

CAHIER DE

Formation

Biologie médicale

N°48

2011

Métabolisme du fer

physiologie
et pathologie



BIOFORMA

FORMATION CONTINUE DES BIOLOGISTES



Chère Consœur, Cher Confrère,

La régulation de la sidérémie concerne, tant en médecine hospitalière qu'en médecine de ville, de plus en plus de patients et représente une dépense de santé très importante.

Un grand nombre de pathologies, maladies hématologiques, anémies inflammatoires, maladies infectieuses, accidents corporels, requièrent des actes précis de mesure de la variation du fer conduisant à des décisions thérapeutiques essentielles.

Ce 48^{ème} Cahier de Biologie, fruit du travail d'une équipe multidisciplinaire de chercheurs et de cliniciens, réunis autour du Professeur Bernard Grandchamp, se propose de vous informer au travers des toutes dernières recherches en la matière et, en particulier de la validation, comme marqueur nouveau, d'une molécule : l'Hépcidine qui vient s'ajouter aux dosages conventionnels, fer circulant, ferritine, ferritinémie.

Une équipe reconnue et performante s'est constituée pour développer cette mise en forme de la régulation du métabolisme du Fer.

Cette nouvelle approche renforce la collaboration indispensable entre le Clinicien et le Biologiste.

Bioforma poursuit ainsi, malgré les incertitudes pour son avenir, son engagement au service de la Formation Continue des Biologistes.

Nous vous souhaitons une bonne lecture de ce document et vous adressons nos salutations les plus confraternelles.

Adrien BEDOSSA
Président

86 rue du Cherche-Midi
75006 Paris

Tél. 01.56.54.39.39

Fax : 01.56.54.39.30

site internet : www.bioforma.net

E-mail : bioforma@wanadoo.fr

Association régie par la loi de 1901

siret : 391 155 744 00025

code APE : 8040

Métabolisme du fer

physiologie et pathologie

Ouvrage réalisé sous la direction de Bernard Grandchamp

PRÉFACE

Le fer est un élément indispensable à la vie cellulaire, mais également potentiellement toxique. Le métabolisme du fer est caractérisé par une homéostasie finement régulée, au niveau de l'absorption intestinale et du recyclage du fer au sein de l'organisme. Au cours des quinze dernières années, des avancées considérables se sont produites dans la connaissance du métabolisme du fer grâce à l'étude d'une part, de modèles animaux allant de la levure à la souris et d'autre part, de maladies génétiques humaines.

Les gènes codant pour différentes protéines impliquées dans les transports à travers les membranes biologiques plasmiques et intracellulaires ont été identifiés (DMT1, ferroportine, mitoferrine) ainsi que les oxydoréductases (céruloplasmine, héphaestine, Dcytb, Steap3) qui assurent les modifications d'état du fer préalables à son transport. Des systèmes de régulation des mouvements du fer et de son stockage intracellulaire ont été mis à jour.

1 - au niveau cellulaire avec le système IRP/IRE (iron regulatory protein/iron responsive élément) qui permet de moduler l'entrée cellulaire, le stockage et l'export du fer en fonction de sa concentration intracellulaire.

2 - au niveau de l'organisme, qu'il s'agisse de l'absorption intestinale ou du recyclage macrophagique du fer héminique, avec la découverte d'un peptide sécrété par le foie et jouant un rôle majeur sur l'homéostasie du fer : l'hepcidine. De nombreuses molécules qui assurent la régulation de l'expression de l'hepcidine en réponse à différents stimuli, ont également été identifiés (BMP6, hémopuvéline, récepteur 2 de la transferrine, HFE, HIF) et leur organisation en réseaux fonctionnels commence à être élucidée.

Ces découvertes permettent de mieux comprendre comment les différents stimuli physiologiques ou pathologiques (hypoxie, stimulation de l'érythropoïèse, carence en fer, inflammation) modulent les grandes étapes du métabolisme du fer que sont l'absorption intestinale, le stockage intracellulaire, la mobilisation à partir des réserves, le recyclage macrophagique du fer héminique.

En pathologie humaine, les bases moléculaires de nombreuses maladies génétiques monogéniques entraînant des perturbations majeures du métabolisme du fer ont été identifiées : hémochromatoses héréditaires, anémies sidéroblastiques, acéruloplasminémie, anémies génétiques ferriprives...). En dehors des formes les plus communes d'hémochromatose génétique liée à HFE, il s'agit de maladies très rares mais dont la connaissance a contribué de façon significative à mieux comprendre certaines pathologies fréquentes comme, par exemple, l'anémie des maladies inflammatoires chroniques, les surcharges liées aux anémies hémolytiques, l'anémie de l'insuffisance rénale...

Par ailleurs, le rôle du fer dans des maladies communes de différentes natures : maladies infectieuses, syndrome métabolique, maladies cardiovasculaire a fait l'objet d'études épidémiologiques et parfois physiopathologiques avec des résultats complexes qui posent un certain nombre de questions pratiques qu'il s'agisse de traitement ou de prévention des ces maladies. La toxicité du fer a fait l'objet de plusieurs hypothèses physiopathologiques faisant intervenir, en particulier, le rôle du stress oxydant.

Ce cahier comportera une mise au point des connaissances sur le métabolisme du fer, en privilégiant les aspects les plus récemment découverts sans prétendre à l'exhaustivité.

La présentation comprendra trois parties subdivisées pour les deux premières en plusieurs chapitres.

- Dans une première partie seront présentées les découvertes récentes sur le métabolisme du fer : nouveaux acteurs et régulations au niveau cellulaire et au niveau de l'organisme.
- Une seconde partie sera consacrée à des aspects concernant la pathologie humaine qu'il s'agisse de maladies ayant pour origine des anomalies du métabolisme du fer (hémochromatoses primitives, anémies d'origine génétique) ou bien d'états pathologiques constamment ou fréquemment compliqués par des anomalies secondaires du métabolisme du fer : anémie des maladies inflammatoires chroniques, anémie de l'insuffisance rénale, surcharges en fer secondaires.
- Enfin, une troisième partie sera dédiée au bilan martial et à son interprétation dans différents contextes pathologiques (carence, surcharges de différentes nature) ainsi qu'à la place des marqueurs biologiques classiques par rapport à celle d'autres examens complémentaires à la biologie.

Bernard Grandchamp

Liste des auteurs

- **Carole Beaumont**
*Directeur de Recherche à l'INSERM - Directrice de l'équipe de recherche « Fer et synthèse d'hème »
INSERM U773 ; Université Denis Diderot - Site Bichat, 16 rue Henri Huchard, 75018 Paris*

- **Sophie Vaultont**
*Directeur de Recherche à l'INSERM - Directrice de l'équipe « Gènes, nutriments et fer »
INSERM ; CNRS ; Université René Descartes - Institut Cochin, 22 rue Méchain, 75014 Paris*

- **Gaël Nicolas**
*Chargé de Recherche INSERM - Équipe « Gènes, nutriments et fer »
INSERM ; CNRS ; Université René Descartes - Institut Cochin, 22 rue Méchain, 75014 Paris*

- **Yves Deugnier**
*Professeur d'hépatogastroentérologie - Service des maladies du foie, centre de dépistage familial de
l'hémochromatose, centre de référence des surcharges génétiques en fer rares & CIC Inserm 0203
CHU de Rennes - 35033 Rennes*

- **Sigismond Lasocki**
*Professeur d'Anesthésie-Réanimation, Université d'Angers
INSERM U773 ; Université Denis Diderot Paris 7 - Département d'anesthésie-réanimation, CHU Angers
49933 Angers Cedex 9*

- **Bernard Grandchamp**
*Professeur de Génétique, Université Denis Diderot - Chef de service de Biochimie Hormonale
et Génétique - CHU Bichat-Claude Bernard, 46 rue Huchard, 75018 Paris*

- **Robert Girot**
*Professeur d'hématologie, Université Pierre et Marie Curie - Chef de service d'hématologie biologique
Hôpital TENON, 4 rue de la Chine, 75970 Paris Cedex 20*

- **Patricia Aguilar- Martinez**
*Professeur d'hématologie - Laboratoire d'hématologie
CHU de Montpellier - Hôpital Saint Eloi, Avenue Augustin Fliche, 34295 Montpellier Cedex 5*

SOMMAIRE

A - DONNÉES RÉCENTES SUR LE MÉTABOLISME DU FER

CHAPITRE I

Physiologie générale du fer dans l'organisme11

CHAPITRE II

Régulation du métabolisme du fer : les nouveaux acteurs27

B - LE FER EN PATHOLOGIE HUMAINE

CHAPITRE III

Surcharges en fer57

CHAPITRE IV

La surcharge en fer dans les maladies hématologiques75

CHAPITRE V

Métabolisme du fer et anémies inflammatoires91

CHAPITRE VI

Anémies microcytaires rares liées à des anomalies du métabolisme du fer113

CHAPITRE VII

Fer et maladies infectieuses121

C - EXPLORATION BIOLOGIQUE DU MÉTABOLISME DU FER

CHAPITRE VIII

Exploration biologique du métabolisme du fer135

- A -

DONNÉES RÉCENTES SUR LE MÉTABOLISME DU FER



Physiologie générale du fer dans l'organisme

Carole Beaumont

CHAPITRE I

Introduction

Généralités

Du fait de ses propriétés d'oxydo-réduction, le fer est utilisé dans les organismes vivants essentiellement pour assurer le transport d'oxygène, ou catalyser des réactions de transfert d'électrons, de fixation d'azote ou de synthèse d'ADN. Mais c'est un élément paradoxal dans la mesure où, s'il est essentiel à toute forme de vie sur terre (seule quelques rares bactéries peuvent utiliser le manganèse à la place du fer), il est aussi potentiellement dangereux de par sa capacité à catalyser la production des espèces réactives de l'oxygène, en particulier lorsqu'il n'est pas parfaitement pris en charge, ou lorsqu'il est présent en excès.

En solution, le fer peut exister sous deux états d'oxydation, le fer ferreux Fe(II), capable de réagir avec l'oxygène, et le fer ferrique Fe(III), quasiment insoluble. Un atome de fer dans un organisme vivant change continuellement d'état d'oxydo-réduction sous l'action d'oxydases ou de réductases spécifiques.

Rôles et fonctions physiologiques du fer dans le monde du vivant

Dans le métabolisme du fer, on peut considérer qu'il y a deux grandes classes de protéines différentes. D'une part, les protéines qui sont nécessaires au transport du fer dans les fluides biologiques, à son passage à travers les membranes cellulaires, à son stockage dans les tissus sous une forme facilement disponible et non toxique ainsi que les protéines à activité ferroxidases ou ferriréductases, impliquées dans les changements d'état d'oxydoréduction que subit ce métal dans un organisme vivant. Ces protéines, dont la plupart ont été découvertes au cours de ces dix dernières années, seront présentées dans leur contexte dans les paragraphes suivants. D'autre part, dans l'organisme, de nombreuses protéines utilisent le fer pour leur fonction et ces protéines peuvent être subdivisées suivant le degré de coordination de l'atome de fer dans la molécule, ce qui fait apparaître la grande variété de fonctions auxquelles le fer est associé. Les hémoprotéines (hémoglobine, myoglobine, cytochromes...) représentent une première classe de protéines où le fer est présent sous forme d'hème, lié aux quatre noyaux pyrroles d'une molécule de porphyrine IX. Une deuxième classe de protéines à fer est constituée par les protéines à centre fer-soufre où des atomes de fer sont liés de façon covalente à des atomes de soufre, et ces structures, de composition variable de type [2Fe-2S], [3Fe-4S] ou [4Fe-4S] sont liées à la protéine par l'intermédiaire de résidus cystéine. Dans la troisième classe des protéines, un seul atome de fer, généralement labile, est présent au site actif associé à des acides aminés particuliers (le plus souvent une histidine ou une cystéine), avec une organisation du site de coordination très variable suivant les enzymes. Par exemple, la prolyl hydroxylase PHD qui régule la stabilité du facteur de transcription HIF-1 α en fonction de la teneur en

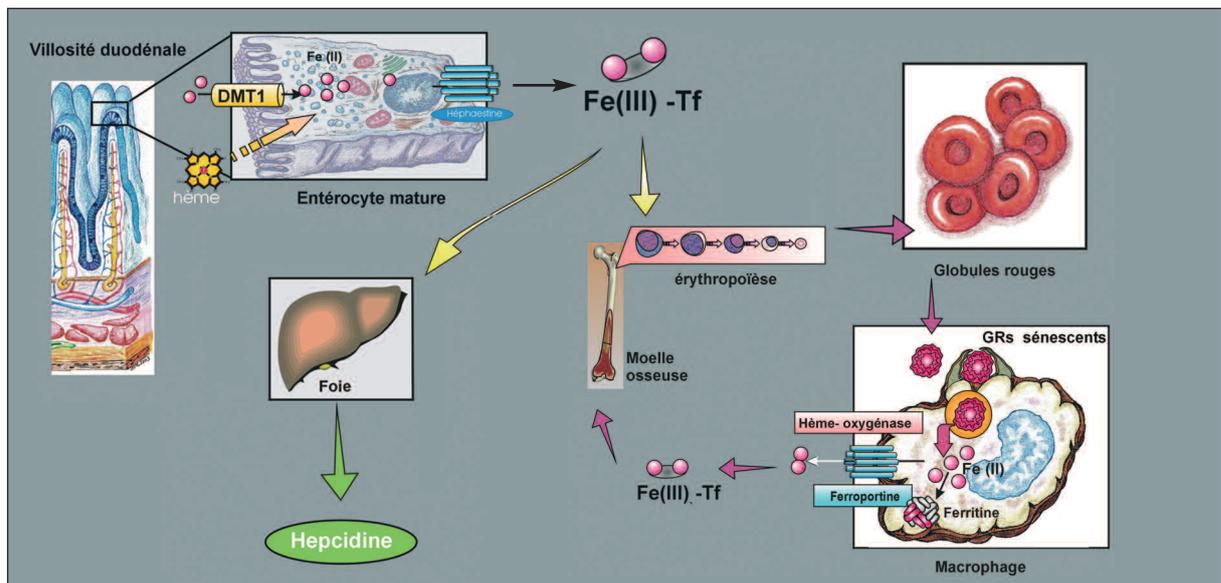
oxygène des tissus appartient à une famille de dioxygénases oxoglutarate-dépendantes qui possèdent un atome de fer à leur site actif, nécessaire à l'activité enzymatique. Cette enzyme est donc inactivée par la carence en fer, ce qui contribue à l'augmentation de la synthèse d'érythropoïétine dans cette condition.

