'hémoglobine est dégradée par HO pour libérer le fer. Le fer est alors, soit stocké dans la ferritine, soit recyclé. Il est ainsi exporté par la ferroportine puis oxydé par la céruloplasmine (CP) circulante avant d'être pris en charge par la transferrine (Tf) circulante.

2-5)- Le stockage du fer (*figure 5*)

Le foie est un organe de stockage principal pour le fer. Dans des états de surcharge en fer génétiques (voir plus loin) associés à une augmentation de la saturation de la Tf, les hépatocytes deviennent le site majeur de dépôts de fer, entraînant des lésions tissulaires progressives, une cirrhose ou encore un carcinome hépatocellulaire. Du fer non lié à la Tf (non-transferrin bound iron [NTBI]) peut apparaître dans le plasma lorsque la saturation de la Tf est supérieure à 80 % et ce NTBI serait transporté dans l'hépatocyte par le transporteur de cations divalents Zip 14 . Les récepteurs CD163 et CD91, responsables du transport des complexes hémoglobine–haptoglobine et hème–hémopexine respectivement, contribuent à la surcharge en fer hépatocytaire, notamment dans les anémies hémolytiques. Le fer est mis en réserve associé à la ferritine, un hétéropolymère de 24 sous-unités qui sont de deux types, une chaîne lourde (H-ferritine) et une chaîne légère (L-ferritine), formant une enveloppe sphérique avec une cavité centrale capable de stocker jusqu'à 4500 atomes de fer. [2]

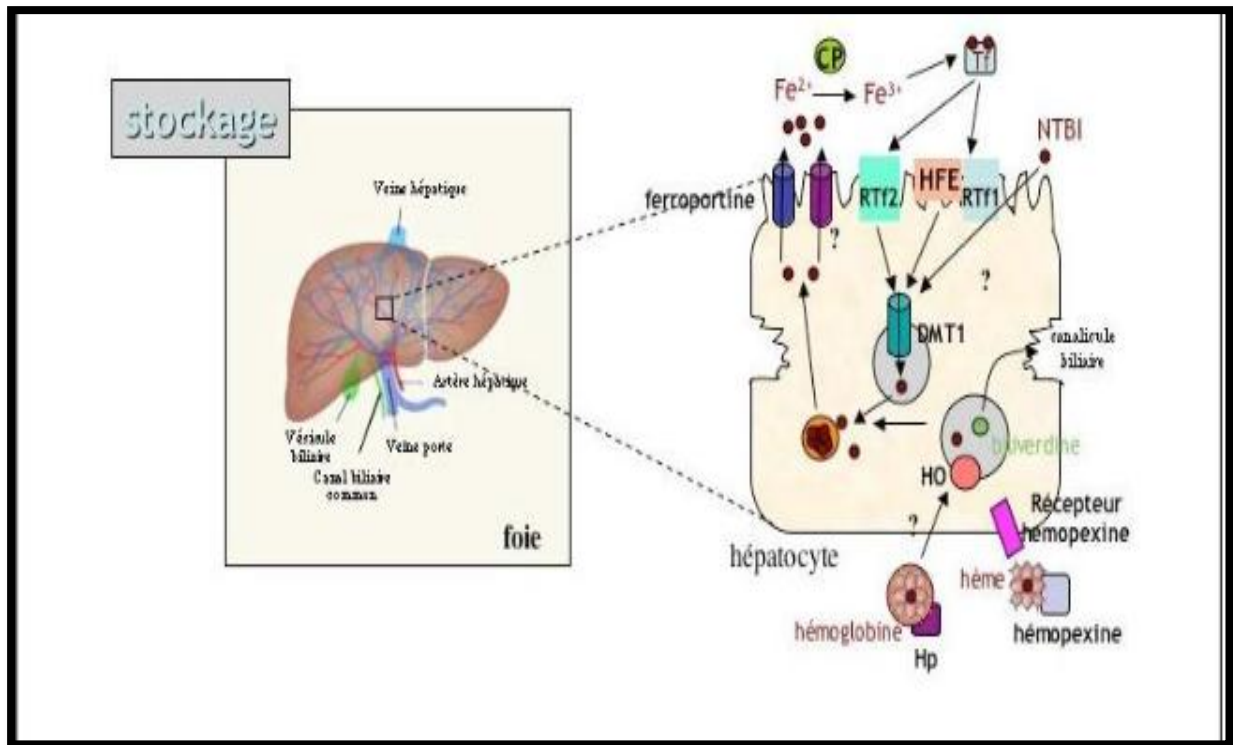


Figure 5. Entrée et sortie du fer de l'hépatocyte. [10].

3)- Molécules impliquées dans le métabolisme du fer

3-1)- Protéine de liaison du fer : la transferrine(Tf).

La transferrine (Tf), est une glycoprotéine qui contient environ 700 acides aminés et a pour masse moléculaire environ 80 KDa. [11]

La transferrine existe sous trois formes: diférique (diFe-Tf), monoférique (monoFe-Tf) et apoTf. La distribution du fer entre diFe-Tf et monoFe-Tf dépend de la saturation de Tf. [12]

En situation normale, c'est la transferrine plasmatique qui transporte le fer jusqu'à ces différents sites. L'apotransferrine est capable de lier deux atomes de fer ferrique, devenant alors la transferrine. Le fer qui se lie à l'apotransferrine provient du tube digestif, mais aussi de la rate où ont été préalablement phagocytées les hématies sénescents, et du foie, principal organe de stockage du fer. Ainsi, la transferrine assure en permanence une redistribution du fer au sein des différents organes. Cette répartition privilégie les précurseurs érythroïdes de la moelle osseuse, celle-ci captant environ 70 % du fer lié à la transferrine plasmatique. D'autres protéines plasmatiques peuvent lier le fer, à un moindre degré : la ferritine plasmatique, qui à l'état normal contient peu de fer, l'haptoglobine, et l'hémopexine.

Lors des surcharges en fer, une forme biochimique anormale de fer apparaît dans le plasma : le fer non lié à la transferrine (FNLT). Cette forme de fer, quasi inexistante dans le plasma d'un sujet normal, est en fait liée à des composés de bas poids moléculaire comme le citrate, l'acétate, et l'ADP. Le devenir du FNLT est différent de celui du fer lié à la transferrine puisqu'il a été montré expérimentalement que 90 % du FNLT est extrait du plasma lors du premier

passage hépatique, et que le foie est le principal site de captation du FNLT dans l'organisme. [13, 14]

3-2)- Les récepteurs de la transferrine

Le RTf est une protéine très ubiquitaire présente sur la membrane de nombreux types de cellules (lignée érythroblastique qui en contient plus des deux tiers, foie, intestin grêle, pancréas). Dans la lignée érythroïde, le RTf est exprimé dès le stade BFU-E. Au fur et à mesure de la maturation cellulaire, le nombre de récepteurs augmente jusqu'à un maximum au stade érythroblaste (800000 RTf par cellule) pour diminuer au stade réticulocytaire (100000 RTf par cellule). Les érythrocytes matures en sont dépourvus. Cette distribution explique le mécanisme quasi-exclusif de captation du fer par l'érythroblaste.

Le R-Tf est une glycoprotéine transmembranaire constituée de deux sous-unités identiques de 95 kD, reliées par deux ponts disulfures (figure 6). Chaque sous-unité de 760 acides aminés comprend trois domaines: un domaine cytoplasmique, support de l'extrémité aminoterminal, un domaine transmembranaire hydrophobe et un large domaine carboxyterminal. Une séquence peptidique particulière («tyrosine– thréonine– arginine– phénylalanine») de la région cytoplasmique a été identifiée comme signal d'endocytose. Chaque domaine peut lier une molécule de transferrine.

Le R-Tf lie la transferrine porteuse des atomes de fer et l'internalise par endocytose. L'abaissement du pH dans la vésicule d'endocytose libère le fer. Dans les cellules érythroïdes médullaires, la majeure partie du fer libéré est utilisée pour la synthèse de l'hémoglobine, l'excès est mis en réserve sous forme de ferritine. La vésicule ramène ensuite vers la membrane cellulaire le complexe

transferrine-R-Tf. Au pH physiologique, celle-ci est libérée dans le plasma, le récepteur se fixe dans la membrane, prêt à un nouvel échange. Ce cycle qui dure environ dix minutes permet aux érythroblastes de capter près de 20000 atomes de fer par minute.

Le récepteur sérique ou soluble de la transferrine est produit par clivage protéolytique: c'est une forme tronquée monomérique du récepteur membranaire ayant perdu ses domaines cytoplasmiques et transmembranaires et portant une seule molécule de transferrine. [15, 16]

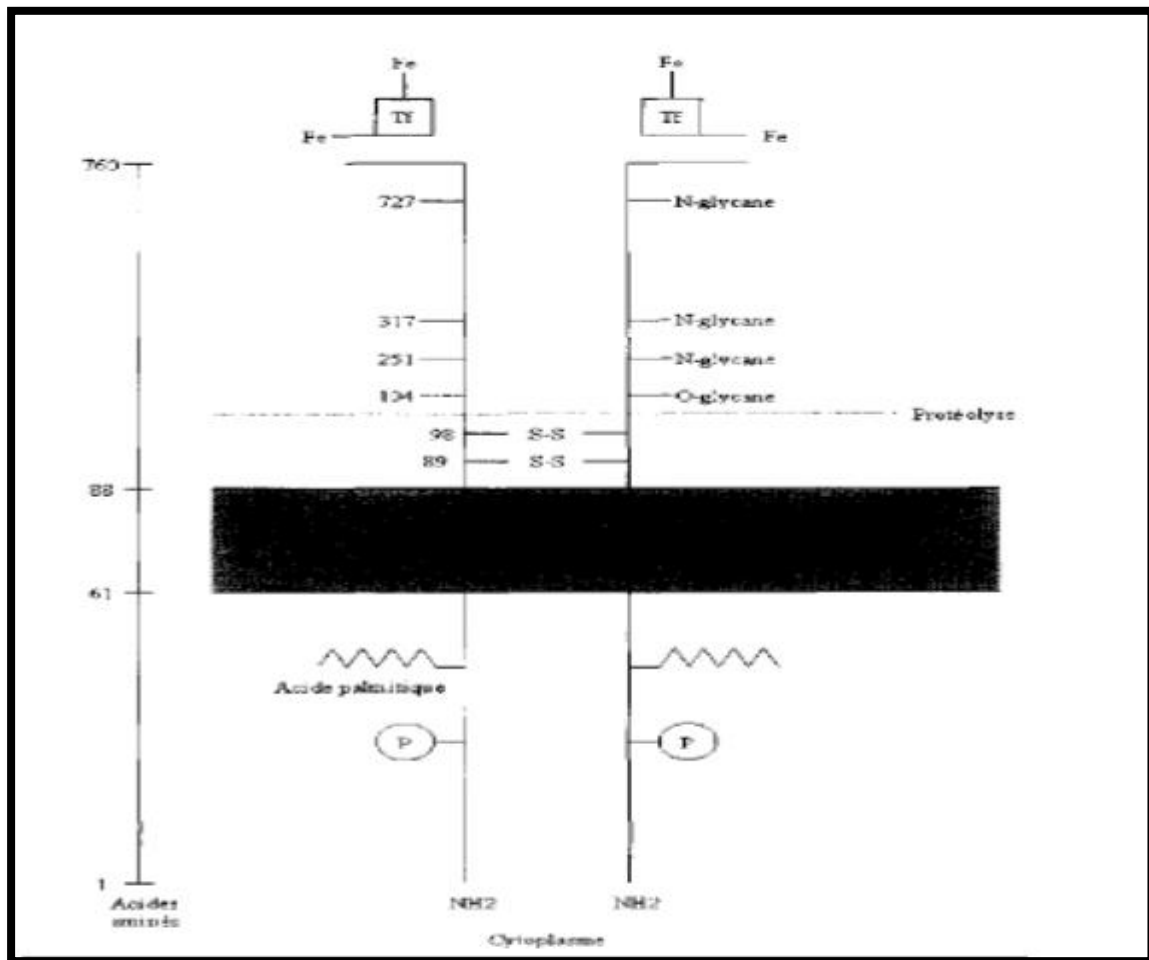


Figure 6. Représentation schématique de la molécule de RTf [17]

3-2-1)- Récepteur 1 de la transferrine (TfR1) :

C'est une glycoprotéine transmembranaire qui comporte deux sites de liaison pour la transferrine. Ubiquitaire, il est exprimé par l'hépatocyte. L'expression de TfR1 est contrôlée par le pool cellulaire martial labile. La saturation de Tf détermine à chaque instant le rapport diFe-Tf/monoFe-Tf. Toutes les formes de Tf peuvent se lier à TfR1 à la surface cellulaire, mais l'affinité pour diFe-Tf est 4 fois supérieure à celle de la monoFe-Tf et 24 fois celle de l'apoTf. La livraison du fer avec diFe-Tf est donc plus efficace qu'avec monoFe -Tf. Cependant, la proportion de fer livré par monoFe-Tf augmente avec la baisse de la saturation.

En clinique, la partie circulante de TfR1 peut être dosée, elle est augmentée dans les carences en fer, même si elles sont associées à une inflammation, et dans les hyper érythropoïèses, même si elles sont inefficaces. [12]

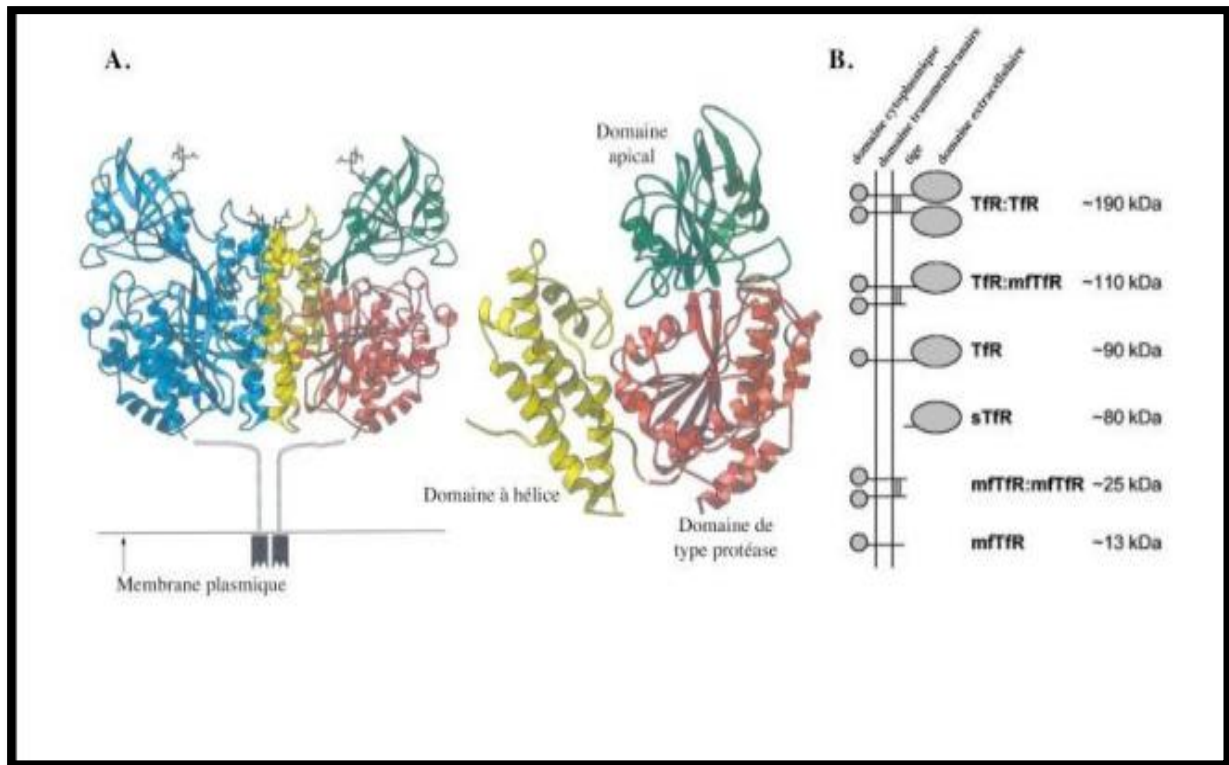


Figure 7. Structure et produits de clivage de RTf1 [18].

A. Structure cristallographique du dimère RTf1, à droite est figuré un monomère.

B. Produits de clivage de RTf1. TfR : RTf1 ; mfTfR : fragment membranaire de RTf1 ; sTfR : RTf1 soluble.

3-2-2)- Récepteur 2 de la transferrine (TfR2) :

Il est exclusivement d'origine hépatique. Il lie Tf, est un candidat détecteur de la saturation de Tf et est sans doute impliqué aux côtés de HFE dans la synthèse de l'hépcidine. L'expression de TfR2 n'est pas contrôlée par la concentration cellulaire en fer. Contrairement à TfR1, TfR2 ne se lie pas à la molécule HFE, sauf peut être au niveau des cryptes. L'affinité de TfR2 pour Fe-Tf est 25 fois inférieure à celle de TfR1. Contrairement à TfR1, l'expression de TfR2 n'est pas augmentée dans les carences martiales et elle n'est pas

abaissée dans les surcharges orales expérimentales ou dans l'hémochromatose expérimentale HFE-/HFE-. Son rôle est incertain, mais son importance est sans doute grande dans le mécanisme de la régulation. En effet, TfR2 est muté dans une forme d'hémochromatose non HFE. Dans cette hémochromatose, l'expression de l'hepcidine est diminuée. [12].

3-3)- Ferritine : la protéine de stockage.

La ferritine, (masse moléculaire : 450000 Da.) protéine de réserve du fer, joue un rôle clé dans le métabolisme de celui-ci. Son aptitude à séquestrer le fer lui donne une double fonction de détoxification du fer et de réserve.

Le fer est localisé au centre d'apoferritine, macromolécule sphérique qui forme une coque délimitant une cavité centrale dans laquelle le fer est stocké sous forme de micelles d'oxyde de fer hydraté et phosphaté. La ferritine contient au maximum 4500 atomes de fer par molécule, 2500 maximums pour les ferritines tissulaires.

La structure tridimensionnelle de la ferritine est hautement conservée au sein des espèces. Toutes les molécules de ferritine sont constituées de l'assemblage de 24 sous-unités délimitant une cavité centrale d'un diamètre de 80Å. Les formes structurales de ferritine sont connues pour l'Homme et différentes espèces animales, dont les bactéries: toutes ont globalement la même architecture malgré d'importantes variations dans leur structure primaire (les séquences d'acides aminés sont moins de 14% d'homologie). Chez l'Homme, les molécules de ferritine résultent de l'assemblage de 24 sous unités de types différents: le monomère L (L= liver=light =forme basique) de masse moléculaire 19000 et le monomère H (H= Heart=heavy =forme acide) de masse

moléculaire 21000 (figure 8). L'association de 2 monomères peut donner lieu à 25 formes moléculaires possibles (L₂₄, L₂₃H₁,..., H₂₄) qui constituent la famille des isoferritines et déterminent la grande hétérogénéité moléculaire de la ferritine. La ferritine sérique présente un fort pourcentage de sous-unités L.

Les gènes des chaînes H et L de la ferritine humaine sont localisés sur les chromosomes 11q23 et 19, respectivement. [19]

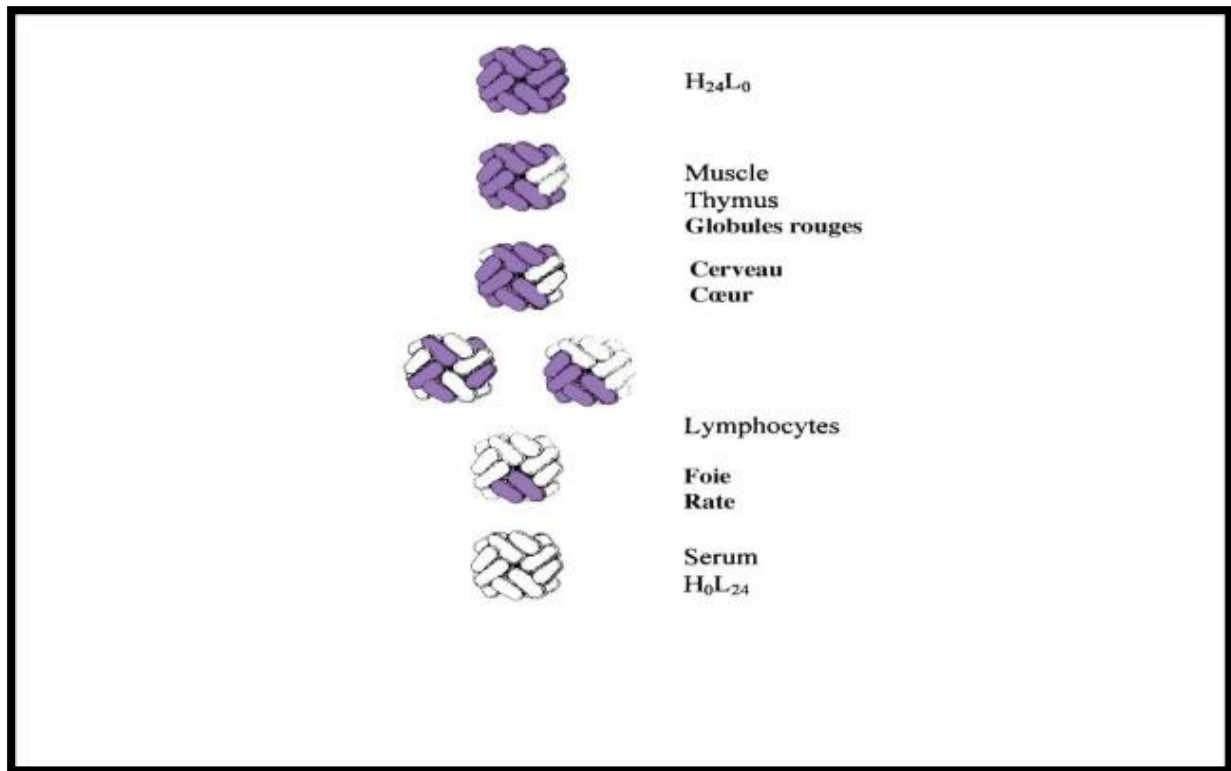


Figure 8. Proportion des sous-unités lourdes (H) et légères (L) composant la ferritine dans différents tissus [20].

Les homopolymères de sous-unités H (H₂₄L₀) et L (H₀L₂₄) sont représentés respectivement en haut et en bas de la figure et les hétéropolymères de contenu décroissant en sous-unité H sont placés entre les homopolymères. Les tissus sont placés en fonction de leur quantité relative de sous-unités H et L à droite de la figure (Ex : ferritine musculaire H₂₀L₄, ferritine hépatique H₂-3L₂₂-21).

3-4)- Les transporteurs membranaire de fer : DMT1, Nramp1 et ferroportine.

3-4-1)- DMT1

La protéine DMT1, également appelée Nramp2, a une répartition ubiquitaire. Elle appartient à la famille des transporteurs membranaires de type SLC11a2. Elle assure le transport de nombreux cations divalents dont le fer ferreux, le manganèse, le cobalt, le zinc et le cadmium. Le rôle de la protéine DMT1 dans le transport du fer a été démontré au niveau du pôle apical de

l'entérocyte et de la vacuole d'endocytose chez 2 modèles animaux: le rat Belgrade et la souris mk, porteurs de la mutation p.gly185arg du gène DMT1. Chez l'homme, le gène DMT1 a été localisé au niveau du chromosome 12 et son clonage a montré qu'il code pour une protéine de 504 AA, comportant 12 domaines transmembranaires. L'ARNm de DMT1 présente 2 isoformes qui diffèrent par leur extrémité 3'. L'isoforme intestinale comporte une séquence nucléotidique non codante, iron responsive element, impliquée dans la régulation du fer intracellulaire, tandis que l'isoforme érythroïde en est dépourvue. Cette variabilité structurale explique la différence fonctionnelle du DMT1 au niveau de l'intestin et de la moelle osseuse. [21]

3-4-2)- Nramp1

À l'inverse de Nramp2 pour lequel il existe beaucoup d'arguments expérimentaux permettant d'affirmer une fonction de transporteur du fer, des arguments indirects tirés de la comparaison avec d'autres membres de la famille Nramp suggèrent que Nramp1 pourrait contribuer à transporter le fer en dehors du phagosome, hors d'atteinte de l'agent infectieux.

La protéine Nramp1 chez la souris est codée par un gène associé au locus Bcg. Ce locus exerce chez la souris un contrôle génétique sur la résistance aux infections par les pathogènes à développement intracellulaire tels que Mycobacterium, Salmonella ou Leishmania. Dans les lignées pures de souris, il existe deux formes alléliques différentes. Chez les souris possédant l'allèle BcgR, les macrophages ont une activité bactériostatique importante, limitant la multiplication intracellulaire des pathogènes. À l'inverse, les macrophages des souris ayant l'allèle BcgS vont permettre la prolifération microbienne, le

développement de l'infection dépendant alors de la virulence de l'agent pathogène et de la réponse immunitaire de l'hôte.

Le gène associé au locus Bcg a été isolé par clonage positionnel et appelé Nrampl. Ce gène présent sur le chromosome 1 murin code pour une protéine de 60 KDa, présentant douze segments transmembranaires, une boucle extracellulaire pouvant être glycosylée et de nombreux sites possibles de phosphorylation. L'allèle BcgS correspond à un polymorphisme protéique avec remplacement d'une glycine à la position 169 par un acide aspartique (G169D), dans le quatrième domaine transmembranaire. Ce changement d'acide aminé entraîne une perte de fonction de la protéine résultant de l'association parfaite du locus BcgS et de la susceptibilité aux infections. Cependant, la démonstration de l'identité entre Nrampl et le locus Bcg est venue de l'établissement de souris mutantes Nrampl^{-/-} par recombinaison homologe. Ces souris ont perdu la capacité de contrôler la multiplication intracellulaire de parasites tels *Mycobacterium* ou *Leishmania*, au même titre que les souris BcgS.

Il n'existe pas de mutation du gène Nrampl identifiée chez l'homme et le rôle de cette protéine dans les défenses antimicrobiennes n'est pas encore connu. Cependant, des auteurs ont rapporté l'association d'un polymorphisme particulier du gène Nrampl avec une susceptibilité accrue à la tuberculose dans un groupe ethnique particulier en Afrique, mais ces résultats sont encore préliminaires et mériteraient d'être confirmés.

La protéine Nrampl est exprimée uniquement dans les macrophages et dans les granulocytes et elle est associée à la membrane de l'endosome tardif. Cependant, l'étude de la protéine lors de la phagocytose dans les macrophages a

montré que Nramp1 est recruté par le phagosome au cours de son processus de maturation. Ce processus permet l'acquisition d'activités bactéricides dues à la présence d'agents cytotoxiques ou à l'élimination d'éléments nutritifs essentiels à la multiplication des pathogènes. La fonction exacte de Nramp1 n'est pas encore connue mais son rôle dans le contrôle de la production du NO par les macrophages ou dans l'élimination des ions fer ou manganèse vers l'extérieur du phagosome a été évoqué, les deux effets n'étant pas mutuellement exclusifs, particulièrement du fait des liens étroits qui existent entre le NO et le métabolisme du fer. Plusieurs études indiquent que la production de NO en réponse à une stimulation par l'interféron γ est plus importante dans des macrophages isolés de souris BcgR que dans des macrophages de souris congéniques BcgS. [22]

3-4-3)- Ferroportine

Découverte indépendamment par trois groupes différents, elle a hérité de trois noms différents : Ferroportin1 ou ferroportin, Ireg1 (Iron regulated protein 1), MTP1 (Metal Transporter Protein 1), pour s'appeler par la suite Slc11a3 (solute carrier family 11member 3) et Slc40a1 (solute carrier family 40 member 1). C'est à ce jour le seul exporteur cellulaire de fer connu.

Son expression est restreinte à des cellules qui jouent un rôle primordial dans l'homéostasie du fer: entérocytes duodénaux, macrophages tissulaires et syncytiotrophoblastes placentaires. Dans les entérocytes duodénaux, elle est localisée au pôle basolatéral et sa fonction d'export de fer est couplée à l'activité ferroxidase de l'héphaestine, une protéine ancrée à la membrane, de la famille des ferroxidases cuivre dépendantes. Dans les macrophages, elle est principalement localisée dans des vésicules intracellulaires et participe au

recyclage du fer suite à la phagocytose des globules rouges sénescents et au catabolisme de l'hème. Le recyclage du fer par les macrophages est couplé à son oxydation par la céruloplasmine. L'expression du gène ferroportine est régulée par le fer intracellulaire, par l'intermédiaire du système IRE/IRP et par des signaux systémiques (Voir plus loin). Des mutations du gène Slc40a1 codant pour la ferroportine sont à l'origine d'une nouvelle forme de surcharge en fer héréditaire, l'hémochromatose de type 4, (Voir la partie 3 : hepcidine et désordres du métabolisme martial). [23]

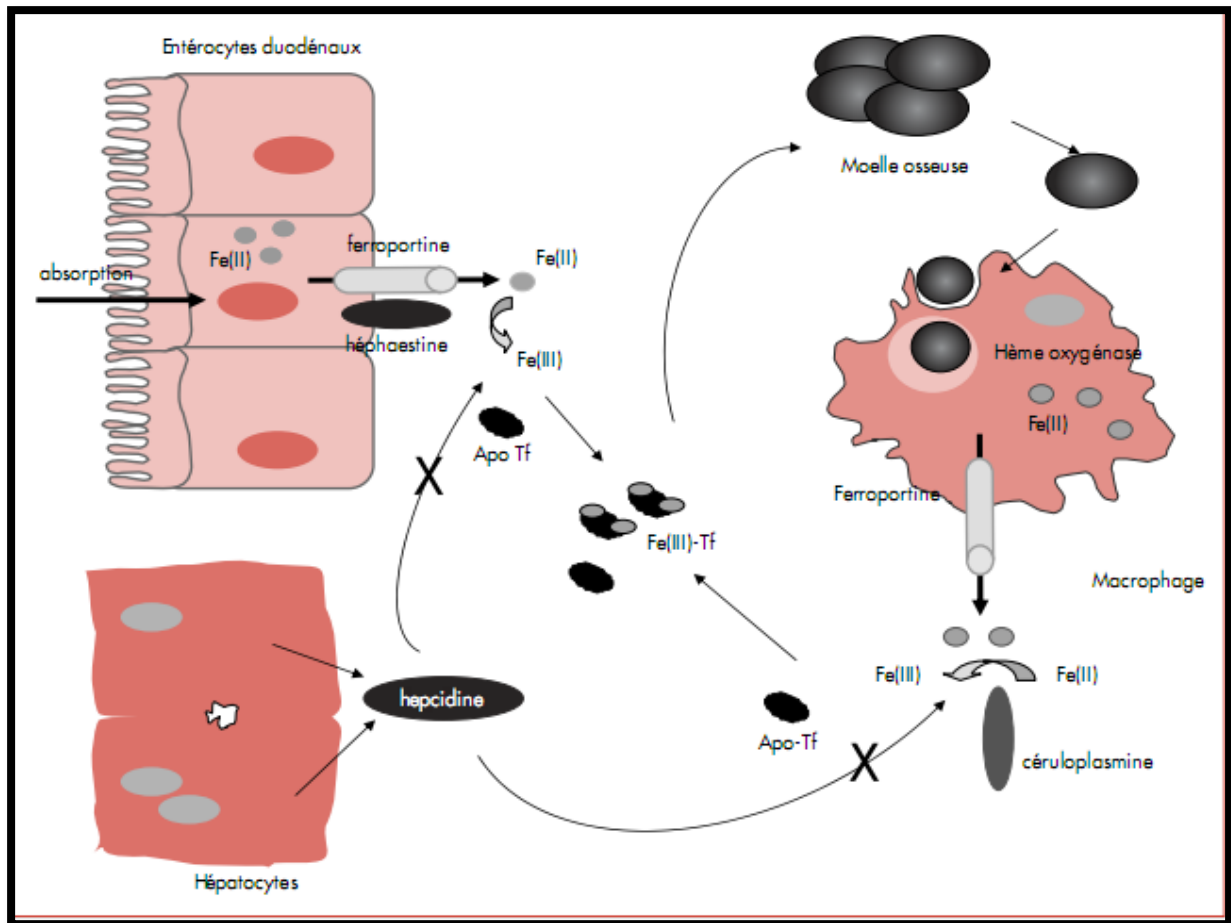


Figure 9. Rôle de la ferroportine dans le contrôle de l'homéostasie du fer. [23].

La ferroportine est exprimée au pôle basolatéral des entérocytes duodénaux et dans les macrophages tissulaires. Elle exporte le fer ferreux Fe (II) du milieu intracellulaire vers le plasma où il est oxydé en fer ferrique Fe (III), soit par l'héphaestine à la sortie des entérocytes duodénaux, soit par la céruloplasmine plasmatique à la sortie des macrophages. Le fer ferrique est ensuite capté par la transferrine pour être distribué dans les différents compartiments tissulaires, en particulier dans la moelle osseuse pour participer à l'érythropoïèse.

3-5)- Les ferriréductase : Dcyt b et Steap 3.

3-5-1)- Dcyt b

Dcytb est une protéine membranaire présente à la surface apicale des entérocytes. Elle est également présente dans le foie et la rate. [24].

Le fer alimentaire est majoritairement présent sous sa forme ferrique insoluble Fe(III) non assimilable et doit subir une étape de réduction en sa forme ferreuse Fe(II) avant d'être absorbé. Ceci est assuré par une réductase appelée DCYTB (Duodenal Cytochrome b) localisée à la membrane apicale de l'entérocyte. Il a été démontré que des anticorps dirigés contre DCYTB diminuent l'activité endogène de réduction du fer de la bordure en brosse. De plus l'expression de l'ARNm codant la protéine DCYTB est réglée par les stimuli qui agissent sur l'absorption intestinale tels que la carence en fer ou l'hypoxie. Certains composants alimentaires sont capables de participer à la réduction du fer tels que l'acide ascorbique, le beta-carotène, la cystéine ou l'histidine et stimulent de ce fait l'absorption de fer. Notons qu'à l'inverse, certains composés tels que les polyphénols (contenus notamment dans les tanins du thé), diminuent l'absorption du fer grâce à leur capacité de chélation du fer. [25]

3-5-2)- Steap 3

Steap 3 pour Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate 3 a été identifiée par l'étude des souris mutantes nm1504 comme la ferriréductase endosomale impliquée dans la capture du fer après endocytose de l'holoTf. Les souris nm1504 ont un phénotype pléiotropique (alopécie, infertilité mâle, hydrocéphalie, anémie hypochromique microcytaire) due à une large délétion

génomique (41,6 Mb). Le gène responsable de l'anémie, Steap3, a été identifié par clonage positionnel et son rôle direct a été démontré par des expériences de restauration de l'anémie des souris nm1504 par l'apport de Steap3 sauvage. Cette protéine est une protéine transmembranaire contenant deux histidines capables de lier une molécule d'hème et elle possède une activité ferriréductase NAD(P)H dépendante. Elle est synthétisée dans les tissus hématopoïétiques et dans le foie adulte. Dans le foie des souris nm1504, le déficit en Steap3 est probablement compensé par d'autres réductases. [26, 27]

3-6)- Les ferroxidases : la céruloplasmine et l'héphaestine.

3-6-1)- La céruloplasmine

La céruloplasmine est un polypeptide d'environ 120 kDa qui possède de nombreuses fonctions dont celles de transporteur de cuivre et de fer et d'antioxydant. Elle transporte le Cu aux cellules mais participe aussi à son excrétion de l'organisme. Elle oxyde le fer ferreux (FeII) en fer ferrique (FeIII), changement nécessaire pour son transport au plasma après sa fixation sur la transferrine. Il en est de même pour le transport du fer de la moelle osseuse aux globules rouges, où 22 mg (environ 0,7%) du fer entrent et sortent des globules rouges humains. Une grande partie de ce fer est réincorporée dans les cellules hépatiques, en particulier dans les hépatocytes. La concentration de céruloplasmine plasmatique augmente pendant l'inflammation et l'infection. Elle peut aussi être influencée par d'autres facteurs dont celui responsable de l'induction de l'hypoxie (HIF1), lié au métabolisme du fer. Ces résultats impliquent que l'expression de la céruloplasmine ne dépend pas seulement des cytokines de l'inflammation. [28]

3-6-2)- L'héphaestine.

L'héphaestine est une protéine homologue de la céruloplasmine avec qui elle partage certaines caractéristiques. C'est une protéine transmembranaire d'environ 134 kDa localisée dans les vésicules de Golgi. Comme la céruloplasmine, elle a une activité ferroxidasique impliquée dans l'absorption intestinale du fer. Elle peut oxyder le fer pour fixer l'apotransferrine et favoriser sa sortie par exocytose vers le sang. [28]

Les souris présentant une «anémie liée au sexe» (sex linked anemia) ont une accumulation de fer dans les cellules épithéliales villositaires due à un gène de l'héphaestine défectueux. Contrairement à la céruloplasmine qui est une ferroxidase sérique, l'héphaestine contient sans doute un domaine transmembranaire qui ancre la protéine dans la membrane, pour certains cependant, elle serait surtout localisée dans la région périnucléaire. La protéine n'apparaît pas franchement régulée par les stocks en fer. Elle est exprimée tout au long de l'intestin, ce qui suggère qu'elle a d'autres fonctions. Elle est également exprimée dans le foie, au niveau des cellules de Kupffer, ce qui suggère qu'elle pourrait participer à la sortie du fer de ces cellules. [12].

3-7)- Transport de l'hème : l'haptoglobine et l'hémopexine.

L'haptoglobine et l'hémopexine peuvent véhiculer du fer en liant respectivement l'hémoglobine et l'hème plasmatiques. Cette capacité permet d'éviter une toxicité liée à la présence de ces composés dans le plasma, notamment lors de phénomènes d'hémolyse. [1]

L'haptoglobine est une protéine de la réponse inflammatoire aiguë. Elle est synthétisée par le foie et induite par des cytokines telles l'IL-6, l'IL-1 et le tumour necrosis factor (TNF).

L'hémopexine est une glycoprotéine sérique de masse relative 60 kDa environ. Elle est synthétisée par le foie, l'induction de sa synthèse survenant sous l'influence de l'inflammation; sa demi-vie plasmatique est de 7 jours. De toutes les protéines plasmatiques, c'est l'hémopexine qui a la plus forte affinité pour l'hème (protoporphyrine + atome ferreux Fe^{2+}) ou l'hématine (forme oxydée de l'hème à Fe^{3+}). Elle intervient en seconde intention dans la clairance de l'hème, après intervention de l'haptoglobine.

En cas d'hémolyse, l'hémoglobine libre plasmatique est prise en charge par l'haptoglobine. Le complexe hémoglobine-haptoglobine est rapidement dégradé par le système réticulo-endothélial hépatique permettant la récupération du fer et la dégradation de l'hémoglobine en bilirubine. Lorsque cette voie est saturée, l'hémoglobine libre d'une part est filtrée par le glomérule, faisant apparaître une hémosidérinurie puis une hémoglobinurie lorsque les cellules tubulaires ne peuvent plus la réabsorber, et d'autre part s'oxyde en méthémoglobine qui se dissocie en globine et hématine. L'hématine est prise en charge par l'hémopexine principalement, en formant un complexe équimoléculaire hématine-hémopexine, et dans une moindre mesure par l'albumine (méthémalbumine). La liaison de l'hématine à l'hémopexine induit un changement conformationnel, permettant la liaison de l'hémopexine à son récepteur spécifique, exprimé principalement sur la membrane des hépatocytes. L'ensemble est alors internalisé, provoquant une rapide élimination des

complexes de la circulation, d'où une diminution de la concentration plasmatique d'hémopexine. Dans le cytosol, l'hématine est dégradé par l'hème oxygénase, le fer libéré se lie à la ferritine intracellulaire et peut être réutilisé, tandis que l'hémopexine et son récepteur sont recyclés. [29, 30].

3-8)- L'hème oxygénase(HO) : enzyme de dégradation de l'hème.

Le système enzymatique hème oxygénase (HO) est le facteur limitant du catabolisme de l'hème. Trois isoformes ont été caractérisées mais seules HO1 et HO2 sont fonctionnelles et capables de générer le monoxyde de carbone (CO), la biliverdine, rapidement transformée en bilirubine et du fer libre qui conduit à l'induction de la ferritine. [31]

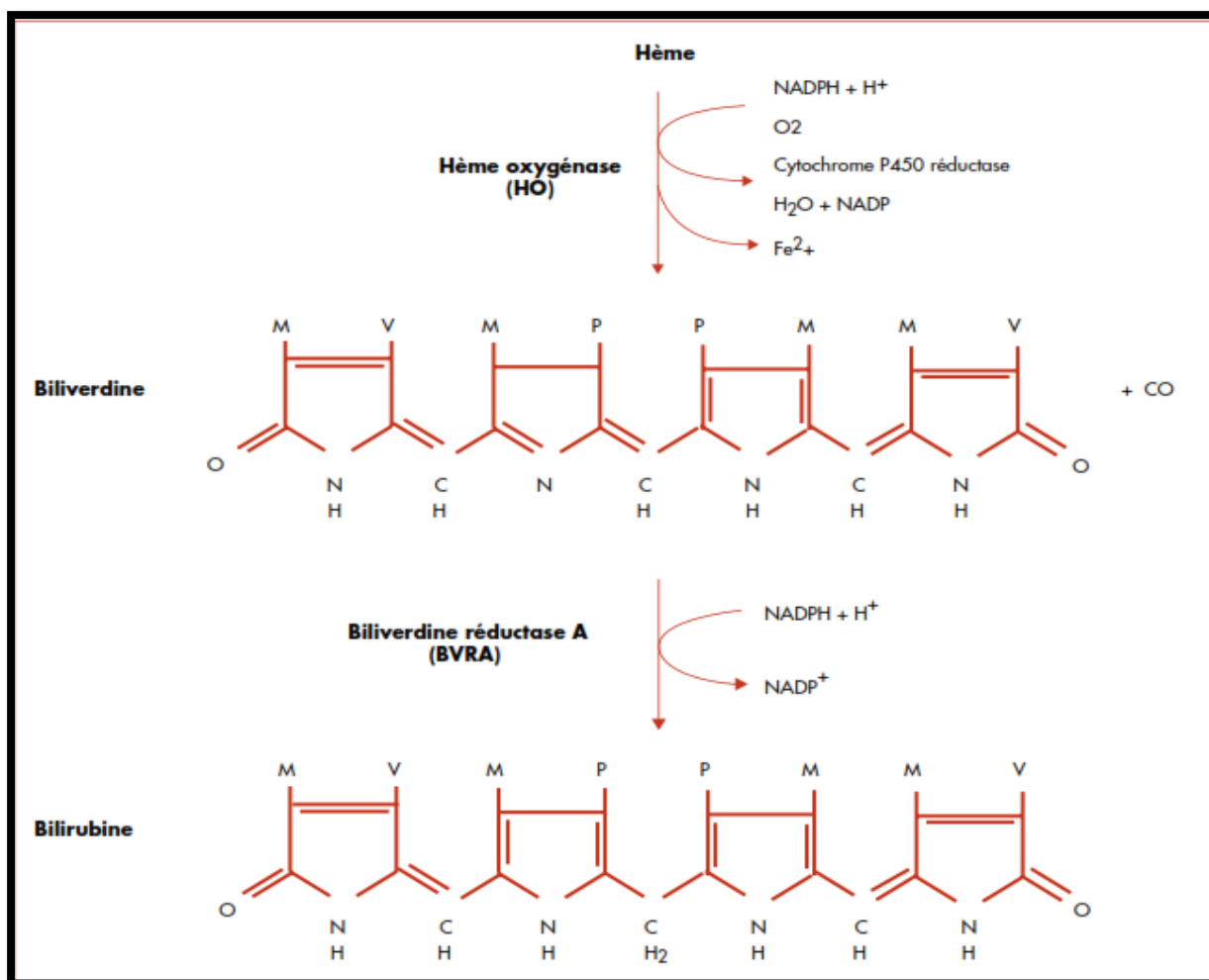


Figure 10. Catabolisme de l'hème: mode d'action de l'hème oxygénase et de la biliverdine réductase. [31]

La dégradation de l'hème par le «système» hème oxygénase (HO) comporte trois étapes successives d'oxygénation nécessitant un total de sept électrons fournis par le NADPH, par l'intermédiaire du cytochrome P450 réductase. Une des étapes d'oxygénation (non représentée sur la figure) comporte l'hydroxylation du carbone alpha-méso de la porphyrine.

L'alpha-mésohydroxyhème obtenu réagit avec une nouvelle molécule d'O₂ qui libère le monoxyde de carbone (CO) et la verdohème. La réduction finale qui nécessite un dernier électron, libère l'ion ferreux (Fe²⁺) et la biliverdine. Cette dernière est réduite immédiatement en bilirubine par la biliverdine réductase en présence de NADPH.

M: radical méthyl (-CH₃); V: radical vinyl (-CH=CH₂); P: radical propionyl (-CH₂-CH₂-COOH).

HO-1 participe au recyclage du fer à partir de l'hémoglobine et des nombreuses hémoprotéines. Le fer libre est dissocié de l'hème par HO-1 sous ses formes ionisées (Fe^{2+} , Fe^{3+}). Par la réaction de Fenton, ils agissent via l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\bullet -}$ et le peroxyde d'hydrogène, et produisent le radical hydroxyl particulièrement réactif et délétère. L'irradiation UVA et d'autres inducteurs de HO-1 comme l'hémine augmentent la concentration cellulaire de ferritine par le biais de cette libération de fer intracellulaire consécutive au catabolisme de l'hème. L'augmentation du fer favorise la formation des centres fer-soufre $[\text{4Fe-4S}]$ de l'IRP1, (iron regulatory protein), une des protéines régulatrices du fer. En raison de la modification allostérique induite par le Fer, IRP1 perd son activité de liaisons à l'IRE (iron responsive element) présent dans la région 5' non traduite de l'ARNm de plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme du fer, notamment la ferritine. C'est la raison pour laquelle la ferritine qui peut séquestrer jusqu'à 4000 formes redox du fer est considérée comme un antioxydant très actif. Chez les souris adultes HO-1- déficientes (Hmox $^{-/-}$) la concentration plasmatique en fer est très basse mais il existe une surcharge en fer tissulaire hépatique et rénale. Les cellules de ces animaux sont très sensibles à la cytotoxicité causée par l'hémine et la mortalité après injection d'endotoxine est très élevée. Le fer s'accumule dans les fibroblastes induisant des lésions apoptotiques. Des symptômes identiques, associant anémie hémolytique, hémolyse intravasculaire et dépôts de fer dans le foie et les reins ont été observés chez l'homme dépourvu de HO-1. [31]

3-9)- Mégaline-Cubiline.

La cubiline est une protéine de 460 kDa sans domaine transmembranaire capable de se lier à la vitamine B12 dans l'intestin, l'ApoA1, l'HDL et l'albumine dans le rein et le sac vitellin. Elle a également pour ligand la transferrine et l'hémoglobine dans le rein (Tableau III). L'affinité de la cubiline est la même pour l'apo et l'holoTf. La cubiline interagit avec la mégaline qui peut, elle aussi, se lier à d'autres molécules (Tableau III). La mégaline, par son domaine transmembranaire, permet l'ancrage à la membrane du complexe mégaline-cubiline-ligand puis son internalisation. [32, 33]

Tableau III : Principaux ligands de la cubiline et de la mégaline. [32]

CUBILINE	MÉGALINE
Transporteurs sériques	
Facteur intrinsèque gastrique/vitamine B ₁₂	Retinol binding protein/vitamine A
Transferrine/Fer	Transcobalamine II/vitamine B ₁₂
DBP (vitamin D-binding protein)/vitamine D	DBP/vitamine D
Lipoprotéines	
Apolipoprotéine AI (ApoA1) et HDL (high density lipoprotein)	Apo B, Apo E, Apo J
Autres protéines	
Albumine	Albumine
Receptor associated protein	Receptor associated protein
Chaînes légères des immunoglobulines	Chaînes légères des immunoglobulines
Hémoglobine	Hémoglobine
Clara cell secretory protein	
Médicaments ou toxines	
Aminoglycosides	Aminoglycosides
	Trichosantine

Alors que la présence de la mégaline est détectée dans plusieurs cellules épithéliales, la cubiline est retrouvée dans un nombre plus restreint d'organes (intestin grêle, sac vitellin, cytotrophoblaste, tubule proximal du rein). Ce complexe serait responsable de la clairance de l'hémoglobine libre du sang vers

le rein lors d'une hémolyse. Le complexe mégaline-cubiline est retrouvé à la surface apicale du tubule proximal dans le rein. Des souris KO mégaline présentent une accumulation de la Tf liée à la cubiline à la surface apicale des tubules rénaux. Une fois prise en charge par la mégaline-cubiline, la Tf n'est pas recyclée comme après liaison à RTf mais dégradée dans les lysosomes. [32, 33]

3-10)- IRP1 et IRP2 (Iron Regulatory Protein).

Les IRP, sont des protéines cytosoliques de la famille des isomérases à centres fer-soufre (Frishman et Hentze 1996).

Une première IRP (IRP1) a été caractérisé en 1988 (Leibold et Munro 1988), puis, rapidement, un second représentant (IRP2) a été identifié (Cairo et Pietrangelo 1994, Guo et coll. 1994, Samaniego et coll. 1994).

La protéine IRP1 est une protéine de 889 acides aminés, qui est présente dans la plupart des tissus. Cette protéine présente la caractéristique de pouvoir assembler un agrégat de type [4Fe-4S] (Haile et coll. 1992). Sous cette forme, et grâce à la conservation de divers résidus par rapport à l'aconitase mitochondriale, la protéine présente une activité enzymatique similaire de transformation du citrate en isocitrate. Sous cette forme la protéine est communément dénommée aconitase cytosolique.

IRP2 est une protéine de 955 acides aminés, qui contrairement à IRP1 se trouve en général en faibles quantités dans les tissus. La différence majeure avec IRP1 concerne une insertion de 73 acides aminés, située dans la partie N-terminale. Contrairement à IRP1, il n'a pas été possible de montrer que cette protéine peut assembler un centre fer-soufre, bien que les cystéines

ligands de ce centre soient présentes. Ainsi, la protéine IRP2 ne présente pas d'activité aconitase. [34]

Les «Iron Regulatory Proteins» contrôlent l'homéostasie du fer en modulant l'expression de la ferritine et du récepteur de la transferrine. Cette régulation s'effectue par une interaction des IRPs avec un ou (plusieurs) élément(s) de réponse au fer nommé(s) IRE (iron responsive element) localisé(s) dans les régions non traduites en 5' de l'ARNm de la ferritine et en 3' de l'ARNm du récepteur de la transferrine. (voir Régulation du métabolisme du fer. système IRP/IRE).

3-11)- HFE

Elle ne fait partie ni des transporteurs ni des récepteurs. La molécule HFE est une glycoprotéine du complexe majeur d'histocompatibilité (MHC) classe1-like liée à la β 2-microglobuline avec laquelle elle forme un hétérodimère. Elle est mutée dans l'hémochromatose idiopathique familiale classique (hémochromatose HFE). L'ARNm et la protéine ont été détectés initialement dans le cytoplasme des cellules cryptiques des villosités mais sont, en fait, ubiquitaires. Des travaux récents ont montré que l'expression de la molécule HFE est au plus haut niveau dans l'hépatocyte et que le taux d'ARNm est 10 fois plus important dans l'hépatocyte que dans les cellules de Kupffer. D'une façon générale, la molécule HFE se lie à TfR1. Le site de liaison de HFE sur TfR1 recouvre celui de Tf. Il existerait donc une compétition entre HFE et Tf pour la liaison à TfR1. Cependant, Tf a une plus grande affinité pour TfR1 que HFE, diFe-Tf l'emportant par ailleurs sur monoFe-Tf.

Le rôle du complexe HFE-TfR1 au niveau intestinal serait très différent. Il ne peut être étudié qu'en présence de β 2-microglobuline. En présence de β 2-microglobuline, HFE augmenterait, au niveau intestinal, la captation de Tf-Fe par TfR1. Chez la souris HFE knock-out, on note une diminution de la captation de Tf-Fe par le duodénum. Cet effet n'est pas constaté au niveau du foie et du rein. Les souris β 2-microglobuline knock-out développent une surcharge en fer analogue à celle des souris HFE knock-out. En présence d'une protéine HFE mutée, la captation de Tf-Fe par les cellules cryptiques serait diminuée et, malgré l'existence d'une surcharge en fer déjà constituée dans l'organisme, les cellules villositaires matures se comporteraient comme celles d'une carence en fer.

La protéine HFE est exprimée à la surface des macrophages et des monocytes et est nécessaire, directement ou indirectement, à la continence martiale macrophagique, ce qui explique les constatations histochimiques anciennes de la relative pauvreté en fer des macrophages dans l'hémochromatose HFE de l'homme. Les études isotopiques de Fillet et al. avaient bien montré, chez les sujets atteints d'hémochromatose idiopathique, une incontinence des macrophages pour le fer provenant de l'érythroclisie; incontinence totale à un stade précoce de la maladie, relative ensuite, suivie à un stade tardif d'une séquestration du fer, sans doute sous forme d'hémosidérine contenant un fer peu mobilisable et correspondant vraisemblablement à l'aspect des «macrophages tatoués» observé dans les villosités et dans les monocytes, forme circulante des macrophages. [12, 35, 36]

3-12)- Hémojuvéline (HJV).

L'hémojuvéline (HJV) est une protéine qui joue un rôle majeur dans le contrôle de l'expression de l'hepcidine et donc dans le maintien de l'homéostasie du fer par l'impact que l'hepcidine exerce sur le contrôle de la biodisponibilité plasmatique du fer. [37] (Voir Partie 2 : hepcidine : hormone clé du métabolisme du fer « la régulation de l'hepcidine »).

4)- Régulation du métabolisme du fer.

Le fer est un véritable paradoxe, étant d'une part indispensable à notre organisme et pouvant de l'autre lui être nocif. Il s'agit donc d'empêcher aussi bien un «trop peu» qu'un «trop» de fer. Il n'existe au sens strict pas de métabolisme du fer qui en assure le bon équilibre. Une surcharge en fer ne peut de même pas être corrigée par une élimination naturelle plus importante. L'homéostasie du fer repose bien plutôt sur un contrôle très précis de sa résorption intestinale, de son exploitation pour l'érythropoïèse, de son recyclage à partir des érythrocytes et de ses réserves dans les hépatocytes et macrophages. L'anémie ferriprive, l'hémochromatose et l'anémie secondaire sont des exemples d'une perturbation de l'équilibre ou de l'exploitation du fer. La découverte de plusieurs facteurs clés (dont surtout l'hepcidine et la ferroportine) et de mécanismes régulateurs inconnus jusqu'ici a très nettement élargi tout récemment notre compréhension du voyage hypercomplexe et délicat du fer dans notre organisme, même s'il reste encore quelques points à éclaircir. [14]

4-1)- Régulation systémique :

4-1-1)- Modèle de la crypte (*figure 11*)

C'est la présence conjointe de HFE et RTf1 au niveau des cellules de la crypte de l'intestin qui a permis l'élaboration, il y a plusieurs années, d'un modèle de régulation de l'absorption intestinale de fer dit «modèle de la crypte» qui repose sur une programmation des cellules de la crypte en fonction des signaux régulateurs (érythroïdes et réserves) (figure11). C'est en migrant le long de l'axe crypto-villositaire que les cellules de la crypte se différencient et acquièrent leurs propriétés d'absorption. Les entérocytes matures, en fonction de la quantité de fer captée par les cellules de la crypte via HFE et RTf1, sont programmées à produire plus ou moins de protéines responsables de l'absorption de fer. En résulte une absorption du fer adaptée aux besoins. Dans ce modèle, lorsque HFE est muté, la protéine n'est plus adressée à la membrane et la captation de l'holotransferrine au niveau de la crypte est diminuée. Les cellules se retrouvent alors en situation de privation artificielle en fer (malgré les réserves abondantes de l'organisme), entraînant une augmentation des acteurs de l'absorption intestinale du fer et donc l'hyperabsorption qui caractérise cette maladie.

Ce modèle, bien que séduisant, s'est vite trouvé confronté aux premières données expérimentales de la littérature étudiant le rôle de HFE dans des cellules en culture et montrant que HFE surexprimée diminuait en fait l'entrée de fer (par compétition avec l'holotransferrine pour la fixation à RTf1), et que, par conséquent, HFE muté entraînait une surcharge en fer de la cellule (et non un état de déficit, comme précédemment). De plus, plusieurs auteurs ont montré que les entérocytes de patients hémochromatosiques (ou du modèle murin de

l'hémochromatose obtenu par knock-out du gène Hfe, souris Hfe^{-/-}) ne présentaient pas les caractéristiques de cellules carencées en fer. Enfin, notons que le modèle de la crypte n'envisage qu'une régulation à long terme de l'absorption intestinale de fer (compte tenu qu'il faut plusieurs jours à un entérocyte de la crypte pour devenir mature) et que dans certaines situations physiopathologiques, la régulation de l'absorption se met en place très rapidement. [6, 12, 25]

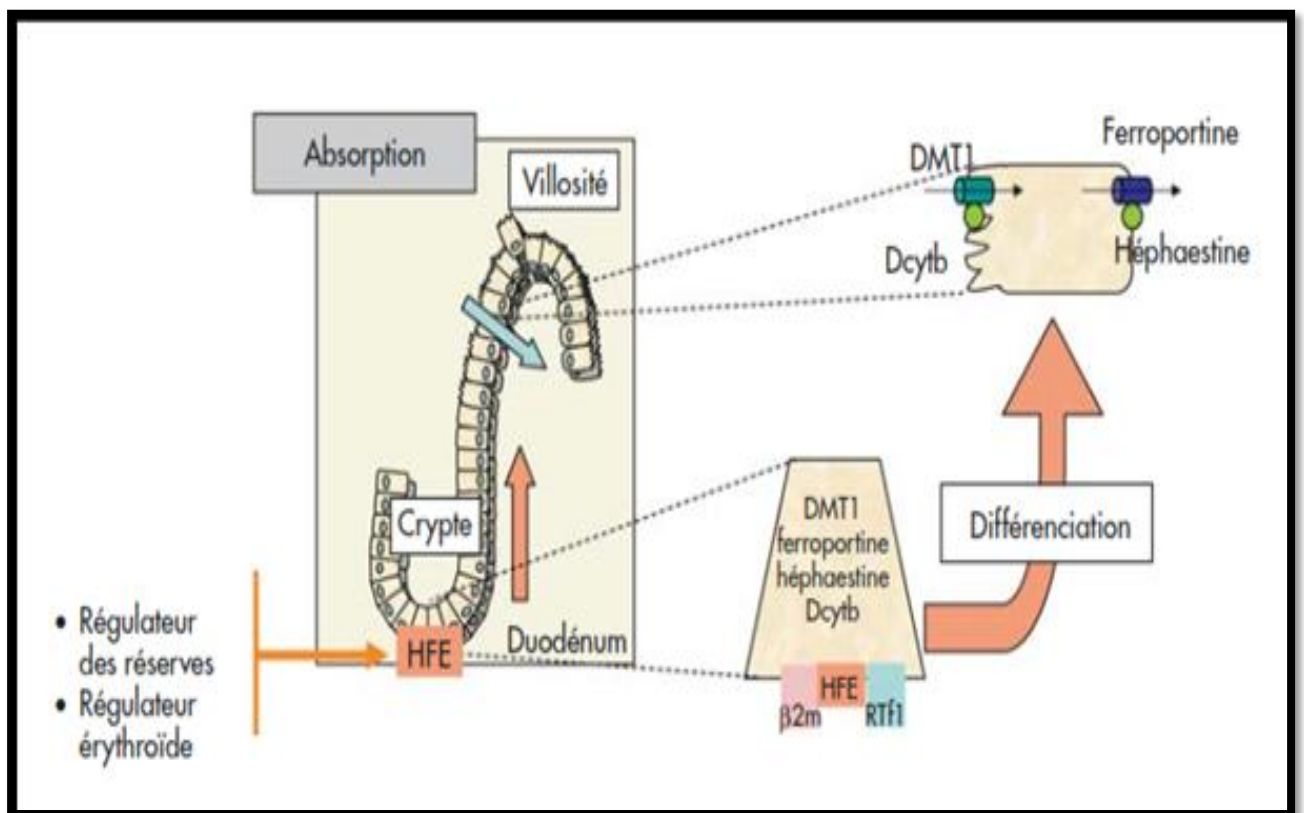


Figure 11. Régulation de l'absorption intestinale du fer «modèle de la crypte » [6].

La protéine HFE exprimée par les cellules de la crypte sert de senseur aux 2 signaux régulateurs, le régulateur des réserves et le régulateur érythroïde. Les cellules de la crypte se différencient alors en entérocytes programmés à absorber plus ou moins de fer en fonction des besoins en régulant les taux de Dcytb, DMT1, ferroportine et héphaestine.

4-1-2)- Modèle de régulation via l'hepcidine (*figure 12*)

L'hepcidine est synthétisée par le foie, déversée dans la circulation sanguine, et agit à distance sur l'intestin, en inhibant l'absorption intestinale du fer alimentaire, et sur les macrophages en inhibant le recyclage du fer provenant du catabolisme de l'hémoglobine. Lorsque le fer alimentaire est en excès, l'hepcidine augmente pour limiter les excès de fer et, dans un modèle dépourvu d'hepcidine, l'absence de ce régulateur négatif provoque une hyperabsorption du métal et un recyclage accru du fer des macrophages, conduisant à l'accumulation du métal dans les parenchymes avec une atteinte principalement hépatique.

Suite à la mise en évidence du rôle de l'hepcidine dans le métabolisme du fer, de nombreuses équipes ont cherché à identifier son récepteur. C'est chose faite depuis 2004 : il s'agit de la ferroportine, exporteur du fer présent à la surface des cellules spécialisées, les entérocytes et les macrophages. L'hepcidine inhibe la sortie du fer cellulaire en interagissant à la surface des cellules avec cet exporteur entraînant son internalisation puis sa dégradation dans le lysosome. Ce mécanisme d'action de l'hepcidine sur la ferroportine a aujourd'hui été confirmé ex vivo dans des cellules macrophagiques par d'autres équipes. In vivo, il a pu être montré que les situations de déficit en hepcidine sont associées à une augmentation de la ferroportine dans le duodénum et les macrophages spléniques.

Si l'action de l'hepcidine est aujourd'hui bien démontrée sur la ferroportine macrophagique, la possibilité d'autres modes d'action de l'hormone n'est pas

totalemet exclue. [38] (Voir Partie 2 : L'Hepcidine : hormone clé du métabolisme du fer)

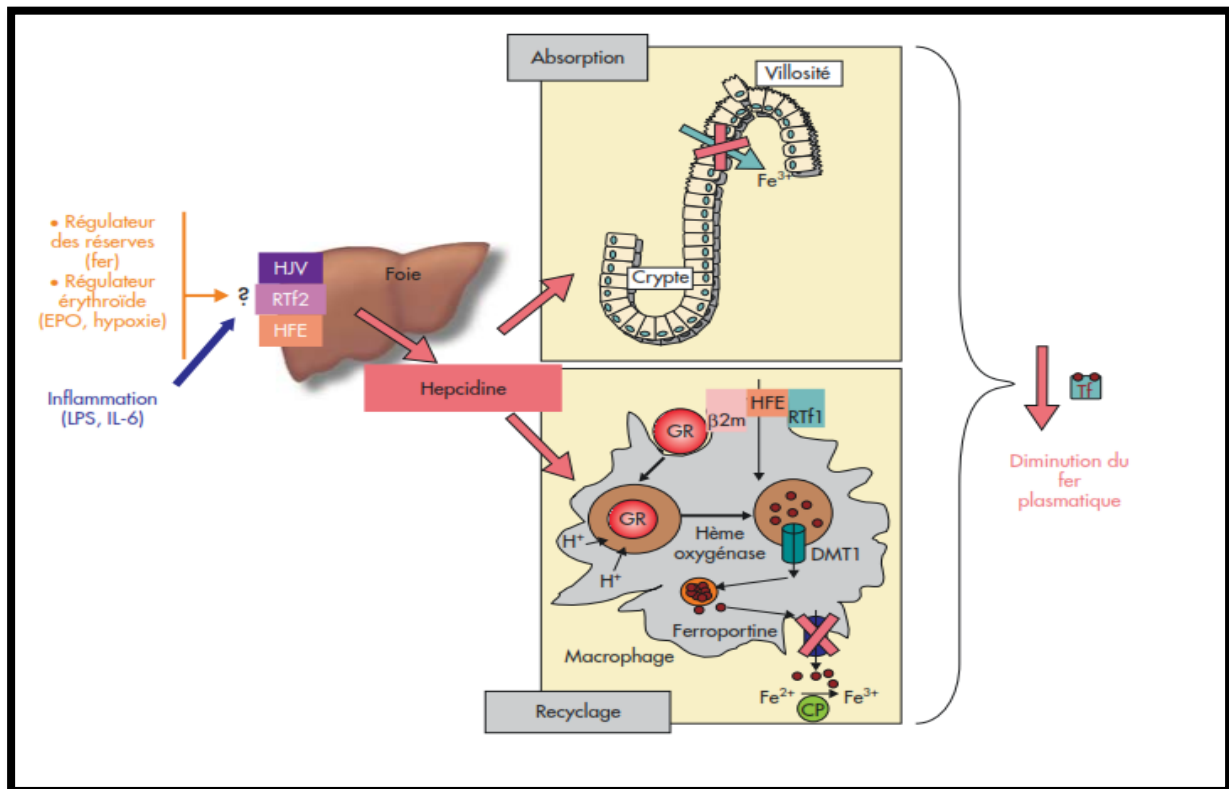


Figure 12. Modèle de régulation via l'hépcidine. [6]

Les signaux régulateurs seraient intégrés au niveau du foie par HFE, RTf2 et/ ou HJV pour commander la synthèse de l'hépcidine. Celle-ci déversée dans le sang, agit au niveau du duodénum sur l'entérocyte et le macrophage (via la ferroportine) pour diminuer l'absorption et le recyclage du fer, respectivement entraînant une diminution du fer plasmatique.

4-2)- Système IRP/IRE : Le contrôle de l'homéostasie cellulaire du fer

Les mécanismes impliqués dans le contrôle du métabolisme cellulaire du fer sont certainement encore imparfaitement connus. Cependant, un mécanisme majeur permettant de protéger la cellule a été mis en évidence. Il s'agit du système IRE/IRP « Iron responsive element/Iron regulatory protein». L'IRE est une séquence nucléotidique qui possède une structure en tige-boucle localisée en

région 5' ou 3' non traduite sur certains ARN messagers (ARNm). Les IRP (1 et 2) sont des protéines qui peuvent interagir avec les structures IRE. Les ARN de la ferritine et du récepteur de la transferrine 1 possèdent tous deux ce type de structure : l'ARN de la ferritine possède un IRE en région 5' alors que celui du récepteur de la transferrine 1 en possède plusieurs en région 3'.

En situation de carence en fer dans la cellule, les IRPs interagissent avec les boucles IRE ce qui :

- Pour l'ARNm de la ferritine empêche la fixation du complexe permettant la traduction et limite donc la synthèse de ferritine.
- Pour le récepteur 1 de la transferrine limite la dégradation de l'ARNm du récepteur de la transferrine et favorise la synthèse du récepteur. L'entrée du fer est donc facilitée dans la cellule pour permettre les activités biologiques, alors que la synthèse de ferritine est limitée puisqu'il n'y a aucune nécessité d'orienter le fer vers le compartiment de stockage du fer cellulaire.

En situation d'excès de fer dans la cellule, l'interaction des IRPs avec les IRE ne se produit plus, ce qui a pour conséquence :

- Pour l'ARNm de la ferritine de favoriser la fixation du complexe permettant la traduction de l'ARNm et donc la synthèse de ferritine,
- Pour le récepteur 1 de la transferrine de favoriser la dégradation de l'ARNm du récepteur de la transferrine et ainsi de limiter la synthèse du récepteur.

L'entrée du fer dans la cellule est donc limitée pour éviter toute majoration du fer cellulaire, alors que la synthèse de ferritine permet d'orienter le fer vers le compartiment de stockage. Le pool labile, dont l'augmentation est toxique pour la cellule, est donc contrôlé.