Le fer chez l'homme

La teneur en fer d'un organisme humain d'adulte est d'environ 4-5 g, la majeure partie étant associée à l'hémoglobine des globules rouges circulants (environ 2,5 g). Ce fer de l'hème est continuellement recyclé vers le plasma après la phagocytose et le catabolisme des globules rouges sénescents par les macrophages tissulaires (figure 1). Ce processus permet de recycler approximativement 25 à 30 mg de fer par jour, correspondant à la quantité du fer nécessaire pour l'érythropoïèse journalière qui doit produire environ 220 milliards de globules rouges. L'absorption intestinale du fer au niveau du duodénum est de 1-2 mg par jour, ce qui compense les pertes de fer résultant principalement de l'exfoliation des cellules épithéliales, de la desquamation des cellules de la peau et de pertes sanguines mineures. Seule une régulation fine de l'absorption intestinale du fer permet d'éviter la surcharge de fer de l'organisme car il n'existe aucun moyen d'éliminer le fer absorbé en excès. L'absorption de fer peut être considérablement augmentée en cas de carence ou de saignements.

Figure 1 : Le métabolisme du fer : un circuit presque fermé.

Le complexe de fer lié à la transferrine [Fe(III)2-Tf] est véhiculé par le plasma vers la moelle osseuse pour assurer l'érythropoïèse et aussi vers les autres tissus. La phagocytose des globules rouges sénescents par les macrophages, suivie du catabolisme de l'hème par l'hème oxygénase et de l'export du fer par la ferroportine permet de fournir la majorité du fer nécessaire à l'érythropoïèse journalière (environ 20-25 mg de fer). Les pertes en fer sont compensées par l'absorption du fer à partir de l'alimentation par les entérocytes matures au sommet de la villosité duodénale. Ce fer est absorbé sous forme d'hème, ou sous forme inorganique par DMT1, puis transféré au pôle baso-latéral et exporté vers le plasma par la ferroportine. L'absorption intestinale du fer et le recyclage du fer héminique sont contrôlés par l'hepcidine, un peptide circulant synthétisé par le foie et qui joue le rôle de « store regulator » et de « erythroid regulator »



Transport et stockage du fer

Le fer plasmatique

Chez les mammifères, le fer circule dans le plasma lié à la transferrine, une protéine abondante synthétisée et sécrétée par le foie. La transferrine est une protéine bi-lobée, chaque lobe ayant la capacité de fixer un atome de fer ferrique avec une haute affinité. Cette fixation nécessite la présence d'un ion carbonate ou bicarbonate. De nombreux tissus, et en particulier les proérythroblastes de la moelle osseuse et les cellules qui se divisent rapidement, expriment des récepteurs à la transferrine (RTf) spécifiques, permettant d'acquérir le fer à partir du plasma. Seule la transferrine di-ferrique peut se fixer sur le récepteur avec une haute affinité, la transferrine monoferrique n'étant que faiblement reconnue et l'apotransferrine ne se fixant sur le récepteur qu'au pH acide de l'endosome. Dans les conditions normales, la saturation de la transferrine est de l'ordre de 30%. La saturation de la transferrine est déterminée par l'absorption intestinale du fer, par le recyclage du fer héminique par les macrophages et par l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse. Le degré de saturation de la transferrine joue un rôle important dans le contrôle de la synthèse d'hépcidine par la voie HFE-TfR2 (voir chapitre 2).

Lorsque la capacité de fixation de la transferrine est saturée, du fer peut apparaître dans le sérum sous forme libre, non lié à la transferrine. Ce fer pénètre facilement dans les cellules, particulièrement dans le foie et dans le cœur, par diffusion passive facilitée ou par un système de transport encore non identifié, et peut contribuer à la survenue d'une surcharge tissulaire et être à l'origine de dommages cellulaires importants.

Les réserves en fer tissulaires

Le fer des réserves dans les cellules est associé à la ferritine, la protéine de stockage permettant de séquestrer rapidement le fer sous une forme facilement disponible, non réactive, et de constituer des réserves à long terme. La ferritine est une macromolécule hétérogène, constituée d'une coquille protéique creuse de diamètre extérieur 12-13 nm et d'un noyau ferrique pouvant contenir jusqu'à 4 000 atomes de fer au sein de la cavité centrale. C'est une protéine très conservée dans le monde du vivant, puisque des formes analogues de ferritine existent dans les bactéries, les champignons, les plantes, les vertébrés et les invertébrés. Seule la levure semble pouvoir se passer de ferritine en stockant le fer dans la vacuole. Chez l'homme, les principales réserves en fer se trouvent dans le foie et dans la rate.

La coquille protéique est un hétéropolymère de 24 sous-unités réalisé par l'assemblage en proportions variables de deux sous-unités différentes appelées H (Heavy) et L (Light), codées par deux gènes distincts. Ces deux sous-unités coopèrent pour stocker le fer, la sous-unité H présentant une activité catalytique ferroxidase capable d'oxyder le Fe (II) en Fe (III) et la sous-unité L favorisant

la formation du noyau d'hydroxy-phosphate ferrique. Plusieurs travaux montrent que la sous-unité H joue un rôle dans les défenses anti-oxydantes de la cellule, de par sa capacité à limiter le fer libre intracellulaire. En effet, de nombreuses études ont montré qu'il existe dans le cytoplasme des cellules un pool de fer faiblement lié à des composés de bas poids moléculaires, facilement chélatable et représentant moins de 5% du fer cellulaire total [1]. Ce pool de fer, appelé Labile Iron Pool (LIP) est probablement sous forme Fe(II) et il est en équilibre entre les différentes sources intracellulaires de fer. Il catalyse la production de forme radicalaire de l'oxygène suivant la réaction de Fenton. Dans les conditions normales, il joue un rôle dans la signalisation cellulaire et dans la régulation post-transcriptionnelle d'un certain nombre de gènes codant pour des protéines de transport et de stockage du fer ([voir paragraphe Homéostasie Intracellulaire](#)). Lorsqu'il est présent en excès, il peut être à l'origine d'un stress oxydatif.

Il existe aussi une forme de ferritine mitochondriale [2]. Il s'agit d'un homopolymère de sous-unités codées par un gène sans intron présent sur le chromosome 5q23.1 chez l'homme. Cette sous-unité présente une séquence d'adressage mitochondriale qui lui assure une localisation exclusivement intra-mitochondriale. Elle possède l'activité ferroxidasique nécessaire à la captation du fer. Elle est principalement exprimée dans les spermatozoïdes, les neurones et les cardiomyocytes. On la trouve aussi dans la mitochondrie des sidéroblastes dans les cas d'anémie sidéroblastique génétique ou acquise.

Ferritine sérique

Bien qu'étant une protéine essentiellement intracellulaire, la ferritine se trouve aussi dans le sérum, à des concentrations comprises entre 20 et 200 µg/L. Une ferritinémie inférieure à 20 µg/L signe une carence en fer, alors qu'une augmentation de la ferritinémie peut résulter de plusieurs causes. La synthèse de ferritine est activée par le fer, et la concentration en ferritine augmente aussi bien dans les cellules que dans le sérum en cas de surcharge en fer. Cependant, la ferritinémie est augmentée aussi en cas d'inflammation, dans le syndrome métabolique, dans la maladie de Still et dans le syndrome héréditaire cataracte-hyperferritinémie [3]. Dans ce cas, une mutation dans le « Iron Responsive Element » de l'ARNm L ferritine entraîne une expression constitutive de ferritine, indépendamment de la teneur en fer tissulaire. Cette observation représente un argument fort pour penser que la ferritine sérique et la ferritine tissulaire sont codées par un même gène. De plus, la ferritine sérique est partiellement glycosylée contrairement à la ferritine tissulaire et elle ne contient quasiment pas de fer. Des travaux récents montrent que la ferritine est sécrétée par la voie du réticulum endoplasmique, l'extrémité N terminale de la sous-unité L ferritine jouant le rôle de signal d'adressage, bien que la séquence ne soit pas canonique [4]. Cette hypothèse est renforcée par l'identification d'individus présentant une mutation Thr30Ile de la séquence codante de la sous-unité L ferritine, associée à une hyperferritinémie sans surcharge en fer et une augmentation de la glycosylation de la ferritine sérique [5].

Fer et érythropoïèse

La production journalière de 200×10^9 globules rouges par jour nécessite environ 20-25 mg de fer. Ce fer provient essentiellement de la dégradation des globules rouges sénescents par les macrophages tissulaires et il est apporté aux précurseurs érythropoïétiques de la moelle osseuse par la transferrine.

La voie d'acquisition du fer

Les proérythroblastes et les érythroblastes immatures de la moelle osseuse expriment à leur surface un très grand nombre de récepteurs à la transferrine (RTfs) qui leur permettent d'acquérir le fer par l'internalisation du complexe fer-transferrine. Ce récepteur est un dimère de deux sous-unités identiques de poids moléculaire 95kDa, liées par deux ponts di-sulfure. Il existe deux formes du récepteur à la transferrine, RTf1 et RTf2, codées par deux gènes différents. RTf1 est exprimé à la surface d'un grand nombre de cellules et sert à la captation du fer alors que RTf2 est exprimé majoritairement dans le foie et ne semble pas jouer un rôle dans l'acquisition du fer mais plutôt dans la signalisation en réponse à l'augmentation de la saturation de la transferrine (voir le paragraphe sur la Régulation de l'hepcidine). De plus, des travaux récents montrent que RTf2 interagit avec le récepteur à l'érythropoïétine dans les érythroblastes et sensibilise l'interaction de l'Epo avec son récepteur [6]. Certaines cellules comme les macrophages tissulaires ou les entérocytes duodénaux, qui ont un rôle particulier dans le métabolisme du fer, possèdent peu de récepteurs à la transferrine. Ce récepteur est très fortement exprimé à la surface des cellules qui se divisent rapidement, en particulier certaines cellules tumorales.

La fixation du complexe constitué par une molécule de Tf associée à deux atomes de fer $[\text{Fe(III)}_2\text{-Tf}]$ sur son récepteur entraîne la formation d'une vésicule d'endocytose et l'internalisation du complexe. La maturation de l'endosome va permettre le recrutement d'une pompe à protons entraînant une acidification progressive qui permet la libération de l'atome de fer de sa liaison à la transferrine (par neutralisation de l'ion bicarbonate), et l'acquisition d'une métallo-réductase de la famille STEAP qui va faciliter la réduction du Fe(III) en Fe(II). Des cellules érythroïdes de souris déficitaires en Steap3 ont un cycle de captation du fer déficitaire, entraînant une anémie microcytaire hypochrome, suggérant que cette réductase est majoritaire dans l'érythrocyte [7]. Le fer Fe(II) est ensuite exporté vers le cytosol par DMT1 (SLC11A2). Ce transporteur qui comporte douze domaines transmembranaires est un co-transporteur du fer ferreux et des protons, intervenant pour transporter le fer d'un micro-environnement de pH acide (endosome, lumière duodénale) vers un environnement de pH neutre (cytosol). Six cas de mutation DMT1 sont actuellement connus chez l'homme, responsables d'anémie microcytaire hypochrome néonatale sévère, illustrant l'importance de ce transporteur dans l'acquisition du fer par les cellules érythroïdes [8]. A 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. Une anomalie de ce processus de recyclage par suite d'une mutation d'une protéine du

complexe de « l'exocyste » est associée chez la souris à une anémie microcytaire hypochrome. On ne connaît pas de chaperon du fer susceptible d'adresser le fer vers la mitochondrie et il a été proposé un modèle de « kiss-and-run » entre l'endosome et la mitochondrie favorisant le passage direct du fer sans transit par le cytosol. Cette hypothèse n'est cependant pas encore formellement démontrée.

L'adressage du fer vers la mitochondrie

Un transporteur de la membrane interne mitochondriale permet ensuite l'entrée du fer dans la matrice mitochondriale. Il s'agit de la mitoferrine 1 (Mfrn1, SLC25a37), une protéine de la famille de « solute carrier proteins », dont il existe un homologue d'expression ubiquitaire Mfrn2. Le poisson zèbre *frascati* avec une mutation dans le gène *Mfrn* présente une anémie microcytaire hypochrome profonde due à un déficit d'acquisition du fer par la mitochondrie [9]. L'extinction simultanée de Mfrn1 et Mfrn2 dans des cellules en culture induit une réduction de la synthèse d'hème de 90 % [10]. De façon intéressante, dans ces conditions, l'assemblage des centres fer-soufre est aussi perturbé, ce qui maintient IRP1 sous forme native avec une forte affinité de liaison aux IRE, réprimant ainsi la synthèse de ferritine (voir paragraphe Homéostasie Intracellulaire).

Le fer intramitochondrial permet ensuite la synthèse d'hème ou l'assemblage des centres fer-soufre. Le contrôle de la répartition du fer entre ces deux voies n'est pas encore connu.

La synthèse d'hème

La biosynthèse de l'hème est particulièrement active dans les précurseurs érythropoïétiques de la moelle osseuse et nécessite la coordination entre la production de la protoporphyrine IX et la disponibilité du fer. Dans les précurseurs érythroïdes de la moelle osseuse, cette coordination est assurée par une régulation post-transcriptionnelle fer-dépendante de la l'acide delta amino-lévulinique synthase de type 2 (ALAS-2), la première enzyme de la chaîne de biosynthèse de l'hème, qui catalyse la condensation d'une glycine et du succinyl-CoA pour former l'acide delta amino-lévulinique (ALA). Cette enzyme est codée par deux gènes différents, ALAS-1, d'expression ubiquitaire, et ALAS-2, présent sur le chromosome X, exprimé uniquement dans les cellules érythrocytaires. Alors que ALAS-1 est sous contrôle négatif par l'hème, la synthèse d'ALAS-2 est étroitement couplée à la disponibilité du fer par une régulation de la traduction de l'ARNm médiée par le système IRE/IRPs (figure 2) [11]. Des mutations du gène ALAS2 sont responsables d'anémie sidéroblastique liée à l'X, qui se caractérise par l'accumulation de fer dans la mitochondrie des érythroblastes, alors appelés sidéroblastes [12]. Des mutations d'un transporteur putatif de glycine, le SLC25A38, peuvent aussi être responsables de forme autosomale récessive d'anémie sidéroblastique [13]. Dans ces situations pathologiques, le fer intramitochondrial pourrait être associé à la ferritine mitochondriale.

La dernière étape de la chaîne de biosynthèse de l'hème est catalysée par la ferrochelatase mitochondriale qui insère l'ion ferreux dans la molécule de protoporphyrine IX pour former l'hème. Dans les conditions de carence en fer, il y a accumulation de Zn-PPIX dans les érythrocytes alors que le déficit en ferrochelatase induit une accumulation de PPIX libre. Après sa synthèse, l'hème est exporté vers le cytosol pour être associé 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.

L'assemblage des centres fer-soufre

En parallèle, le fer est aussi utilisé pour l'assemblage des centres fer-soufre. Ces co-facteurs sont associés aux sites accepteurs des protéines par coordination par les groupements SH des cystéines. Les protéines à centre fer-soufre sont impliquées dans les transports d'électrons et elles sont présentes dans la mitochondrie, le cytosol et le noyau. La chaîne d'assemblage est très complexe et si elle est bien connue chez les bactéries et la levure, les différentes étapes ne sont pas encore parfaitement caractérisées chez les mammifères [14]. La machinerie de biosynthèse chez les eucaryotes comprend la machinerie d'assemblage dans la mitochondrie, un système d'export d'une partie des constituants des ces centres fer-soufre et une machinerie d'assemblage cytosolique.