Il faut noter que l'entrée du fer non lié à la transferrine n'est pas contrôlée par ce système, ce qui explique que les cellules possédant l'équipement moléculaire pour le capter puissent continuer à se surcharger. Le fer entré dans la cellule peut toutefois être stocké, la régulation sur le niveau d'expression de la ferritine persistant. [1]

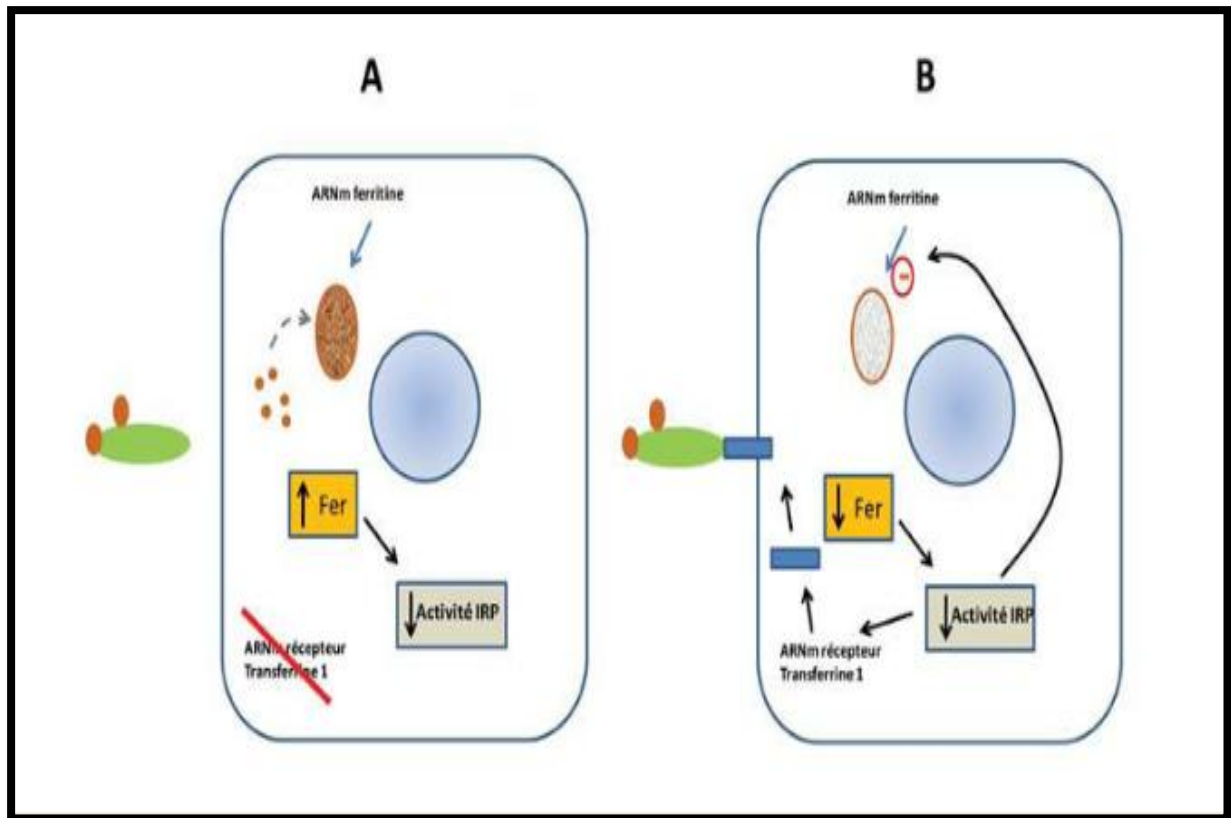


Figure 13. Représentation schématique de l'impact de la modulation du statut cellulaire en fer sur l'expression du récepteur de la transferrine et sur celle de la ferritine. [1]

En (A) : excès cellulaire de fer entraînant une baisse de l'activité IRP ce qui limite l'expression du récepteur de la transferrine 1 et donc l'entrée du fer alors que cela favorise l'expression de la protéine de stockage cellulaire du fer, la ferritine.

En (B) : déficience cellulaire en fer favorisant l'activité des IRPs ce qui : i) stabilise l'ARN messenger du récepteur de la transferrine permettant la traduction de la protéine, l'expression du récepteur sur la membrane cellulaire et l'entrée du fer ; ii) limite la traduction de l'ARNm de la ferritine qui n'est pas nécessaire, le contenu cellulaire en fer étant bas.

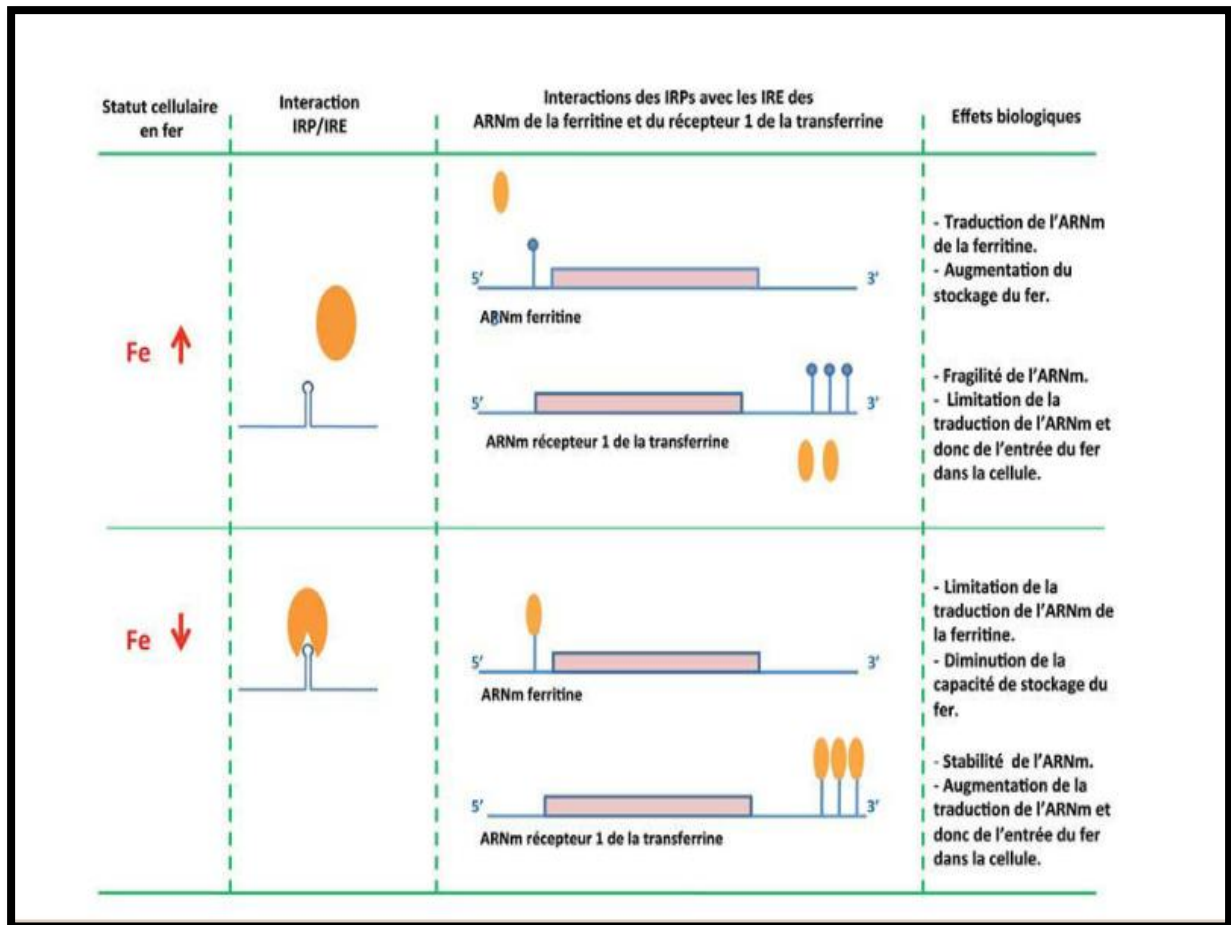


Figure 14. Représentation schématique de l'impact de la modulation, par le statut cellulaire en fer, de l'interaction entre les IRPs et les IRE localisés respectivement sur les zones localisées dans les régions 5' et 3', non codantes des ARNm de la ferritine et du récepteur 1 de la transferrine. [1]

5)- Outils diagnostiques des pathologies du métabolisme du fer.

Les pathologies du métabolisme du fer sont fréquentes. Elles recouvrent des situations de carences en fer, réelles ou relatives, ou bien de surcharges en fer, systémiques ou localisées. La suspicion d'une pathologie du métabolisme du fer peut être évoquée devant des manifestations cliniques de ses complications, ou bien découler de la réalisation d'un bilan biologique systématique. Pour parvenir au diagnostic, le clinicien pourra utiliser des outils biologiques (biochimique, hématologique, histopathologique, génétique) et d'imagerie. Dans tous les cas, le dosage dans le sérum de la ferritine et du couple fer/saturation de la transferrine est la première étape clé. C'est la combinaison des différents éléments disponibles qui permettra d'affiner le diagnostic (Tableau IV). [5]

Tableau IV : Outils disponibles pour le clinicien dans le cadre du diagnostic d'une pathologie du métabolisme du fer. [5]

Secteur étudié	Examens
Biodisponibilité plasmatique	Fer sérique Saturation de la transferrine <i>Unsaturated iron binding capacity</i>
Stock en fer de l'organisme	Ferritine sérique IRM (foie et rate) Quantification du fer soustrait (rétrospectif) Biopsie hépatique Quantification biochimique Histologie (coloration de Perls) Moëlle osseuse : cytologie (coloration de Perls)
Besoins en fer de l'organisme	Concentration en hémoglobine Volume globulaire moyen Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine Récepteurs solubles de la transferrine Zinc protoporphyrine Ferritine érythrocytaire
Autres examens	Céruloplasmine Activité ferroxidase Recherche de mutations ± tests fonctionnels Hepcidine plasmatique (intérêt à préciser) Féronlié à la transferrine (formes toxiques) Acéruloplasminémie

5-1)- Absorption intestinale du fer

Il n'existe pas de moyen simple d'exploration de l'absorption intestinale du fer. En effet, le seul test disponible est le test cinétique d'absorption du fer radioactif (^{59}Fe) dont l'utilisation est exceptionnelle. Le test qui consistait à mesurer le fer sérique avant et après administration orale de fer est abandonné en raison des variations physiologiques rapides de la concentration du fer sérique. [39]

5-2)- Détermination de la biodisponibilité du fer : Fer circulant

Bien que le dosage du fer sérique (ou plasmatique) reste inscrit à la nomenclature des actes de biologie médicale, sa mesure isolée n'a pas d'intérêt. En effet, la concentration du fer peut varier du simple au double dans une même journée en raison de l'existence d'un cycle nyctéméral et de brusques variations liées aux mouvements du fer dans l'organisme. Chez l'adulte, les valeurs usuelles du fer plasmatique varient de 10 à 30 $\mu\text{mol/L}$, avec des valeurs plus faibles chez la femme. Il est recommandé de prélever le patient à jeun le matin afin de limiter la variabilité des résultats liée au cycle nyctéméral. Les travaux de C. Ricos basés sur la variation biologique par étude statistique de la bibliographie en vue de fixer des objectifs analytiques montrent que le fer plasmatique est un paramètre à forte variation interindividuelle (26,5 %) et intra-individuelle (23,2 %) pour lequel l'imprécision et l'erreur totale acceptables sont élevées (13,3 % et 30,7 %, respectivement). Les normes d'acceptabilité analytique issues des résultats des évaluations externes de la qualité publiées en 1999 par A. Vassault et le groupe de travail de la Société française de biologie clinique (SFBC) étaient, à une concentration de 20 $\mu\text{mol/L}$, de 5 % pour l'imprécision et 20 % pour l'erreur totale. La différence cliniquement significative avec une probabilité de 95 % entre deux mesures du fer chez un même individu calculée en utilisant la variation intra-individuelle (23,2 %) et l'imprécision analytique (5 %) est de $\pm 65,7 \%$, ou de $\pm 64,5 \%$ avec une imprécision de 2 %. Les variations cliniquement pertinentes de fer sont donc très élevées, expliquant la difficulté d'interprétation des résultats des dosages de fer et son inutilité comme dosage isolé. Le fer circulant (pool d'échange) est transporté par la transferrine, dont la demi-vie est de 8 jours. La transferrine est

un paramètre à faible variation interindividuelle (4,3 %) et intra-individuelle (3 %) pour lequel l'imprécision et l'erreur totale basées sur la variation biologique sont faibles et difficilement atteignables (1,5 % et 3,8 %, respectivement). Les normes d'acceptabilité analytique fixées par la SFBC étaient, à une concentration de 2 g/L, de 6 % pour l'imprécision et 10,5 % pour l'erreur totale. La différence cliniquement significative avec une probabilité de 95 % entre deux mesures de la transferrine chez un même individu calculée en utilisant la variabilité intra-individuelle (3 %) et l'imprécision analytique (6 %) est de $\pm 18,6$ %, ou de $\pm 11,3$ % avec une imprécision de 2,8 %. Une faible variation de transferrine est donc cliniquement pertinente. L'exploration du fer circulant s'effectue par le dosage couplé du fer plasmatique et de la transferrine qui permet le calcul du coefficient de saturation de la transferrine (CST), selon la formule : $\text{CST (\%)} = \left\{ \frac{\text{concentration en fer plasmatique } (\mu\text{mol/L})}{[2/80\ 000 \times 10^6 \times \text{concentration en transferrine (g/L)}]} \right\} \times 100$. (CS= fer sérique/CFT ; CFT= transferrine x 25 ; CS : coefficient de saturation en fer de la transferrine ; CFT : capacité total de fixation du fer par la transferrine). Le calcul du CST, remplace la mesure de la capacité totale de fixation qui était utilisée lorsque les dosages immunologiques de la transferrine n'étaient pas disponibles. Le CST est habituellement compris entre 20 et 40 % et son principal intérêt est d'orienter vers une surcharge en fer lorsque sa valeur dépasse 45 %. La diminution du CST en dessous de 16 % est observée dans les carences en fer à un stade avancé. Un syndrome inflammatoire se traduit aussi par une baisse du CST. Cependant dans ce cas, la diminution du fer plasmatique n'est pas due à une carence en fer. [39, 40]

5-3)- Fer hématopoïétique

Le fer du pool circulant est capté par les cellules hématopoïétiques pour constituer le pool fonctionnel permettant la synthèse de l'hémoglobine (Hb). Un récepteur membranaire spécifique de la transferrine permet cette captation. Ce récepteur est ubiquitaire mais 80 % des récepteurs de la transferrine sont érythroblastiques. La méthode de référence de diagnostic de la carence martiale repose sur l'exploration directe du pool hématopoïétique par mise en évidence des sidéroblastes médullaires par la coloration de Perls. Ceci impose de réaliser une ponction sternale qui est un geste invasif rarement pratiqué. Afin de pallier à cet inconvénient, divers paramètres hématologiques et biochimiques sanguins ont été développés pour l'étude directe et indirecte du pool fonctionnel de fer.

Les paramètres de routine de la numération sanguine (Hb, VGM, TCMH et indice de distribution des globules rouges) constituent un moyen peu sensible et non spécifique d'évaluer le pool de fer fonctionnel. De nouveaux paramètres érythrocytaires plus sensibles pour détecter une érythropoïèse ferriprive ont été développés sur les analyseurs de cytologie. L'analyse par cytométrie en flux des réticulocytes permet la détermination de leur contenu en hémoglobine (CHr) et détecte précocement une érythropoïèse ferriprive (48 h) en étudiant les cellules déficientes en fer dès qu'elles sont libérées dans la circulation sous forme de réticulocytes ; les valeurs usuelles s'étendent de 28 à 34 pg. Chez les personnes saines, le rapport entre CHr et TCMH est > 1 . Un manque récent de fer se voit par l'inversion de ce rapport (< 1). Le pourcentage de globules rouges hypochromes (% HYPO) défini comme le pourcentage de globules rouges ayant une concentration en Hb inférieure à 28 g/dL renseigne sur le statut érythropoïétique au cours des 3 à 4 derniers mois en raison de la durée de vie de

120 jours des érythrocytes. Les valeurs usuelles du % HYPO chez les sujets sains varient de 2 à 5 % selon les auteurs. Des valeurs du % HYPO > 5 % indiquent qu'il existe une érythropoïèse ferriprive et des valeurs > 10 % sont retrouvées en cas d'anémie ferriprive.

La ferrochélatase catalyse l'étape finale de la synthèse de l'hème, l'incorporation du fer dans la protoporphyrine IX. Si l'apport de fer pour l'érythropoïèse est insuffisant, c'est le zinc qui prend sa place dans la protoporphyrine IX et la protoporphyrine à zinc remplace l'hème. Une protoporphyrine à zinc augmentée signale qu'il n'y a pas assez de fer pour la synthèse de l'hème. Elle témoigne ainsi d'une érythropoïèse ferriprive, c'est-à-dire d'un manque de fer fonctionnel. Une fourniture insuffisante de fer pour l'érythropoïèse peut provenir non seulement d'une carence martiale mais aussi d'un trouble de la distribution du fer ou de situations dysérythropoïétiques (syndrome myélodysplasique, saturnisme, beta-thalassémie majeure). La protoporphyrine à zinc peut être dosée par une méthode fluorométrique simple, rapide et très peu onéreuse.

Le récepteur soluble de la transferrine (RsTf) est la forme monomérique circulante du récepteur cellulaire. Sa concentration plasmatique est proportionnelle à la quantité totale des récepteurs membranaires présents à la surface des cellules qui dépend quant à elle du nombre de précurseurs érythrocytaires et de l'apport de fer à l'organisme. La déterminante la plus importante de la concentration de RsTf est l'activité érythropoïétique médullaire. Des concentrations basses se voient dans l'hypoplasie médullaire, comme c'est le cas dans l'insuffisance rénale chronique, les anémies aplasiques ou après chimiothérapie intensive. Des concentrations très faibles correspondent

à une érythropoïèse diminuée. Des concentrations augmentées, jusqu'à 20 fois la norme, se voient dans les situations de stimulation de l'érythropoïèse, par exemple les anémies hémolytiques, les syndromes thalassémiques graves, les anémies mégaloblastiques et les syndromes myélodysplasiques. Le RsTf n'est un paramètre de l'activité érythropoïétique que lorsque les réserves de fer sont suffisantes. Si elles sont épuisées et s'il n'y a plus assez de fer disponible pour l'érythropoïèse, l'expression du récepteur de la transferrine est augmentée, tout comme la densité des récepteurs sur les précurseurs érythrocytaires. C'est ainsi que le RsTf augmente proportionnellement aux besoins en fer. L'intérêt du RsTf est que sa concentration n'est pas modifiée par l'existence d'un syndrome inflammatoire. L'inconvénient du dosage du RsTf est que, malgré le développement d'un standard de référence, les réactifs commercialisés ne sont actuellement pas standardisés et les valeurs usuelles diffèrent du simple au double d'un réactif à l'autre, ce qui impose d'utiliser le même réactif pour le suivi d'un patient. De plus, la variation biologique bien qu'encore peu évaluée semble assez élevée avec une variation interindividuelle de 20,8 % et intra-individuelle de 13,6 % et doit être prise en compte dans l'interprétation des résultats. Le rapport RsTf/Log ferritine permettrait une estimation fiable du fer corporel et son calcul peut s'avérer utile pour le diagnostic de carence en fer associée à un syndrome inflammatoire. [39, 40]

5-4)- Détermination du stock en fer : Fer de réserve

Le fer du pool circulant peut être stocké pour constituer un pool de réserve intracellulaire, principalement au niveau hépatique. Le fer est stocké au sein de la ferritine. La mesure directe du fer tissulaire impose de pratiquer une biopsie hépatique qui trouve principalement son intérêt dans l'exploration des

surcharges avérées en fer (coloration de Perls des macrophages et fer pondéral). Il est possible de recourir à l'imagerie (IRM) pour mettre en évidence une surcharge en fer hépatique ou cardiaque. L'exploration indirecte du pool de réserve repose sur les dosages de la ferritine sérique ou plasmatique, et érythrocytaire. Chez le sujet sain, la concentration en ferritine plasmatique ou érythrocytaire est corrélée à la ferritine tissulaire et donc au fer de réserve. L'augmentation de 1 µg/L de la concentration en ferritine correspond au stockage de 8 mg de fer. Cette relation n'est plus valable au-delà de 1 000 µg/L car la ferritine tissulaire s'agrège alors sous forme d'hémosidérine insoluble. La diminution de la concentration en ferritine plasmatique et/ou érythrocytaire est pathognomonique de la carence en fer. Une ferritine plasmatique < 15 µg/L est le reflet de réserves en fer épuisées et une ferritine < 30 µg/L témoigne de réserves insuffisantes. Une ferritine basse prouve donc que le fer en réserve est insuffisant, mais pas que l'érythropoïèse est concernée, et de ce fait elle ne permet pas de dire si une anémie est imputable à une carence martiale ou non. Des augmentations de la concentration de ferritine, indépendantes des réserves de fer, sont fréquentes et peuvent masquer une carence martiale. Etant une protéine de la phase aiguë, son taux augmente dans les états inflammatoires aigus et chroniques (pathologies malignes, infections chroniques, maladies auto-immunes). Une fois les infections aiguës guéries, la ferritine peut rester augmentée jusqu'à 5 semaines, elle est également augmentée dans les hépatopathies. Dans de telles situations, mais aussi quelques semaines après injection intraveineuse de fer, la concentration de ferritine n'a plus aucun rapport avec les réserves de fer : il peut y avoir une carence martiale malgré un taux de ferritine normal. La ferritine érythrocytaire serait peu sensible à

l'inflammation mais son dosage est rarement pratiqué en l'absence d'automatisation de la phase de lavage des érythrocytes. [39, 40]

5-5)- Dosage de l'hepcidine.

L'importance de ce peptide dans le contrôle du métabolisme du fer a suscité de grands espoirs quant à son intérêt diagnostique. Des difficultés méthodologiques de dosage ont retardé l'évaluation de l'importance de ce paramètre. Des techniques utilisant la spectrométrie de masse ou la radioimmunologie ou des techniques immunoenzymatiques ont finalement été proposées. Les études comparatives réalisées entre les différentes méthodes montrent des corrélations satisfaisantes, en notant l'existence de grandes variabilités dans les valeurs seuils et les valeurs normales. Cette première constatation rend compte de la difficulté à comparer certaines études publiées. Un second point crucial est l'existence, comme pour le fer, de variations nyctémérales. Enfin, la multiplicité des signaux régulant l'expression de l'hepcidine, dont certains s'opposent, explique probablement la fourchette importante des valeurs normales.

Tous ces éléments font qu'aujourd'hui l'interprétation des résultats reste délicate et doit tenir compte de l'histoire clinique et des autres paramètres du bilan martial. Les grands schémas sont les suivants: la surcharge en fer et l'inflammation augmentent l'hepcidine alors que l'hypoxie et l'augmentation de l'activité érythropoïétique la diminuent. Cependant, l'intrication des signaux fait que, par exemple, chez des patients thalassémiques surchargés en fer, une hepcidinémie basse est retrouvée (le signal augmentation de l'érythropoïèse étant dominant par rapport à celui de la surcharge en fer).

Dans le cadre des anémies par carence globale du stock en fer, l'hepcidine est abaissée. Cependant, lorsque la carence en fer de l'organisme est relative, liée à une séquestration du fer dans les macrophages telle qu'observée en

situation inflammatoire, l'hépcidinémie est élevée. Une situation particulière est la mutation du gène Tmprss6. La conséquence est l'apparition d'une anémie réfractaire à la supplémentation orale en fer, du fait d'une hyperexpression de l'hémojuvéline qui elle-même est à l'origine d'une hyperhépcidinémie majeure en l'absence de tout syndrome inflammatoire. [5]

5-6)- Céruloplasmine et activité ferroxidase.

Les dosages de la céruloplasmine et de son activité ferroxidase permettent d'explorer les surcharges en fer au cours desquelles existe paradoxalement, conjointement à une hyperferritinémie, un abaissement marqué du fer sérique et de la saturation de la transferrine. Ils peuvent permettre d'évoquer le diagnostic d'acéruloplasminémie soit héréditaire soit acquise après exposition au zinc. [5]

5-7)- Dosage des formes anormales du fer.

Le fer non lié à la transferrine étant potentiellement toxique, de même que le fer plasmatique réactif, des méthodes de dosage ont été développées et permettent de quantifier ces espèces chimiques de fer. Ce type de fer est particulièrement mis en évidence chez des patients présentant de fortes surcharges en fer avec élévation de la saturation de la transferrine comme lors des thalassémies où fer non lié à la transferrine atteint des valeurs de 5 à 10 μM et au cours des hémochromatoses génétiques (1 à 3 μM). [5]

5-8)- Mise en évidence de mutations.

La suspicion d'une maladie génétique doit faire rechercher une mutation sur le gène en cause. Dans le cadre des surcharges en fer, la recherche de la mutation, en cause dans 80% des surcharges en fer génétiques (mutation C282Y du gène HFE), est aisément réalisable en routine dans un laboratoire de biologie

moléculaire. En revanche, d'autres recherches peuvent nécessiter la mise en œuvre du séquençage complet du ou des gènes d'intérêt réalisé dans des laboratoires spécialisés. Ces analyses sont coûteuses et imposent de bien définir les critères de décision.

Le séquençage des gènes permet d'identifier des variants. Qui sont soit des mutations délétères soit des polymorphismes. La confirmation du caractère pathologique d'un variant méconnu nécessite la réalisation d'enquête familiale afin de vérifier la ségrégation de la mutation et de la pathologie. De plus, des études fonctionnelles recherchant l'impact des mutations sur l'épissage et/ou l'adressage et/ou la fonction de la protéine peuvent être envisagées. [5]

PARTIE2:

L'HEPCIDINE : HORMONE CLÉ

DU

MÉTABOLISME DU FER

1)-L'Hepcidine : Découverte, structure, fonction(s) biologique(s) et mutations.

1-1)- Découverte de l'hepcidine

C'est en 2001 que l'histoire de l'hepcidine a commencé, avec la purification du peptide par deux laboratoires indépendants qui cherchaient à identifier de nouveaux peptides antimicrobiens. L'hepcidine tient son nom de son site majeur de production, «hep» pour hépatique, et «idine» de son activité bactéricide. Si aujourd'hui le rôle de l'hepcidine dans le métabolisme du fer n'est plus à démontrer, en revanche la fonction antimicrobienne du peptide ne semble pas compatible avec les faibles concentrations circulantes du peptide chez les mammifères. [41]

Ce peptide a d'abord été purifié chez l'homme, dans le plasma puis dans l'urine. Il correspond en fait à la forme mature de 25 acides aminés résultant du clivage d'une proforme de 84 acides aminés qui est orientée vers la voie de sécrétion par la présence en son sein d'une séquence de type peptide signal. Son activité antimicrobienne sur certaines souches bactériennes a été mise en évidence. Le premier lien entre l'hepcidine et le métabolisme du fer a été mis en évidence par Pigeon et al. [42] qui, en utilisant une approche de type hybridation suppressive soustractive entre foie de souris surchargées en fer ou non, ont montré une augmentation dose dépendante de l'expression de l'ARNm codant l'hepcidine en condition de surcharge en fer. De plus, l'expression hépatique des ARNm de l'hepcidine, chez des souris présentant une surcharge en fer d'origine génétique du fait d'une non expression de la bêta2-microglobuline était diminuée si la concentration hépatique en fer de ces souris était relativement abaissée du

fait d'un régime pauvre en fer. Ainsi l'expression hépatique de l'hepcidine apparaissait-elle modulée par la charge en fer. Chez la souris, deux gènes codant l'hepcidine ont été identifiés alors qu'un seul semble présent chez l'homme.

L'ARNm de l'hepcidine est exprimé principalement dans le foie, au niveau des hépatocytes, et à un moindre niveau dans le cœur et la moelle épinière. L'expression de cet ARNm est aussi majorée par l'exposition aux lipopolysaccharides qui entraîne une réaction de phase aiguë comme celle observée au cours de l'infection ou de l'inflammation. Ces données sont confortées par celles obtenues chez le poisson montrant une inductibilité de l'ARNm en situation infectieuse et/ou inflammatoire. Des sites de fixation putatifs de facteurs de transcription susceptibles de rendre compte de l'expression hépatique prédominante et de l'induction de l'expression de l'ARNm en situation de stress oxydatif ou inflammatoire sont suspectés au niveau du promoteur de l'hepcidine par l'analyse bioinformatique.

Nicolas et al. [43] analysant des souris invalidées pour le gène USF2 (Figure15A) dans le cadre de recherches sur le métabolisme du glucose ont relié l'observation d'une couleur anormale de certains organes, dont le pancréas et le foie, à un phénotype de surcharge en fer comparable à celui observé au cours de l'hémochromatose génétique. Réalisant une hybridation suppressive soustractive entre le foie de ces animaux et le foie d'animaux contrôles (Figure15B), ils ont mis en évidence la modulation de l'expression d'un grand nombre de gènes parmi lesquels l'hepcidine dont l'ARNm était indétectable. La non-expression du gène de l'hepcidine est consécutive à la manœuvre visant à invalider le gène USF2 qui est très proche des gènes de l'hepcidine. Il ne s'agit donc pas d'un effet biologique lié à l'extinction d'USF2. Ces résultats, associés à ceux précédemment décrits, leur ont permis d'émettre l'hypothèse que l'hepcidine

pouvait être un facteur circulant permettant d'une part de réguler l'absorption digestive de fer et d'autre part de moduler la rétention de fer dans le secteur macrophagique. Ainsi, les animaux invalidés pour le gène hepcidine présenteraient une surcharge en fer par hyperabsorption digestive de fer avec cependant une fuite macrophagique de fer expliquant que la rate chez ces animaux ne serait que peu surchargée en fer. Au cours de la réaction inflammatoire, l'augmentation de l'expression de l'hepcidine favoriserait la rétention de fer dans les macrophages et la diminution de l'absorption digestive de fer, deux phénomènes favorisant la diminution du fer circulant disponible pour les cellules. L'hypothèse d'un rôle de l'hepcidine dans le métabolisme du fer vient d'être renforcée par la constatation du développement d'un phénotype de carence en fer chez des animaux transgéniques hyperexprimant l'un des gènes de l'hepcidine, ce tableau entraînant le plus souvent la mort rapidement après la naissance. Ce phénotype serait dû à l'expression anormale du gène durant la période intra-utérine, l'expression du transgène étant placée sous la dépendance du promoteur de la transthyrétine est beaucoup plus précoce que normalement (Figure16). L'hepcidine jouerait donc aussi un rôle dans le contrôle du passage transplacentaire du fer. Finalement Nicolas et al. [44] soulignent que l'administration de fer injectable aux souriceaux nés vivants permet de restaurer un phénotype normal. Cependant, comme ils le mentionnent, il n'y a pas de groupe contrôle dans cette expérience et rien ne permet de préjuger de l'évolution spontanée après la naissance.

L'hypothèse du rôle de l'hepcidine dans le contrôle du métabolisme entérocytaire, placentaire et macrophagique du fer est séduisante. Il faut noter qu'en concordance avec cette hypothèse Andrews et al. [45] ont montré, qu'une diminution de l'ARNm de l'hepcidine était trouvée chez des souris présentant

une carence en fer du fait de déficits génétiques dans la captation entérocytaire de fer, mais aussi, et ce de façon paradoxale chez des souris atranferrinémiques qui présentent à la fois une anémie par déficit d'incorporation en fer dans les érythroblastes et une surcharge hépatique en fer majeure. Cette dernière donnée pourrait faire évoquer un signal d'origine érythroïde dans le contrôle de l'expression de l'hepcidine. Elle est aussi supportée par l'observation de cette équipe qui rapporte une expression anormalement élevée de l'ARNm de l'hepcidine dans un volumineux adénome hépatique provenant d'un malade, porteur d'une glycogénose de type 1a et qui présentait une anémie réfractaire. Celle-ci a été régressive après chirurgie d'exérèse de l'adénome. [46]

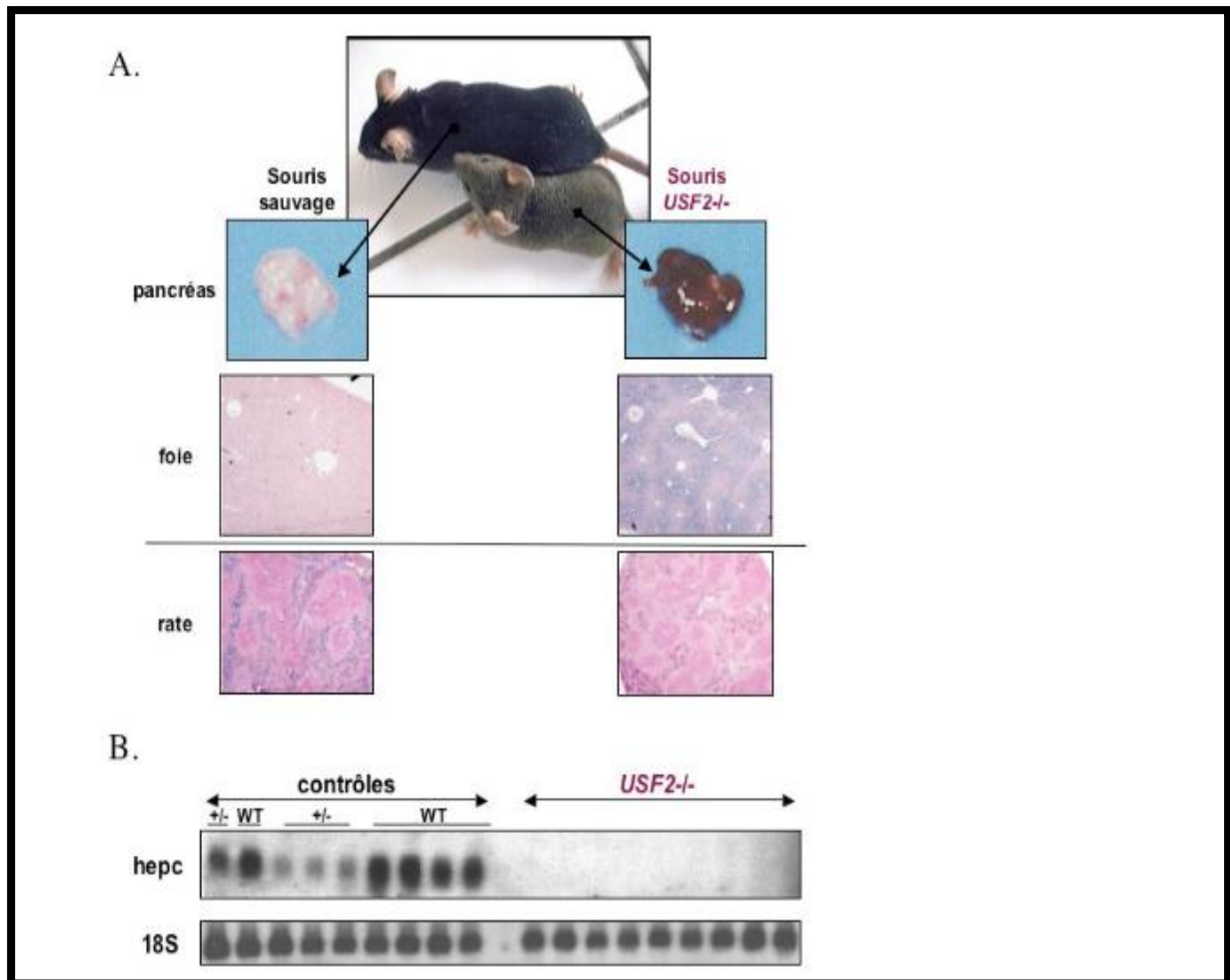


Figure 15. Phénotype des souris *Usf2*^{-/-} [43]

- A. Surcharge en fer des souris *Usf2*^{-/-}. Photo macroscopique du pancréas de couleur marron dans les souris *Usf2*^{-/-} due à l'accumulation du fer. Coloration de Perls (le fer est coloré en bleu) de coupes de foie et de rate montrant respectivement l'accumulation et la déficience en fer des deux organes dans les souris *Usf2*^{-/-}.
- B. Northern blot fait sur des ARN de foie de souris contrôles ou *Usf2*^{-/-}. La sonde hepcidine utilisée reconnaît à la fois les transcrits issus des gènes *Hepc1* et *Hepc2*.

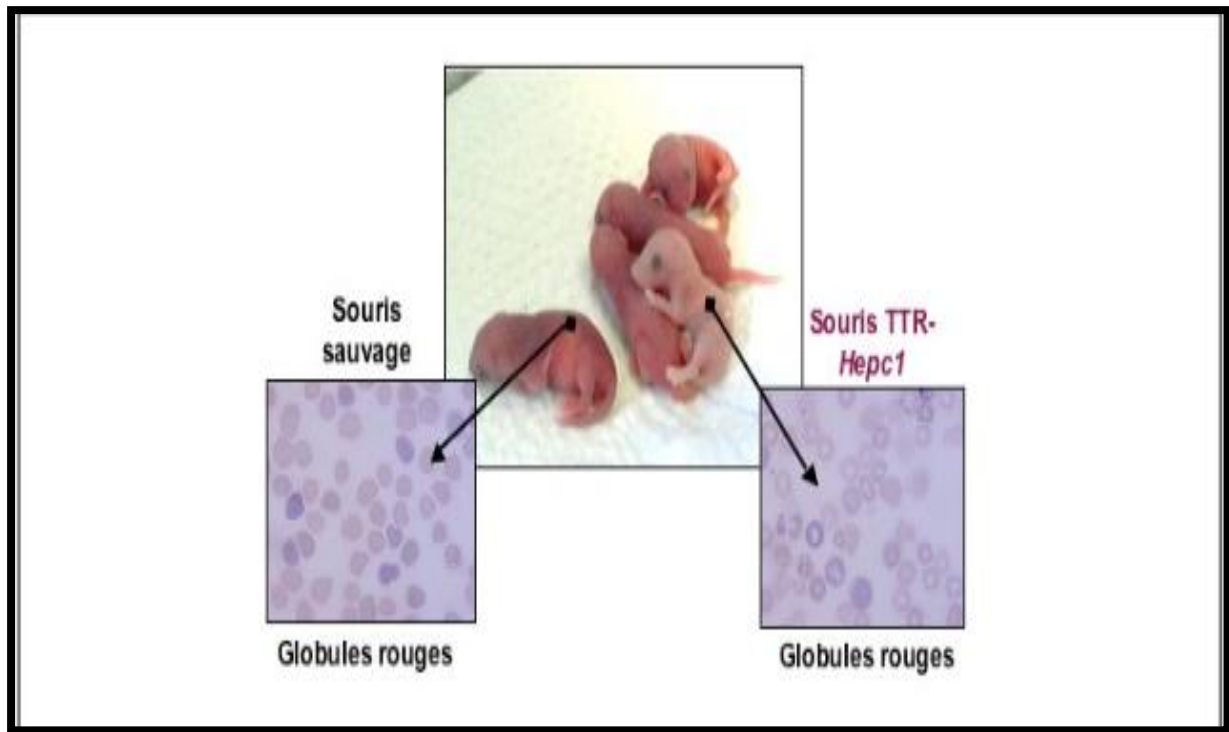


Figure 16. Phénotype des souris TTR-Hepc1 [44]

Aspect des souriceaux à la naissance : on remarque le souriceau transgénique pâle. Le frottis sanguin de ces souris montre une anisocytose, une poikilocytose et une hypochromie des GR des souris transgéniques.

C'est essentiellement sur la base de ces résultats que l'activité hyposidérémiante de l'hepcidine a été établie et que l'hepcidine circulante s'est vue attribuer le nom d'hormone du fer : l'hepcidine est synthétisée par le foie, déversée dans la circulation sanguine et agit à distance sur l'intestin, en inhibant l'absorption intestinale du fer alimentaire, et sur les macrophages en inhibant le recyclage du fer provenant du catabolisme de l'hémoglobine. Lorsque le fer alimentaire est en excès, l'hepcidine augmente pour limiter les excès de fer et, dans un modèle dépourvu d'hepcidine, l'absence de ce régulateur négatif provoque une hyperabsorption du métal et un recyclage accru du fer des macrophages, conduisant à l'accumulation du métal dans les parenchymes avec une atteinte principalement hépatique. [41]

1-2)- Du (des) gène(s) à la protéine hepcidine.

Le gène hepcidine humain (appelé HAMP) est formé de 3 exons codant pour une pré-pro-protéine de 84 acides aminés comportant : le peptide signal de 22 acides aminés, une prorégion et le peptide mature de 25 acides aminés purifié dans le sang et les urines de volontaires sains (Figure 17B).

Alors qu'un seul gène code pour l'hepcidine chez l'homme et chez le rat, il existe deux gènes chez la souris, *Hepc1* et *Hepc2*, probablement issus d'une duplication. Les peptides matures issus des gènes *Hepc1* et *Hepc2* ne possèdent que 68 % d'identité et présentent très vraisemblablement des fonctions différentes non redondantes. Ainsi, dans les souris KO *Hepc1*, *Hepc2* n'est pas capable d'inhiber l'absorption intestinale de fer et des souris transgéniques *Hepc2*, contrairement aux souris transgéniques *Hepc1*, ne sont pas anémiques et ne présentent pas de perturbation du métabolisme du fer.

Le peptide natif de 25 acides aminés a une structure très particulière ; il contient 8 cystéines impliquées dans 4 ponts disulfures dont un formé par deux cystéines adjacentes (Figure 17A). Au cours de l'évolution, ces cystéines ont été très conservées ; elles sont retrouvées dans toutes les espèces décrites, y compris chez les poissons (Figure 18). La structure tridimensionnelle de l'hepcidine présentée par l'équipe de T. Ganz [47] a été remise en question par Farnaud et al. [48] qui propose une structure plus flexible du peptide, sans feuillets bêta, mais uniquement une structure de type boucle. L'étude d'hepcidines synthétiques mutées a permis d'établir que, de façon surprenante, alors qu'ils ne sont pas conservés parmi les espèces, ce sont les 5 acides aminés N-terminaux qui sont essentiels pour l'activité de l'hepcidine. [41]

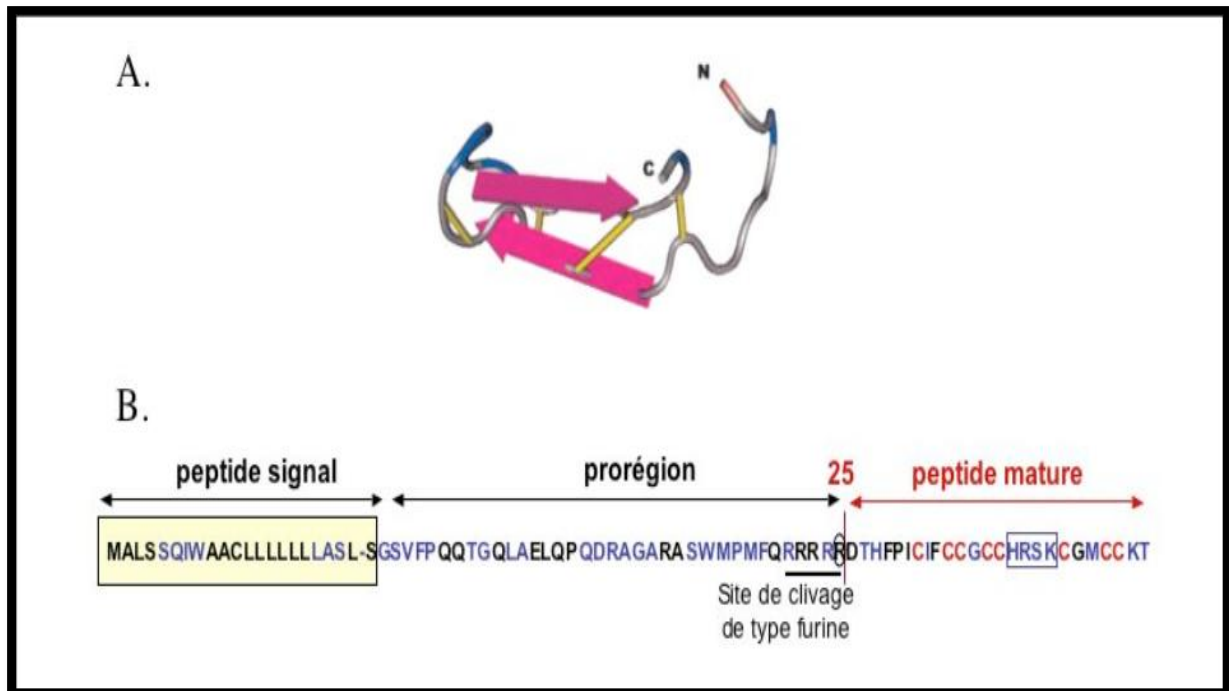


Figure 17. Structure tridimensionnelle et séquence de la protéine hepcidine humaine

A. Structure tridimensionnelle prédictive de l'hepcidine mature. Les ponts disulfure sont indiqués en jaune, les acides aminés basiques en bleus, les acides en rouge, et les feuillets β par des flèches roses. [47]

B. Séquence protéique de l'hepcidine. Les acides aminés les plus conservés sont en noir, les moins conservés en bleu. Les huit cystéines sont en rouge. Le cadre jaune délimite le peptide signal. Les acides aminés formant un site de clivage de type furine sont soulignés. [49]

DTHFPICIFCCGCCR- SK CGMCC KT	Human BC020612
DTHFPICIFCCGCCR- AI CGMCC KT	Pig AF516143
DTHFPICIFCCGCCR- PK CGLC CKT	Dog NM001007140
DTNFPICLFCCCKCKN- SS CGLC CKIT	Rat NM053469
DTNFPICIFCCCKCN- SQ CGIC CKT	Mouse (hepc1) BC021587
DINFPICRFCCQCCN- PS CGIC CEE	Mouse (hepc2) AY232841
HSHLSICVHCCNCC KY -KGCGK CLT	Western clawed frog DN020182
HSHLSICIHCCNCC KF -KGCGK CLT	African clawed frog CB199190
QSHLSLCRYCCNCCKN-KGCGF CCRF	Channel catfish DQ062122
QSHLSLCRFCC K CCRN-KGCGY CCKF	Zebrafish NM205583
QSHLSLCRWCCNCCHN-KGCGF CCKF	Salmon BQ036900
QSHLSLCRYCCTCCKN-KGCGF CCRF	Killifish CN990077
QSHLSLCRWCCNCCHN-KGCGF CCKF	Rainbow trout BX868476
QSHLSLCRWCCNCCHN-KGCGF CCRF	Rainbow smelt CX351105
QSHLSMCRWCCNCCTANKGCGF CCRF	Five-ray yellowtail AU312565
QSHISMCTMCCNCCKNYKGCGF CCRF	Medaka AU178966
QSHISMCTYCCNCCCRANKGCGY CCKF	Gilthead seabream CB177060
HSSPGG CRFCCNCCPNMSGCGV CCRF	Hybrid striped bass AF394246
-GFKCKFCCGCCRPG-V CG LC CCRF	Atlantic halibut CF931737
-GIKCKFCCGCCTPG-V CG V CCRF	Long-jawed mudsucker AW783897
-GFKCKFCCGCCR AG -V CG LC CKF	Winter flounder AW013287
-GIKCRFCCGCCTPG-IC G V CCRF	Tilapia AY725227
- AI KCKFCCGCCTPG-V CG V CCRF	Japanese sea bass AY864813
SP K KCRFCCNCCPRMV G CGT CCKF	Takifugu SINFRUG00000156845
SP AG CRFCCGCCPRMR G CGV CCKF	Tetraodon CR644058

Figure 18. Séquence de l'hepcidine mature de différentes espèces [50]

Les hepcidines sont regroupées par mammifères, amphibiens et poissons. Les poissons sont divisés en deux groupes selon leur degré de similarité dans la séquence peptidique hepcidine. Les cystéines conservées dans toutes les espèces sont surlignées en jaune. Les flèches indiquent les sites de clivage putatifs. Le nom des espèces est indiqué à droite avec le numéro de l'EST correspondant (pour l'hepcidine de Takifugu, il s'agit du numéro d'accès de la base de données Ensembl). En gras figurent les résidus qui ne sont pas conservés dans un même groupe.

1-3)- Mode d'action de l'hepcidine : Interaction avec la ferroportine

Suite à la mise en évidence du rôle de l'hepcidine dans le métabolisme du fer, de nombreuses équipes ont cherché à identifier son récepteur. C'est chose faite depuis 2004. [41]

Le phénotype des souris sans hepcidine et des souris surexprimant l'hepcidine ont amené à émettre l'hypothèse d'une action de l'hepcidine au niveau intestinal et au niveau du relargage du fer par les macrophages. Les cibles potentielles de l'hepcidine restent néanmoins à déterminer. L'étude de situations où l'hepcidine est augmentée ou diminuée par différents traitements chez la souris (inflammation, régime riche en fer, anémie hémolytique, régime pauvre en fer) a permis à plusieurs équipes d'analyser l'expression des différents acteurs de l'absorption intestinale de fer. Les résultats sont très disparates, certaines études tendant à montrer que l'hepcidine agirait seulement au niveau apical ou basolatéral de l'entérocyte, d'autres que l'hepcidine agirait aux deux niveaux, à la fois sur Dcytb, DMT1 et la ferroportine. Ces divergences peuvent être imputées au traitement utilisé pour faire varier l'hepcidine. En effet, celui-ci pourrait agir directement sur les différents acteurs étudiés et masquer l'effet spécifique de l'hepcidine.

Des études utilisant de l'hepcidine synthétique ou recombinante, donnent également des résultats divergents, posant la question de la qualité de l'hepcidine utilisée dans ces études. Ainsi, Yeh et al. [51] ont injecté de l'hepcidine recombinante et ont observé une diminution du messager de la ferroportine au pôle basolatéral. À l'inverse, une étude de Laftah et al. [52] utilisant de l'hepcidine synthétique a montré une diminution uniquement du transport apical de fer sans modification du transport basolatéral de l'entérocyte.

Enfin, des études réalisées dans un modèle *in vitro* surexprimant la ferroportine apportent des données très convaincantes quant au rôle de la ferroportine comme cible de l'hépcidine. [6]

La ferroportine, le seul exportateur de fer connu est présent à la surface des entérocytes, des macrophages et des hépatocytes. Il était donc possible que l'hépcidine puisse se lier à la ferroportine de manière à limiter l'incorporation de fer. Pour répondre à cette question, Nemeth et al. [53] ont généré en 2004 une lignée cellulaire stable exprimant la ferroportine murine fusionnée dans sa partie C-terminale à la GFP sous le contrôle d'un promoteur inducible. Ils ont montré que la forme mature de l'hépcidine lie *in vitro* la ferroportine dans des cultures de tissus et induit non seulement son internalisation dans les vésicules de clathrine mais aussi la dégradation de la ferroportine dans les lysosomes (Figure 19). [41, 53]

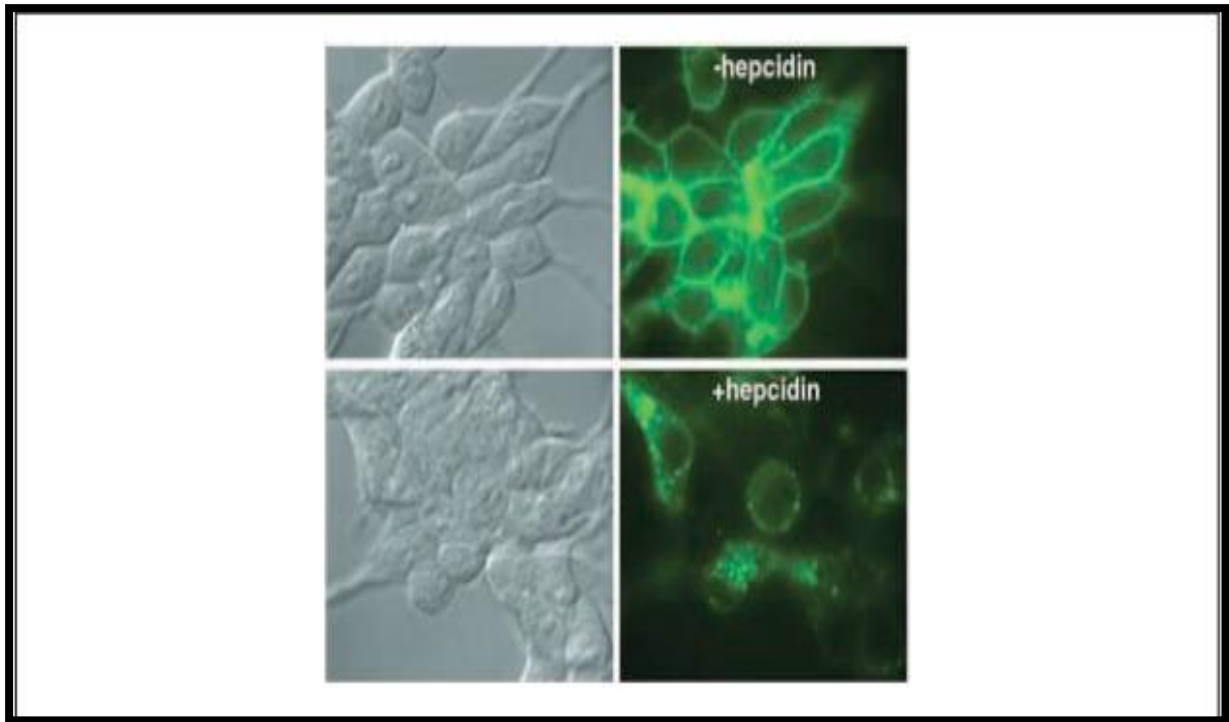


Figure 19. Internalisation et dégradation de la ferroportine-GFP par l'hepcidine. [53]

Induction de l'expression du transgène ferroportine-GFP par la ponastérone dans des lignées stables HEK293. Les cellules sont incubées pendant 6 h en absence (-hepcidin) ou en présence (+hepcidin) de 0,5 μ M d'hepcidine humaine purifiée. À gauche, images en contraste de phase, à droite, fluorescence de la GFP couplée à la ferroportine.

Les 5 acides aminés N terminaux de l'hepcidine sont absolument requis pour la fixation à la ferroportine. La ferroportine possède un domaine de liaison à l'hepcidine (HBD pour « hepcidin Binding domain ») constitué d'une boucle extracellulaire adjacente à la boucle intracellulaire. Ce domaine permet à l'hepcidine d'interagir avec la ferroportine à la surface membranaire. L'interaction avec l'hepcidine induit la phosphorylation de deux tyrosines adjacentes situées dans la partie intracellulaire de la ferroportine. La phosphorylation est indispensable à l'internalisation de la molécule. Une fois internalisée dans l'endosome, la ferroportine est déphosphorylée puis ubiquitinylée et dégradée dans l'endosome tardif. Le mécanisme impliqué dans

la phosphorylation des tyrosines a été établi. La liaison de l'hépcidine à la ferroportine induit la fixation et l'activation de la protéine kinase Jak2 (Janus kinase 2) qui va alors assurer la phosphorylation des deux tyrosines intracellulaires. Cependant, la ferroportine est présente à la surface cellulaire sous forme de dimère et chaque monomère doit interagir avec l'hépcidine pour que Jak2 puisse se fixer à la ferroportine suggérant que les deux HBD doivent être fonctionnels. [23, 54, 55]

L'obtention d'hépcidine synthétique par le groupe de T. Ganz [47] a permis de démontrer directement le rôle hyposidérémiant de l'hormone in vivo. Injectée aux souris, l'hépcidine provoque en quelques heures une diminution du fer sérique. Lorsque l'hépcidine injectée est radiomarquée, la radioactivité se retrouve, 1 heure après injection, principalement dans la rate et le duodénum, les deux organes exprimant le plus fortement la ferroportine, mais également au niveau du foie, les macrophages hépatiques exprimant également des quantités importantes de ferroportine (Figure 20). [41, 56]

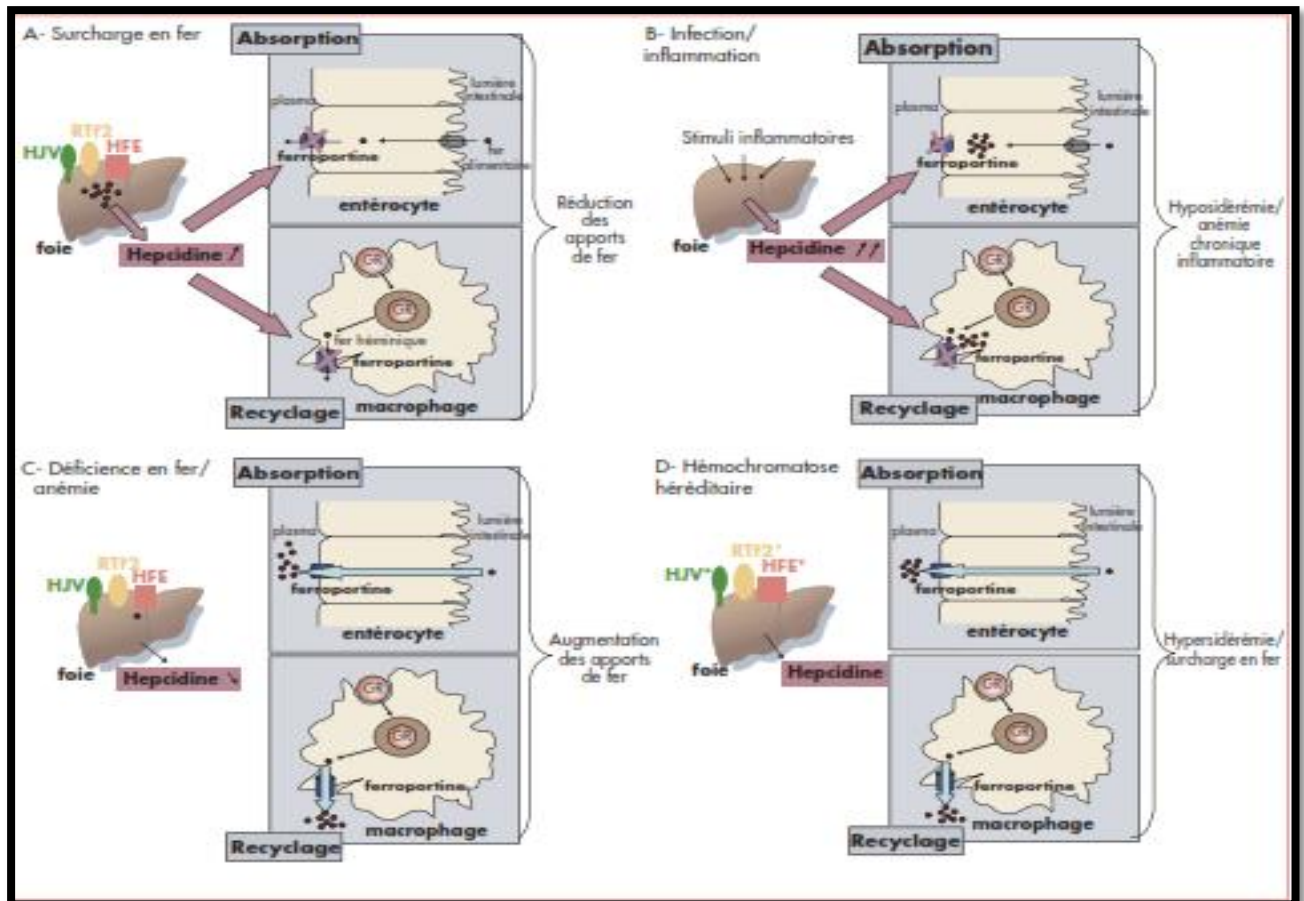


Figure 20. Axe fonctionnel hepcidine-ferroportine dans le contrôle du fer circulant et conséquences de sa dérégulation [41]

L'hepcidine est une hormone qui régule le taux de fer circulant via l'exporteur de fer, la ferroportine, présent à la membrane de l'entérocyte (site d'absorption du fer alimentaire) et au niveau des macrophages (site de recyclage du fer héminique). En situation de surcharge en fer (A), par des mécanismes non encore élucidés mais faisant probablement intervenir les protéines hémochromatosiques hémopuvéline (HJV), récepteur transferrine 2 (RTf2) et HFE, l'expression hépatique du gène de l'hepcidine et les taux circulants de l'hormone sont augmentés, la ferroportine est dégradée conduisant à une hyposidérémie. La diminution du taux de fer circulant pourra conduire à une boucle de rétrocontrôle par inhibition de l'hepcidine permettant un retour à l'homéostasie sérique. De même, en situation d'infection/inflammation (B), les taux d'hepcidine sont considérablement augmentés, conduisant à une hypoabsorption intestinale du fer et une rétention du fer macrophagique, et donc à une hyposidérémie. Si l'infection/inflammation perdure, l'expression du gène hepcidine continuera d'être activée (activation dominante sur les signaux de réserves), conduisant à une anémie chronique inflammatoire. En situation de déficit en fer et d'anémie (C), l'expression de l'hepcidine est diminuée permettant la stabilisation de la ferroportine et donc un apport de fer accru pour faire face aux demandes de l'organisme. Enfin, dans les cas d'hémochromatoses héréditaires (D), la mutation des protéines HJV, RTf2 et HFE, ainsi que la mutation du gène hepcidine lui-même, conduit à une absence complète (mutations HJV et hepcidine) ou à une forte diminution des taux d'hepcidine (mutations HFE et RTf2). Là encore, la ferroportine stabilisée va conduire à un export accru de fer et à l'accumulation massive et précoce (mutations HJV et hepcidine) ou modérée (mutations HFE et RTf2) du métal dans les organes (puisque celui-ci n'est pas utilisé par l'érythropoïèse).

1-4)- Site d'expression de l'hepcidine.

L'hepcidine s'exprime à un niveau très élevé dans le foie (Figure 21), principalement dans les hépatocytes. D'autres sites d'expression plus faible ont été détectés, notamment le cœur, l'estomac, le cerveau, les poumons et le pancréas. La présence d'ARNm ainsi que la détection de la protéine hepcidine dans le rein ont été rapportées mais ce site d'expression de l'hepcidine reste à confirmer et le rôle de l'hormone dans ce tissu reste à ce jour inconnu. L'ARNm d'hepcidine a été retrouvé aussi dans des macrophages activés (macrophages spléniques, macrophages dérivés de monocytes et macrophages pulmonaires). Cette induction de l'hepcidine dans les macrophages activés serait dépendante du récepteur Toll-like 4 (TLR4). Cette expression macrophagique de l'hepcidine est très intéressante et suggère que l'hepcidine produite (si toutefois elle est bien sécrétée, ce qui reste à démontrer) pourrait jouer un rôle primordial pour réguler les concentrations locales de fer à des sites précis de l'inflammation, là où les macrophages sont recrutés. De même, l'hepcidine macrophagique pourrait intervenir dans le développement des tumeurs, macrophages et fer étant des partenaires incontournables de la progression tumorale. Enfin, Bekri et al. [57] viennent de montrer que le tissu adipeux de patients obèses présente des taux élevés d'hepcidine (non seulement dans les macrophages mais aussi dans les adipocytes) en comparaison au tissu adipeux d'individus non obèses. Les auteurs proposent que l'augmentation de la synthèse d'hepcidine soit due aux stimuli inflammatoires associés au syndrome d'obésité et suggèrent que la production non régulée d'hepcidine par le tissu adipeux pourrait contribuer à l'hyposidérémie qui est observée chez 70 % des patients obèses. [38, 41, 58]

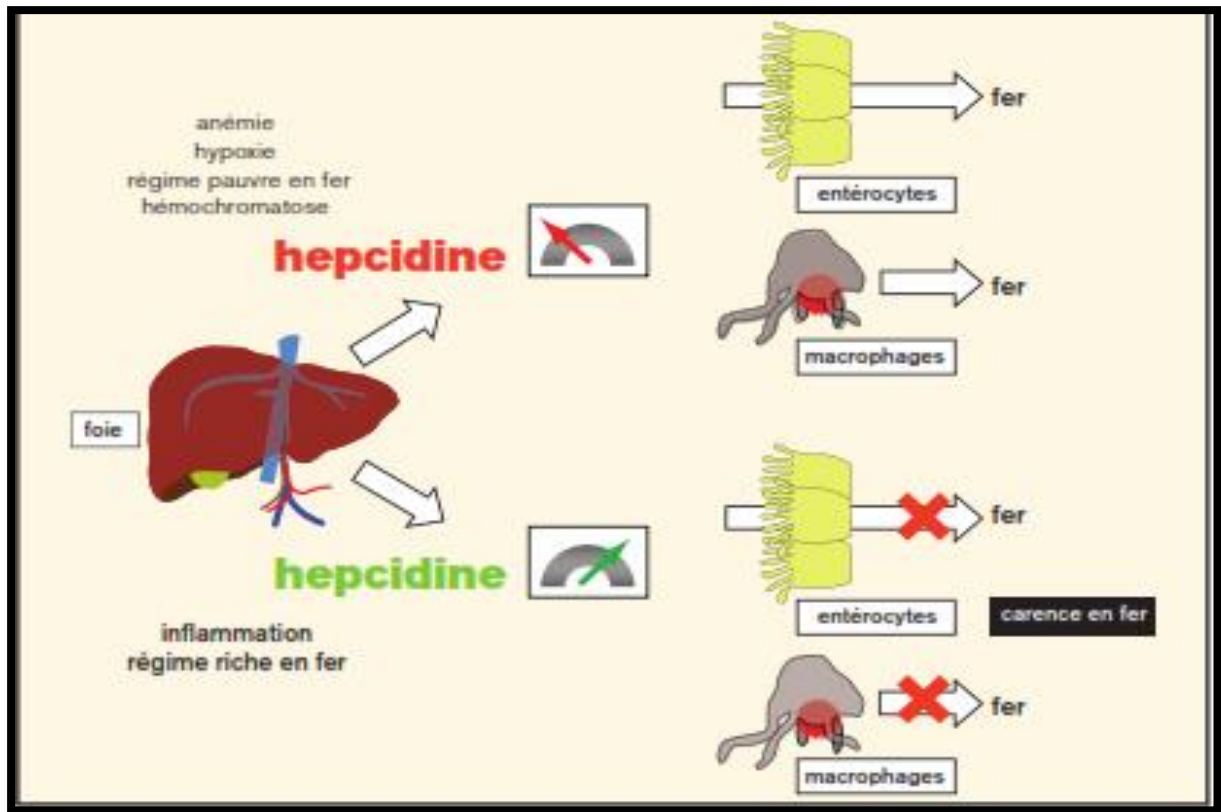


Figure 21. Site d'expression de l'hepcidine. [58].

1-5)- Production et détection de l'hepcidine.

La structure tridimensionnelle du peptide et son état d'oxydation rendent difficile la production d'hepcidine en grande quantité. Aujourd'hui, si plusieurs équipes ont réussi à produire de l'hepcidine, seule celle produite par l'équipe de Ganz a été démontrée comme biologiquement active. La détection de l'hepcidine est également limitée par la difficulté de produire des anticorps spécifiques contre cette protéine dont la structure est très conservée dans les espèces. Là encore, seule l'équipe de T. Ganz dispose d'un anticorps contre l'hepcidine mature humaine et celui-ci est très largement utilisé dans les différentes études de la littérature pour mesurer l'hepcidine urinaire en conditions physiopathologiques. Pour pallier cette difficulté de dosage de

l'hepcidine, des études ont été développées afin de permettre le dosage de l'hepcidine par spectrométrie de masse. Un kit de détection de la pro-hepcidine sérique est également commercialisé et utilisé dans la littérature mais la valeur biologique d'une telle mesure (mesure de la pro-hepcidine de 84 acides aminés et non de l'hepcidine mature de 25 acides aminés) reste à démontrer. En ce qui concerne la détection de l'hepcidine murine, seul un anticorps dirigé contre la pro-hepcidine a été décrit jusqu'à présent.

Cet anticorps permet de visualiser très distinctement la pro- hepcidine dans les structures de sécrétion de la cellule hépatique, en particulier l'appareil de Golgi.

L'équipe de H. Kulaksiz [59] a synthétisé des peptides correspondants à la prorégion (acides aminés 28 à 47) ou au peptide mature (acides aminés 70 à 84). De façon surprenante, les anticorps générés après immunisation par ces peptides donnent tous deux des signaux en western blot de 10 et 20 kDa dans le foie humain. Les auteurs pensent qu'il s'agit de la pro-hepcidine (bande de 10 kDa) et d'un dimère ou agrégat d'hepcidine (bande de 20 kDa). Dans le sérum humain, ces anticorps détectent une faible bande à 10 kDa. On notera que l'anticorps issu de l'immunisation par le peptide mature ne révèle que le précurseur et en aucun cas le peptide mature de 25 acides aminés, ni dans les tissus, ni dans le sérum. Ces anticorps réagissent également sur des échantillons de cobaye, de rat et de souris. L'anticorps dirigé contre la pro-région a été utilisé pour élaborer un kit ELISA commercialisé pour détecter la pro-hepcidine dans des échantillons de sérum humain. La concentration de la pro-hepcidine dans des volontaires sains calculée par ce kit ELISA donne des valeurs de 52 à 153 ng/ml de sérum. La valeur biologique d'une telle mesure sérique du précurseur et non de l'hepcidine mature de 25 acides aminés reste à démontrer.