La frataxine pourrait jouer un rôle de chaperon du fer dans cette chaîne d'assemblage. Un défaut d'expression de la frataxine est responsable de l'ataxie de Friedreich, une maladie autosomique récessive s'accompagnant d'une ataxie progressive et d'une cardiomyopathie. L'analyse histologique ou biochimique de biopsies cardiaques de malades atteints d'ataxie de Friedreich a montré l'existence d'accumulation intramitochondriale de fer et d'un déficit des enzymes mitochondriales à noyau [Fe-S].

L'export de constituants des centres fer-soufre vers le cytosol pour être associé à IRP1 ou à d'autres protéines accepteuses pourrait être médié par ABC-B7. De rares mutations ABC-B7 ont été décrites, responsables d'anémie sidéroblastique avec ataxie. Ces anémies se caractérisent par des dépôts anormaux de fer dans la mitochondrie des érythroblastes.

Erythrophagocytose et recyclage du fer héminique

A la fin de leur durée de vie, qui est d'environ 120 jours chez l'homme, les globules rouges sénescents sont phagocytés par les macrophages tissulaires par un processus appelé érythrophagocytose, processus fondamental dans l'homéostasie du fer. En effet, suite au catabolisme de l'hème, le fer est recyclé vers le plasma, constituant ainsi les apports journaliers nécessaires à l'érythropoïèse (figure 1).

Au cours de leur circulation dans l'organisme, les globules rouges matures accumulent des modifications biochimiques au niveau de la membrane. Ces globules rouges sénescents sont ensuite

identifiés par les macrophages de la rate, de la moelle osseuse et dans une moindre mesure, par les cellules de Küpffer. Après phagocytose du globule rouge, les constituants sont détruits dans le phagosome [15]. L'hème est ensuite catabolisé par un complexe enzymatique ancré dans la membrane du réticulum endoplasmique et constitué d'une NADPH-cytochrome c réductase, de l'hème oxygénase et de la biliverdine réductase. Cette réaction libère du CO, du fer et de la bilirubine.

La majorité du fer ainsi libéré va être exporté vers le plasma par la ferroportine (SLC40A1), le seul exporteur du fer chez les mammifères. L'inactivation conditionnelle du gène de la ferroportine chez la souris induit une anémie par carence en fer « fonctionnel » par suite d'une rétention du fer dans les macrophages [16]. La quantité de fer exporté est contrôlée par le niveau d'expression de la ferroportine à la membrane, le fer en excès étant stocké dans la ferritine. La transcription de la ferroportine est stimulée par l'érythrophagocytose et par l'hème, la traduction de l'ARNm est stimulée par le fer libéré du catabolisme de l'hème, via le système IRE/IRP, et enfin la stabilité de la protéine est contrôlée de façon systémique par l'hepcidine plasmatique (voir chapitre 2). La ferroportine est un exporteur du Fe(II) et celui-ci doit ensuite être oxydé avant d'être pris en charge par la transferrine. Cette oxydation est catalysée par la céruloplasmine, une ferroxidase plasmatique synthétisée par le foie, dont l'activité enzymatique est cuivre-dépendante. En l'absence de céruloplasmine, le Fe(II) reste associé à la ferroportine entraînant sa dégradation par un mécanisme oxydatif, et une accumulation du fer intracellulaire [17]. Ce mécanisme permet d'expliquer l'origine des surcharges en fer associées aux acéruplasminémies héréditaires. Il est probable que la céruloplasmine est aussi impliquée dans les échanges de fer entre plusieurs tissus, dans la mesure où cette pathologie s'accompagne d'un diabète, d'une dégénérescence rétinienne et de symptômes neurologiques. Le Fe(III) est ensuite fixé par la transferrine. Ce mécanisme permet de recycler journalièrement environ 20-25 mg de fer, correspondant aux besoins de la moelle osseuse pour l'érythropoïèse.

L'absorption intestinale du fer

L'absorption intestinale de fer est assurée par les enterocytes matures présents au sommet des villosités duodénales (figure 1). Le fer est absorbé au pôle apical à partir du fer contenu dans les aliments puis transféré au pôle baso-latéral de l'entérocyte et exporté vers le plasma. Alors qu'un régime alimentaire européen normal contient environ 13-18 mg de fer, sous forme de fer inorganique ou de fer organique lié à l'hème, seul 1-2 mg seront absorbés. Le fer inorganique présent principalement sous forme de fer ferrique Fe(III) est faiblement assimilable alors que le fer héminique présent en particulier dans les viandes rouges, est beaucoup mieux absorbé que le fer non héminique. Le contrôle de l'absorption intestinale du fer dépend de la biodisponibilité et de la quantité du fer dans l'alimentation, de régulations transcriptionnelles et post-transcriptionnelles des gènes de l'entérocyte impliqués dans la captation et l'export du fer et enfin de régulations systémiques [18].

Absorption au pôle apical de l'entérocyte

La première étape de l'absorption du fer non héminique consiste en la réduction de fer ferrique Fe(III) à l'état de fer ferreux Fe(II) par des réductases membranaires suivi du transport à travers la membrane de l'entérocyte par DMT1. Plusieurs isoformes de DMT1 ont été rapportées, résultant d'un épissage alternatif ou de l'utilisation de deux promoteurs tissu-spécifiques. Une isoforme codée par un ARNm contenant un « iron responsive element » (IRE) est principalement exprimée au pôle apical des entérocytes duodénaux et constitue une voie très spécifique d'acquisition de Fe(II) par ces cellules. Le mécanisme de l'absorption de l'hème est encore mal compris mais peut dépendre du transporteur récemment identifié, HCP1. Après absorption, l'hème est catabolisé par l'hème oxygénase 1 et rejoint le fer absorbé par DMT1.

Transfert du fer vers le plasma au pôle baso-latéral

Le fer absorbé au pôle apical est ensuite soit stocké par la ferritine, auquel cas il sera éliminé par desquamation de l'entérocyte mature, soit transféré au pôle baso-latéral de l'entérocyte et exporté vers le plasma par l'intermédiaire de la ferroportine. Pour être pris en charge par la transferrine plasmatique, le fer doit être réoxydé en Fe(III), étape catalysée par l'héphaestine, une ferroxidase ancrée dans la membrane de l'entérocyte. Cette enzyme présente 50% d'identité avec la céruloplasmine et appartient à la famille oxydases cuivre-dépendante. Une délétion partielle du gène Héphaestine sur le chromosome X a été trouvée chez les souris *sla*, (anémie liée au sexe) qui ont une anémie microcytaire hypochrome due à un déficit dans l'absorption intestinale de fer, et la surcharge de fer des entérocytes duodénaux [19].

Régulation de l'absorption intestinale de fer

Une question centrale dans l'homéostasie de fer est de comprendre comment l'entérocyte duodéal détecte le besoin de fer de l'organisme et module le niveau d'expression des transporteurs, seul moyen de contrôler la quantité de fer absorbée. Pour expliquer ces changements, on a émis l'hypothèse, il y a déjà de nombreuses années, de l'existence dans le plasma de signaux permettant de réguler le niveau d'absorption d'une part en fonction du niveau des réserves en fer tissulaires (« store regulator »), et d'autre part en fonction de l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse (« erythroid regulator ») [20]. On sait maintenant que l'hepcidine, ce petit peptide synthétisé et sécrété par le foie, est un régulateur négatif de l'absorption intestinale et du recyclage du fer par les macrophages et joue ce double rôle régulateur de par la complexité de sa régulation. La synthèse d'hepcidine est stimulée par la surcharge en fer et réprimée par la carence, jouant alors le rôle de « store regulator », mais elle est surtout réprimée par toutes les conditions qui stimulent l'érythropoïèse (saignements, hémolyse, dysérythropoïèses, injections d'Epo), jouant alors le rôle de « erythroid regulator » [21]. (voir chapitre 2).

Fer et rein

Les cellules tubulaires rénales sont particulièrement riches en mitochondries et contiennent de nombreuses hémoprotéines extra mitochondriales. Ces cellules expriment le RTf et peuvent donc acquérir le fer à partir de la circulation générale. Une fraction du complexe fer-transferrine pourrait aussi être filtrée au niveau du glomérule et réabsorbée par les cellules du tubule proximal par le complexe mégaline-cubiline. La mégaline et la cubiline sont deux récepteurs multi-ligand fortement exprimés au pôle apical des cellules du tube proximal dans le rein. Ces deux récepteurs participent à la réabsorption des protéines filtrées par le glomérule, parmi lesquelles l'albumine, l'apolipoprotéine A1 et aussi la transferrine. En effet, il a été montré que la transferrine est un ligand de la cubiline et que l'endocytose de la transferrine par les cellules du tubule proximal passe par le complexe mégaline-cubiline. La transferrine s'accumule fortement dans les urines des chiens qui ont un déficit d'adressage membranaire de cubiline ou de souris recombinantes déficitaires en mégaline. L'endocytose de la transferrine par le complexe mégaline-cubiline aboutit au catabolisme de la transferrine et au passage du fer du lysosome vers le cytoplasme, probablement par l'intermédiaire de DMT1, fortement exprimé dans les endosomes/lysosomes des cellules tubulaires. Cette voie mégaline-cubiline d'acquisition du fer pourrait en fait représenter la principale source de fer pour les cellules tubulaires [22].

Il a été proposé que dans les syndromes néphrotiques, la fuite glomérulaire du complexe fer-transferrine s'accompagne d'une dissociation du fer de sa liaison à la transferrine. Ce fer libre pourrait aggraver les lésions rénales en catalysant la production de formes radicalaires de l'oxygène.

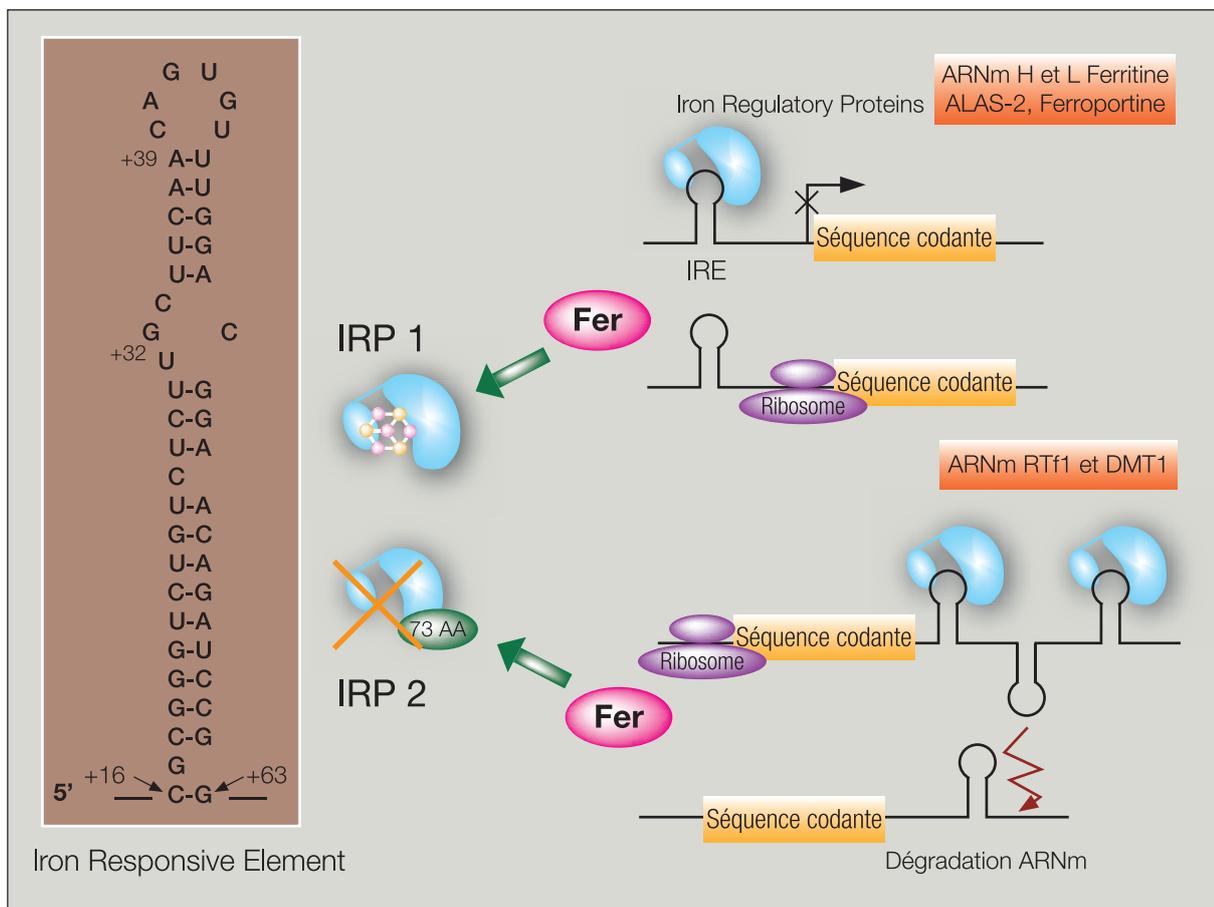
Une autre voie d'apport en fer dans le rein a été mise en évidence récemment, la voie de la lipocaline 2, ou neutrophil-gelatinase-associated lipocalin, (NGAL). Les lipocalines forment une famille de protéines qui lient des petits ligands hydrophobes et interagissent avec des récepteurs membranaires. La lipocaline 2 lie avec une très haute affinité l'entérocheline, un sidérophore bactérien, et joue un rôle essentiel pour limiter la croissance des bactéries communes qui synthétisent l'entérocheline. Cependant, il a été montré que la lipocaline 2 synthétisée par le bourgeon urétral sert de donneur de fer aux cellules mésenchymateuses pour permettre le développement de l'épithélium tubulaire [23]. La lipocaline pourrait alors fixer un complexe de Fe(III) lié à des catéchols, des petits métabolites présents en abondance dans les urines [24]. Par ailleurs, l'expression au niveau ARNm et protéine de la lipocaline 2 est très fortement stimulée dans le rein par l'ischémie-reperfusion et la protéine s'accumule dans les urines. Une étude récente montre que la lipocaline 2 joue un rôle dans la progression des lésions au cours de l'insuffisance rénale, bien que le lien avec son rôle de transporteur du fer ne soit pas encore parfaitement établi [25].

L'homéostasie intracellulaire du fer

L'homéostasie intracellulaire du fer est assurée par la coordination de l'expression des protéines de stockage, de transport et d'utilisation du fer (voir [26] pour revue). Cette régulation essentiellement post-transcriptionnelle dépend de l'interaction entre une protéine cytoplasmique appelée « iron regulatory protein » (IRP) qui joue le rôle de senseur du fer et un motif ARN très conservé, appelé « iron responsive element » (IRE). L'IRE est un motif d'environ 30 nucléotides qui adopte une structure tige-boucle et qui se trouve dans la région 5' non codante des ARNm H et L ferritine, de l'ARNm ferroportine et de l'ARNm ALAS-2 (figure 2).

Figure 2 : Homéostasie intracellulaire du fer : le système IRE-IRP.

Des motifs nucléotidiques appelés IRE (comme celui de l'ARNm de la sous-unité L ferritine représenté ici) sont présents dans la région 5' non codante des ARNm codant pour les sous-unités H et L ferritine, pour la forme érythroïde de l'acide delta-aminolevulinate synthase (ALAS-2) et pour la ferroportine, ainsi que dans la région 3' non codante des ARNm codant pour le récepteur à la transferrine de type 1 (RTf1) et pour le transporteur du fer divalent DMT1. Des protéines senseurs du fer, IRP1 et IRP2, se fixent à l'état natif sur les IRE, et soit répriment la synthèse de la protéine (ARNm ferritine, ferroportine, ALAS-2) ou stabilise l'ARNm (RTf1 et DMT1). L'augmentation du fer intracellulaire entraîne l'acquisition d'un centre [4Fe-4S] par IRP1, qui perd alors son affinité de liaison aux IRE, ou la destruction de IRP2. Il s'en suit l'augmentation rapide de synthèse de ferritine ou la destruction de l'ARNm RTf1.



Un ou plusieurs motifs IRE a aussi été identifié dans la région 3' non codante d'ARNm codant pour des protéines impliquées dans le transport du fer (RTf1, isoforme I de DMT1). La fixation d'une molécule IRP sur un IRE présent dans la partie 5' non-codante réprime la traduction alors que la fixation sur un IRE présent dans la région 3' non codante stabilise l'ARNm. Il existe deux formes moléculaires distinctes de l'IRP, IRP1 et IRP2, qui présentent une forte affinité de liaison aux IRE à l'état natif. L'entrée du fer dans les cellules entraîne un changement de conformation de l'IRP1 par acquisition d'un centre fer-soufre [4Fe-4S] ou l'oxydation de l'IRP2 suivie de sa dégradation par le protéasome. L'acquisition d'un centre fer-soufre par IRP1 lui confère aussi une activité aconitase cytosolique dont la fonction n'est pas connue. L'intégrité de la chaîne d'assemblage des centres fer-soufre dans la mitochondrie est nécessaire à la modulation de l'activité de liaison aux IRE de IRP1. Ainsi, un déficit de GRX5 augmente l'activité de IRP1 et entraîne une anémie chez le poisson zèbre et chez l'homme [12]. L'inactivation simultanée de IRP1 et IRP2 dans les hépatocytes de souris entraîne simultanément une diminution de la captation du fer par répression de TfR1 et DMT1, et une augmentation de l'export et du stockage. Ces effets combinés aboutissent à une carence en fer cytosolique et mitochondriale avec un déficit généralisé des protéines à centre fer-soufre et des protéines hémiques [27]. Ces résultats mettent en évidence les interactions qui existent entre le fer cytosolique et le fer mitochondrial.

Les régulations IRE/IRP-dépendantes jouent aussi un rôle important dans la coordination entre les apports en fer et la synthèse de la protoporphyrine IX dans les précurseurs érythropoïétiques de la moelle osseuse. En effet, lors d'une insuffisance des apports en fer pour l'érythropoïèse, les IRPs activés vont stabiliser l'ARNm du RTf pour augmenter la captation du fer et réprimer la synthèse d'ALAS-2 afin de limiter la production des précurseurs de l'hème, en excès du fer disponible. Cette augmentation de l'expression du RTf dans les érythroblastes suite à l'insuffisance des apports en fer est à l'origine de l'augmentation de la forme soluble du RTf, forme générée par shedding du récepteur lors de la maturation des réticulocytes. Le dosage du sRTf est donc utilisé en clinique pour aider au diagnostic des « iron restricted erythropoiesis », particulièrement dans les situations complexes associant inflammation et carence en fer [28].

Il semblerait que ce soit IRP2 qui joue un rôle prépondérant dans cette régulation de la stabilité de l'ARNm du RTf puisque les souris dépourvues d'IRP1 n'ont pas phénotype érythrocytaire alors que les souris dépourvues d'IRP2 développent une anémie, du fait d'un déficit d'expression du RTf [29]. Cette régulation peut se trouver déborder dans certaines situations pathologiques. Ainsi, des mutations activatrices de l'ALAS-2 ont été découvertes récemment qui sont responsables d'accumulations importantes de protoporphyrine IX dans les érythrocytes et d'une carence en fer relative [30].

Conclusions

En moins de dix ans, notre connaissance du métabolisme du fer a évolué de façon considérable. Elle est passée d'une vision simplifiée basée sur un mode unique d'acquisition du fer par les cellules par l'intermédiaire des récepteurs à la transferrine et d'un mode de stockage lié à la ferritine, à une vision complexe faisant apparaître une spécialisation importante des différents types cellulaires vis à vis de l'acquisition du fer et des régulations coordonnées des différents gènes, aussi bien au niveau cellulaire qu'au niveau de l'organisme entier. De nouvelles maladies génétiques ont été découvertes, liées à des mutations de l'un ou l'autre de ces gènes et le fer s'est avéré jouer un rôle aggravant dans des situations pathologiques diverses, telles que les anémies des états inflammatoires, les infections, les pathologies cardio-vasculaires, le diabète ou l'insuffisance rénale. De nouvelles perspectives thérapeutiques s'ouvrent, notamment autour de l'hepcidine, permettant d'espérer une amélioration des traitements supplétifs en fer, toujours très imparfaits, et des traitements des surcharges en fer, actuellement obtenues par des chélateurs d'un maniement souvent contraignant pour le malade et pas toujours dénués d'effets secondaires.

Références bibliographiques

1. Breuer W., Shvartsman M., Cabantchik ZI. Intracellular labile iron. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008 ; 40 : 350-354.
2. Arosio P., Levi S. Cytosolic and mitochondrial ferritins in the regulation of cellular iron homeostasis and oxidative damage. *Biochim Biophys Acta* ; 1800 : 783-792.
3. Hetet G., Devaux I., Soufir N., Grandchamp B., Beaumont C. Molecular analyses of patients with hyperferritinemia and normal serum iron values reveal both L ferritin IRE and 3 new ferroportin (slc11A3) mutations. *Blood.* 2003 ; 102 : 1904-1910.
4. De Domenico I., Vaughn MB., Paradkar PN., Lo E., Ward DM., Kaplan J. Decoupling ferritin synthesis from free cytosolic iron results in ferritin secretion. *Cell Metab* ; 13 : 57-67.
5. Kannengiesser C., Jouanolle AM., Hetet G., *et al.* A new missense mutation in the L ferritin coding sequence associated with elevated levels of glycosylated ferritin in serum and absence of iron overload. *Haematologica.* 2009 ; 94 : 335-339.
6. Forejtnikova H., Vieillevoye M., Zermati Y., *et al.* Transferrin receptor 2 is a component of the erythropoietin receptor complex and is required for efficient erythropoiesis. *Blood* ; 116 : 5357-5367.
7. Ohgami RS., Campagna DR., McDonald A., Fleming MD. The Steap proteins are metalloreductases. *Blood.* 2006 ; 108 : 1388-1394.
8. Iolascon A., De Falco L., Beaumont C. Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematologica.* 2009 ; 94 : 395-408.

9. Percy MJ., Sanchez M., Swierczek S., *et al.* Is congenital secondary erythrocytosis/polycythemia caused by activating mutations within the HIF-2 alpha iron-responsive element ? *Blood*. 2007 ; 110 : 2776-2777.
10. Paradkar PN., Zumbrennen KB., Paw BH., Ward DM., Kaplan J. Regulation of mitochondrial iron import through differential turnover of mitoferrin 1 and mitoferrin 2. *Mol Cell Biol*. 2009 ; 29 : 1007-1016.
11. Muckenthaler MU., Galy B., Hentze MW. Systemic Iron Homeostasis and the Iron-Responsive Element/Iron-Regulatory Protein (IRE/IRP) Regulatory Network. *Annu Rev Nutr*. 2008.
12. Camaschella C. Hereditary sideroblastic anemias: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Semin Hematol*. 2009 ; 46 : 371-377.
13. Guernsey DL., Jiang H., Campagna DR., *et al.* Mutations in mitochondrial carrier family gene SLC25A38 cause nonsyndromic autosomal recessive congenital sideroblastic anemia. *Nat Genet*. 2009 ; 41 : 651-653.
14. Lill R. Function and biogenesis of iron-sulphur proteins. *Nature*. 2009 ; 460 : 831-838.
15. Beaumont C., Canonne-Hergaux F. [Erythrophagocytosis and recycling of heme iron in normal and pathological conditions ; regulation by hepcidin]. *Transfus Clin Biol*. 2005 ; 12 : 123-130.
16. Donovan A., Lima CA., Pinkus JL., *et al.* The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab*. 2005 ; 1 : 191-200.
17. De Domenico I., Ward DM., di Patti MC., *et al.* Ferroxidase activity is required for the stability of cell surface ferroportin in cells expressing GPI-ceruloplasmin. *Embo J*. 2007 ; 26 : 2823-2831.
18. Frazer DM., Anderson GJ.. Iron imports. I. Intestinal iron absorption and its regulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005 ; 289 : G631-635.
19. Anderson GJ., Frazer DM., McKie AT., Vulpe CD. The ceruloplasmin homolog hephaestin and the control of intestinal iron absorption. *Blood Cells Mol Dis*. 2002 ; 29 : 367-375.
20. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med*. 1999 ; 341 : 1986-1995.
21. Viatte L., Vaulont S. Hepcidin, the iron watcher. *Biochimie*. 2009 ; 91 : 1223-1228.
22. Kozyraki R., Fyfe J., Verroust PJ., *et al.* Megalin-dependent cubilin-mediated endocytosis is a major pathway for the apical uptake of transferrin in polarized epithelia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 ; 98 : 12491-12496.
23. Yang J., Goetz D., Li JY., *et al.* An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell*. 2002 ; 10 : 1045-1056.
24. Bao G., Clifton M., Hoette TM., *et al.* Iron traffics in circulation bound to a siderocalin (Ngal)-catechol complex. *Nat Chem Biol*. 2010 ; 6 : 602-609.
25. Viau A., El Karoui K., Laouari D., *et al.* Lipocalin 2 is essential for chronic kidney disease progression in mice and humans. *J Clin Invest*. 2010 ; 120 : 4065-4076.
26. Muckenthaler MU., Galy B., Hentze MW. Systemic iron homeostasis and the iron-responsive element/iron-regulatory protein (IRE/IRP) regulatory network. *Annu Rev Nutr*. 2008 ; 28 : 197-213.
27. Galy B., Ferring-Appel D., Sauer SW., *et al.* Iron regulatory proteins secure mitochondrial iron sufficiency and function. *Cell Metab*. 2010 ; 12 : 194-201.
28. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis : new diagnostic approaches. *Clin Chem*. 2003 ; 49 : 1573-1578.
29. Galy B., Ferring D., Minana B., *et al.* Altered body iron distribution and microcytosis in mice deficient in iron regulatory protein 2 (IRP2). *Blood*. 2005 ; 106 : 2580-2589.
30. Whatley SD., Ducamp S., Gouya L., *et al.* C-terminal deletions in the ALAS2 gene lead to gain of function and cause X-linked dominant protoporphyria without anemia or iron overload. *Am J Hum Genet*. 2008 ; 83 : 408-414.

Régulation du métabolisme du fer : les nouveaux acteurs

Sophie Vulont et Gaël Nicolas

CHAPITRE II

Deux systèmes de régulation des quantités de fer coexistent dans l'organisme pour le maintien de l'homéostasie du métal :

1. un système qui permet à l'intérieur même d'une cellule d'adapter l'entrée, le stockage et la mobilisation du fer selon les quantités présentes dans la cellule, le système IRE/IRP (Iron Responsive Element/Iron Regulatory Protein, pour revue [1] ([voir chapitre 1](#))).
2. un système de régulation systémique qui permet aux différents organes consommateurs de fer de dialoguer pour maintenir l'homéostasie du métal. Ce système est assuré par une hormone, l'hepcidine, baptisée l'hormone du fer, qui fera l'objet de ce chapitre.

Hepcidine : Généralités [2, 3]

Structure de l'hepcidine

L'hepcidine est un petit peptide de 25 acides aminés (aa) qui a été identifié en 2000, dans le sang [4] et dans l'urine [5], par ses propriétés antimicrobiennes (hepcidine = « hep » pour hépatique, son site de production majeur et « cidine » en raison de son activité bactéricide). Si l'activité bactéricide de l'hepcidine est réelle *in vitro*, ce sont toutefois avec des concentrations et des temps d'action extrêmement élevés comparés à l'activité des β défensines, des peptides antimicrobiens synthétisés par les cellules de paneth dans le tube digestif qui modulent la réponse inflammatoire. De plus, *in vivo*, les taux circulants de l'hormone sont incompatibles avec une telle activité antimicrobienne chez les mammifères. Aujourd'hui, toutes les études convergent pour dire que l'activité du peptide a évolué chez les mammifères et que son rôle principal est le maintien de l'homéostasie du fer.

Il faudra retenir que l'hepcidine est une hormone hyposidéremiante qui régule négativement l'absorption du fer alimentaire au niveau du duodénum et son recyclage des macrophages, permettant ainsi d'éviter tout excès du métal.

L'hepcidine peut être considérée comme le ferostat de l'organisme : cette hormone permet d'ajuster au mieux les niveaux de fer selon les demandes de l'organisme.