Enfin, l'équipe de N. Subramaniam [60] a développé des anticorps en immunisant des lapins avec de la pro-hepcidine¹ recombinante de souris. L'utilisation de ces anticorps purifiés en western blot permet de détecter une bande à 7,7 kDa dans le foie de souris correspondant à la pro-hepcidine. Cet anticorps ne semble pas reconnaître l'hepcidine mature.

Chez l'homme, en plus des techniques utilisant des anticorps dirigés contre l'hepcidine mature ou la pro-hepcidine, une autre méthode a été développée pour détecter l'hepcidine. C'est une méthode utilisant la spectrométrie de masse qui permet d'analyser l'hepcidine urinaire. Cette méthode permet d'identifier l'hepcidine mature de 25 acides aminés et des peptides hepcidine de 20 et 22 acides aminés.

D'énormes progrès ont été réalisés dans le domaine de la mesure d'hepcidine, mais, comme le suggère Pietrangelo et Trautwein [61], «la fiabilité des méthodes doit être prouvée (ou réfutée) par des études conçues spécifiquement à cette fin, et que la validation exige que le test (s'il utilise le sang ou l'urine) puisse être transféré et reproduit dans des laboratoires différents ». [38, 41, 56, 62, 63]

1-6)- Fonction(s) biologique(s) de l'hepcidine

Lorsque l'hepcidine a été purifiée et que sa séquence peptidique a été identifiée, des similarités importantes avec les peptides antimicrobiens naturels de la classe des défensines ainsi que l'effet inhibiteur du peptide sur la croissance de certains organismes microbiens ont fait évoquer un rôle antimicrobien pour l'hepcidine.

Cependant, la mise en évidence d'une régulation de son expression sous l'effet du statut en fer avec notamment une induction de son expression au cours des surcharges en fer puis, l'observation capitale du développement de surcharges en fer de type hémochromatose HFE chez des souris dans lesquelles l'expression du gène hepcidine était empêchée ont fait poser l'hypothèse d'un rôle régulateur de l'hepcidine sur la biodisponibilité du fer plasmatique. Le mécanisme moléculaire mis en jeu est une interaction directe de l'hepcidine avec la ferroportine (figure 22). Cette interaction entraîne une phosphorylation de la ferroportine qui est alors internalisée puis dégradée par un processus d'ubiquitination. La conséquence biologique de cette interaction est donc une limitation de la sortie du fer des cellules exprimant normalement la ferroportine. Expérimentalement, il a été montré que l'injection d'hepcidine provoquait une baisse rapide du fer sérique et de la saturation de la transferrine, dans l'heure qui suit l'injection et ce pour une vingtaine d'heures. Les cibles tissulaires privilégiées de l'hepcidine sont la rate et la muqueuse digestive, confirmant ainsi les sites d'action principaux de l'hepcidine.

Il n'est pas exclu que l'hepcidine puisse interagir à d'autres niveaux dans le métabolisme du fer. Ainsi, il a été récemment suggéré que l'hepcidine pourrait

lier le fer. Les conséquences, intra-et extra-cellulaires, d'une telle liaison restent à évaluer. [64]

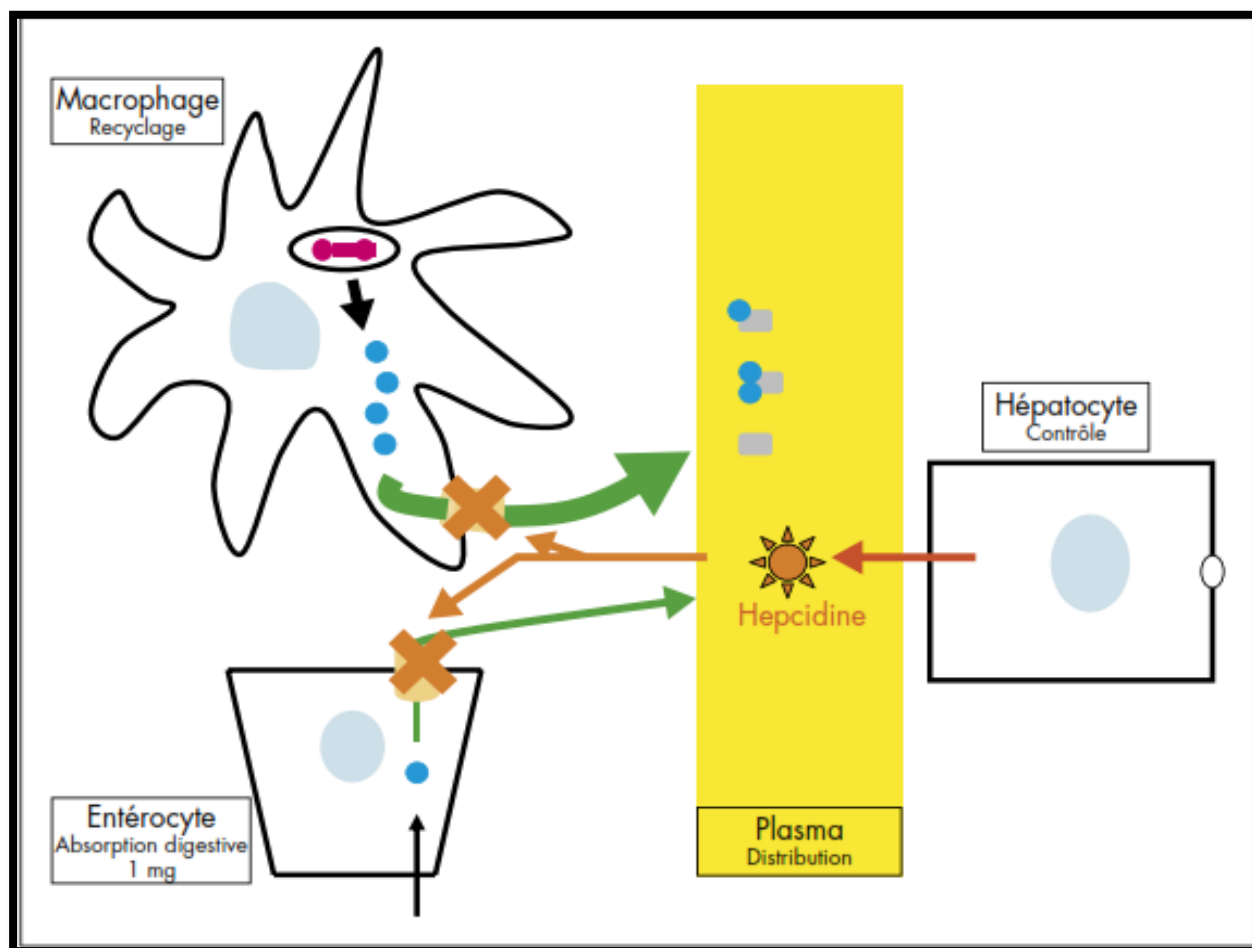


Figure 22. Représentation schématique de l'action de l'hépcidine. [64]

L'hépcidine produite par l'hépatocyte, elle est sécrétée dans le plasma et, en se liant à la ferroportine, empêche la sortie du fer des deux types cellulaires qui sont les sources majeures de fer pour le plasma : macrophages et entérocytes. Disques bleus foncés : atomes de fer. Dans le plasma, ils sont liés à la transferrine (rectangles grisés). Le fer macrophagique est issu du processus d'érythrophagocytose.

1-7)- Mutations de l'hepcidine.

Des mutations du gène codant pour l'hepcidine ont été retrouvées à l'état homozygote chez des patients atteints d'une forme sévère d'hémochromatose, l'hémochromatose juvénile. Ces mutations, qui représentent des cas très rares, sont présentées dans la figure 23. Les mutations identifiées dans la région correspondant au propeptide entraînent soit un décalage de phase de lecture, soit un arrêt de la traduction. De façon plus intéressante, des mutations de substitution ont été retrouvées dans la région codant pour le peptide mature. Ces mutations permettent d'identifier les régions importantes dans la fonction du peptide. Il est ainsi évident que les cystéines sont essentielles à cette fonction puisque deux cystéines sont mutées chez des patients atteints d'hémochromatose juvénile. La troisième mutation substitutive touche une glycine située entre 2 cystéines, perturbant donc ainsi probablement les ponts disulfures. La glycine ayant un encombrement stérique très faible, on peut s'attendre à ce que l'acide aspartique qui remplace cette glycine chez le patient empêche la formation des ponts disulfures adjacents.

À l'état hétérozygote, les mutations dans le gène codant pour l'hepcidine sont le plus souvent sans effet, mais la présence de ces mutations chez des patients atteints d'hémochromatose classique peut aggraver, comme cela a été montré dans quelques cas, la surcharge en fer. Ces résultats suggèrent fortement que l'hepcidine puisse être un gène modificateur de l'hémochromatose. La notion de l'existence de gènes modificateurs pour l'hémochromatose repose sur le fait que, si l'hémochromatose est une maladie génétique de très forte prévalence, sa pénétrance reste toutefois très incomplète laissant suspecter l'existence de facteurs environnementaux et de gènes modificateurs importants

pour l'expressivité du phénotype. Enfin, notons qu'il a été retrouvé un mode de transmission digénique (patients ayant une mutation à l'état hétérozygote pour le gène HFE et une mutation à l'état hétérozygote pour le gène HAMP) à l'origine d'hémochromatose ou simplement d'augmentation de la ferritine, indiquant des réserves en fer trop élevées.

Outre la perte de fonction de l'hepcidine chez les patients porteurs d'une mutation dans le gène HAMP, il est clairement établi aujourd'hui que l'hepcidine joue un rôle clé dans la gravité et l'établissement d'une hémochromatose classique. En effet, il a été démontré, à la fois chez la souris et chez l'homme, que l'hepcidine est exprimée de façon inappropriée au regard de la surcharge en fer hépatique dans les hémochromatoses liées à HFE, à TFR2, et à HJV. L'hepcidine serait donc le déterminant commun de ces hémochromatoses laissant supposer un rôle de l'hepcidine dans la physiopathogénie de l'hémochromatose génétique. Dans le modèle des souris hémochromatosiques *Hfe* ^{-/-}, il a été montré que la surcharge en fer pouvait être prévenue par un apport d'hepcidine laissant suggérer la possibilité d'un traitement thérapeutique préventif de l'hémochromatose héréditaire. [6]

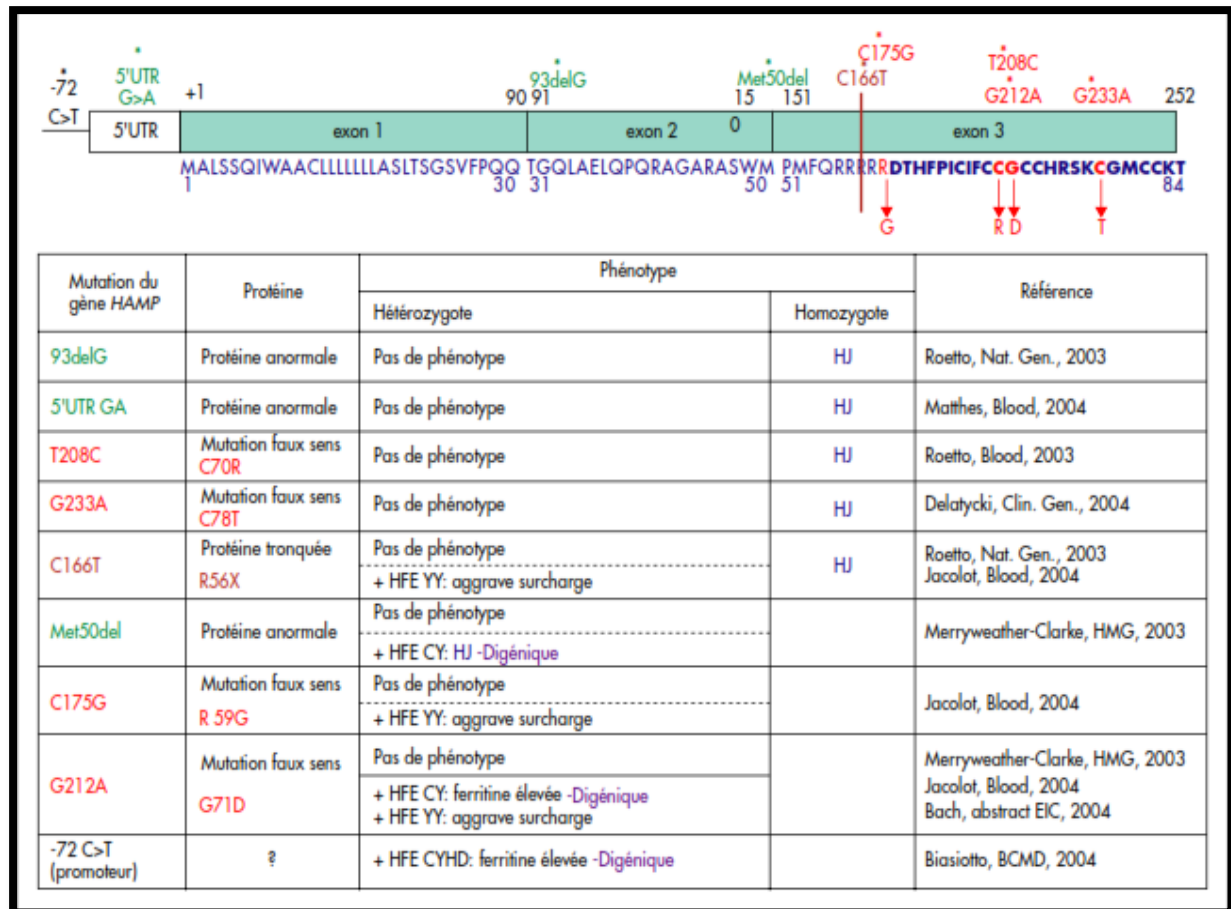


Figure 23. Mutations du gène humain de l'hepcidine (HAMP). [6]

Le gène HAMP est formé de 3 exons codant pour un propeptide de 84 acides aminés dont la séquence est indiquée sous le gène, en bleu. Le peptide mature de 25 acides aminés est indiqué en gras. Les mutations décalage de lecture sont figurées en vert. Les substitutions non sens (STOP) sont figurées en marron et les substitutions faux sens en rouge.

HJ = hémochromatose juvénile. Digénique = mode de transmission digénique. HFE CY : patient hétérozygote pour la mutation C282Y. HFE YY : patient homozygote pour la mutation C282Y. HFE HD : patient hétérozygote pour la mutation H63D.

2)- Régulation de l'hepcidine (figure 27).

La première régulation qui a permis la découverte de l'hepcidine est la régulation par le fer. Depuis, il a été montré que différentes voies physiologiques ou pathologiques reliées directement ou indirectement au fer telles que l'érythropoïèse, l'anémie, l'hypoxie, l'inflammation chronique et les surcharges martiales secondaires utilisent l'hepcidine comme régulateur pour ajuster les besoins de l'organisme. Toutefois, les facteurs impliqués dans ces régulations sont spécifiques de chaque voie et sont traités dans les paragraphes suivants.

2-1)-Le fer

Il est désormais établi que l'expression de l'hepcidine est dirigée par la voie des BMPs dans laquelle le cofacteur principal, l'hémojuvéline, est indispensable à la transduction du signal responsable de l'activation de l'hepcidine.

2-1-1)- L'hémojuvéline

Nous avons vu précédemment que des mutations dans le gène codant pour l'hepcidine étaient responsables de certaines formes d'hémochromatose juvénile.

Cependant, la majorité des cas de cette forme sévère de surcharge en fer sont attribués à des mutations dans le gène HFE2 (HJV) codant pour l'hémojuvéline (figure 24). Les patients porteurs de ces mutations présentent de faibles niveaux d'hepcidine malgré une surcharge en fer importante, établissant ainsi pour la première fois un lien entre l'hémojuvéline et la production de l'hepcidine. D'autres mutations retrouvées à l'état hétérozygotes constituent des facteurs aggravant des formes classiques d'hémochromatoses. L'hémojuvéline

est une protéine membranaire avec une ancre glycoposphatidylinositol (GPI) qui est fortement exprimée dans le foie, et plus précisément par les hépatocytes entourant la veine portale, le cœur et le muscle strié. Les souris invalidées pour le gène HJV reproduisent les symptômes retrouvés chez l'homme, c'est-à-dire une accumulation du fer dans le foie, le cœur et le pancréas parallèlement à une diminution dramatique de l'expression de l'hepcidine alors que la rate est dépourvue de fer. Ces souris sont toutefois capables d'induire l'expression de l'hepcidine en réponse à l'inflammation, suggérant que la voie de l'inflammation est indépendante de l'hémojuvéline. [37]

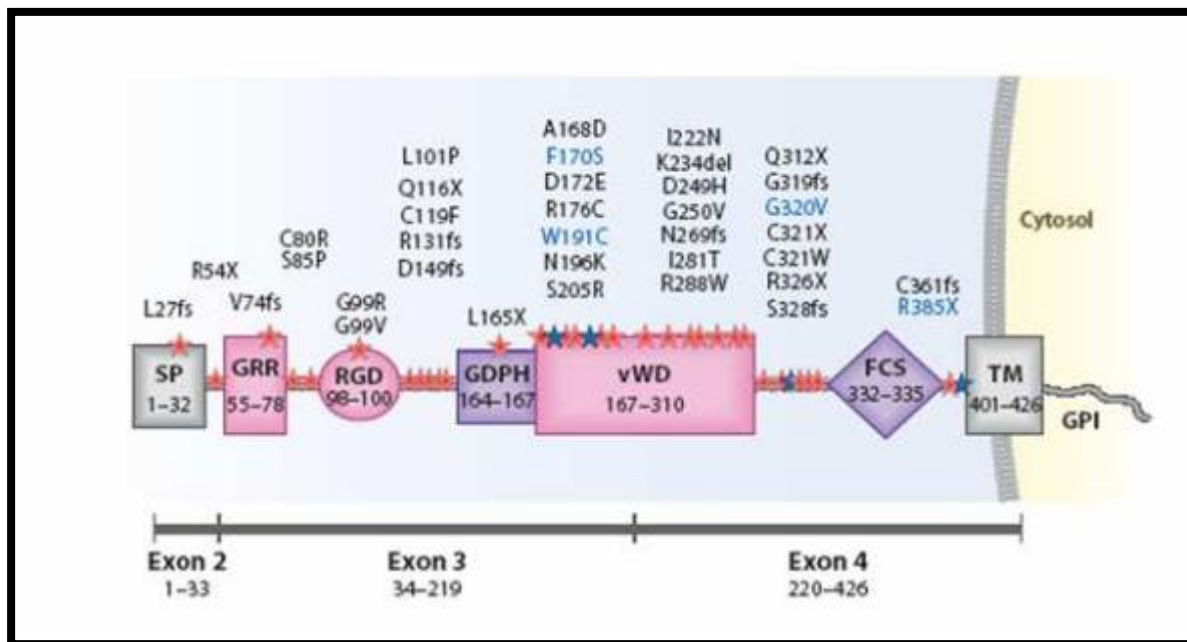


Figure 24. La structure de l'hémojuvéline et les mutations du gène humain de l'hémojuvéline [65]

Les mutations retrouvées dans l'hémojuvéline responsables de l'hémochromatose juvénile sont énumérées et représentées par des étoiles. Les différents domaines de la protéine sont représentés selon les abréviations suivantes :

SP : peptide signal, GRR : région riche en glycine, RGD : motif d'adhésion, GPH : site de clivage protéolytique conservé de quatre acides aminés, vWD : domaine von Willebrand de type D, FCS : site de clivage protéolytique des furines, TM : domaine transmembranaire.

a)-Fonction de l'hémojuvéline

L'hémojuvéline est un membre de la famille des « repulsive guidance molecule » qui se compose de trois membres : RGMA, RGMb, également appelé DRAGON et enfin RGMc qui est homologue à l'hémojuvéline. Alors qu'il était bien établi que RGMA et DRAGON étaient des corécepteurs de la voie de signalisation des « Bone Morphogenetic Protein », la fonction moléculaire de l'hémojuvéline n'était pas connue. En 2006, l'équipe de Jodie Babitt et Herbert Lin [66] montrait que l'hémojuvéline agissait également comme co-récepteur de la voie des BMPs pour activer l'expression de l'hepcidine in vitro dans des cellules de foie. Cependant, un aspect intrigant de l'hémojuvéline demeure sa forte expression dans le muscle cardiaque et le muscle squelettique. Les patients atteints d'hémochromatose juvénile et les souris *Hjv*^{-/-} ne présentent aucun défaut du muscle squelettique excluant un rôle potentiel de l'hémojuvéline dans le développement du muscle.

Toutefois le muscle est un grand consommateur de fer en particulier pour la formation de la myoglobine ce qui suggérerait que l'hémojuvéline pourrait jouer un rôle dans la régulation du fer dans le muscle squelettique. [37]

b)-Structure et maturation

La protéine HJV est exprimée sous deux isoformes : l'hémojuvéline membranaire, fixée à la membrane par une ancre GPI et l'hémojuvéline soluble (HJVs) dont la maturation (coupure dans la partie C terminale) est effectuée dans l'appareil de Golgi par la furine. La forme soluble de l'hémojuvéline est en compétition avec l'hémojuvéline membranaire pour interagir avec les molécules BMP matures et inhiber leur fixation avec les récepteurs BMP. L'hémojuvéline

soluble agit donc comme un répresseur de la voie des BMPs. La production d'HJVs est augmentée lors d'hypoxie ou de carence martiale et mène à une réduction de l'expression de l'hepcidine et une augmentation du fer dans le plasma.

HJVs est produite par l'action de la furine et le promoteur de la furine comporte un site de liaison pour le facteur de transcription HIF-1. On peut donc penser que lors d'une hypoxie le niveau de furine est augmenté dans les cellules exprimant l'hémojuvéline endogène, ce qui stimule la production d'HJVs et aboutit à une diminution de l'expression de l'hepcidine. Il a également été montré que l'exercice physique augmente les niveaux de HIF1 α ainsi que sa capacité de liaison à l'ADN et permet probablement la production d'HJVs par le muscle. Cela permettrait au muscle de signaler ses besoins en oxygène et d'augmenter les apports de fer nécessaires pour la myoglobine.

L'ensemble de ces résultats suggère que la production d'HJVs par le foie et le muscle, induite conjointement par HIF et la furine, réprimerait l'expression de l'hepcidine de façon à satisfaire l'augmentation des besoins en fer de l'organisme en cas soit de carence en fer, soit d'hypoxie. Ceci s'ajouterait à la répression directe de l'hepcidine par HIF1 α . [37]

c)- L'interaction néogénine/hémojuvéline

Il a également été montré que l'HJV interagit avec la néogénine, un récepteur membranaire impliqué dans différentes voies de signalisation. Cette interaction est indispensable à la production d'hémojuvéline soluble qui requière en plus une endocytose cholestérol-dépendante de l'hémojuvéline membranaire. Toutefois, comme le transport de HJV du reticulum endoplasmique à la surface des cellules ne dépend pas de la néogénine, la libération de l'hémojuvéline

soluble intervient donc après que HJV ait été exprimée à la membrane. L'hémojuvéline membranaire interagit avec la néogénine, le complexe est reinternalisé et retro-transporté vers le Golgi où l'HJV est tout d'abord clivée par la furine puis glycosylée avec des oligosaccharides complexes avant d'être relachée sous forme soluble. Des résultats publiés en 2009 par l'équipe de Caroline Enns [67] semblent montrer que le complexe HJV/néogénine est requis pour l'induction de la voie des BMPs et l'expression de l'hepcidine in vitro et in vivo. Malheureusement les études in vitro utilisent BMP4 et demandent donc à être confirmées avec BMP6. La néogénine hépatique posséderait donc deux fonctions : la régulation de la libération d'HJVs et la stimulation de l'expression de l'hepcidine par l'HJV. Cependant d'autres travaux sont nécessaires pour comprendre quel est le rôle précis de la néogénine dans la régulation de l'expression de l'hepcidine. [37]

d)- Rôle de TMPRSS6 (*figure 25B*)

Un dernier acteur impliqué dans la régulation de l'hepcidine a été caractérisé assez récemment. Il s'agit de la matriptase 2, une protéase à sérine transmembranaire codée par le gène TMPRSS6, exprimée principalement dans le foie et qui joue un rôle important en cas de carence martiale. Les mutations dans ce gène ont été découvertes chez des patients atteints d'une forme d'anémie réfractaire à une administration orale de fer (IRIDA pour « iron-refractory iron deficiency anemia »). Ces résultats ont été confirmés par deux autres études [68, 69] qui montrent que des mutations dans le gène TMPRSS6 conduisent à une anémie avec un défaut d'absorption du fer et une surexpression de l'hepcidine.

De la même façon, une mutation récessive induite chimiquement dans le gène orthologue de la souris, *Tmprss6*, conduit à un phénotype particulier « mask » qui se caractérise par une perte de la pilosité corporelle (ou alopecie) à l'exception de la tête mais surtout à une anémie microcytaire. Le phénotype mask est lié à un défaut d'épissage du gène *Tmprss6* et résulte d'une absorption réduite du fer alimentaire causée par des niveaux élevés d'hépcidine. En conditions normales, l'expression de la protéine *TMPRSS6* permet la suppression de l'activation du promoteur du gène *Hamp* et abolit l'expression de l'hépcidine en réponse aux BMPs et à l'HJV.

Au même moment, une autre équipe [70] a obtenu une souris invalidée pour le gène *Tmprss6*. Ces souris développent également une alopecie ainsi qu'une anémie sévère accompagnée d'une surexpression de l'hépcidine et d'une expression réduite de la ferroportine à la membrane basolatérale des entérocytes. Le traitement de ces souris avec du fer dextran permet de réverser le phénotype ce qui confirme que l'anémie observée est consécutive à un blocage de l'export intestinal de fer dans la circulation après l'absorption alimentaire. La matriptase-2 agit donc comme répresseur de l'expression de l'hépcidine en conditions normales.

Le mécanisme de cette régulation est désormais connu. La matriptase-2 inhibe l'activation de l'hépcidine par clivage de l'hémojuvéline membranaire, le co-récepteur de la voie des BMPs. Les mutants correspondant à la souris mask ou aux patients atteints d'IRIDA sont incapables de cliver l'hémojuvéline et permettent une expression continue de l'hépcidine. La matriptase-2 présente une structure complexe. Elle se compose d'une courte queue cytoplasmique N-terminale, d'un domaine composite CUB (facteur de croissance embryonnaire de l'oursin et BMP1), trois classes de domaines récepteurs aux lipoprotéines de

faibles densités (LDLRA) ainsi que d'un domaine C-terminal sérine protéase. Les mutations dans les domaines LDLRA et CUB conduisent respectivement à une absence de clivage et à un clivage réduit de l'hémojuvéline membranaire mais ces domaines conservent leur capacité de fixation à l'hémojuvéline. Un schéma représentant la structure de la protéine TMPRSS6 est présenté en figure 25A. Ces résultats soulignent l'importance des domaines LDLRA et CUB de la matriptase-2 dans la régulation de l'hepcidine. [71, 72, 73, 74]

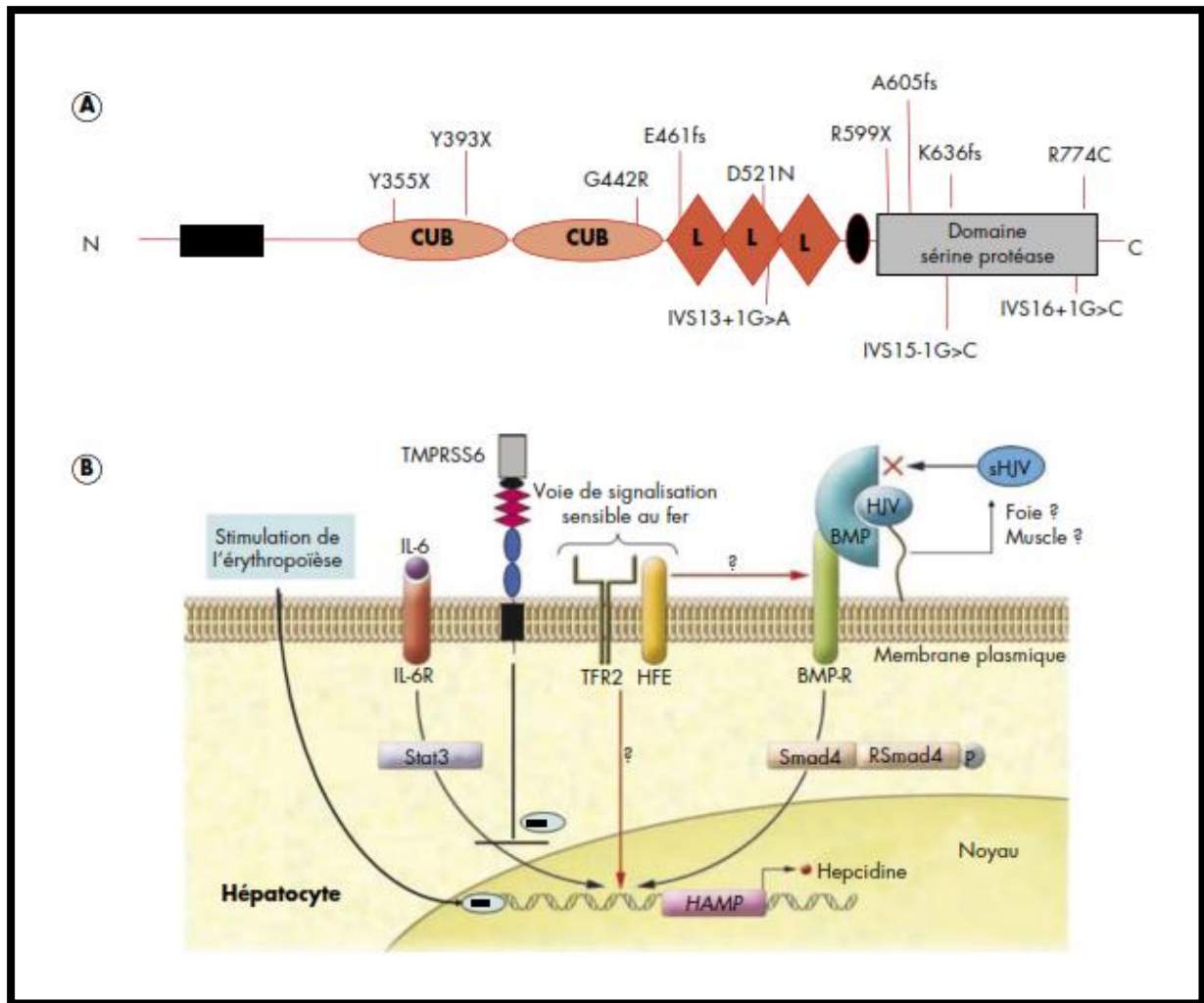


Figure 25. Représentation schématique des différents domaines de TMPRSS6 et de son implication dans la régulation de synthèse de l'hepcidine. [71].

A)- TMPRSS6, aussi appelée Matriptase 2, appartient à une famille de sérine protéase transmembranaire de type II. Elle est constituée depuis l'extrémité N terminale jusqu'à l'extrémité C terminale d'un court domaine intracytoplasmique dont la séquence en acides aminés n'est conservée que chez les mammifères placentaires, d'un segment transmembranaire, de différents modules communs à de nombreuses familles de protéines et qui sont des modules permettant des interactions protéine-protéine ou protéine-ligand (2 motifs CUB et 3 motifs LDLR) et le domaine sérine protéase.

B)- Différentes voies de régulation de l'hepcidine : rôle de TMPRSS6.