L'implication de l'hepcidine dans le métabolisme du fer a été mise en évidence par la recherche de gènes modifiés lors des surcharges en fer expérimentales et par la génération de modèles de souris génétiquement modifiées. Brièvement, ce qui a pu être montré :

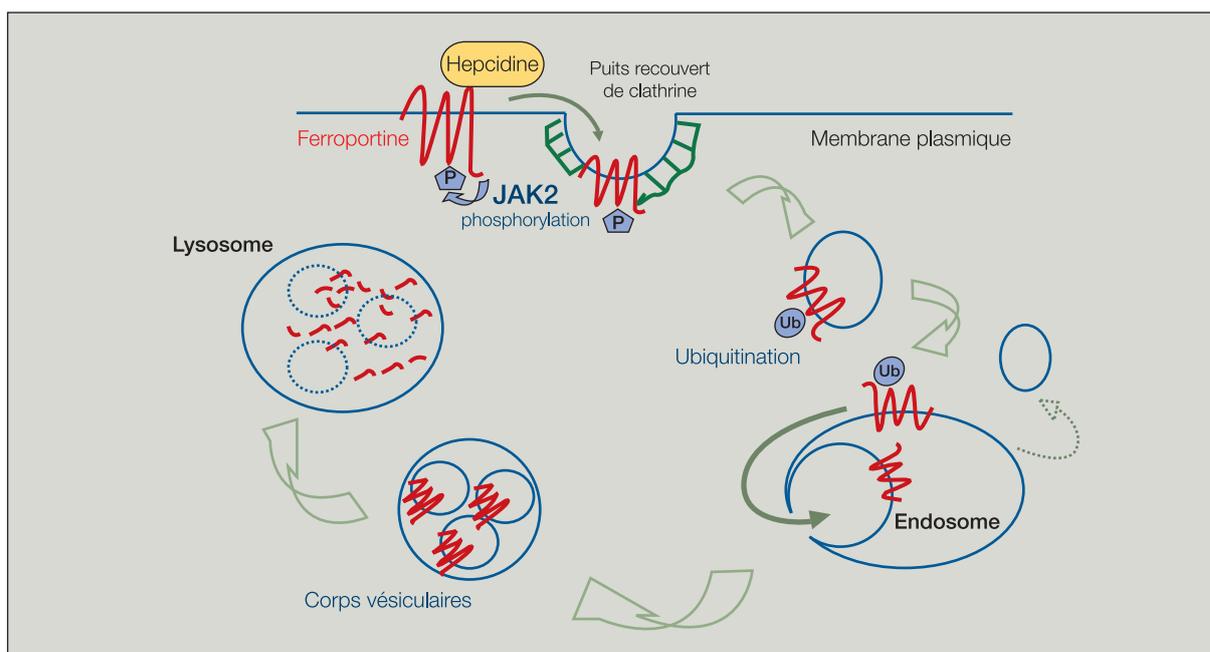
- des souris alimentées par un régime riche en fer présentent des niveaux d'hepcidine élevés [6] : cette augmentation des niveaux d'hepcidine permet de lutter contre les excès du métal. Cette réponse physiologique est perdue, comme nous le verrons ultérieurement, dans les hémochromatoses héréditaires, maladies de surcharge en fer où le fer est hyperabsorbé et recyclé sans régulation
- des souris déficientes en hepcidine (souris knockout, KO [7]) présentent une surcharge en fer mimant un tableau d'hémochromatose, maladie génétique fréquente chez l'adulte : saturation de la transferrine, fer sérique et ferritine élevés, surcharge en fer multiviscérale associée à une absence de fer dans les macrophages du foie et de la rate.

- des souris transgéniques [8, 9] surexprimant l'hepcidine présentent une anémie sévère car l'hormone produite en excès inhibe l'absorption et le recyclage corrects du fer.

Mécanisme moléculaire d'action de l'hepcidine

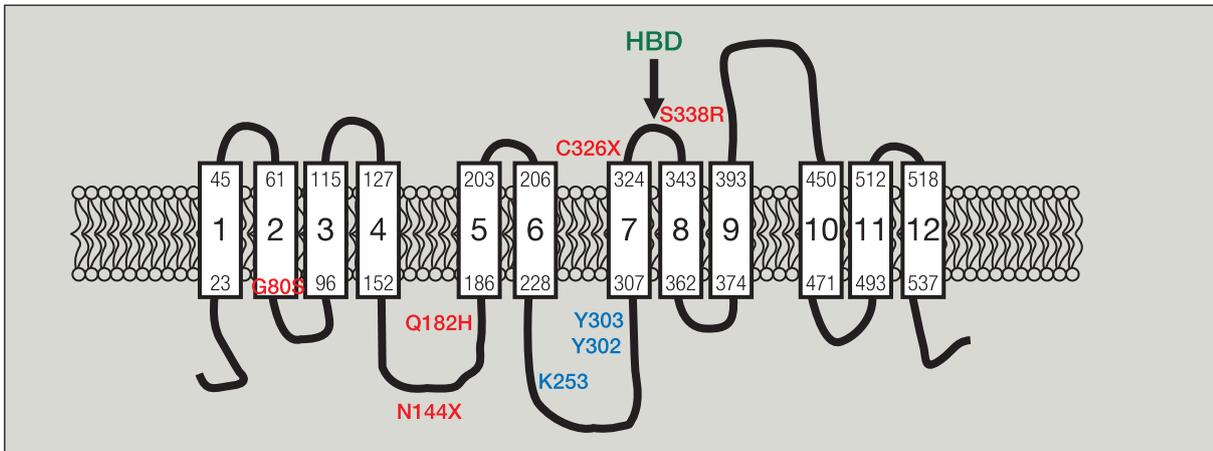
Trois ans après sa découverte, un modèle d'action de l'hormone a été proposé [10]. Pour assurer son activité hyposidérémiant, l'hepcidine inhibe l'export de fer en interagissant à la membrane des cellules duodénales, les entérocytes, et à la surface des macrophages, avec la ferroportine, l'exporteur de fer, entraînant son internalisation puis sa dégradation. La ferroportine constitue donc le récepteur de l'hepcidine. La ferroportine est à ce jour le seul exporteur de fer identifié. Sa structure est complexe et soumise à controverse. La dégradation de la ferroportine induite par l'hepcidine est associée à une diminution de la sortie du fer des cellules ce qui a pour conséquence in vivo de conduire à une hyposidérémie.

Figure 1 : Modèle de dégradation de la ferroportine par l'hepcidine d'après [11].



Ce mécanisme d'action est aujourd'hui bien détaillé (figure 1) : la fixation de l'hepcidine entraîne la phosphorylation (via JAK2) de la ferroportine. Celle-ci est internalisée, déphosphorylée, ubiquitinylée et acheminée au lysosome où elle est dégradée. Le site de fixation exact de l'hepcidine sur la ferroportine, nommé HBD (Hepcidin Binding Domain, voir figure 2) a été mis en évidence. Celui-ci est très conservé au sein des espèces [12]. Une étude récente a montré la présence de la ferroportine dans une structure particulière des membranes appelée radeaux lipidiques et l'importance de cette localisation pour que la dégradation de l'exporteur par l'hepcidine soit opérationnelle par un processus d'endocytose dépendante des rafts et non des clathrines [13].

Figure 2 : Topologie de la ferroportine. Modèle proposé par De Domenico *et al.* [12] à 12 domaines transmembranaires figurant le site de fixation de l'hepcidine (HBD) en vert. Les mutations gain de fonction apparaissent en rouge, les 2 tyrosines phosphorylées par JAK2 en bleu ainsi que la lysine, site potentiel de l'ubiquitination.

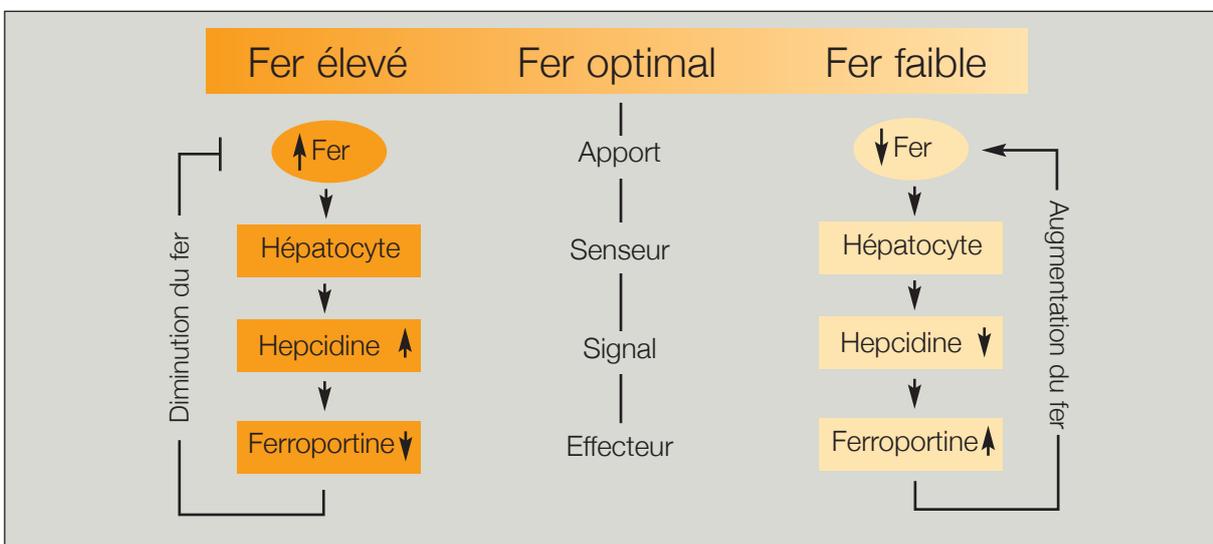


En accord avec ce modèle, dans les situations de déficit en hepcidine, le niveau de ferroportine est augmenté dans le duodénum, conduisant à une hyperabsorption de fer, et dans les macrophages de la rate et du foie, conduisant à un recyclage accru du fer hémérique.

Ainsi, le modèle de régulation de l'homéostasie du fer basé sur le couple hepcidine-ferroportine est-il le suivant (figure 3) :

L'augmentation du fer sérique est détectée par les hépatocytes qui produisent en retour plus d'hepcidine. Celle-ci se fixe à la ferroportine (entérocytes et macrophages) entraînant son internalisation et sa dégradation, séquestrant ainsi le fer et conduisant à une diminution du fer sérique et tissulaire. A l'inverse, une diminution du fer sérique entraîne une diminution de l'hepcidine et donc une augmentation de l'absorption intestinale du fer et son recyclage pour reconstituer des niveaux de fer compatibles avec l'activité érythroïde.

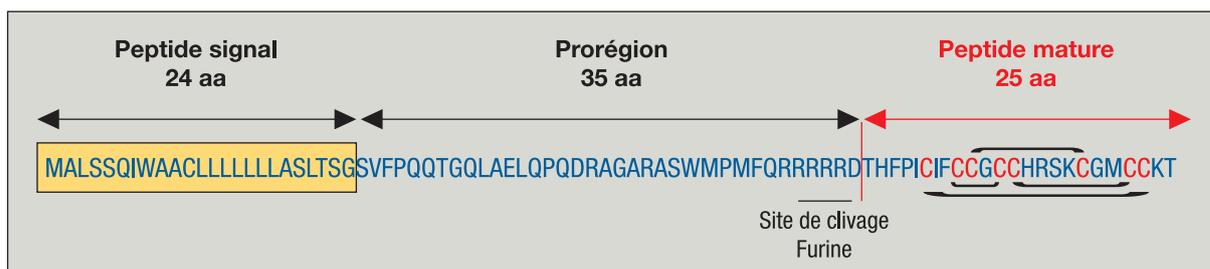
Figure 3 : L'axe de régulation hepcidine/ferroportine.



Structure de l'hepcidine

L'hepcidine est synthétisée sous la forme d'un précurseur, la préprohepcidine contenant : un peptide signal de 24 aa, une prorégion de 35 aa et le peptide mature de 25 aa sécrété dans la circulation après clivage par une proconvertase de type furine (figure 4). Peu de données sont actuellement disponibles sur la régulation de la maturation de l'hepcidine et sa clairance.

Figure 4 : Structure de l'hepcidine. La représentation des ponts disulfures est celle proposée par Jordan *et al.* [14].



Depuis la mise au point des méthodes de dosage du peptide (voir ci-dessous), il est apparu que seul un faible pourcentage de l'hepcidine sérique était, après filtration glomérulaire, éliminé dans les urines.

Il a été proposé que la majorité de l'hepcidine circulante puisse être liée à l'alpha2 macroglobuline, une protéine sérique de très haut poids moléculaire, permettant ainsi d'éviter une clairance trop rapide de ce petit peptide par le rein [15]. Les auteurs suggèrent que 10% de l'hepcidine pourrait être sous forme libre et correspondrait alors à l'hepcidine mesurée dans les urines.

Une autre hypothèse permettant d'expliquer ce faible taux d'hepcidine urinaire est bien sur la réabsorption et la dégradation du peptide au niveau des tubules proximaux, comme c'est le cas pour la majorité des petits peptides.

L'hepcidine comporte huit cystéines (dont la présence est totalement conservée dans l'évolution, en rouge dans la figure 4) engagées dans la formation de quatre ponts disulfures. La structure précise de l'hepcidine ainsi que la connectivité des ponts reste un sujet de controverse [14].

La structure tridimensionnelle du peptide avec ses quatre ponts disulfures et son état d'oxydation rendent difficile la production d'hepcidine biologiquement active en laboratoire. Aujourd'hui seules quelques équipes sont capables de produire de l'hepcidine, par synthèse chimique [16] ou recombinantes [17]. Son activité biologique peut être testée sur des cultures de macrophages : une hepcidine active est capable de dégrader la ferroportine conduisant à la rétention du fer intracellulaire ce qui se traduit par une augmentation de la ferritine.

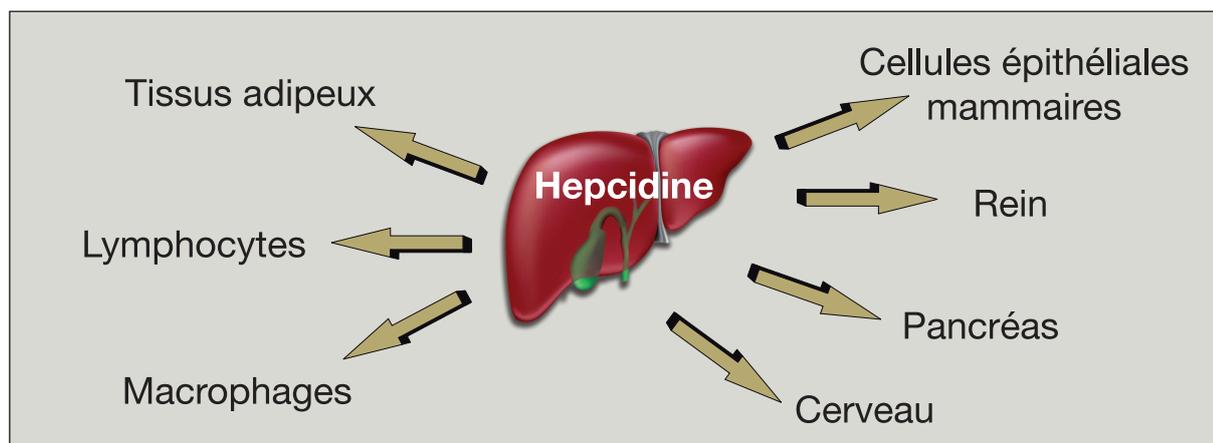
L'étude d'hepcidines synthétiques mutées a permis d'établir que les cinq acides aminés N-terminaux du peptide étaient essentiels pour l'activité de l'hepcidine.

Sites d'expression de l'hepcidine

A l'état basal, l'hepcidine est produite majoritairement dans le foie par les hépatocytes.

Des études récentes ont cependant montré une production extra-hépatique dans le cœur, le rein, les monocytes/macrophages, les adipocytes, les cellules β du pancréas, la rétine, les astrocytes (pour revue [3]). Dans tous ces tissus, le niveau d'expression d'hepcidine (même après induction par différents effecteurs) reste nettement plus faible que dans le foie, suggérant plutôt un rôle local de l'hepcidine, autocrine ou paracrine.

Figure 5 : Sites d'expression de l'hepcidine.



Si des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer le rôle précis de ces différentes sources d'hepcidine et leurs rôles respectifs dans la contribution du pool d'hepcidine circulante, il est clair que l'hepcidine et la ferroportine exprimées localement par les mêmes cellules pourrait fonctionner indépendamment de l'hepcidine systémique [18, 19, 20] et il est tentant d'émettre l'hypothèse selon laquelle toute cellule capable de produire de l'hepcidine et exprimant la ferroportine pourrait acquérir un avantage sélectif de prolifération par rétention du fer intracellulaire.

Cette idée vient d'être superbement illustrée dans le tissu mammaire [21]. La ferroportine et l'hepcidine sont exprimés dans les cellules en culture du tissu mammaire et l'hepcidine régule la ferroportine dans ces cellules. La ferroportine est également présente dans le tissu mammaire normal et nettement diminuée dans les tissus cancéreux, avec le plus haut degré d'anaplasie associé à l'expression la plus faible de ferroportine. La quantité de l'exporteur corrèle parfaitement avec les quantités de fer intracellulaires. A noter que la transfection des cellules du cancer du sein avec de la ferroportine réduit considérablement leur croissance après implantation orthotopique dans le tissu mammaire de souris. Enfin, l'analyse par microarray dans les cancers du sein (800 patientes) montre qu'une faible expression de ferroportine est associée à une réduction significative de la survie des patientes sans métastase. Ainsi, les auteurs mettent en évidence que « ferroportine élevée et hepcidine faible » constituent un facteur de bon pronostic pour le cancer du sein avec une survie à 10 ans de plus de 90%. Ce travail ouvre un nouvel espoir dans le diagnostic, le pronostic et le traitement du cancer du sein.

Méthodes de détection de l'hepcidine [22, 23]

Méthode ELISA

La production d'anticorps dirigés contre l'hepcidine a été rendue difficile pour plusieurs raisons :

- (1) une petite taille (25 aa) associée à une structure compacte limitant le nombre d'épitope antigénique,
- (2) une structure très conservée dans les espèces compliquant la réponse immune dans d'autres espèces,
- et (3), comme évoqué précédemment, la disponibilité limitée de l'antigène lui-même.

Compte tenu de la difficulté de détection de l'hepcidine, plusieurs équipes se sont tournées vers la mesure de la prohepcidine avec notamment un kit de dosage ELISA utilisant un anticorps dirigé contre la prorégion de l'hepcidine. Les résultats obtenus avec ce dosage sont à interpréter avec précaution. En effet, la mesure de la prohepcidine n'est pas associée à la teneur en hepcidine ni aux autres paramètres sanguins de fer, sa relevance physiologique reste donc toujours à démontrer.

Ce n'est que très récemment qu'un test C-ELISA (Competitive-Enzyme-linked immunoassay) utilisant des anticorps contre l'hepcidine 25 aa humaine a été mis au point pour doser l'hepcidine sérique [24]. L'estimation de la concentration sérique d'hepcidine chez des volontaires sains est de 112 ng/ml chez l'homme et 65 ng/ml chez la femme.

D'autres méthodes de dosage en ELISA (avec dernièrement un dosage extrêmement robuste de type sandwich) et plus récemment RIA ont été développées [25-28].

Spectrométrie de masse

Des méthodes de dosage par spectrométrie de masse, en particulier le SELDI-TOF-MS (Surface-Enhanced Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry) ou le LC-MS/MS (chromatographie liquide en tandem avec spectrométrie de masse associée) ont été développées pour s'affranchir de la production d'anticorps. Bien que ces techniques soient attractives, ce sont des méthodes semi-quantitatives qui nécessitent des étalons internes fiables pour une quantification reproductible et qu'il est difficile de développer en routine. Ces techniques ont permis de mettre en évidence, outre le peptide de 25 aa, la présence d'hepcidines plus courtes de 22 et 20 aa, dont la fonction reste à déterminer. Ces peptides sont, en effet, incapables de dégrader la ferroportine in vitro mais possèdent toutefois une activité antimicrobienne. A noter que la forme de 22 aa est augmentée dans l'insuffisance rénale [29].

Hepcidine et immunité innée

L'hepcidine a été découverte sur ses propriétés antimicrobiennes mais comme discuté précédemment cette activité est obtenue avec des concentrations très élevées du peptide qui ne sont pas compatibles avec les concentrations plasmatiques d'hepcidine. De façon intéressante, il a été

montré récemment que les cellules de l'immunité innée, macrophages et monocytes, peuvent, après activation bactérienne, exprimer de façon endogène de l'hepcidine par une voie dépendante soit du récepteur TLR-4, pour les pathogènes comme *Pseudomonas* et *Streptococcus* [30] ou TLR2, pour les infections à *Borrelia burgdorferi* [31]. Il a de plus été proposé que l'hepcidine produite localement dans le phagosome pouvait jouer son rôle antimicrobien contre les mycobactéries [32].

S'il est aujourd'hui admis que chez les mammifères cette activité antimicrobienne du peptide est mineure par rapport à son activité de régulation du métabolisme du fer, cette fonction systémique peut néanmoins contribuer aux défenses de l'immunité innée. En effet, les taux d'hepcidine sont augmentés dans des situations infectieuses et inflammatoires entraînant une séquestration et une diminution du fer sérique, permettant de limiter le fer disponible pour les micro-organismes et les pathogènes. Il est en effet généralement admis que les individus présentant une surcharge en fer sont plus sensibles à certaines infections bactériennes.

Hepcidine et désordres de l'homéostasie du fer

L'hepcidine est responsable de la grande majorité des désordres du métabolisme du fer observés chez l'homme. L'absence ou la diminution de l'hepcidine entraîne une surcharge en fer. A l'inverse son augmentation entraîne une anémie de type réfractaire au fer. Ces maladies seront présentées en détail dans les chapitres 3 et 6 mais il semble important de présenter brièvement la physiopathologie de ces maladies et les protéines impliquées pour permettre une meilleure compréhension du paragraphe suivant sur la régulation de l'hepcidine.

Surcharge en fer primaires et secondaires [33, 34]

On oppose généralement aux surcharges en fer secondaires (apport excessif de fer alimentaire, transfusion, maladies métaboliques, affections chroniques du foie, anémies hémolytiques ou aplasiques), les surcharges primaires ou hémochromatoses. Ces dernières sont des maladies génétiques touchant des protéines impliquées directement dans le métabolisme du fer. La maladie se caractérise par une absorption intestinale anormalement élevée de fer entraînant l'accumulation progressive du métal dans les tissus. Une augmentation de la ferritine sérique et du taux de saturation de la transferrine signent la surcharge.

Hémochromatose héréditaire classique

Depuis la découverte en 1996 du premier gène de l'hémochromatose, le gène HFE, la liste des gènes responsables de cette maladie n'a cessé de croître (HJV, pour hémochromatose juvénile, RTf2, l'homologue hépatique de RTf1, l'hepcidine et la ferroportine) faisant de l'hémochromatose une maladie hétérogène ([voir chapitre 3 : surcharges en fer](#)). Il existe néanmoins un point commun à toutes ces

formes (exceptée l'hémochromatose liée à la ferroportine, cf ci-dessous) : l'activation du gène de l'hepcidine par le fer est anormale et la gravité et la précocité de la maladie sont directement liées aux niveaux d'hepcidine résiduels. Ainsi, dans l'hémochromatose classique liée à des mutations des gènes HFE ou RTf2, l'hepcidine est présente, bien que diminuée, alors que dans l'hémochromatose juvénile (une forme rare d'hémochromatose avec une aggravation rapide et sévère du tableau clinique) liée à des mutations des gènes de l'HJV ou de l'hepcidine, l'hepcidine est indétectable.

Figure 6 : Classification des Hémochromatoses Héritaires.

Hémochromatose	Protéine	Transmission	Hémochromatose
Type I	HFE	Récessive	Classique
Type IIa	Hémojuvénile, HJV	Récessive	Juvénile
Type IIb	Hepcidine, Hamp	Récessive	Juvénile
Type III	Récepteur transferrine type 2, RTf2	Récessive	Classique
Type IVB	Ferroportine	Dominante	Classique
Maladie de la ferroportine	Ferroportine	Dominante	Non hémochromatose

L'hepcidine apparaît donc comme le déterminant commun des hémochromatoses, ce qui met en lumière son rôle crucial dans la physiopathogénie de la maladie.

Notons que dans des modèles murins de la maladie, la surcharge en fer peut être prévenue par un apport d'hepcidine suggérant qu'un traitement préventif de l'hémochromatose héréditaire pourrait être possible [36].

La dernière forme d'hémochromatose est liée à des mutations de la ferroportine (pour revue [37]). Elle se transmet suivant un mode autosomique dominant (alors que les autres formes sont autosomiques récessives) et ses caractéristiques biologiques et histologiques (localisation du fer, saturation de la transferrine, ferritinémie, fer sérique...) apparaissent hétérogènes. Il existe deux classes de mutations de cet exporteur.

Dans le cas des mutations avec perte de fonction, la réduction de la quantité de ferroportine provoque, par indisponibilité du fer, une anémie. La surcharge dans ce cas est essentiellement macrophagique et est la conséquence de l'haploinsuffisance au niveau de ces cellules.

Dans le cas, moins fréquent, des mutations qui ne modifient pas l'activité d'export de fer de la ferroportine, la surcharge en fer s'explique par une résistance à l'hepcidine. La ferroportine est alors exprimée en permanence au niveau de l'entérocyte, le fer est hyperabsorbé et vient s'accumuler en

premier lieu dans l'hépatocyte. Les malades porteurs de ces mutations ont des signes très voisins de ceux des patients souffrant d'hémochromatose liée aux gènes HFE ou RTf2. En particulier, la saturation de la transferrine et la ferritinémie, sont augmentées.

La mesure essentielle du traitement des hémochromatoses classiques est la saignée, qui élimine le fer et « désature » les organes. Les chélateurs de fer sont utilisés dans le cas de surcharges en fer sévères. Le chélateur le plus souvent utilisé est la desferrioxamine (DFO). De nouveaux chélateurs de fer, plus performants et surtout qui peuvent être pris oralement, ont récemment été développés comme l'Exjade et le Ferriprox ([voir chapitre 4](#)).

Surcharge en fer secondaire « acquise » [38, 39, 40]

Hémopathies

Toute érythropoïèse inefficace ou hémolyse anormale (β -thalassémies, dysérythropoïèses congénitales, et anémies sidéroblastiques) entraînent une dérégulation de l'homéostasie du fer avec une éventuelle surcharge en fer secondaire due à une hyperabsorption intestinale du métal qui est très souvent aggravée par le traitement de ces hémopathies, à savoir les transfusions ([voir chapitre 4](#)). L'hepcidine est retrouvée diminuée dans les β -thalassémies intermédiaires [41, 42]. On retrouve des résultats identiques chez les patients non transfusés atteints d'une dysérythropoïèse ou d'une anémie sidéroblastique [43]. Cette diminution de l'hepcidine pourrait expliquer l'hyperabsorption intestinale de fer qui est paradoxale dans la thalassémie au vu de l'hémolyse des globules rouges. Un travail récent vient de conforter cette hypothèse en démontrant que l'augmentation des taux d'hepcidine dans un modèle murin de thalassémie permettait non seulement de diminuer les niveaux de fer tissulaires mais également d'améliorer l'anémie [44].

Hépatopathies chroniques, maladies chroniques du foie

Ethylisme chronique

La consommation excessive d'alcool entraîne dans certains cas une surcharge en fer. Plusieurs équipes ont montré que l'alcool, via l'augmentation des ROS (Reactive Oxygen Species), inhibe directement la sécrétion d'hepcidine au niveau du foie pouvant expliquer l'accumulation du fer. Pour revue [45].

Hépatite chronique virale

Une surcharge en fer est retrouvée dans 35 à 56% des hépatites chroniques (particulièrement l'hépatite C). Chez les patients atteints d'hépatite C (HCV), une diminution du taux d'hepcidine a été retrouvée associée à une surcharge en fer [46, 47, 48]. Il a été proposé que, là encore, c'est l'induction des ROS par le virus C qui serait responsable de la répression de l'expression de l'hepcidine [48].

L'hépatosidérose dysmétabolique

Une surcharge en fer est souvent présente chez les patients atteints de stéatose non alcoolique (NAFLD, Non Alcoholic Fatty Liver Disease). Plus de 30% des patients NAFLD ont une ferritine élevée

et une forme particulière de surcharge en fer associée à un syndrome métabolique appelé hépatosidérose dysmétabolique ou DIOS (Dysmetabolic Iron Overload Syndrome).

L'hépatosidérose dysmétabolique consiste donc en l'association d'une surcharge en fer hépatique (hyperferritinémie) associée à un syndrome métabolique (insulinorésistance et stéatose hépatique) dont l'étiologie est mal connue. La surcharge en fer est mixte, hépatocytaire et macrophagique, et demeure modérée. Pour revue [49].

A ce jour, seules quelques études concernant le rôle physiopathologique de l'hepcidine dans l'hépatosidérose dysmétabolique ont été rapportées. Dans une étude récente, les auteurs montrent que la surcharge en fer hépatique des patients DIOS n'est pas due à un défaut d'absorption intestinale de fer ou à un défaut de production d'hepcidine. Au contraire, chez ces patients, les taux d'hepcidine semblent augmentés (conséquence d'un état inflammatoire de bas grade et de la surcharge en fer) avec pour conséquence une diminution de l'absorption intestinale du fer [50]. L'étiologie de la surcharge en fer reste donc encore inexplicée.

Ces résultats, montrant une diminution de l'absorption du fer lors de l'insulinorésistance et/ou l'obésité, pourraient expliquer l'expression phénotypique moindre de l'hémochromatose HFE chez les patients présentant une surcharge pondérale, comme cela a été constaté chez les femmes homozygotes pour la mutation C282Y sur le gène HFE [51].

Anémies [22, 23, 52]

Anémies ferriprives

Dans l'anémie la plus fréquente, l'anémie ferriprive, on observe une diminution physiologique de l'hepcidine : l'organisme lève le frein de l'absorption intestinale du fer et de son recyclage, permettant une mobilisation efficace du métal pour l'érythropoïèse [24, 53]. Toute situation pathologique où la diminution de l'hepcidine n'est pas opérationnelle conduit à une anémie persistante.

Anémie de l'inflammation ou anémie des maladies chroniques

La situation est toute autre dans l'anémie de l'inflammation (deuxième cause d'anémie acquise) que l'on retrouve associée aux maladies inflammatoires, maladies autoimmunes, dans les syndromes infectieux et les cancers. Plusieurs mécanismes sont impliqués dans cette anémie : une diminution de la durée de vie des globules rouges, une synthèse d'érythropoïétine (EPO) inappropriée, une différenciation érythroblastique anormale et une anomalie du métabolisme du fer par séquestration du fer dans les macrophages et une absorption intestinale du fer réduite. Pour revue [54].

La réponse aiguë à l'inflammation entraîne de nombreux changements pour se protéger de l'infection. Parmi ces changements, l'hepcidine est fortement induite et participe, grâce à son action hyposidérémiant, à lutter contre les infections et inflammations en réduisant le fer libre indispensable aux organismes pathogènes ou aux cellules cancéreuses en prolifération.