2-1-2)- La voie de signalisation des « Bone Morphogenetic protein » (BMP)

a)- Les « Bone morphogenetic proteins »

Les protéines morphogénétiques osseuses (BMPs) sont un groupe de molécules phylogénétiquement conservées de la superfamille du TGF- β . Historiquement, ces molécules ont été identifiées pour leur capacité à induire la formation des os et du cartilage. La famille des BMPs compte une vingtaine de molécules qui sont impliquées dans divers processus biologiques, du développement embryonnaire au maintien de l'homéostasie des tissus après la naissance. Les BMPs sont sécrétées sous forme de précurseurs protéiques de 400 à 500 acides aminés composés d'un peptide signal, d'un pro-domaine et du peptide mature. Après clivage du peptide signal, la protéine est glycosylée et forme un dimère. Le pro-domaine est alors scindé, puis le peptide actif est sécrété par la cellule. Les BMPs matures diffèrent par leur région carboxy-terminale en fonction du clivage protéolytique et sont sécrétées aussi bien sous forme d'homodimères que d'hétérodimères. Tous les BMPs contiennent sept cystéines dont six sont impliquées dans la formation d'un coude alors que la septième est utilisée pour la dimérisation. Les BMPs se fixent à des récepteurs à sérine/thréonine kinase et plus précisément à deux récepteurs de type II et deux récepteurs de type I, qui sont tous requis pour la transduction du signal. Les BMPs peuvent se fixer sur trois récepteurs de type II (le récepteur des BMPs BMPR-II) et les récepteurs de l'activine Act-RII et Act-RIIB) et trois récepteurs de type I, les récepteurs BMP de type IA BMPR-IA (ou ALK3) et de type IB BMPR-IB (ou ALK6) et un récepteur de l'activine de type IA ActRIA (ou ALK2). Ces récepteurs sont différenciellement exprimés en fonction des tissus et se retrouvent sous forme d'homo ou d'hétérodimères dans des structures

cavéolaires à la surface des cellules. La fixation du ligand spécifique et la voie de signalisation en aval sont régies par les différentes combinaisons possibles entre ces récepteurs lors de la formation du tétramère. [75, 76, 77]

b)- La voie des BMP/Smads

La voie de signalisation est un système d'activation de la transcription. Elle est commune à tous les BMPs et repose sur une cascade d'activation de molécules par phosphorylation. La cascade est initiée lorsqu'un ligand BMP se fixe à un complexe composé de deux récepteurs de type II et deux récepteurs de type I. L'initiation de cette cascade repose sur différents cofacteurs activateurs ou inhibiteurs spécifiques du tissu et du signal. Par exemple, DRAGON et RGMa, deux protéines homologues, agissent comme corécepteurs des molécules BMP2 et BMP4 en facilitant l'interaction avec les récepteurs de type I et II des BMPs. Le récepteur de type II ainsi activé va alors phosphoryler les récepteurs de type I qui vont à leur tour permettre la phosphorylation d'un complexe formé par les protéines Smads pour « son of mother against decapentaplegic ». Il existe huit protéines Smads chez l'homme et la souris divisées en trois classes :

- les Smads régulés par les récepteurs (ou R-Smad) qui peuvent être activés par les BMPs (Smad1, 5 et 8) ou par le TGF- β (Smad2 et 3)

- le médiateur commun de la voie des BMPs et de la voie du TGF- β : Smad4

- les Smads inhibiteurs (I-Smads): Smad6 et 7

Une fois phosphorylé, l'hétérodimère formé par les Smad1, 5 ou 8 va alors rejoindre le partenaire commun Smad4 puis transloquer dans le noyau de la cellule pour activer la transcription de gènes cibles spécifiques (figure 26). Cette

voie de transduction du signal est impliquée dans de nombreux processus physiologiques et sa régulation, complexe, nécessite de nombreux cofacteurs. [78, 79, 80, 81]

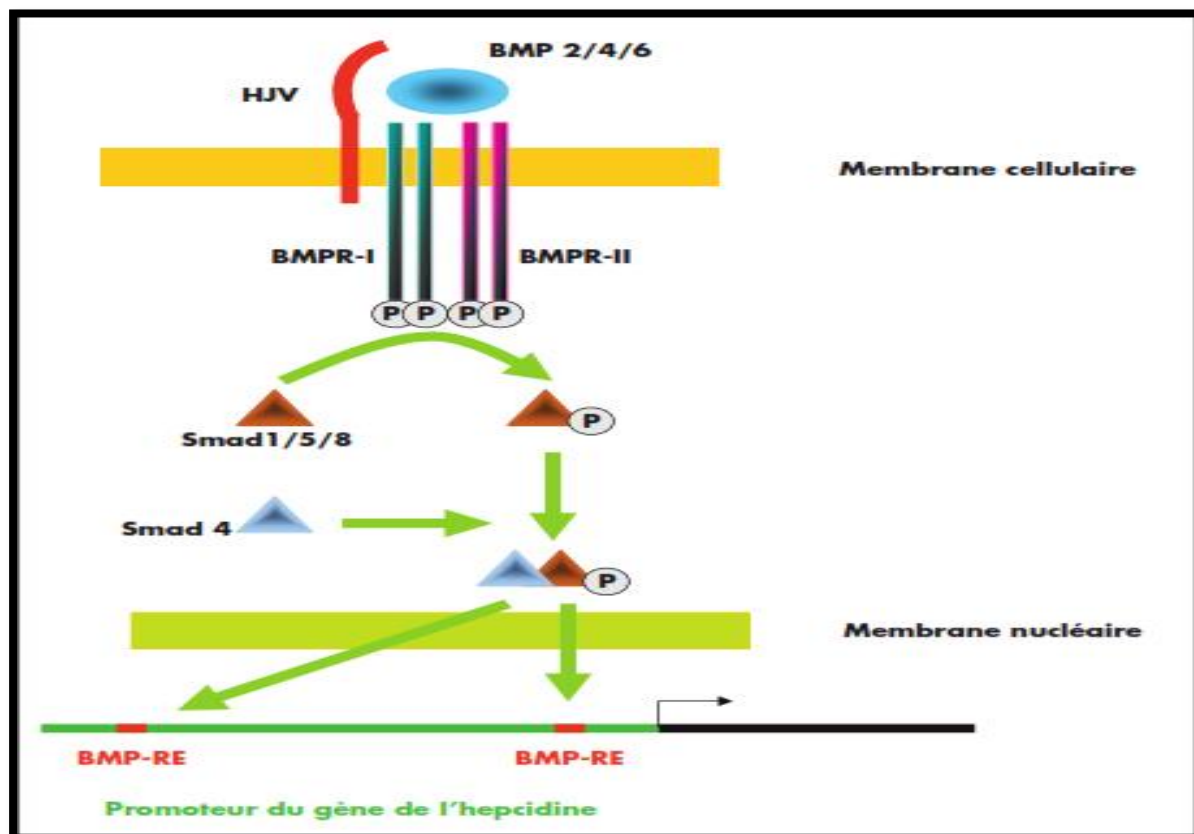


Figure 26. Représentation de la voie de signalisation des « Bone Morphogenetic Protein ». [82]

c)- L'expression de l'hépcidine est régulée par la voie des BMPs

De la même façon que pour RGMa et DRAGON, il a été montré que l'HJV agissait également comme un corécepteur des BMPs en liant directement BMP2 et BMP4 pour stimuler l'expression de l'hépcidine in vitro dans des lignées cellulaires d'hépatocytes. Peu après, une autre équipe montrait que BMP9 et BMP4 induisaient de manière comparable l'expression de l'hépcidine, plus efficacement que BMP2, aussi bien dans des cultures d'hépatocytes primaires de

souris que dans des lignées cellulaires d'hépatocytes humain [83]. Le lien entre la voie de signalisation des BMPs et l'expression de l'hepcidine était alors soutenu par la description d'un modèle de souris invalidé pour le gène Smad4 spécifiquement dans le foie. Ces souris présentaient une diminution dramatique de l'expression de l'hepcidine ainsi qu'une surcharge en fer multiviscérale, comparable à celle retrouvée chez les souris Hamp^{-/-} et HJV^{-/-}. [84, 85]

2-2)- L'érythropoïèse

La majorité du fer lié à la transferrine dans la circulation est destinée aux érythrocytes de la moelle osseuse pour la synthèse de l'hémoglobine. Environ 65 à 70% du fer dans le corps existe sous cette forme dans les globules rouges circulants. Les besoins en fer sont contrôlés par l'érythropoïèse qui serait le régulateur dominant de l'expression de l'hepcidine. En effet, lorsque l'érythropoïèse est stimulée par une perte sanguine ou une hémolyse, l'expression de l'hepcidine est réduite même en présence d'une surcharge en fer comme cela a été observé chez les patients atteints de β thalassémie. [86, 87, 88]

2-2-1)- L'érythropoïétine

Le premier signal qui stimule l'érythropoïèse est l'érythropoïétine (EPO), un facteur de croissance stimulant la prolifération des cellules souches précurseurs des globules rouges dans la moelle osseuse et donc l'augmentation du nombre de globules rouges dans le sang. La stimulation de l'érythropoïèse est concomitante avec une diminution du fer dans le foie et dans les tissus. Le rôle direct de l'EPO sur les variations de l'hepcidine lors de l'érythropoïèse a été démontré in vivo et in vitro.

L'injection d'EPO à des souris aboutit à une diminution de l'hépcidine. A l'inverse, l'érythropoïèse est inhibée lorsque des souris sont irradiées ou traitées avec des inhibiteurs d'EPO (carboplatine, doxorubicine) et l'expression de l'hépcidine augmente. Le traitement de lignées cellulaires d'hépatome avec de l'EPO conduit à une diminution de la synthèse d'hépcidine par les hépatocytes. L'EPO semble donc avoir un rôle direct dans la régulation de l'hépcidine via la modulation de l'expression de C/EBPa, une protéine impliquée dans la régulation de la transcription de l'hépcidine.

D'autres facteurs impliqués dans l'érythropoïèse pourraient aussi être impliqués dans la régulation de l'hépcidine. [89, 90, 91, 92]

2-2-2)- GDF15

Une érythropoïèse exacerbée nécessite une expansion des compartiments érythroïdes et la maturation des érythroblastes. Ces changements sont accompagnés d'une augmentation de l'expression et de la sécrétion d'un facteur de croissance et de différenciation GDF 15 (« growth differentiation factor »), un membre de la famille du TGF- β . Bien que GDF15 soit présent en grande quantité chez les patients atteints de thalassémie chez lesquels l'absorption de fer est augmentée et l'expression de l'hépcidine diminuée, il semble n'avoir qu'un impact modeste sur l'inhibition de l'expression de l'hépcidine in vitro. De plus, le suivi de patients ayant bénéficié d'une transplantation de cellules souches érythropoïétiques ne révèle aucune corrélation entre les niveaux de GDF15 et d'hépcidine, ce qui suggère que ce facteur ne jouerait pas un rôle de premier plan dans la régulation de l'hépcidine. [93, 94]

2-2-3)- TWSG1

Assez récemment, un autre acteur possible de la régulation de l'érythropoïèse a été identifié. Tanno et al. [95] ont exploré le rôle de TWSG1, une cytokine exprimée par les érythroblastes, comme régulateur érythroïde potentiel de l'expression de l'hepcidine. TWSG1 supprimerait l'expression de l'hepcidine en inhibant la voie des BMPs induite par BMP2 et BMP4.

Bien que l'EPO, GDF15 et TWSG1 soient probablement impliqués dans le contrôle de l'expression de l'hepcidine par l'érythropoïèse, les mécanismes complexes impliqués dans cette régulation sont encore mal connus et nécessitent d'être explorés plus en détail.

2-3)- L'hypoxie

L'anémie et l'hypoxie sont caractérisées par la diminution dramatique de l'expression de l'hepcidine dans le foie, la libération du fer par les cellules du système réticulo-endothélial et par une augmentation de l'absorption duodénale du fer.

2-3-1)- HIF1 α

L'hypoxie induit la synthèse d'HIF1 α par les hépatocytes. HIF1 (pour « hypoxia inducible factor 1 ») est un facteur de transcription qui se présente sous la forme d'un hétérodimère composé d'une sous unité HIF1 α , régulée par l'oxygène, et d'une sous-unité HIF1 β qui est exprimée de façon constitutive. En condition normoxique, HIF1 α est synthétisée, hydroxylée et dégradée en continu. La dégradation de HIF1 α est dirigée par la protéine suppresseur de tumeur von Hippel-Lindau (VHL) qui entraîne l'ubiquitinylation

de la sous-unité et sa dégradation par le protéasome. Quand la disponibilité en oxygène devient insuffisante, la sous-unité n'est pas hydroxylée et la dégradation d'HIF1 α est donc inhibée. La protéine s'accumule et forme un dimère avec HIF1 β pour aller se fixer sur les éléments de réponse à l'hypoxie (HRE pour « hypoxia responsive element ») des gènes cibles. De cette façon, HIF1 régulerait la transcription de centaines de gènes spécifiquement selon le tissu considéré. De façon tout à fait intéressante, il a été montré par des expériences d'immunoprécipitation que HIF1 α s'associe aux promoteurs humains et murins de l'hepcidine. L'induction de HIF1 lors de carence en fer de même que l'invalidation du gène VHL chez la souris sont associées à une diminution notable de l'expression de l'hepcidine, confirmant ainsi que la voie VHL/HIF1 est impliquée dans la régulation de l'hepcidine et de l'homéostasie du fer. Enfin, HIF1 α intervient également dans l'induction de l'expression de la furine en situation de carence martiale ou d'hypoxie pour réguler la synthèse d'hepcidine. En effet, la furine assure le clivage de l'hémojuvéline membranaire en hémojuvéline soluble, un inhibiteur de l'expression de l'hepcidine. (Mécanisme détaillé voir « hémojuvéline »). [96, 97, 98]

2-3-2)- HIF2 α

HIF2 α est une autre sous-unité de HIF et jouerait un rôle crucial dans l'absorption intestinale de fer. Contrairement à HIF1 α , la délétion du gène HIF2 α spécifiquement dans l'épithélium intestinal chez la souris conduit à une réduction de l'expression du gène DMT1 parallèlement à une diminution du fer sérique, du fer dans le foie et de l'expression hépatique de l'hepcidine. De plus, il a été montré que l'inactivation de HIF1 β (et par conséquent l'inactivation de toutes les isoformes HIF- α) dans l'intestin de souris ne permet plus, en cas de

carence, d'augmenter l'absorption intestinale de fer alors que l'inactivation de HIF-1 α dans l'intestin est sans effet. Or, une privation en fer induit l'expression protéique de HIF2 α . De même, la surexpression de HIF2 α dans l'intestin conduit à une augmentation de l'expression de Dcytb et DMT1 qui seraient donc des cibles directes de HIF2 α . Ces données suggèrent que HIF2 α est également impliquée dans la régulation de l'absorption intestinale de fer. [99, 100]

2-4)- L'inflammation

Le lien entre l'inflammation et l'hepcidine a été tout d'abord évoqué car des patients atteints d'anémie chronique due à une inflammation ou ACD pour « anemia of chronic disease » présentaient une hypoferrémie liée à une expression excessive de l'hepcidine. L'expression de l'hepcidine est stimulée par les cytokines inflammatoires IL-6, IL-1 α et IL-1 β . En effet, le traitement d'hépatocytes en culture ou de lignées cellulaires d'hépatocytes avec de l'IL-6 stimule l'expression de l'hepcidine. De même, l'administration d'IL-6 chez l'homme conduit à une hypoferrémie consécutive à une augmentation de la synthèse d'hepcidine alors que les souris invalidées pour le gène Il-6 sont incapables de produire de l'hepcidine et ne deviennent pas anémiques après traitement avec une endotoxine. L'IL-6 est donc un régulateur majeur de la réponse aiguë à l'inflammation dans l'hépatocytes. [101, 102, 103]

2-4-1)- La voie de l'IL6

Sous l'influence d'un stimulus inflammatoire, l'IL-6 est libérée et se fixe à un complexe composé du récepteur α de l'IL-6 et de la glycoprotéine gp130. Cette interaction conduit à l'activation de protéines kinases Janus JAK qui vont phosphoryler les protéines de transduction du signal et d'activation de la transcription STAT (pour « signal transducers and activators of transcription », en particulier STAT3. Une fois phosphorylé et sous forme d'homodimère, STAT3 entre dans le noyau pour réguler la transcription de nombreux gènes cibles. L'IL-6 régule l'expression de l'hépcidine par liaison directe de STAT3 au promoteur de l'hépcidine et plus précisément sur un motif de liaison à STAT3 situé en position -64/-72 du promoteur. Une autre étude [104] a ensuite confirmé le rôle de STAT3 dans l'expression hépatique de l'hépcidine en réponse à l'IL-6 à la fois in vitro et in vivo. D'autre part, bien que l'IL-6 ait été extensivement étudiée pour son rôle de régulateur principal de l'inflammation, l'IL-1 peut également induire l'hépcidine dans les hépatocytes de souris IL-6-/- [105, 106, 107, 108]

2-4-2)- La voie des BMPs

D'autres travaux suggèrent l'existence d'une voie parallèle pour réguler l'expression de l'hépcidine en réponse à l'inflammation qui impliquerait la voie des BMPs et rejoindrait donc la voie de régulation de l'hépcidine par le fer. En effet, les souris invalidées pour le gène Smad4 présentent de faibles niveaux d'hépcidine ainsi qu'une surcharge en fer multi-viscérale et sont incapables d'augmenter leur niveau d'hépcidine lorsqu'elles sont traitées avec de l'IL-6, suggérant un rôle de Smad4 dans la régulation de l'hépcidine par l'inflammation. Or Smad4 est un médiateur commun à la voie des

« Bone Morphogenetic Protein » impliquée dans la régulation de l'hepcidine par le fer. Cette hypothèse est renforcée par l'observation que l'ablation de l'élément de réponse proximal des BMPs dans le promoteur de l'hepcidine ou l'inhibition du récepteur des BMPs à l'aide d'un inhibiteur spécifique, la dorsomorphine, abolit l'induction de l'expression de l'hepcidine par l'IL-6. [84, 109, 110]

Deux autres protéines impliquées dans l'HH, HFE et RTf2, jouent un rôle important dans la régulation de l'hepcidine par le fer, ceci sera traité dans la 3^{eme} partie « Hepsidine et désordres du métabolisme martial ».

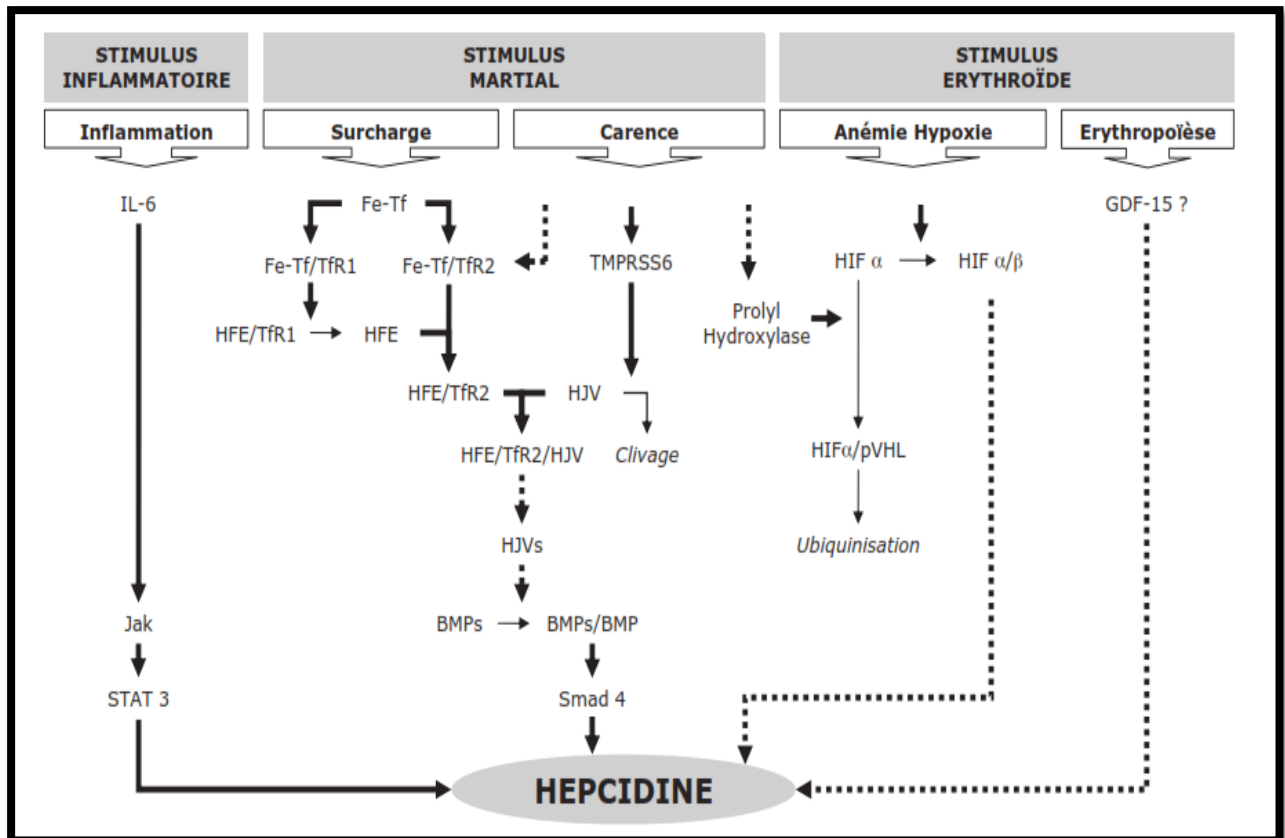


Figure 27. Schéma de régulation de l'hepcidine. [111]

Stimulus inflammatoire : l'inflammation stimule la production d'hepcidine par l'intermédiaire des cytokines, en particulier, IL-6 qui se fixe sur des récepteurs Jak et induit une surexpression de l'hepcidine par l'intermédiaire du facteur de transcription STAT 3 ; stimulus martial : quand la concentration en fer est élevée, le complexe fer transferrine (Fe-Tf) se fixe sur les récepteurs de la transferrine 1 (TfR1) et 2 (TfR2). TfR2 est stabilisé permettant la dissociation de la protéine de l'hémochromatose humaine (HFE) du complexe fer-récepteur de la transferrine 1 (Fe-Tf/TfR1) et sa fixation sur le complexe Fe-Tf/TfR2. Le complexe HFE/TfR2 interagit avec l'hémojuvéline (HJV) entraînant une réduction de la production d'hémojuvéline soluble (HJVs) qui potentialise la voie de la BMP et augmente la production d'hepcidine par l'intermédiaire du facteur de transcription Smad 4. Quand la concentration en fer est basse, la concentration en TfR2 est faible et HJVs est d'avantage libérée, entraînant une inhibition de la voie BMP. Parallèlement, la sérine protéase TMPRSS6 interagit avec la voie de la BMP en clivant HJV et la prolyl hydroxylase est inhibée, entraînant un défaut de dégradation de HIF α qui s'hétérodimérise avec HIF β et va inhiber la transcription de l'hepcidine ; stimulus érythroïde : l'hypoxie induite par l'anémie stimule l'hétérodimérisation de HIF α avec HIF β et inhibe la transcription de l'hepcidine. L'augmentation de l'activité érythropoïétique inhibe l'expression de l'hepcidine probablement par le facteur GDF-15 de la superfamille BMP/TGF-b.

PARTIE 3 :

HEPCIDINE ET DÉSORDRES

DU

MÉTABOLISME MARTIAL

1)- Hépécidine et hémochromatoses héréditaires

1-1)- Hémochromatoses héréditaires

1-1-1)- Introduction

Définies comme étant des surcharges en fer d'origine génétique, les hémochromatoses se différencient des surcharges en fer secondaires ou acquises, en particulier post-transfusionnelles. Les hémochromatoses correspondent à plusieurs affections, dont la plus fréquente, l'hémochromatose liée au gène HFE (ou hémochromatose de type 1) a été identifiée génétiquement en 1996. Cette avancée diagnostique déterminante a permis la découverte ultérieure de situations de surcharges génétiques non liées au gène HFE, dénommées hémochromatoses 2, 3 et 4, auxquelles peuvent s'ajouter quelques autres entités qui étaient connues de plus longue date telles que l'atransferrinémie ou l'acéruloplasminémie héréditaire. [112]

1-1-2)- Contexte historique

Depuis les descriptions cliniques princeps en 1865 et 1871 de Trousseau et Troisier, la dénomination hémochromatose forgée par von Recklinghausen et la première formulation d'hypothèse par Sheldon en 1935 de la nature innée du trouble du métabolisme du fer en cause, les principales étapes de l'histoire de l'hémochromatose sont représentées par :

- la démonstration indirecte, par Simon et al. [113] de la nature génétique de l'hémochromatose de par son lien avec le système HLA ;

- la découverte du gène HFE par Feder et al. [114] permettant d'identifier la forme habituelle de l'hémochromatose comme étant liée à la mutation C282Y de ce gène à l'état homozygote ;
- l'identification de plusieurs mutations de gènes non liés à HFE qui a conduit à l'individualisation de nouvelles formes d'hémochromatoses;
- la découverte du rôle majeur de deux protéines, l'hepcidine et la ferroportine, pour expliquer le développement de la surcharge en fer dans ces différentes formes d'hémochromatoses. [115]

1-1-3)- Principales formes d'hémochromatoses héréditaires. (Tableau V)

➤ Hémochromatose liée au gène HFE (hémochromatose de type 1)

De loin la forme la plus fréquente, il s'agit d'une maladie récessive liée à des mutations du gène HFE, localisé sur le chromosome 6. L'homozygotie pour la mutation p.Cys282Tyr (C282Y) représente plus de 90 % des formes d'hémochromatoses. Environ 3 sujets sur 1000 de la population générale française sont homozygotes pour p.Cys282Tyr, avec une prévalence encore plus fréquente en Bretagne et surtout en Irlande. L'expression est tardive (âge adulte : souvent à partir de 40 ans chez l'homme et de 50 ans chez la femme) et la pénétrance partielle, une surcharge en fer cliniquement significative ne serait en effet observée que chez 1 % des femmes et un peu moins de 30 % des hommes. La mutation p.His63Asp (H63D) n'est, à l'état hétérozygote, qu'un simple polymorphisme. Lorsqu'elle est associée à p.Cys282Tyr, elle correspond à une hétérozygotie composite dont l'expression ne dépasse guère une élévation modérée de la saturation de la transferrine et de la ferritine. L'homozygotie

p.His63Asp n'est en règle pas considérée comme pouvant, à elle seule, entraîner une surcharge en fer cliniquement exprimée.

➤ **Hémochromatose juvénile (hémochromatose de type 2)**

Elle est liée à des mutations soit du gène de l'hémojuvéline (chromosome 1) correspondant à la forme 2A, soit du gène de l'hepcidine (chromosome 19), correspondant à la forme 2B. Elle se caractérise par une expression précoce, chez l'adolescent ou l'adulte jeune (moins de 30 ans), et par la prédominance des atteintes cardiaque et endocrinienne.

➤ **Hémochromatose de type 3**

Elle est en rapport avec des mutations du gène du récepteur de la transferrine de type 2 (chromosome 7). Elle survient en règle chez l'adulte, mimant une hémochromatose de type 1 mais peut aussi survenir chez le sujet jeune réalisant alors un tableau proche de l'hémochromatose juvénile.

➤ **Hémochromatose de type 4 ou maladie de la ferroportine**

Moins rare que les hémochromatoses 2 et 3, elle est la seule forme de surcharge génétique en fer à transmission dominante. Elle correspond le plus souvent à une surcharge en fer prédominant au niveau du système macrophagique (rate, cellules de Kupffer au niveau du foie) avec hyposidérémie et baisse ou normalité du taux de saturation de la transferrine. À côté de cette forme dite «A», une autre forme, dite «B», beaucoup plus rare, est d'un phénotype identique à une hémochromatose de type 1.

➤ **Autres surcharges génétiques en fer**

Elles correspondent à l'acéruloplasminémie héréditaire, à l'atransferrinémie héréditaire et à la surcharge en fer par mutations du gène SLC11A2 codant DMT1 (divalent-metal transporter 1). [112, 115, 116, 117, 118, 119, 120,121]

Tableau V. Principales surcharges génétiques en fer. [112]

Type	Chromosome	Gène ^a	Mode de transmission ^b
Hémochromatose types 1 - 4			
1	6	<i>HFE</i>	R
2A	1	<i>HJV</i>	R
2B	19	<i>HAMP</i>	R
3	7	<i>TFR2</i>	R
4A	2	<i>SLC40A1</i>	D
4B	2	<i>SLC40A1</i>	D
Autres surcharges génétiques en fer			
Acéruloplasminémie	3	CP	R
Atransferrinémie	3	TF	R
^a <i>HJV</i> : hémojuvéline. <i>HAMP</i> : hepcidine. <i>TFR2</i> : récepteur transferrine 2. <i>SLC40A1</i> : ferroportine. CP: céruloplasmine. <i>TF</i> : transferrine. ^b R: mode de transmission récessif. D: mode de transmission dominant.			

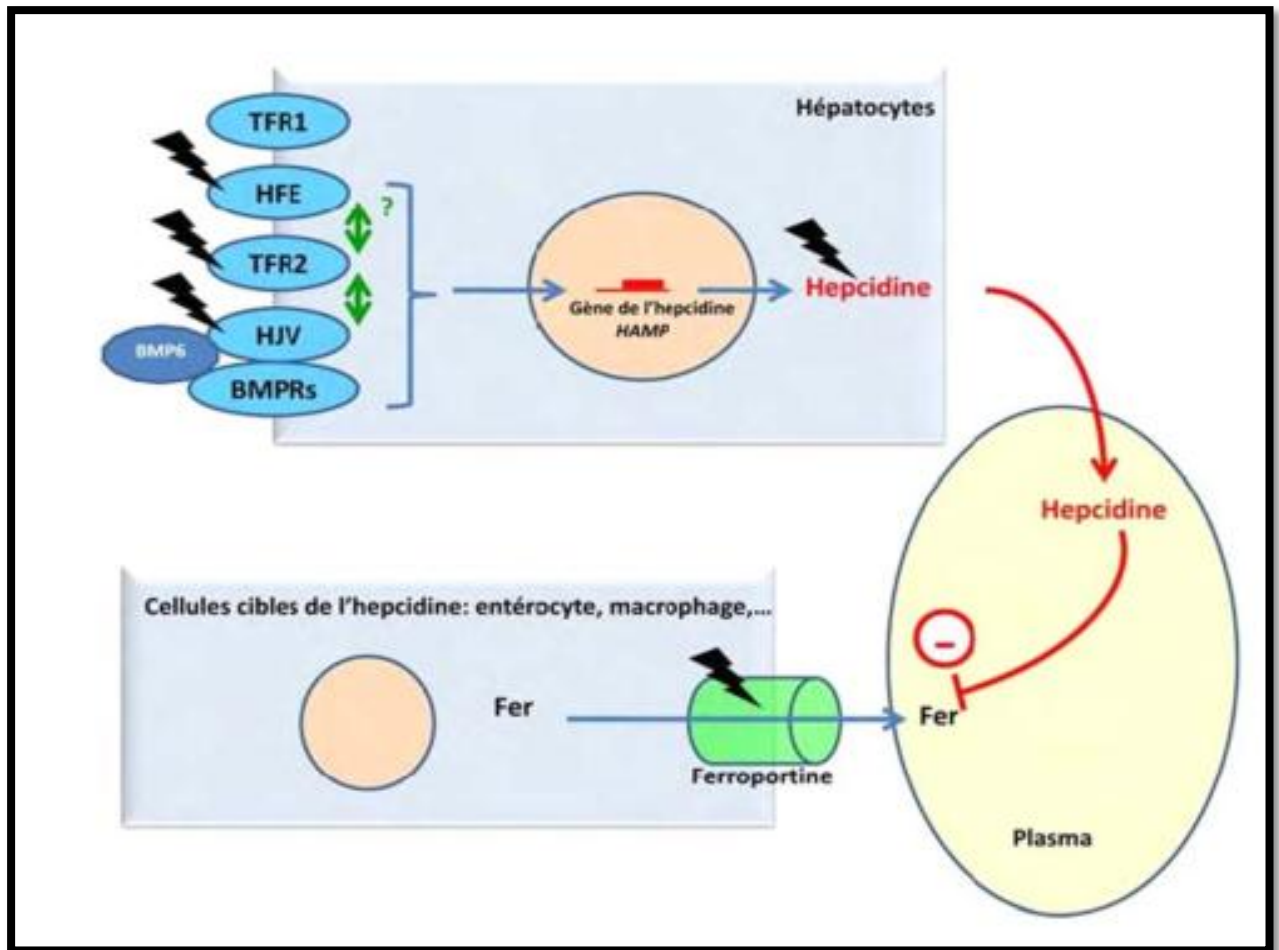


Figure 28. Représentation schématique de la position des protéines des gènes mutés au cours des hémochromatoses génétiques identifiés. [121]

Les mutations des gènes codant HFE, TFR2 et HJV affectent des protéines qui sont adressées à la membrane des hépatocytes, ce qui va altérer les voies de signalisation régulant normalement l'expression de l'ARNm de l'hepcidine. L'interaction de l'hepcidine avec la ferroportine entraîne une internalisation de cette dernière et empêche la sortie du fer de la cellule. À l'inverse, en cas de taux faibles d'hepcidine dans le plasma, du fer est transmis en permanence au plasma. TFR1 : récepteur 1 à la transferrine ; TFR2 : récepteur 2 à la transferrine ; HJV : hémojuvéline ; BMPRs : récepteurs aux bone morphogenetic proteins ; BMP6: bone morphogenetic protein 6 ; HAMP: hepcidin antimicrobial peptide.

1-1-4)- Bases physiopathologiques et moléculaires

➤ Mécanismes de la surcharge en fer

Deux grands types de mécanismes, inverses, sont en cause selon que la protéine d'export cellulaire, la ferroportine, est hyperactive ou déficiente (figure 29).

- **La surcharge en fer par hyperactivité de la ferroportine :**

Elle s'observe dans deux situations :

- i) Le défaut de synthèse hépatique de l'hepcidine. Il est en cause dans les hémochromatoses de type 1, 2A et 3 pour lesquelles les mutations sont responsables d'une altération de la cascade moléculaire contrôlant la synthèse de l'hepcidine. Il est aussi impliqué dans l'hémochromatose de type 2B où c'est le gène de l'hepcidine lui-même qui est atteint. L'hypo-hepcidinémie qui résulte de ces situations conduit à l'hyperactivité de la ferroportine, protéine d'export du fer à partir des entérocytes et des macrophages. Il s'ensuit une hypersidérémie à l'origine elle-même d'une augmentation du taux de saturation de la transferrine.
- ii) Une insensibilité de la ferroportine à l'hepcidine qui résulte, comme le défaut de synthèse de l'hepcidine, en une hyperactivité de la ferroportine (par « gain de fonction »), source d'hypersidérémie. C'est la situation observée dans l'hémochromatose de type 4B.

- **La surcharge en fer par hypoactivité de la ferroportine :**

C'est le cas de l'hémochromatose de type 4A qui correspond à des mutations du gène de la ferroportine entraînant une perte de fonctionnalité de cette protéine. La surcharge en fer y est surtout macrophagique, étant donné la forte concentration du tissu macrophagique en cette protéine. S'agissant d'une surcharge en fer par défaut de sortie du fer cellulaire dans le plasma, la sidérémie sera basse et donc la saturation de la transferrine souvent abaissée. L'acéruloplasminémie héréditaire implique un mécanisme voisin car l'atteinte du gène de la céruloplasmine cause une perte de la fonction ferroxidasique de cette protéine avec deux types de conséquences : en aval, la baisse de la saturation de la transferrine car le fer ne pouvant plus être oxydé il ne peut être capté par la transferrine ; en amont, un dysfonctionnement de la ferroportine qui est source d'excès cellulaire en fer par défaut de libération du fer dans le plasma, expliquant l'hyposidérémie également observée dans cette atteinte. [112, 115, 116, 120]

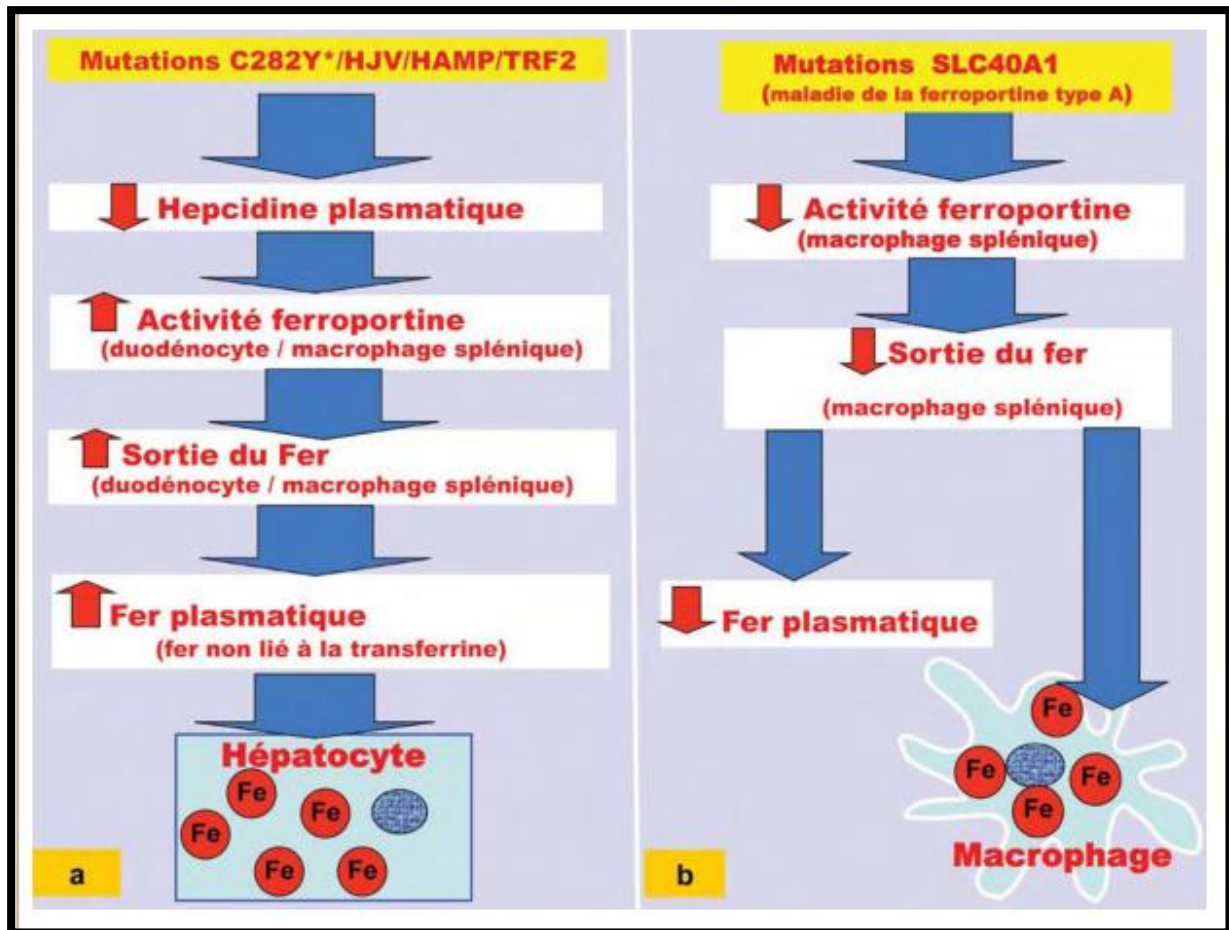


Figure 29. Les deux grands mécanismes sous-tendant le développement des surcharges génétiques en fer. [112]

Partie a. Cas des hémochromatoses impliquant une hyperactivité de la ferroportine : Cette hyperactivité est consécutive à une hypo-hepcidinémie, elle-même conséquence de la mutation C282Y (* à l'état homozygote) du gène HFE, ou des mutations des gènes non liés à HFE : HJV (hémoujuvéline), HAMP (hepcidine), TFR2 (récepteur de la transferrine de type 2). Il s'ensuit une hypersidérémie avec apparition de fer non lié à la transferrine (FNLT) plasmatique. Cette forme de fer explique le développement de la surcharge dans les cellules parenchymateuses (foie, pancréas, cœur).

Partie b. Cas des hémochromatoses impliquant une hypoactivité de la ferroportine (seule est ici représentée la maladie de la ferroportine de type A) : La mutation du gène SLC40A1 codant la ferroportine est responsable d'une hypoactivité de la ferroportine, seule protéine connue d'export du fer cellulaire et dont l'activité est particulièrement forte au niveau macrophagique. Il s'ensuit une diminution de la sortie du fer macrophagique dans le plasma (d'où hyposidérémie) et une surcharge à dominante macrophagique (par rétention intracellulaire du fer).

➤ **Mécanisme de la toxicité du fer**

Un rôle clé est attribué à une forme de fer non lié à la transferrine appelée fer plasmatique réactif (FPR) ou LPI (pour « labile plasma iron »). En effet, lorsque le taux de saturation de la transferrine dépasse 75 %, cette nouvelle forme de fer circulant tend à apparaître. Le FPR a pour caractéristique de générer la production d'espèces radicalaires oxygénées qui sont potentiellement toxiques pour les membranes cellulaires, qu'il s'agisse des membranes plasmiques (qui bordent les cellules) ou des membranes des différentes organelles intra-cytoplasmiques comme les mitochondries, le réticulum endoplasmique granulaire, et l'ADN. Cette attaque membranaire peut conduire à la destruction cellulaire puis à l'atteinte tissulaire. Ainsi s'expliqueraient les dommages créés par la surcharge en fer, lorsqu'elle est tout à la fois chronique et intense, au niveau des différents organes cibles de l'hémochromatose tels que le foie (en première ligne) mais aussi le pancréas, les gonades (chez l'homme) ou le cœur. Ce rôle du FPR, qui représente la forme toxique du fer circulant, explique en grande partie que l'atteinte viscérale soit plus marquée dans les hémochromatoses par hyperactivité de la ferroportine que dans celles marquées par une hypoactivité ferroportinique; en effet, dans ce dernier cas, la saturation de la transferrine étant abaissée, il n'est pas attendu d'émergence plasmatique de FNLT ou de FPR. En outre, la localisation macrophagique du fer est reconnue comme prédisposant moins la cellule à la toxicité du fer que la localisation parenchymateuse. [112, 115, 116]

1-2)- Hepsidine et hémochromatoses héréditaires

Deux ans après la découverte de l'hepcidine puis de son rôle en tant qu'inhibiteur de l'absorption intestinale du fer et de son recyclage par les macrophages, plusieurs équipes ont établi que l'hepcidine était présente à des quantités inappropriées au regard de la surcharge en fer de l'hémochromatose liée à HFE à la fois chez la souris et chez l'homme [60,122, 123, 124, 125]. Alors que certaines équipes trouvent des taux d'ARNm hepcidine diminués dans les souris KO Hfe comparées à des souris sauvages [122, 123, 124], un autre laboratoire a montré que l'hepcidine est présente à des taux comparables dans les souris KO Hfe et les souris sauvages [125]. Ces différences peuvent s'expliquer par les fonds génétiques et les âges différents des souris étudiées. Il existe une controverse quant à la production d'hepcidine dans les souris invalidées pour le gène codant pour la β 2-microglobuline (souris KO β 2m). Les taux d'ARNm hépatiques d'hepcidine sont retrouvés augmentés en réponse à la surcharge en fer [42] ou, à l'instar des souris KO Hfe, non modifiés par rapport aux souris contrôles [126] dans les souris KO β 2m.

Dans le même temps, Roetto et al. ont identifié pour la première fois des mutations dans le gène HAMP chez des patients atteints d'hémochromatose juvénile [127]. Par la suite, il a été démontré, à la fois chez la souris et chez l'homme, que l'hepcidine est produite de façon inappropriée dans l'hémochromatose liée à RTf2 [128, 129] et à HJV [130, 131]. Les niveaux d'hepcidine semblent corrélés avec la gravité de la surcharge en fer. En effet, dans les hémochromatoses liées à HFE ou RTf2, les niveaux d'hepcidine peuvent être diminués, mais restent présents en quantités non négligeables alors que dans les hémochromatoses juvéniles les niveaux d'hepcidine (urinaires chez

l'homme [88, 131, 132], ARNm de foie chez la souris [130]) sont très bas voire indétectables. L'hepcidine serait donc le déterminant commun de ces hémochromatoses pouvant expliquer la gravité de la surcharge suivant les taux résiduels d'hepcidine dans l'organisme, laissant supposer un rôle de l'hepcidine dans la physiopathogénie de l'hémochromatose génétique (Figure 30). Dans le modèle des souris hémochromatosiques *Hfe*^{-/-}, une équipe a montré que la surcharge martiale pouvait être prévenue par un apport d'hepcidine laissant suggérer la possibilité d'un traitement thérapeutique préventif de l'hémochromatose héréditaire [125].

Ces résultats permettent de proposer un rôle régulateur de HFE, RTf2 et HJV dans l'expression hépatique du gène hepcidine en réponse à une surcharge en fer (Figure 31). [133]

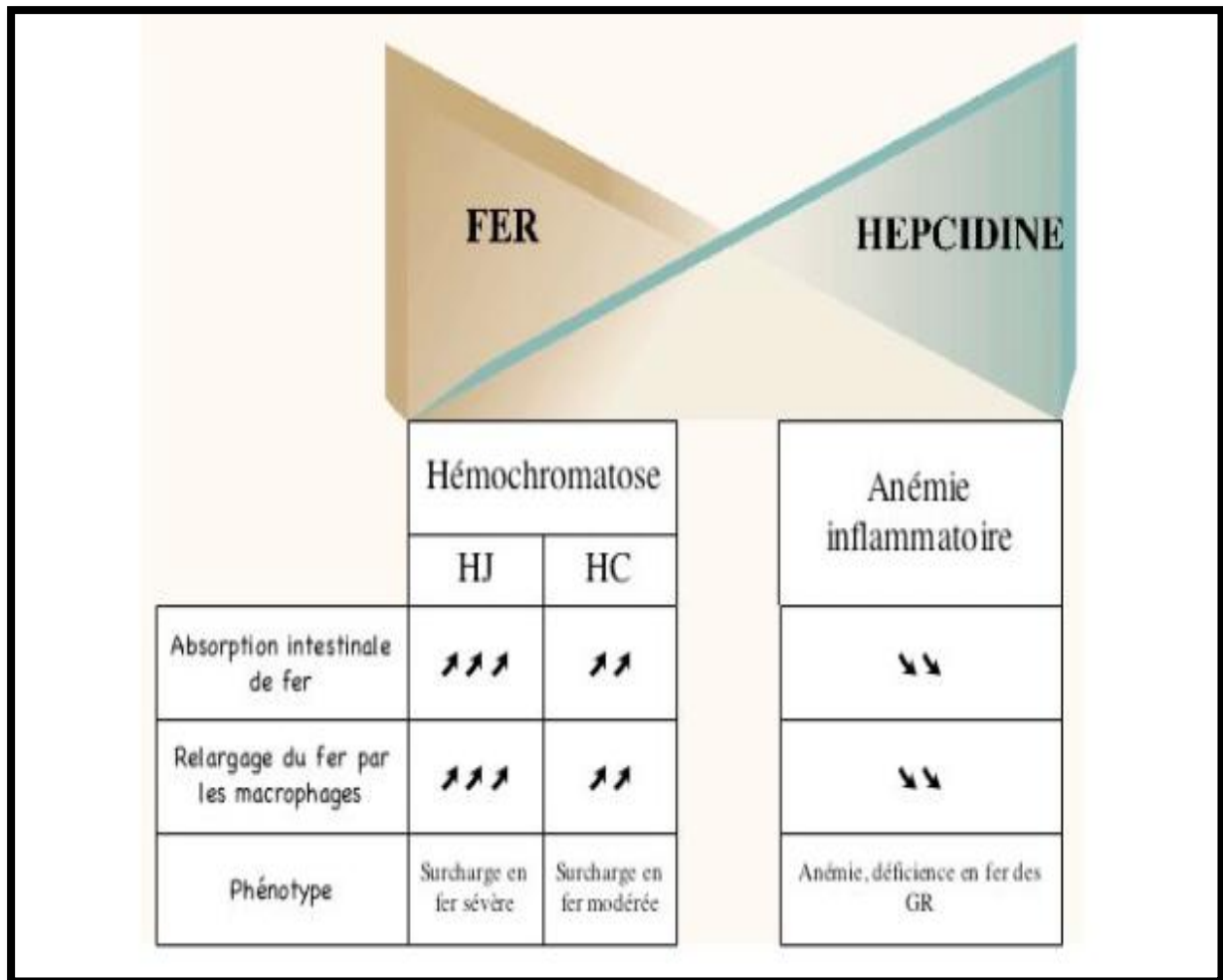


Figure 30. Interrelation du fer et de l'hepcidine dans l'étiologie des hémochromatoses et de l'anémie chronique inflammatoire [131].

HJ : hémochromatose juvénile ; HC : hémochromatose classique ; GR : globules rouges

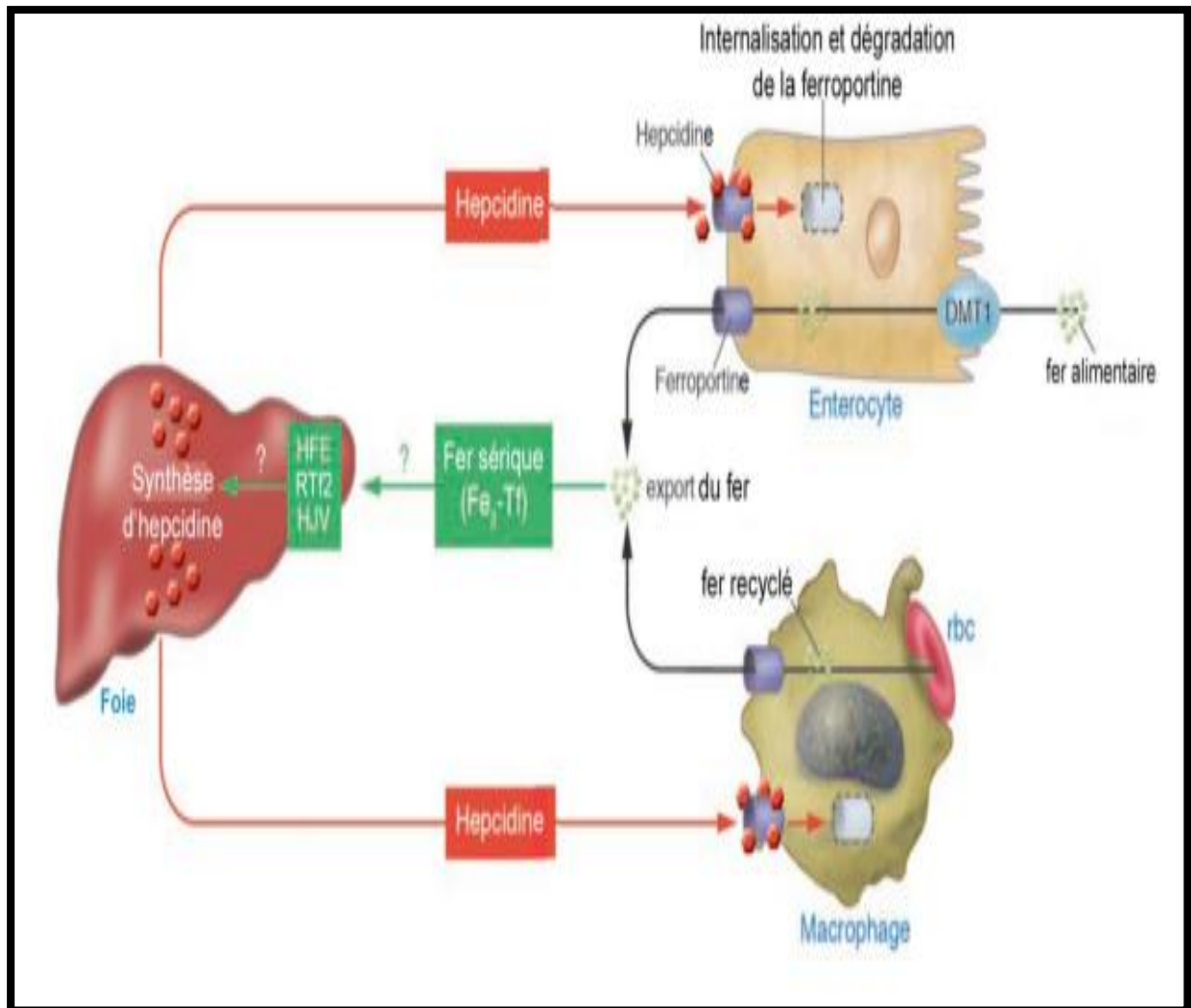


Figure 31. Schéma de régulation du métabolisme du fer via HFE, RTf2, HJV et l'hepcidine. [134].

2)- Hepsidine et autres surcharges en fer

2-1)- Surcharge en fer secondaire

Lorsque l'organisme est incapable de produire des GR de façon suffisante, une réaction à cette dysérythropoïèse est souvent une hyperabsorption de fer intestinale. Les souris hpx, modèle classique de dysérythropoïèse par manque d'apport de fer aux précurseurs érythroïdes, augmentent ainsi leur absorption intestinale provoquant une surcharge en fer secondaire dans les tissus. Il a été montré que, dans ces souris, l'expression des gènes hepcidine est réprimée alors que le foie contient une grande quantité de fer. Cette diminution de l'hepcidine pourrait être à l'origine de l'augmentation de l'absorption intestinale.

Les surcharges en fer d'origine hématologique regroupent des maladies très hétérogènes chroniques acquises ou congénitales au cours desquelles la surcharge en fer n'est pas due à un déficit primaire du système de régulation du fer mais est secondaire à une hyper absorption intestinale du fer secondaire à la dysérythropoïèse. C'est la suppression de la production de l'hepcidine induite par l'érythropoïèse inadaptée ou anormale qui entraîne la surcharge. Le mécanisme précis n'est pas complètement élucidé mais pourrait être régulé par des facteurs érythroïdes : Growth differentiation factor 15 (GDF15) ou la twisted gastrulation (TWSG1). Il s'ajoute à ce phénomène un apport excessif de fer par les transfusions érythrocytaires, l'organisme humain ne dispose pas de moyens physiologiques d'éliminer ce fer apporté en excès. Le système réticulo-endothélial récupère le fer issu de la sénescence physiologique des globules rouges pour le réutiliser. Chaque concentré érythrocytaire transfusé apporte environ 200 mg de fer et au terme de 20 concentrés érythrocytaires le système réticulo-endothélial est saturé et une surcharge en fer apparaît. Le mécanisme

physiopathologique de la surcharge en fer d'origine hématologique (encore nommée iron loading anemia) est résumé sur la Figure 32. [135].

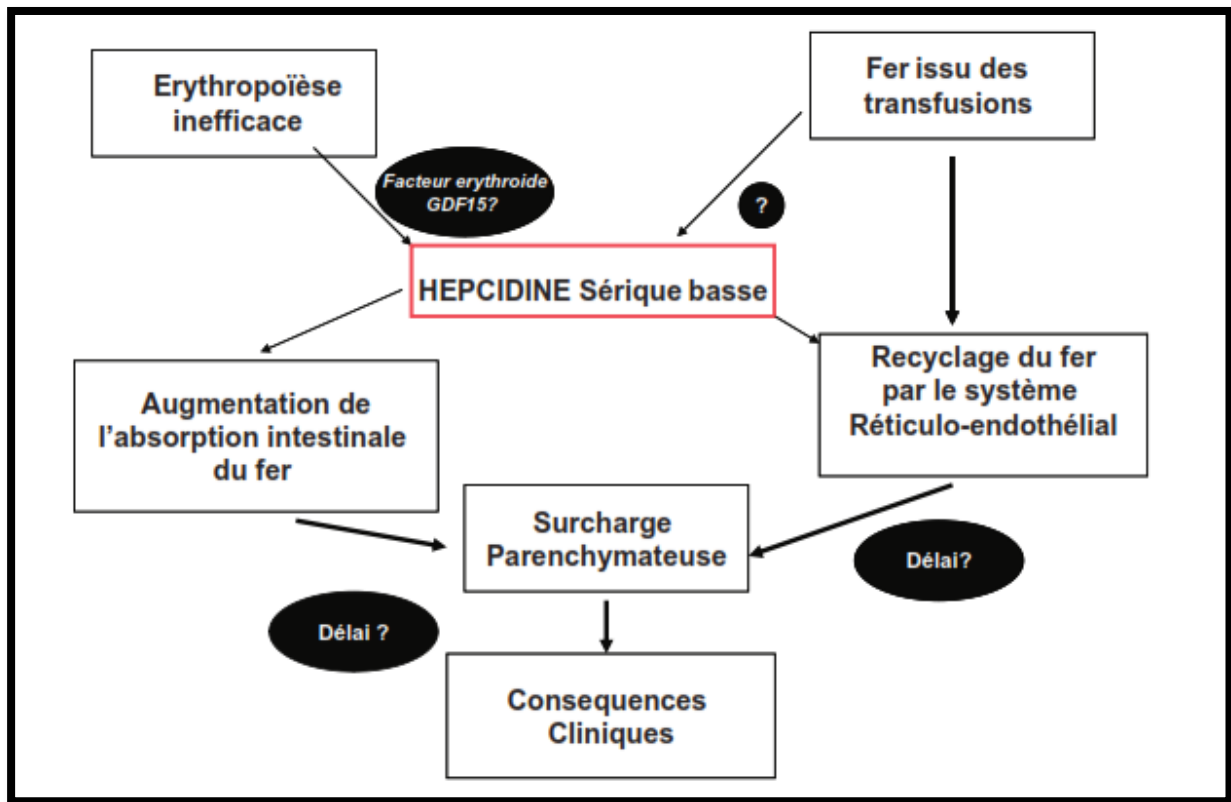


Figure 32. Mécanisme physiopathologique de la surcharge en fer post-transfusionnelle. [135].

Un exemple de surcharge secondaire en fer est la thalassémie. C'est une maladie génétique hétérogène due à des mutations dans les gènes codant pour la globine [136]. La précipitation des chaînes de globine non appariées entraîne la production de GR anormaux qui subissent rapidement une hémolyse. Les patients sont donc anémiques et l'anémie est souvent accompagnée d'une surcharge en fer due à l'hyperabsorption intestinale [137] et aggravée par le traitement par transfusions. Or, il a été montré que dans les souris β -thalassémiques, les taux d'ARNm de l'hepcidine sont diminués. Cette diminution de l'hepcidine a également été décrite récemment au niveau des taux

d'hépcidine urinaire chez des patients thalassémiques [88]. Ainsi la diminution de l'hépcidine pourrait également être la cause de l'hyperabsorption secondaire observée dans la thalassémie.

2-2)- Surcharge en fer liée à l'alcool

La consommation excessive d'alcool est connue pour entraîner dans certains cas une surcharge en fer dont l'étiologie est mal connue [138]. Plusieurs équipes, cherchant à expliquer les causes des surcharges en fer observées par une prise exagérée d'alcool ont regardé l'expression de l'hépcidine. Ces équipes ont pu démontrer par différents modèles murins ou par l'étude d'hépatocytes en culture que le traitement à l'alcool diminue l'hépcidine, et donc, que l'hépcidine pourrait être impliquée dans l'apparition de la surcharge en fer [139, 140].

3)- Hépcidine et anémies

3-1)- Anémies ferriprives

L'anémie par carence en fer ou anémie ferriprive est une maladie acquise très fréquente qui peut être due à une carence alimentaire en fer ou des pertes sanguines importantes. Chez des patients atteints d'anémie ferriprive, il a été montré une diminution des taux d'hépcidine urinaire [141]. Il s'agit sans doute d'une réaction de l'organisme pour pallier le manque de fer. Cette diminution de l'hépcidine n'est pas associée à une surcharge en fer car, dans ce cas, il n'y a pas de défaut de l'érythropoïèse et le fer supplémentaire est utilisé pour produire des GR. Cette anémie ferriprive se caractérise par une diminution de la ferritine sérique, reflétant la diminution des réserves en fer de l'organisme (Tableau VI).

Une anémie ferriprive est retrouvée également chez des femmes athlètes, le métabolisme du fer étant perturbé par l'exercice physique intensif [142]. Une étude récente montre qu'il existe bien une augmentation de l'hépcidine urinaire chez des femmes athlètes un jour après un marathon pouvant expliquer l'apparition de l'anémie ferriprive [143].

Tableau VI. Variations des paramètres sériques lors de l'anémie chronique inflammatoire et l'anémie ferriprive. [144]

Variables sériques	Anémie chronique inflammatoire	Anémie ferriprive	Patients avec les deux types d'anémies
Fer	↘	↘	↘
Transferrine	↘ à normal	↗	↘
Saturation de la transferrine	↘	↘	↘
Ferritine	normal à ↗	↘	↘ à normal
RTf soluble (RTfs)	normal	↗	normal à ↗
RTfs/log ferritine	faible (<1)	élevé (>2)	élevé (>2)
Niveaux des cytokines	↗	normal	↗

3-2)- Anémies chroniques inflammatoires.

Le fer est un élément crucial pour la prolifération des pathogènes, et les bactéries ont développé une batterie de protéines pour récupérer le fer des hôtes. L'apparition d'une anémie est un phénomène très fréquent dans des maladies inflammatoires ou cancéreuses. On parle d'anémie chronique inflammatoire. Ces anémies dites inflammatoires sont par leur fréquence la deuxième cause des anémies acquises, après les anémies liées à une carence en fer. Elles se différencient de ces dernières essentiellement par la ferritine qui reste normale voire augmentée (Tableau VI), ce qui témoigne de réserves en fer non diminuées : la rétention du fer dans les macrophages conduit à la diminution de l'activité des IRP et à l'augmentation de la traduction de la ferritine. L'élévation de la ferritine peut être également liée à une augmentation de la transcription du gène par les cytokines inflammatoires. Contrairement aux anémies ferriprives qui se traitent par apport de fer, l'apport de fer à des patients présentant une anémie inflammatoire n'améliore pas leur état. L'anémie chronique inflammatoire est une anémie modérée, normochrome et normocytaire au début. On suppose que l'addition de plusieurs mécanismes conduit à cette anémie :

- une diminution de la durée de vie des GR ;
- une diminution de la synthèse d'érythropoïétine (EPO) ;
- une différenciation érythroblastique anormale ;
- une séquestration du fer dans les macrophages.

Tous ces mécanismes peuvent être déclenchés par les cytokines produites lors de l'inflammation (Figure 33) [144].

Or, l'expression de l'hépcidine est induite par les cytokines inflammatoires (voir Régulation de l'hépcidine). Il était donc tentant de proposer un rôle de

l'hépcidine dans l'installation de l'anémie chronique inflammatoire. Si l'hépcidine n'agit pas *in vivo* comme un réel peptide antimicrobien, elle participe, grâce à son action

hyposidérémiante, à lutter contre les infections / inflammations en réduisant le fer libre indispensable aux organismes pathogènes ou aux cellules cancéreuses en prolifération.

L'augmentation de l'hépcidine dans des situations d'inflammation, à en croire les effets du peptide, pourrait donc conduire à une diminution du fer sérique par rétention du fer macrophagique et une inhibition de l'absorption intestinale du fer. C'est en effet le cas puisque un laboratoire a retrouvé une réduction de 50% du fer sérique après l'injection de turpentine à des souris, réponse qui est perdue lorsque la turpentine est injectée à des souris déficientes en hépcidine [145]. Ces résultats suggèrent que l'augmentation de l'hépcidine dans l'inflammation pourrait contribuer à l'établissement des dérégulations du métabolisme du fer observées au cours des anémies des maladies chroniques chez l'homme (Figures 33 et 30).

Deux études récentes chez l'homme vont dans ce sens. Dans une cohorte de patients atteints de glycogénose de type 1 et présentant une anémie, Weinstein et al. ont mis en évidence un adénome hépatique produisant des quantités anormalement élevées d'ARNm hépcidine [45]. La résection chirurgicale de l'adénome chez ces patients a permis de normaliser les paramètres sanguins ce qui est fortement compatible avec un effet de l'hépcidine dans le blocage intestinal et macrophagique du fer. Enfin, Nemeth et al. et Kemna et al. ont mesuré, directement cette fois, les taux urinaires d'hépcidine et ont montré que ces niveaux sont plus élevés chez des patients atteints de diverses anémies chroniques inflammatoires [102, 141].

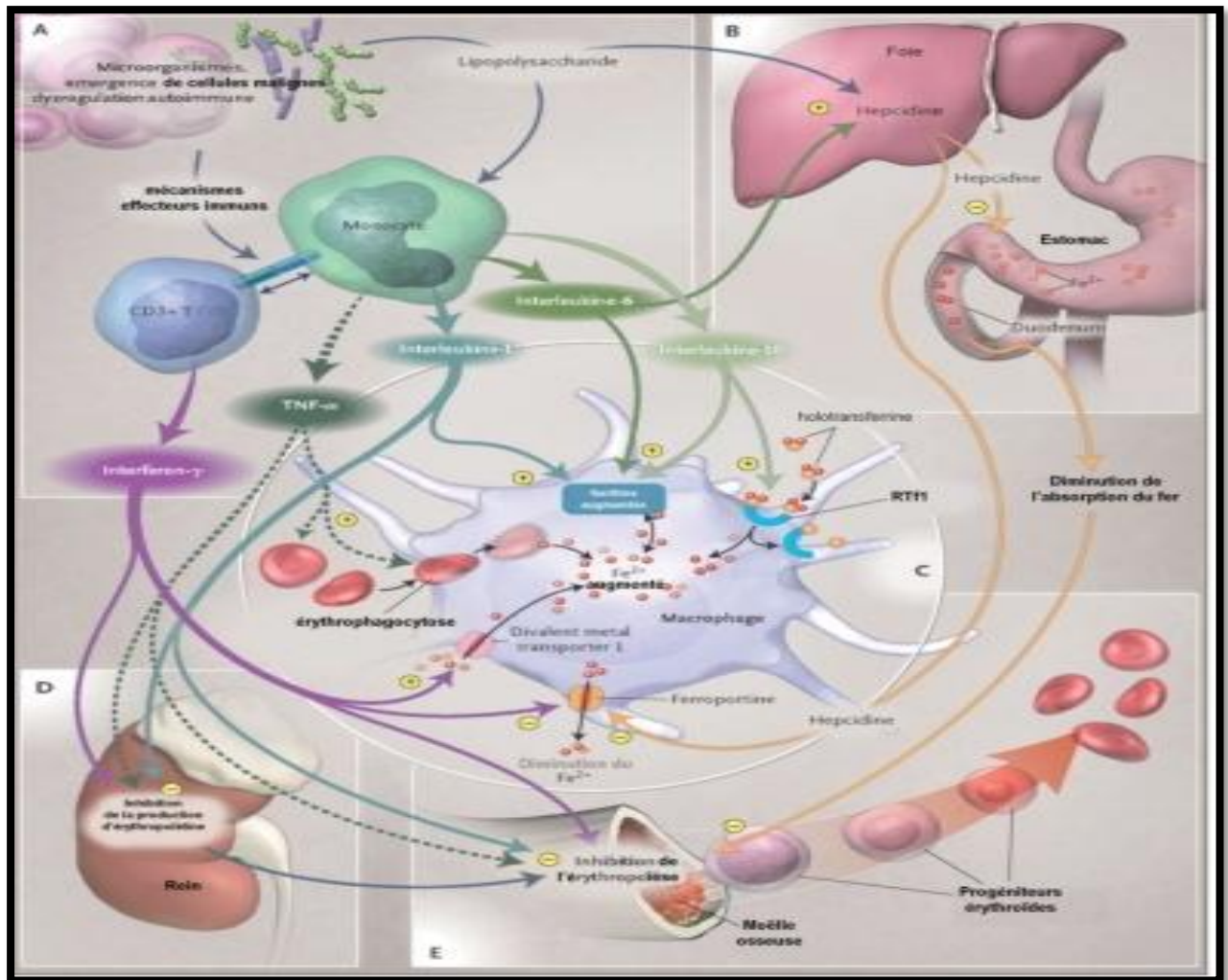


Figure 33. Schéma de l'interaction du métabolisme du fer et de l'inflammation. [144].

L'implication de HFE, RTF2 et HJV dans la régulation de l'hepcidine lors de l'inflammation a également été l'objet de nombreuses études. Le rôle de Hfe n'est d'ailleurs pas éclairci et semble dépendre du fond génétique de la souris étudiée, du type de stimulus utilisé et/ou de la cinétique appliquée. Ainsi Roy et al. ont induit des souris Hfe-/- au LPS et ne retrouvent pas l'induction de l'hepcidine ni l'hyposidérémie observée dans les souris sauvages 1,5 heure après l'injection. Ils concluent donc que Hfe est impliquée dans la régulation de

l'hepcidine lors d'une inflammation provoquée par injection de LPS. D'autres équipes n'observent pas de changement de la réponse des gènes hepcidine 6 heures après traitement au LPS [146] ou 16 heures après traitement par l'adjuvant de Freund [147] chez des souris Hfe^{-/-} et pensent donc que Hfe n'est pas essentielle à cette régulation. L'étude de la réponse à l'inflammation des souris KI Tfr2 et de la réponse de lignées hépatiques à l'IL-6 après diminution d'HJV par traitement par des siRNA (petits ARN interférents) dirigés contre HJV [148] ont montré également que Tfr2 et HJV ne semblent pas requises pour la régulation de l'hepcidine au cours de l'inflammation. Dans les souris KO HJV, la réponse de l'hepcidine à l'inflammation est présente mais réduite par rapport aux souris contrôles [130], suggérant que HJV est importante pour l'expression basale des gènes hepcidine.

4)- Hepsidine et thérapeutique

Les perspectives thérapeutiques ouvertes par la découverte de l'hepcidine sont considérables et constituent une étape importante dans le domaine des maladies de l'homéostasie du fer (insuffisances ou surcharges) qui touchent des dizaines de millions de personnes dans le monde. L'utilisation de l'hepcidine, de ses agonistes ou de toute substance stimulant sa production devrait dans le futur pouvoir constituer un traitement logique des surcharges en fer primaires telles que les hémochromatoses (l'avenir thérapeutique, en cas d'hepcidinodéficience, est la supplémentation en hepcidine soit par l'administration de molécules d'hepcidine de synthèse –qui font l'objet d'une recherche active- soit par stimulation « endogène » ciblée de la cascade moléculaire conduisant à la synthèse hépatique de l'hepcidine. [112]). Ces molécules pourraient aussi être bénéfiques dans les surcharges secondaires comme les thalassémies ou les anémies réfractaires par insuffisance de production de globules rouges. Chez les patients thalassémiques, l'hyperabsorption digestive du fer, conséquence de l'érythropoïèse inefficace, est souvent aggravée par la transfusion répétée de globules rouges indispensables pour la survie des patients. Pouvoir disposer de molécules inhibitrices de l'absorption intestinale de fer pourrait ici constituer un traitement de choix puisque le seul traitement disponible face à une surcharge en fer trop importante, est l'administration de molécules chélatrices du fer par voie intraveineuse, qui est souvent très difficile à supporter pour le patient. De plus, son efficacité est parfois limitée.