L'anémie chronique inflammatoire est une anémie modérée, normochrome et normocytaire au début. Le fer sérique est bas, signant une absorption intestinale de fer non appropriée mais la ferritine est élevée, témoignant de réserves en fer importantes. La rétention du fer dans les macrophages conduit à la diminution de l'activité des IRP (Iron Regulatory Protein) et à l'augmentation de la traduction de la ferritine. L'élévation de la ferritine peut également être liée à une augmentation de la transcription du gène ferritine par les cytokines inflammatoires.

Contrairement aux anémies ferriprives, qui se traitent par apport de fer, l'indication d'un apport de fer à des patients présentant une anémie inflammatoire est à discuter en fonction du contexte ([chapitre 5](#)).

Anémie de l'insuffisance rénale [55, 56]

La majorité des patients qui souffrent d'insuffisance rénale avancée souffrent aussi d'anémie, dont l'origine est complexe et probablement multifactorielle. Outre l'insuffisance relative d'EPO qui est un facteur déterminant, il est aujourd'hui clairement établi que « l'urémie » est un état inflammatoire chronique, et que les patients développent également une anémie due aux mécanismes liés à cet état d'inflammation chronique.

L'EPO a révolutionné le traitement de l'anémie de l'insuffisance rénale. Son efficacité est d'autant plus grande que le fer est en quantité suffisante pour permettre à l'EPO de stimuler de façon optimale l'érythropoïèse. Le traitement par l'EPO est aujourd'hui souvent associé à des injections de fer par voie intraveineuse. Notons que, de façon intéressante, il a été montré que l'injection d'EPO provoque une inhibition de l'expression de l'hepcidine, ce qui pourrait contribuer à l'efficacité du traitement à l'EPO. Dans ces conditions, on peut se demander si les patients résistants à l'EPO ne pourraient pas être ceux chez qui les taux d'hepcidine restent élevés. Des premiers résultats montrent qu'effectivement, il existe des taux élevés d'hepcidine dans l'insuffisance rénale mais le rôle de l'hormone dans l'étiologie de l'anémie de l'insuffisance rénale reste toutefois à préciser. Cette augmentation de l'hepcidine reste un sujet de controverse mais pourrait être dû à l'état inflammatoire des patients, au défaut de filtration glomérulaire ou bien encore au fer qui est administré aux patients en supplément du traitement EPO. L'hepcidine sera peut-être demain l'indicateur de choix à la fois pour déterminer le statut en fer et la résistance à l'EPO.

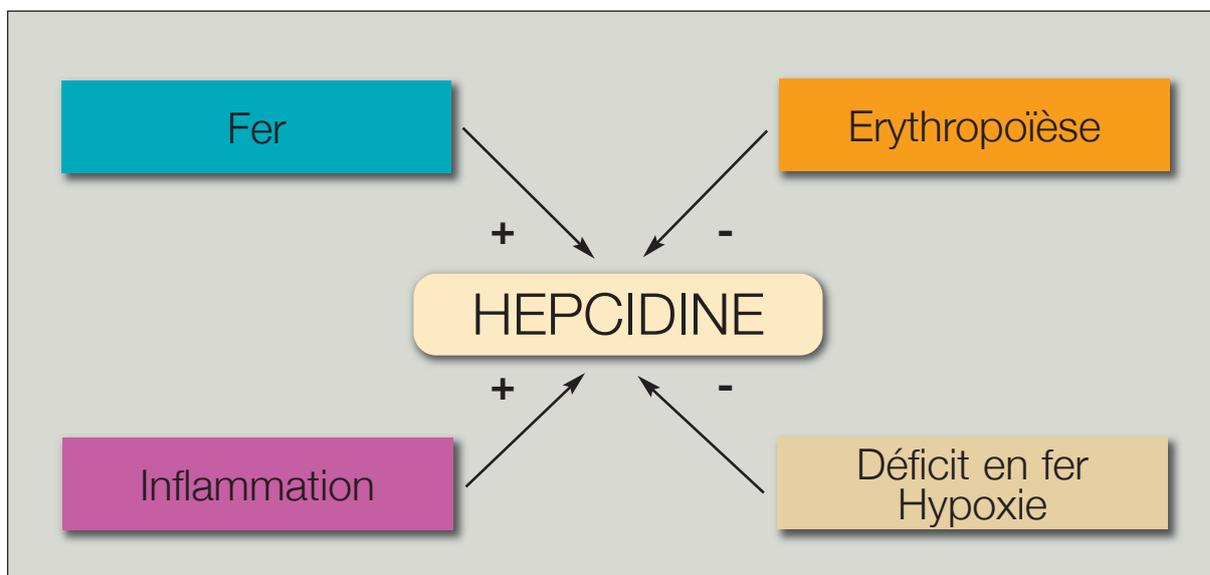
IRIDA (Iron-Refractory Iron Deficiency Anemia)

Le gène TMPRSS6, qui code une sérine protéase appelée matriptase 2 (Mt2), a été identifié récemment. Sa mutation entraîne une forme d'anémie génétique rare due à un déficit en fer. Les patients sont, comme dans le cas des anémies inflammatoires, réfractaires au traitement par supplémentation en fer oral. En effet, l'hepcidine est anormalement élevée chez ces patients, bloquant l'absorption intestinale du fer et son recyclage. TMPRSS6 est donc un régulateur négatif de l'hepcidine (Pour revue [57, 58]).

Régulation de la production d'hepcidine

On peut distinguer 4 principaux axes régulateurs de l'hepcidine : les niveaux de fer, l'érythropoïèse, l'hypoxie, et l'inflammation. Pour revues [2, 3, 59] (figure 7).

Figure 7 : Régulation de l'hepcidine.



Fer

Comme attendu d'une hormone contrôlant les taux de fer dans l'organisme, la production d'hepcidine est contrôlée par le statut en fer de l'organisme. Pour revue [2, 3].

- Un régime riche en fer (ou une injection de fer dextran) entraîne une augmentation de l'hepcidine dans le foie et la circulation.
- À l'inverse, dans le cas d'un régime pauvre en fer, on observe une diminution de l'hepcidine. De même, dans le foie d'animaux en fin de gestation, lorsque les réserves en fer de la mère sont faibles du fait de l'exigence accrue du fœtus pour le métal, on retrouve des taux très diminués d'hepcidine. Cette réponse de l'hepcidine est une réponse physiologique : contrecarrer la surcharge en fer dans les cas d'excès et, inversement, lever le frein de l'absorption et du recyclage du fer quand l'organisme a besoin du métal.

Les mécanismes moléculaires mis en jeu dans la régulation de l'hepcidine par le fer sont complexes et font intervenir les trois protéines membranaires présentes à la surface de l'hépatocyte, HFE, RTf2, HJV qui sont mutées, comme nous l'avons vu, dans l'hémochromatose et dont la mutation est responsable d'un défaut de régulation de l'hepcidine par le fer [60]. A ces trois protéines hémochromatosiques vient s'ajouter la protéine Mt2 qui, comme nous allons le voir, est le déterminant majeur de la quantité d'HJV à la membrane.

La régulation de l'hepcidine par le fer fait intervenir deux niveaux de régulation :

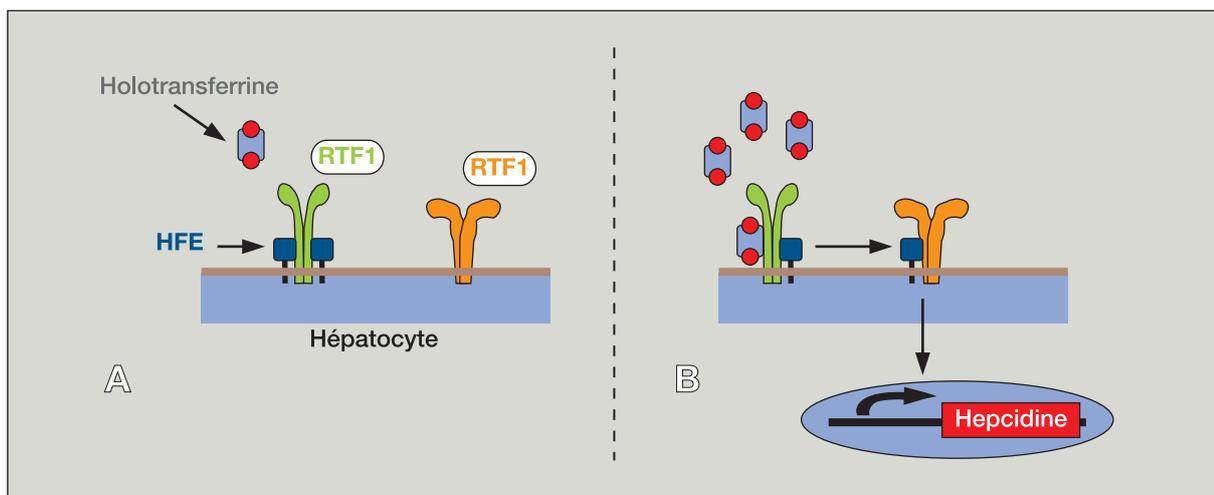
- une régulation par le fer systémique, à savoir la quantité circulante d'holotransferrine, impliquant plusieurs protéines membranaires de réponse au fer,
- une régulation par le fer intracellulaire hépatique qui fait intervenir la cytokine BMP6.

La voie HFE/RTf2/Holotransferrine [61]

La protéine HFE, une protéine membranaire de la famille HLA, peut interagir avec RTf1 et RTf2 et c'est l'holotransferrine qui va orienter la fixation de son partenaire.

En absence de fer, HFE est liée à RTf1 et l'expression de l'hepcidine est à minima. Lorsque la concentration en fer augmente, l'holotransferrine qui a une bonne affinité pour RTf1 déloge HFE (les sites de fixation sont en effet identiques) et HFE ainsi libéré peut alors interagir avec RTf2 (figure 8). Le complexe HFE-RTf2 - Holotransferrine serait alors capable d'induire l'hepcidine [62]. L'importance de HFE et RTf2 dans l'induction de l'hepcidine par l'holotransferrine a été démontrée *in vitro* : dans des cultures d'hépatocytes dépourvues de ces protéines, l'induction par le fer est perdue [63] et confirmée, *in vivo*, grâce à l'étude de modèles transgéniques sophistiqués [64].

Figure 8 : Modèle d'activation de l'hepcidine. D'après [64].



A. Quand les taux de fer sont bas, HFE est séquestré par RTf1, les niveaux d'hepcidine sont bas.

B. En présence de fer, l'holotransferrine déplace HFE qui peut alors interagir avec RTf2 et induire, en présence d'holotransferrine, l'expression de l'hepcidine.

Si aujourd'hui le modèle du complexe HFE/RTf2 est très largement admis, les mécanismes moléculaires de la signalisation induite par ce complexe restent à déterminer. Ils empruntent probablement la voie BMP/HJV/SMAD (voir ci dessous).

En effet, les effets d'induction de l'hepcidine dans des cultures *in vitro* par l'holotransferrine sont perdus en présence d'inhibiteurs de cette voie [65, 66]. Cependant, une signalisation indépendante de cette voie a été récemment proposée [67].

La voie BMP/HJV/SMAD

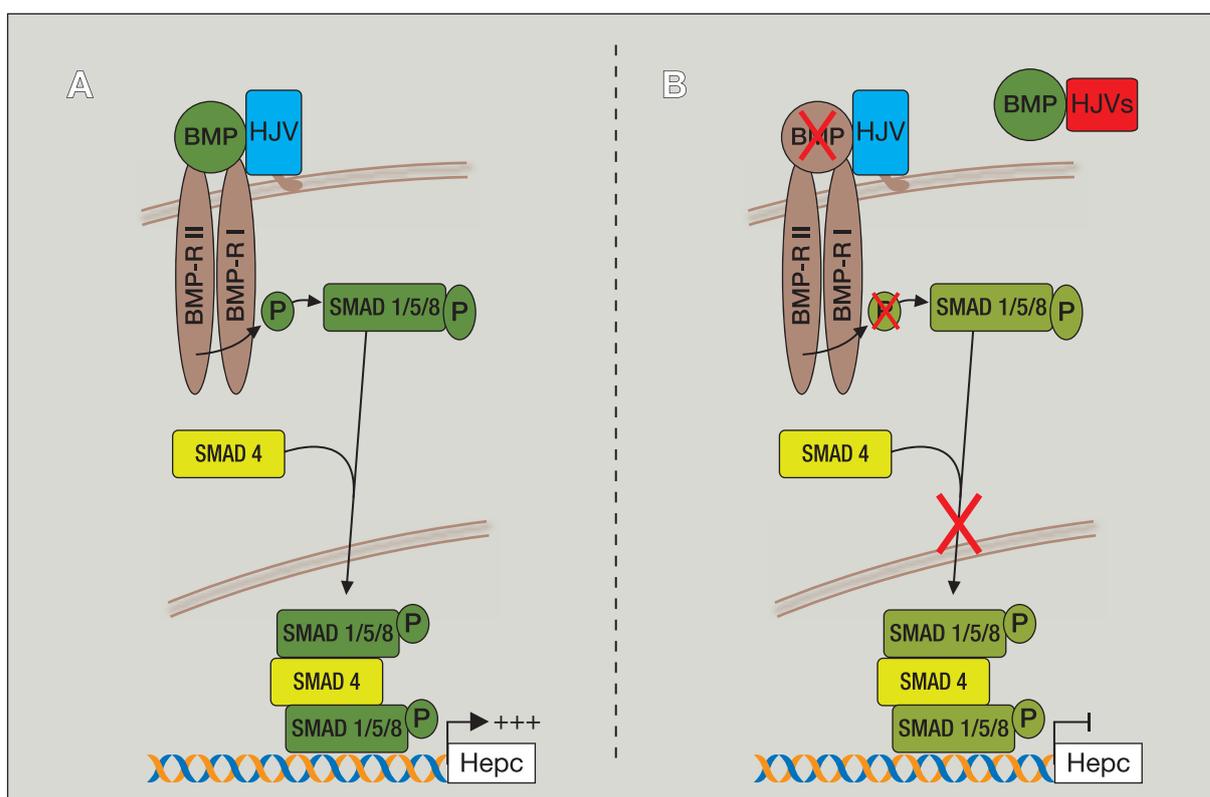
La voie principale d'activation de l'hépcidine est très certainement la voie BMP/HJV [68-70].

Les BMPs (bone morphogenetic protein) sont une sous-famille (comportant environ 20 membres) de cytokines de la famille des TGF- β (Transforming Growth Factor). La signalisation BMP fait intervenir deux récepteurs sérine-thréonine-kinase RI et RII. La fixation des ligands sur les récepteurs induit la phosphorylation de RI par RII. Ce complexe activé phosphoryle les protéines SMAD1/5/8 pour former un hétérotrimère avec SMAD4, le médiateur central des voies BMP/TGF- β . Ce complexe est transloqué dans le noyau où il régule la transcription des gènes.