Les cancers, les maladies inflammatoires chroniques (connectivite, lupus, polyarthrite rhumatoïde, etc.), les infections chroniques sont le plus souvent associés à une forme d'anémie inflammatoire caractérisée par une séquestration du fer dans les macrophages, une diminution du fer sérique et de la transferrine

circulante, et une diminution de l'absorption intestinale. Ces anémies aggravent considérablement l'état général des malades et, comme cela est bien démontré dans le cas des cancers, diminuent l'efficacité des traitements. L'hyperexpression du gène de l'hepcidine joue un rôle essentiel dans ce type d'anémies inflammatoires. Par conséquent, des antagonistes de l'hepcidine constitueraient le traitement, là encore logique, de ce type d'anémies inflammatoires. [6].

CONCLUSION

Depuis plusieurs années, se posait la question du régulateur hormonal du métabolisme du fer. Avec la découverte il y a quelques années de l'hepcidine, peptide de 25 acides aminés produit par le foie, et trouvé dans le sang, dont la fonction est d'inhiber l'absorption intestinale et le relargage macrophagique du fer dans le sang, c'est un véritable changement dans la façon d'appréhender cette régulation du métabolisme du fer qui s'est opéré.

Tout d'abord, la protéine HFE qu'on tenait pour responsable, par son action au niveau du duodénum, de l'hyperabsorption intestinale du fer dans l'hémochromatose, s'est vu reléguée au rang de régulateur de l'expression de l'hepcidine au niveau du foie. Ensuite l'ensemble des maladies associées à une perturbation du métabolisme du fer (hémochromatose héréditaire, surcharge en fer secondaire, anémie chronique inflammatoire) peuvent pour la plupart s'expliquer par des dérégulations de l'hepcidine. Ceci entraînant finalement de nouvelles perspectives diagnostiques et thérapeutiques pour toutes ces maladies qui touchent des dizaines de millions de personnes dans le monde.

RESUME

Titre : METABOLISME DU FER, IMPLICATION DE L'HEPCIDINE DANS SES PATHOLOGIE.

Auteur : MOUSSA DIHI.

Mots clés : Métabolisme du fer –Hepcidine – Hémochromatose – Anémie.

Le fer intervient dans de nombreuses fonctions biologiques. Le maintien d'un niveau adéquat de fer ainsi que sa bonne répartition dans l'organisme et dans les cellules sont possibles grâce à des mécanismes de régulation systémiques et cellulaires. Le contrôle systémique du métabolisme du fer fait intervenir l'hepcidine. Elle régule en permanence la concentration et la biodisponibilité plasmatiques du fer en contrôlant, par son interaction avec la ferroportine la libération de fer dans le plasma.

Le contrôle de la production d'hepcidine met en jeu plusieurs voies de régulation : les protéines (HFE, TFR2 et l'hémojuvéline), et les BMPs.

Des mutations du gène codant l'hepcidine, ou de certains des gènes impliqués dans le contrôle de son expression, sont responsables de la survenue des hémochromatoses. Une hyperexpression de l'hepcidine, observée au cours des maladies inflammatoires chroniques, favorise l'apparition secondaire d'une anémie.

Une baisse de l'expression de l'hepcidine est observée lors d'hypoxie et d'anémies.

L'approfondissement des mécanismes de régulation de l'expression de l'hepcidine et une meilleure connaissance de son impact en pathologie devraient permettre de définir de nouvelles méthodes diagnostiques et de nouvelles cibles thérapeutiques dans le cadre des pathologies liées au métabolisme du fer.

SUMMARY

Title: IRON METABOLISM, IMPLICATION OF THE HEPCIDIN IN THESE PATHOLGY.

Author: MOUSSA DIHI

Keywords: Iron Metabolism– Hepcidin – Hemochromatosis - Anemia

The iron intervenes in numerous biological functions. The preservation of an adequate iron level as well as its good distribution in the organism and in the cells are possible thanks to systematic and cell mechanisms of regulation. The systemic control of the metabolism of the iron brings in the hepcidin. It regulates permanently the plasmatic concentration and the bioavailability of the iron by checking, by its interaction with the ferroportin the iron liberation in the plasma.

The control of the production of hepcidin involves several ways of regulation: proteins (HFE, TFR2 and the hemojuvelin), and BMPs.

Mutations of the gene coding the hepcidin, or some of the genes implied in the control of its expression, are responsible for the occurrence of hemochromatosis. A hyperexpression of the hepcidine, observed during the chronic inflammation diseases favors the secondary appearance of an anemia.

A reduction in the expression of the hepcidine is also observed during hypoxia and during anemia.

The deepening of the mechanisms of regulation of the expression of the hepcidin and a better knowledge of its impact in pathology should allow of define of new diagnostic methods and new therapeutic targets within the framework of the pathologies bound to the metabolism of the iron

ملخص

العنوان : استقلاب الحديد، ومشاركة الهيبسيدين في أمراضه.

الكاتب : موسى ديهي

الكلمات الأساسية: استقلاب الحديد - الهيبسيدين - الأصبغة الدموية - فقر الدم

يشارك الحديد في وظائف بيولوجية كثيرة. الحفاظ على مستوى كاف من الحديد وتوزيعه السليم في الجسم و في الخلايا ممكن من خلال آليات تنظيمية ونظامية الخلوية. يعتبر الهيبسيدين عنصر مهم في التحكم المنظم لاستقلاب الحديد و توزيعه السليم في الجسم، و هو ببتيد يفرز في البلازما، و مصدره الرئيسي هو الكبد. ينظم باستمرار التركيز البلازمي و التوافر البيولوجي للحديد بالتفاعل مع الفيروبتين، و ذلك بتنظيم إفراز الحديد من طرف الخلايا المعوية و البلعميات.

التحكم في إنتاج الهيبسيدين خاضع لعدة مسارات تنظيمية تشمل: البروتينات (HFE, RTF2, HJV)، و البروتينات المورفوجينية العظامية (BMP).

طفرات جين الترميز المسؤول عن الهيبسيدين، أو بعض الجينات المسؤولة عن السيطرة على تعبيره، هي المسؤولة عن حدوث داء ترسب الأصبغة الدموية. الإفراط في التعبير الجيني، لوحظت في الأمراض الالتهابية المزمنة، مما يعزز ظهور فقر الدم.

يلاحظ انخفاض في التعبير الجيني للهيبسيدين خلال نقص الأكسجة و فقر الدم.

ينبغي التعمق في آليات تنظيم التعبير الجيني للهيبسيدين وفهم أفضل لتأثيره في الأمراض الشئ الذي سيتمكن من تحديد آليات

تشخيص جديدة و أهداف علاجية للأمراض المرتبطة باستقلاب الحديد.

Bibliographies

- [1]. **Olivier Loréal et al.** « Métabolisme du fer en 2012 ». *Revue Francophone Des Laboratoires* –**Mai 2012**- ; Vol.42 ; N°.442 ; p : 31-37.
- [2]. **C. Beaumont, Z. Karim.** « Actualité du métabolisme du fer ». *La Revue De Médecine Interne* –**Janvier 2013**- ; Vol.34 ; N°.1 ; p : 17-25.
- [3]. **P. Bouizegarène et al.** « Les hémochromatoses héréditaires ». *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée* –**2006**- ; Vol.21 ; Issue 2 ; p : 65-78.
- [4]. **Bruno Baudin.** « Homéostasie du fer et aspects nutritionnels ». *La Revue Francophone Des Laboratoires* –**Mai 2012**- ; Vol.42 ; N°.442 ; p : 55-59.
- [5]. **Olivier Loréal et al.** « Métabolisme du fer et outils diagnostique pour le clinicien ». *La Revue DE Médecine Interne* –**Juin 2012**- ; Vol.33 ; Supplement1 ; p : S3-S9.
- [6]. **Lydie Viatte, Sophie Vaulont.** « L’hepcidine : un nouveau regard sur le métabolisme du fer ». *Hepato-Gastro* –**Mai-juin 2005**- ; Vol.12 ; N°.3 ; p : 199-209.
- [7]. **Nancy C. Andreus, M.D, Ph.D.** « Disorders of iron metabolism ». *The New England Journal of Medicine* –**December 23,1999**- ; Vol.341 ; N°.26 ; p: 1986-1995.
- [8]. **C. Beaumont.** « Actualités du métabolisme du fer ». *La Revue De Médecine Interne* –**Décembre 2009**- ; Vol.30 ; Supplement4 ; p : S307-S310.

[9]. **Antonello Pietrangelo, M.D, Ph.D.** « Hereditary hemochromatosis – A new look at an old disease». *The New England Journal of Medicine* –**June3, 2004**; Vol.350; N°.23; p: 2383-2397.

[10]. **Lydie Viatte.** « Mode d'action de l'hepcidine, nouvelle hormone du métabolisme du fer, et son implication dans l'hémochromatose ». Université Paris 7-Denis Diderot- ; UFR Biologie et Sciences de la nature ; Version 1 ; **4Mars 2009** ; p : 24.

[11]. **Fadi Bou-Abdallah.** « Transferrins : Molecular mechanisms of iron transport and disorders». *Biochimica et Biophysica Acta* 1820 **(2012)**; p: 157-158.

[12]. **D. Cattan.** « Régulation de l'absorption du fer : données nouvelles ». *EMC-Hépatologie* 1 **(2004)** ; p : 82-97.

[13]. **Olivier Loréal et al.** « Métabolisme du fer ». *Gastroenterol Clin Biol* 24 **(2000)**; p: B56-B61.

[14]. **Franziska Demarmels Biasiutti.** « Régulation du métabolisme du fer ». *Forum Med Suisse* **2009** ; 9 (36) ; p : 630-632.

[15]. **C. Désidéri-Vaillant et al.** « Apport du dosage du récepteur soluble de la transferrine ». *Transfusion Clinique et Biologique* 18 **(2011)** ; p : 36-39.

[16]. **N. Gillain et al.** « Intérêt du dosage des récepteurs solubles de la transferrine dans le dépistage de la carence martiale en fin de grossesse ». *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée* 18 **(2003)** ; p : 271-276.

[17]. **C. Doyen et al.** « Le récepteur de la transferrine : intérêt dans l'exploration du statut martial ». *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée* 16 (**2001**) ; p : 71-77.

[18]. **Philip Aisen.** « Transferrin receptor 1 ». *The International Journal Of Biochemistry And Cell Biology* – **November 2004**; Vol.36; Issue 11; p: 2137-2143.

[19]. **O. Gaillard.** « La ferritine ». *Immuno-Analyse et Biologie Spécialisée* 18 (**2003**) ; p : 23-24.

[20]. **P.M. Harrisson, P. Arosio.** « The ferritins : molecular proprieties, iron storage function and cellular regulation». *Biochimica et Biophysica Acta* 1275 (**1996**); p: 161-203.

[21]. **S. Omar et al.** « Le métabolisme du fer : Revue générale et récents développements ». *Annale de Biologie Clinique* -**2006-** ; 64(6) ; p : 523-534.

[22]. **C. Beaumont.** « Aspects génétiques, moléculaires et cellulaires du métabolisme du fer ». *Hématologie* – **Mars-Avril 1999-** ; Vol.5 ; N°.2 ; p : 122-132.

[23]. **Ana Goncalves, Carole Beaumont.** « La ferroportine, une nouvelle molécule pour la régulation du métabolisme du fer ». *Hématologie* –**Novembre –Décembre 2005-** ; Vol.10 ; N°.6 ; p : 453-463.

[24]. **G.O. Latunde-Dada et al.** « Molecular and functional roles of duodenal cytochrome B (Dcytb) in iron metabolism ». *Blood Cells, Molecules and Diseases* – **Nov/Dec 2002-**; 29(3); p: 356-360.

- [25]. **G. Nicolas, Sophie Vaultont, Carole Beaumont.** « Mécanismes impliqués dans la régulation de l'absorption intestinale du fer ». *Cah. Nutr. Diét* -**2004**- ; 39(3); p: 195-201.
- [26]. **Mitchell D. Knuitson, Ph D.** « Steap proteins : Implications for iron and copper metabolism». *Nutrition Reviews* – **July 2007**-; Vol.65: N°.7; p: 335-340.
- [27]. **Robert S. Ohgami et al.** « Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin- dependent iron uptake in erythroid cells». *Nat Gent* – **November 2005**-; 37(11); p: 1264-1269.
- [28]. **Haim Tapiero.** « Les oligo-éléments-Prévention des maladies humains ». *Science et biomédecine* ; Edition EDK, Paris -**2005**- ; p : 7-8.
- [29]. **Hvidberg V. et al.** « Identification of the receptor scavenging hémopexine-heme complex». *Blood* -**2005**-; 106(7); p: 2572-2579.
- [30]. **Tolosano E, Altruda F.** « Hemopexin : Structure, function and regulation». *DNA Cell Biol* -**2002**-; 21(4); p: 297-306.
- [31]. **Said Lyoumi et al.** « Rôles protecteurs de l'hème oxygénase et des catabolites de l'hème ». *Hématologie* – **2007**- ; 13(4) ; p : 251-265.
- [32]. **Pierre J. Verroust et Renata Kozyraki.** « Cubiline : Rôle physiopathologique et relations avec la mégaline ». *Médecine Science* -**2003**- ; Vol.19 ; N°.3 ; p : 337-343.
- [33]. **P.J. Verroust et al.** « Rôle physiopathologique de la cubiline et de la mégaline ». *Actualités Néphrologique* -**2000**- ; p : 271-285.

[34]. **Xavier Brazzolotto.** « Implication des protéines IRP (Iron Regulatory Protein) dans le métabolisme du fer chez les animaux ». Université Joseph Fourier-Grenoble1- ; Sciences et Géographie, Thèse **Novembre 2001.**

[35]. **Carole Beaumont.** « Mécanisme moléculaire de l'homéostasie du fer ». *Médecine Science* -**2004-** ; Vol.20 ; N°.1 ; p : 68-72.

[36]. **Dr Busque.** « L'hémochromatose à l'heure de la génétique moléculaire ». *Le Clinicien* – **Janvier 2000-** ; p : 137-150.

[37]. **Olivier Loréal et al.** « Hémojuvéline et pathologie du métabolisme du fer ». *Hépto-Gastro* – **Mai-Juin 2009-** ; Vol.16 : N°.3 ; p : 173-179.

[38]. **Mohamed Lamine Ould Salem et al.** « L'hepcidine : Etat actuel de nos connaissances ». *Revue Francophone des Laboratoires* –**Février 2011-** ; N°.429 ; p : 47-50.

[39]. **Nathalie Mario et Pascal Pernet.** « Quels marqueurs pour le bilan martial ? ». *Spectra Biologie* –**Décembre 2007-** ; N°.163 ; p : 48-53.

[40]. **Nathalie Mario.** « Marqueurs biologique pour le diagnostic des troubles du métabolisme du fer ». *Revue Francophone des Laboratoires* –**Mai 2012-** ; N°.442 ; p : 39-48.

[41]. **Lydie Viatte, Sophie Vaulont.** « L'hepcidine, une histoire de fer au cœur du foie ». *Hématologie*-**Mai-Juin 2007-** ; Vol.13 ; N°.3 ; p : 165-176.

[42]. **Pigeon et al.** « A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload». *The Journal of Biological Chemistry* -**2001**-; Vol.276; N°.11; issue of March16; p: 7811-7819.

[43]. **Nicols et al.** « Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in Upstream Stimulatory Factor 2 (USF2) knockout mice». *PNAS*-**July,17 2001**-; Vol.98; N°.15; p: 8780-8785.

[44]. **Nicols et al.** « Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidine». *PNAS* – **April 2,2002**; Vol.99; N°.7; p: 4596-4601.

[45]. **Andrews et al.** « Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: Implications for the anemia of chronic disease». *Blood* -**2002**-; 04-1260; p: 3776-3781.

[46]. **O. Loréal, P. Brissot.** « L’hepcidine : le graal du métabolisme du fer ». *Gastroenterol Clin Biol* (26)-**2002**- ; p : 805-807.

[47]. **Tomas Ganz.** « Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation». *Blood* –**August1, 2003**; Vol.102; N°.3; p: 783-788.

[48]. **Farnaud S, Patel A, Evans RW.** « Modelling of a metal containing hepcidin». *Biometals* (19)- **2006**-; p: 527-533.

[49]. **Carole Beaumont et al.** « L’hepcidine, un régulateur majeur du métabolisme du fer ». *Hématologie*, -**Janvier-Février 2003**- ; Vol.9 ; N°.1 ; p : 27-36.

[50]. **J. Shi, A.C Camus.** « Hepcidin in amphibians and fishes: Antimicrobial peptides or iron-regulatory hormones? ». *Developmental and Comparative Immunology*, (30) -**2006**-; p: 746-755.

[51]. **Kwo-Yih Yeh, Mary Yeh, and Jonathan Glass.** « Hepcidin regulation of ferroportin 1 expression in the liver and intestine of the rat». *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* (286) – **2004**-; p: G385-G394.

[52]. **Abash. Laftah et al.** « Effect of hepcidin on intestinal iron absorption in mice». *Blood* –**May15, 2004**- ; Vol.103; N°.10; p: 3940-3944.

[53]. **Elizepeta Nemeth et al.** « Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization». *Science* – **December17, 2004**; Vol.306; N°. 5704. P: 2090-2093.

[54]. **Vana De Domenico et al.** « Hepcidin-Inducted internalization of ferroportin requires binding and cooperative interaction with JAK 2». *PNAS* – **March10, 2009**; Vol.106; N°.10; p: 3800-3805.

[55]. **Gaël Nicols et Sophie Vaulont.** « Le mécanisme d'action de l'hepcidine déchiffré ». *Médecine Science* -**2005**- ; Vol.21; N°.1; p: 7-9.

[56]. **Seth Rivera et al.** « Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs». *Blood* – **September 15, 2005**-; Vol.106; N°.6; p: 2196-2199.

[57]. **Soumeiya Bekri et al.** « Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH». *Gastroenterology* (131) -**2006**-; p: 788-796.

- [58]. **Dr Gaël Nicolas.** « L'hepcidine : le chef d'orchestre de l'homéostasie du fer ». *Diabète et Obésité* –**Mai2009**- ; Vol.4 ; N°.29 ; p : 142-146.
- [59]. **H. Kulaksiz et al.** « Pro-hepcidin : Expression and cell specific localization in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anemia». *Gut* (53) -**2004**-; p: 735-743.
- [60]. **Wallace, D.F et al.** « pro-hepcidin localises to the Golgi compartment and secretory pathway in hepatocytes». *J Hepatol* -**2005**-; 43(4); p: 720-728.
- [61]. **Pietrangelo A, Trautwein C.** « Mechanisms of disease : the role of hepcidin in iron homeostasis –implications for hemochromatosis and other disorders». *Nat Clin Pract Gastrol Hepatol* (1) -**2004**-; p: 39-45.
- [62]. **Malyszko, Jolanta.** « Heparin assays: ironing out some details. » *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 4.6 (**2009**): 1015-1016.
- [63]. **Delaby, C., J-C. Deybach, and C. Beaumont.** « L'hepcidine et le métabolisme du fer. » *La Revue de médecine interne* 28.7 (**2007**): 510-512.
- [64]. **Loréal, Olivier, et al.** « Heparin et son impact en pathologie. » *Hépatogastro*15.4 (**2008**): 275-283.
- [65]. **Lee, Pauline L., and Ernest Beutler.** « Regulation of hepcidin and iron-overload disease. » *Annual Review of Pathological Mechanical Disease* 4 (**2009**): 489-515.
- [66]. **Babitt, Jodie L., et al.** « Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. » *Nature genetics* 38.5 (**2006**): 531-539.

- [67]. **Zhang, An-Sheng, et al.** « Hemojuvelin-neogenin interaction is required for bone morphogenic protein-4-induced hepcidin expression. » *Journal of Biological Chemistry* 284.34 (2009): 22580-22589.
- [68]. **Guillem, Flavia, et al.** « Two nonsense mutations in the TMPRSS6 gene in a patient with microcytic anemia and iron deficiency. » *Blood* 112.5 (2008): 2089-2091.
- [69]. **Melis, Maria Antonietta, et al.** « A mutation in the TMPRSS6 gene, encoding a transmembrane serine protease that suppresses hepcidin production, in familial iron deficiency anemia refractory to oral iron. » *haematologica* 93.10 (2008): 1473-1479.
- [70]. **Folgueras, Alicia R., et al.** « Membrane-bound serine protease matriptase-2 (Tmprss6) is an essential regulator of iron homeostasis. » *Blood* 112.6 (2008): 2539-2545.
- [71]. **Beaumont, Carole, and Bernard Grandchamp.** « La sérine protéase membranaire TMPRSS6: un partenaire inattendu du contrôle de la synthèse d'hepcidine. » *Hématologie* 14.5 (2008): 335-8.
- [72]. **Ramsay, Andrew J., et al.** « Matriptase-2 (TMPRSS6): a proteolytic regulator of iron homeostasis. » *Haematologica* 94.6 (2009): 840-849.
- [73]. **De Falco, Luigia, et al.** « Novel TMPRSS6 mutations associated with iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). » *Human mutation* 31.5 (2010): E1390-E1405.

- [74]. **Lenoir, Anne, et al.** « Iron-deficiency anemia from matriptase-2 inactivation is dependent on the presence of functional Bmp6. » *Blood* 117.2 (2011): 647-650.
- [75]. **Gazzerro, Elisabetta, and Ernesto Canalis.** « Bone morphogenetic proteins and their antagonists. » *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 7.1 (2006): 51-65.
- [76]. **Corradini, Elena, Jodie L. Babitt, and Herbert Y. Lin.** « The RGM/DRAGON family of BMP co-receptors. » *Cytokine & growth factor reviews* 20.5 (2009): 389-398.
- [77]. **Xiao, Yong-Tao, Li-Xin Xiang, and Jian-Zhong Shao.** « Bone morphogenetic protein. » *Biochemical and biophysical research communications* 362.3 (2007): 550-553.
- [78]. **Samad, Tarek A., et al.** « DRAGON, a bone morphogenetic protein co-receptor. » *Journal of Biological Chemistry* 280.14 (2005): 14122-14129.
- [79]. **Shi, Yigong, and Joan Massagué.** « Mechanisms of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus. » *Cell* 113.6 (2003): 685-700.
- [80]. **Kautz, Léon, et al.** « BMP/Smad signaling is not enhanced in Hfe-deficient mice despite increased Bmp6 expression. » *Blood* 114.12 (2009): 2515-2520.
- [81]. **Nohe, Anja, et al.** « Signal transduction of bone morphogenetic protein receptors. » *Cellular signalling* 16.3 (2004): 291-299.

[82]. **Loréal, Olivier, et al.** « Métabolisme du fer. » *Cahiers de Nutrition et de Diététique* (2012) ; Vol.47 ; Issue 3 ; p : 117-124.

[83]. **Truksa, Jaroslav, et al.** « Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of Hfe, transferrin receptor 2 (Tfr2), and IL-6. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103.27 (2006): 10289-10293.

[84]. **Verga Falzacappa, Maria Vittoria, et al.** «A bone morphogenetic protein (BMP)-responsive element in the hepcidin promoter controls HFE2-mediated hepatic hepcidin expression and its response to IL-6 in cultured cells». *Journal of Molecular Medicine* 86.5 (2008): 531-540.

[85]. **Casanovas, Guillem, et al.** «Bone morphogenetic protein (BMP)-responsive elements located in the proximal and distal hepcidin promoter are critical for its response to HJV/BMP/SMAD». *Journal of molecular medicine* 87.5 (2009): 471-480.

[86]. **Frazer, D. M., et al.** «Delayed hepcidin response explains the lag period in iron absorption following a stimulus to increase erythropoiesis». *Gut* 53.10 (2004): 1509-1515.

[87]. **Brittenham, G. M.** «New advances in iron metabolism, iron deficiency, and iron overload». *Current opinion in hematology* 1.2 (1994): 101.

[88]. **Papanikolaou, George, et al.** «Hepcidin in iron overload disorders». *Blood* 105.10 (2005): 4103-4105.

[89]. **Vokurka, M., et al.** «Hepcidin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis». *Physiological Research* 55.6 (2006): 667.

- [90]. **Pak, Mihwa, et al.** «Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity». *Blood* 108.12 (2006): 3730-3735.
- [91]. **Fein, Evelyn, et al.** «Regulation of hepcidin in HepG2 and RINm5F cells». *Peptides* 28.5 (2007): 951-957.
- [92]. **Pinto, Jorge P., et al.** «Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBP α ». *Blood* 111.12 (2008): 5727-5733.
- [93]. **Tanno, Toshihiko, et al.** «High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin». *Nature medicine* 13.9 (2007): 1096-1101.
- [94]. **Kanda, Junya, et al.** «Serum hepcidin level and erythropoietic activity after hematopoietic stem cell transplantation». *haematologica* 93.10 (2008): 1550-1554.
- [95]. **Tanno, Toshihiko, et al.** «Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells». *Blood* 114.1 (2009): 181-186.
- [96]. **McDonnell, Sharon M., et al.** «Population-based screening for hemochromatosis using phenotypic and DNA testing among employees of health maintenance organizations in Springfield, Missouri». *The American journal of medicine* 107.1 (1999): 30-37.
- [97]. **Semenza, Gregg L.** «Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) pathway». *Science Signalling* 2007.407 (2007): cm8.

- [98]. **Peyssonnaud, Carole, et al.** «Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs)». *Journal of Clinical Investigation* 117.7 (2007): 1926.
- [99]. **Mastrogiannaki, Maria, et al.** «HIF-2 α , but not HIF-1 α , promotes iron absorption in mice». *The Journal of clinical investigation* 119.5 (2009): 1159.
- [100]. **Shah, Yatrik M., et al.** «Intestinal hypoxia-inducible transcription factors are essential for iron absorption following iron deficiency». *Cell metabolism* 9.2 (2009): 152-164.
- [101]. **Means, Robert T.** «Hepcidin and anaemia». *Blood reviews* 18.4 (2004): 219-225.
- [102]. **Nemeth, Elizabeta, et al.** «Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein». *Blood* 101.7 (2003): 2461-2463.
- [103]. **Lee, Pauline, et al.** «Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102.6 (2005): 1906-1910.
- [104]. **Pietrangelo, Antonello, et al.** «STAT3 is required for IL-6-gp130-dependent activation of hepcidin in vivo». *Gastroenterology* 132.1 (2007): 294.
- [105]. **Heinrich, Peter C., et al.** «Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation». *Biochemical Journal* 374.Pt 1 (2003): 1.
- [106]. **Levy, David E., and Chien-kuo Lee.** «What does Stat3 do? ». *Journal of Clinical Investigation* 109.9 (2002): 1143-1148.

[107]. **Wrighting, Diedra M., and Nancy C. Andrews.** «Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3». *Blood* 108.9 (2006): 3204-3209.

[108]. **Falzacappa, Maria Vittoria Verga, et al.** «STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation». *Blood* 109.1 (2007): 353-358.

[109]. **Wang, Rui-Hong, et al.** «A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression». *Cell Metabolism* 2.6 (2005): 399-409.

[110]. **Paul, B. Yu, et al.** «Dorsomorphin inhibits BMP signals required for embryogenesis and iron metabolism». *Nature chemical biology* 4.1 (2007): 33-41.

[111]. **Fievet, Patrick, and François Brazier.** «Fer, hepcidine et insuffisance rénale chronique». *Néphrologie & Thérapeutique* 7.2 (2011): 86-91.

[112]. **Pierre Brissot et al.** « Les hémochromatoses ». *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - MAI 2012* - N° 442; p: 49-54.

[113]. **Simon, M., et al.** « Association of HLA-A3 and HLA-B14 antigens with idiopathic haemochromatosis ». *Gut* 17.5 (1976): 332-334.

[114]. **Feder, J. N., et al.** « A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis ». *Nature genetics* 13.4 (1996): 399-408.

[115]. **Brissot, P.** «Les hémochromatoses. Nouvelle compréhension, nouveaux traitements». *Gastroenterologie Clinique et Biologique* 33.8 (2009): 859-867.

- [116]. **Brissot, P., et al.** «Surcharges héréditaires en fer». *Pathologie Biologie* 58.5 (2010): 316-323.
- [117]. **Bouizegarène, P., et al.** «Les hémochromatoses héréditaires». *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 21.2 (2006): 65-78.
- [118]. **BISMUTH, Michael, Patricia AGUILAR-MARTINEZ, and Henri MICHEL.** «L'hémochromatose héréditaire». *La Presse médicale* 32.36 (2003): 1716-1723.
- [119]. **Olivier LORÉAL et al.** «Actualités sur l'hémochromatose ». *Gastroenterol Clin Biol* 2004;28:D92-D102
- [120]. **Brissot, P., C. Le Lan, and E. Berdou-Jacquet.** « Suivi et traitement d'une hémochromatose». *Post 'U FMC-HGE. Springer Paris*, 2009. 147-152.
- [121]. **Guggenbuhl, Pascal, et al.** «Hémochromatose génétique: le rhumatologue en première ligne». *Revue du Rhumatisme Monographies* 78.4 (2011): 216-223.
- [122]. **Ahmad, Kaashif A., et al.** «Decreased liver hepcidin expression in the Hfe knockout mouse». *Blood cells, molecules & diseases* 29.3 (2002): 361.
- [123]. **Bridle, Kim R., et al.** «Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis». *Lancet* 361.9358 (2003): 669.
- [124]. **Muckenthaler, Martina, et al.** «Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and Cybrd1 expression in mouse hemochromatosis». *Nature genetics* 34.1 (2003): 102-107.

[125]. **Nicolas, Gaël, et al.** «Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis». *Nature genetics* 34.1 (2003): 97-101.

[126]. **Muckenthaler, Martina U., et al.** «Molecular analysis of iron overload in β 2-microglobulin-deficient mice». *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 33.2 (2004): 125-131.

[127]. **Roetto, Antonella, et al.** «Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis». *Nature genetics* 33.1 (2002): 21-22.

[128]. **Kawabata, Hiroshi, et al.** «Expression of hepcidin is down-regulated in TfR2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis». *Blood* 105.1 (2005): 376-381.

[129]. **Nemeth, Elizabeta, et al.** «Hepcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis». *Blood* 105.4 (2005): 1803-1806.

[130]. **Niederkofer, Vera, Rishard Salie, and Silvia Arber.** «Hemojuvelin is essential for dietary iron sensing, and its mutation leads to severe iron overload». *Journal of Clinical Investigation* 115.8 (2005): 2180.

[131]. **Papanikolaou, George, et al.** «Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis». *Nature genetics* 36.1 (2003): 77-82.

[132]. **Matthes, Thomas, et al.** «Severe hemochromatosis in a Portuguese family associated with a new mutation in the 5'-UTR of the HAMP gene». *Blood* 104.7 (2004): 2181-2183.

- [133]. **Cemonesi, Laura, et al.** «Genetic and clinical heterogeneity of ferroportin disease». *British journal of haematology* 131.5 (2005): 663-670.
- [134]. **Vaulont, Sophie, et al.** «Of mice and men: the iron age». *Journal of Clinical Investigation* 115.8 (2005): 2079.
- [135]. **C. Rose** « Surcharge en fer d'origine hématologique ». *La revue de médecine interne* 33S (2012) S15-S18.
- [136]. **Rund, D. and Rachmilewitz, E.** « Beta-thalassemia». *N Engl J Med*, 2005. 353(11): p. 1135-46.
- [137]. **Raja, K. B., R. J. Simpson, and T. J. Peters.** «Intestinal iron absorption studies in mouse models of iron-overload». *British journal of haematology* 86.1 (2008): 156-162.
- [138]. **Fletcher, Linda M., Kim R. Bridle, and Darrell HG Crawford.** «Effect of alcohol on iron storage diseases of the liver». *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 17.4 (2003): 663-677.
- [139]. **Bridle, Kim R., et al.** «Hepcidin Is Down-regulated in Alcoholic Liver Injury: Implications for the Pathogenesis of Alcoholic Liver Disease». *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 30.1 (2006): 106-112.
- [140]. **Bridle, Kim, et al.** «Hepcidin expression is down-regulated in alcohol-fed rats: A possible pathogenic factor in alcohol related hepatic siderosis». *The Liver Meeting 2003*: 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Vol. 38. No. 4 Suppl. 1. John Wiley & Sons, 2003.
- [141]. **Kemna, Erwin, et al.** «Novel urine hepcidin assay by mass spectrometry». *Blood* 106.9 (2005): 3268-3270.

- [142]. **Zoller, Heinz, and Wolfgang Vogel.** «Iron supplementation in athletes—first do no harm». *Nutrition* 20.7 (2004): 615-619.
- [143]. **Roecker, L., et al.** «Iron-regulatory protein hepcidin is increased in female athletes after a marathon». *European journal of applied physiology* 95.5 (2005): 569-571.
- [144]. **Weiss, Guenter, and Lawrence T. Goodnough.** «Anemia of chronic disease». *New England Journal of Medicine* 352.10 (2005): 1011-1023.
- [145]. **Nicolas, Gaël, et al.** «The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation». *Journal of Clinical Investigation* 110.7 (2002): 1037-1044.
- [146]. **Lee, P., Peng, H., Gelbart, T., and Beutler, E.** «The IL-6- and lipopolysaccharide-induced transcription of hepcidin in HFE-, transferrin receptor 2-, and beta 2-microglobulin-deficient hepatocytes». *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. 101(25): p. 9263-5.
- [147]. **Frazer, David M., et al.** «Increased hepcidin expression and hypoferraemia associated with an acute phase response are not affected by inactivation of HFE». *British journal of haematology* 126.3 (2004): 434-436.
- [148]. **Lin, Lan, Y. Paul Goldberg, and Tomas Ganz.** «Competitive regulation of hepcidin mRNA by soluble and cell-associated hemojuvelin». *Blood* 106.8 (2005): 2884-2889.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*





جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

والله بالشر العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاو مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحصى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



استقلاب الحديد، ومشاركة

الهيبسيدين في أمراضه

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية
من طرفه

السيد : موسى خيهي

المزاد في 20 ابريل 1986 بكلميم

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية : استقلاب الحديد ، الهيبسيدين، الأصبغة الدموية ، فقر الدم .

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد : ميمون زهدي

أستاذ في علم الاحياء الدقيقة

مشرف

السيدة : سعيدة طلال

أستاذة في علم الكيمياء الإحيائية

أعضاء

السيدة : سكيئة الحمزاوي

أستاذة في علم الاحياء الدقيقة

السيدة : نزهة مسعودي

أستاذة مبرزة في علم الدم البيولوجي