L'hémojuvéline (HJV) est en fait un co-récepteur des BMPs (figure 9). L'HJV fait partie de la famille des protéines RGM (repulsive guidance molecule) dont il existe 3 membres, RGMa et RGMb, plus spécifique du cerveau, et RGMc, l'HJV,

In vitro, les BMPs sont capables d'induire très fortement l'expression de l'hépcidine, régulation qui est perdue dans des cellules ne possédant pas HJV [69].

Figure 9 : HJV membranaire et soluble : des effets inverses.



Notons qu'il existe une forme circulante d'HJV, l'HJV soluble (HJVs), issue d'une protéolyse d'HJV par la proconvertase furine [71, 72], et dont les quantités sont directement sensibles aux niveaux de fer [71]. HJVs se fixe aux BMPs et constitue ainsi, par titration des ligands BMP, un antagoniste de cette voie de signalisation. HJVs est donc un régulateur négatif de l'hépcidine.

Un dosage de l'HJV vient d'être mis au point [73] et pourrait permettre de mieux comprendre le rôle de cette forme circulante d'HJV dont le rôle *in vivo* reste finalement controversé [74].

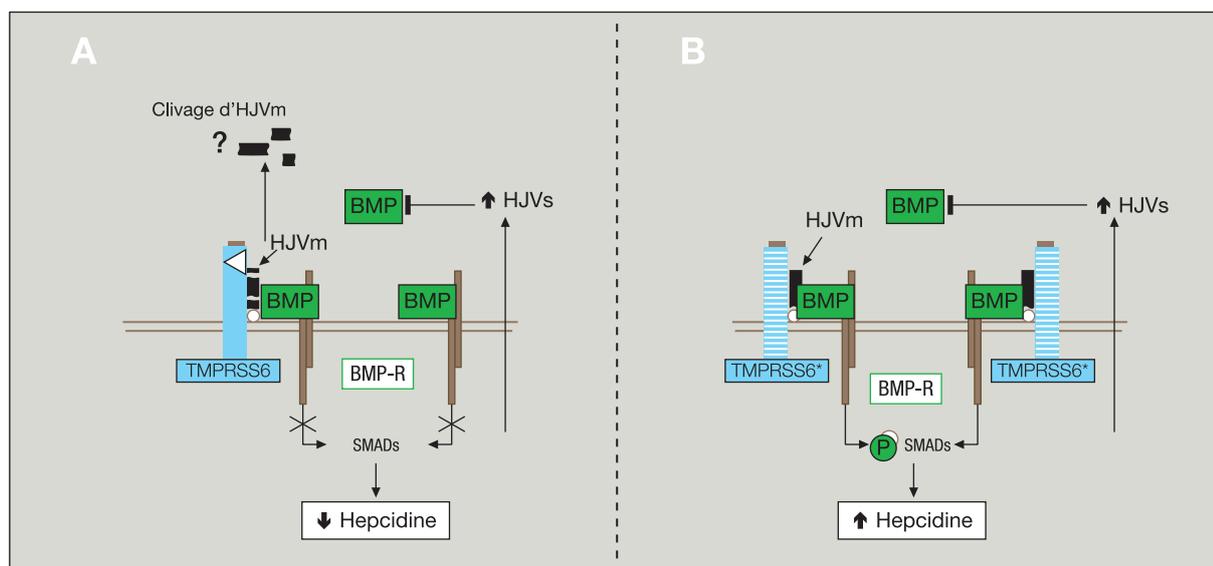
Très récemment BMP6 est apparu comme la cytokine importante *in vivo* pour la régulation de l'expression de l'hepcidine et pour l'homéostasie du fer. L'expression de BMP6 est augmentée quand le fer intrahépatique dépasse un certain seuil et diminuée lorsque le métal est en faible quantité dans le foie [75]. De plus, et surtout, des souris KO BMP6 présentent une surcharge en fer massive, mimant une hémochromatose juvénile telle qu'on peut l'observer dans des modèles KO HJV, SMAD4 et hepcidine. Tout comme dans ces modèles, c'est également un défaut de production d'hepcidine qui est responsable de la surcharge en fer dans les KO BMP6 [76, 77].

Un lien direct est donc aujourd'hui clairement établi entre les taux de fer, BMP6, HJV, les niveaux de phosphorylation de SMAD1/5/8 et l'expression de l'hepcidine. L'addition d'holotransferrine à des cultures d'hépatocytes, de même que l'injection de fer à des souris, provoque l'augmentation hépatique de pSMAD1/5/8.

Un rétrocontrôle négatif de la voie BMP permettant ainsi de réprimer l'hepcidine après son activation, évitant dès lors toute carence en fer par hyperhepcidinémie, a récemment été mis en évidence. La protéine qui médie cette boucle de rétrocontrôle négatif sur la signalisation TGF- β et BMP est SMAD7, une protéine inhibitrice de la famille SMAD. SMAD7 est un puissant répresseur de l'hepcidine [78]. Ainsi, SMAD7 est-elle augmentée de façon parallèle à l'hepcidine dans des hépatocytes murins primaires traités aux BMP et sa surexpression abolit complètement l'activation de l'hepcidine par les BMP. Le rôle de SMAD7 en physiopathologie reste encore à préciser.

Un niveau de régulation supplémentaire pour HJV, impliquant TMPRSS6, la sérine protéase Mt2, a été mis en évidence dernièrement (figure 10).

Figure 10 : Modèle d'action TMPRSS6 sur HJV.



A. TMPRSS6 clive HJV membranaire en petits fragments, bloquant l'effet de HJV sur l'expression de l'hepcidine via la voie SMAD1/5/8.

B. Les mutations de TMPRSS6 conduisent, par stabilisation de HJV, à une augmentation des taux d'hepcidine et sont responsables d'anémies génétiques chez l'homme. D'après [79]

En effet, il semble que cette sérine protéase, spécifique du foie, soit capable, après activation par des signaux qui restent à identifier, de dégrader l'HJV membranaire [79] et de relarguer dans le milieu une forme soluble d'HJVs par clivage après le résidu R288 [72]. Selon les auteurs, la forme soluble issue du clivage par Mt2 est unique (et forme un fragment de 36 kDa) ou bien correspond à un ensemble de petits peptides issus de la dégradation de ce fragment initial. Quoiqu'il en soit, les peptides issus de la protéolyse de l'HJV par Mt2 sont incapables de lier les BMP suggérant donc que l'action de Mt2, au contraire de l'activation de la furine, agit bien en diminuant la quantité de la protéine HJV à la membrane.

Ainsi, en conditions d'érythropoïèse accrue, la diminution des taux d'hepcidine pourrait s'expliquer par l'activation de TMPRSS6, la dégradation de l'HJV membranaire, et une diminution des taux de phosphorylation de SMAD1/5/8 aboutissant à la diminution de l'expression de l'hepcidine.

Les patients porteurs d'une mutation Mt2, ou les souris déficientes en Mt2, présentent donc une anémie par hyperhepcidinémie probablement par activation constitutive de la voie BMP6/HJV.

Si le modèle de la matriptase 2 agissant par dégradation de l'HJV demande confirmation *in vivo*, des expériences de croisement de souris transgéniques, d'une part surchargées en fer, par défaut l'activation de la voie BMP6 (souris déficientes en HJV, ou déficientes en BMP6) avec d'autre part des souris déficientes en fer (souris déficientes en Mt2) vont dans le sens d'une connexion entre Mt2 et la voie BMP/HJV.

En effet, les souris doubles KO, déficientes en Mt2 et HJV [80, 81] ou déficientes en Mt2 et BMP6 [82] perdent le phénotype d'anémie suggérant que l'action de Mt2 nécessite bien une voie BMP6/HJV fonctionnelle. En revanche, si les protéines HFE et Rtf2 ne sont pas des cibles de Mt2, on peut s'attendre dans les souris doubles mutantes (Mt2/HFE et Mt2/Rtf2) à ne pas voir la correction de l'anémie.

De façon intéressante, il a récemment été mis en évidence que chez les souris déficientes en HFE [83, 84], la forme la plus fréquente d'hémochromatose, ainsi que chez les patients HFE [85], les niveaux de BMP6 sont bien augmentés suite à la surcharge en fer mais que toutefois les protéines pSMAD ne sont pas induites suggérant un défaut d'activation de la voie en aval de BMP6. Cependant, un travail récent suggère que le traitement de souris KO HFE par des doses pharmacologiques de BMP6 permettrait de bypasser le défaut d'HFE en augmentant les taux d'hepcidine et de façon concomitante le fer sérique chez ces souris [86]. Notons toutefois que les auteurs décrivent à fortes doses un effet toxique de BMP6 avec le développement anormal de calcifications.

Pour terminer avec la voie HJV/SMAD, il est important de mentionner la présence, dans le complexe membranaire comportant HJV, de la protéine néogénine, un corecepteur des protéines RGM, qui pourrait avoir un rôle dans le métabolisme du fer. Celui est encore controversé [87] mais un KO récent de la protéine néogénine a montré une surcharge massive des organes en fer par déstabilisation d'HJV à la membrane [88], mimant ainsi les KO BMP6 et HJV.

Facteurs érythroïdes [2, 89]

Outre la réponse au fer, l'hepcidine répond aux stimuli produits par le système érythropoïétique et toutes les conditions qui augmentent les besoins en fer répriment l'hepcidine. On comprend aisément cette nécessité de dialogue entre la moelle osseuse et le foie pour la production d'hepcidine, la moelle osseuse étant le plus gros consommateur de fer pour la production d'hémoglobine fonctionnelle. Ainsi, chez des animaux dont le nombre de globules rouges est fortement diminué par des saignées régulières ou un traitement hémolytique (phénylhydrazine), ou lors d'un régime pauvre en fer, la production d'hepcidine est diminuée.

De façon similaire, des animaux traités à l'EPO et des souris en situation d'hypoxie diminuent leur transcription d'hepcidine dans le foie [90-93, 94]. L'activation érythropoïétique est nécessaire à cette répression de l'hepcidine car l'utilisation d'inhibiteurs de l'érythropoïèse, comme la doxorubicine, tout comme l'irradiation des animaux, abolit la répression de l'hepcidine consécutive à des saignées ou une hémolyse ou bien encore le traitement à l'EPO [91, 95].

Le rôle de l'EPO, direct ou indirect (via l'augmentation de l'érythropoïèse et/ou la diminution du fer sérique), sur l'expression de l'hepcidine hépatique reste un sujet de débat. Pour certains auteurs, la présence du récepteur à l'EPO sur les hépatocytes n'a pas pu être détectée [96] suggérant des effets indirects de l'EPO sur la répression de l'hepcidine. D'autres groupes favorisent un effet direct de l'EPO via l'activation du récepteur et l'implication des facteurs de transcription CEBP/α [97].

Des facteurs solubles qui permettraient de faire le lien entre le statut en fer et l'état érythroïde de l'organisme sont activement recherchés. Des études physiologiques ont tenté de montrer le rôle de la transferrine, la ferritine sérique ou de RTf soluble qui sont trouvés dans le sérum et fluctuent en fonction des stocks en fer et de l'activité érythroïde. Dernièrement, une étude menée chez des patients thalassémiques présentant une érythropoïèse inefficace a permis de mettre en évidence deux facteurs, GDF15 (un facteur de croissance qui appartient à la super-famille des TGF-β) et Twisted Gastrulation (TWSG1), comme responsable de l'extinction de l'hepcidine dans des conditions d'érythropoïèse accrue [98, 99]. Si ces candidats sont à retenir, ils n'expliquent certainement pas toute la régulation de l'hepcidine en situation d'érythropoïèse accrue et d'autres pistes sont à suivre.

Hypoxie [100]

Etant donné les liens étroits qui existent entre transport d'oxygène, érythropoïèse et métabolisme du fer, des associations moléculaires entre la physiologie de la réponse hypoxique et le contrôle de la disponibilité en fer sont attendues. Un déficit en fer ou une anémie férriprive induisent une hypo-oxygénation des tissus.

HIF (Hypoxia Inducible Factor) est un facteur de transcription hétérodimérique (HIF-α/HIF-β) dont l'expression est régulée par l'oxygène au niveau protéique. La sous-unité régulatrice HIF-α répond à

l'oxygène tandis que HIF- β (aussi appelée ARNT pour Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator) est constitutivement exprimée.

En conditions normales d'oxygène, la sous-unité régulatrice HIF- α est hydroxylée sur deux prolines par une prolyl-hydroxylase (PHD). Cette hydroxylation induit la dégradation de HIF- α par le protéasome après ubiquitinylation par un complexe E3-ligase comprenant le produit du gène suppresseur de tumeur vHL (von Hippel-Lindau).

En condition d'hypoxie, l'activité des hydroxylases est inhibée, la protéine HIF- α est stabilisée et transloquée dans le noyau où elle se fixe à HIF- β et des cofacteurs, permettant ainsi la régulation transcriptionnelle des gènes cibles. De même, lorsqu'on chélate le fer, ou, dans des situations de déficit en fer, ces hydroxylases, qui nécessitent le fer comme cofacteur, ne sont plus actives, et HIF- α va être actif.

Les protéines cibles de HIF peuvent être classées en trois groupes fonctionnels :

- (1) les protéines qui augmentent localement l'apport d'oxygène aux tissus (inducible nitric oxide synthase, vascular endothelial growth factor...)
- (2) les protéines nécessaires à l'adaptation du métabolisme dans des conditions de faibles pourcentages d'oxygène (les transporteurs au glucose et la plupart des enzymes glycolytiques)
- (3) les protéines participant à l'érythropoïèse et permettant d'augmenter l'apport d'oxygène et de fer dans les tissus (l'érythropoïétine, la transferrine, le récepteur de la transferrine, hème oxygénase-1, la céruloplasmine...).

L'hypoxie et le régime pauvre en fer ont pour effet de réprimer l'hepcidine [101-103]. L'implication directe des facteurs HIF- α dans ce processus [103] ou indirecte [104, 105] via l'augmentation du stress oxydant [106] ou l'augmentation des taux d'EPO, reste à déterminer.

Ainsi, existe-t-il une réponse coordonnée et régulée à l'hypoxie pour l'adaptation du métabolisme du fer : l'activation de HIF va permettre, via l'activation de l'EPO, d'augmenter la production de globules rouges, et, via la diminution de l'hepcidine, de mobiliser efficacement le fer des macrophages et des entérocytes, pour faire face à cette augmentation de l'activité érythropoïétique. A noter qu'une étude vient de montrer que la transcription de Mt2 pouvait être augmentée dans des conditions, comme l'hypoxie, où les facteurs HIF sont stabilisés [107]. Toutefois, il s'agit d'une étude menée *in vitro* qui demande confirmation *in vivo*.

Inflammation [54]

L'inflammation chronique [108], tout comme l'inflammation aiguë (turpentine, adjuvant de Freund, adénovirus ou lipopolysaccharide, LPS [6, 53, 101, 109], conduisent à une augmentation importante des taux d'hepcidine.

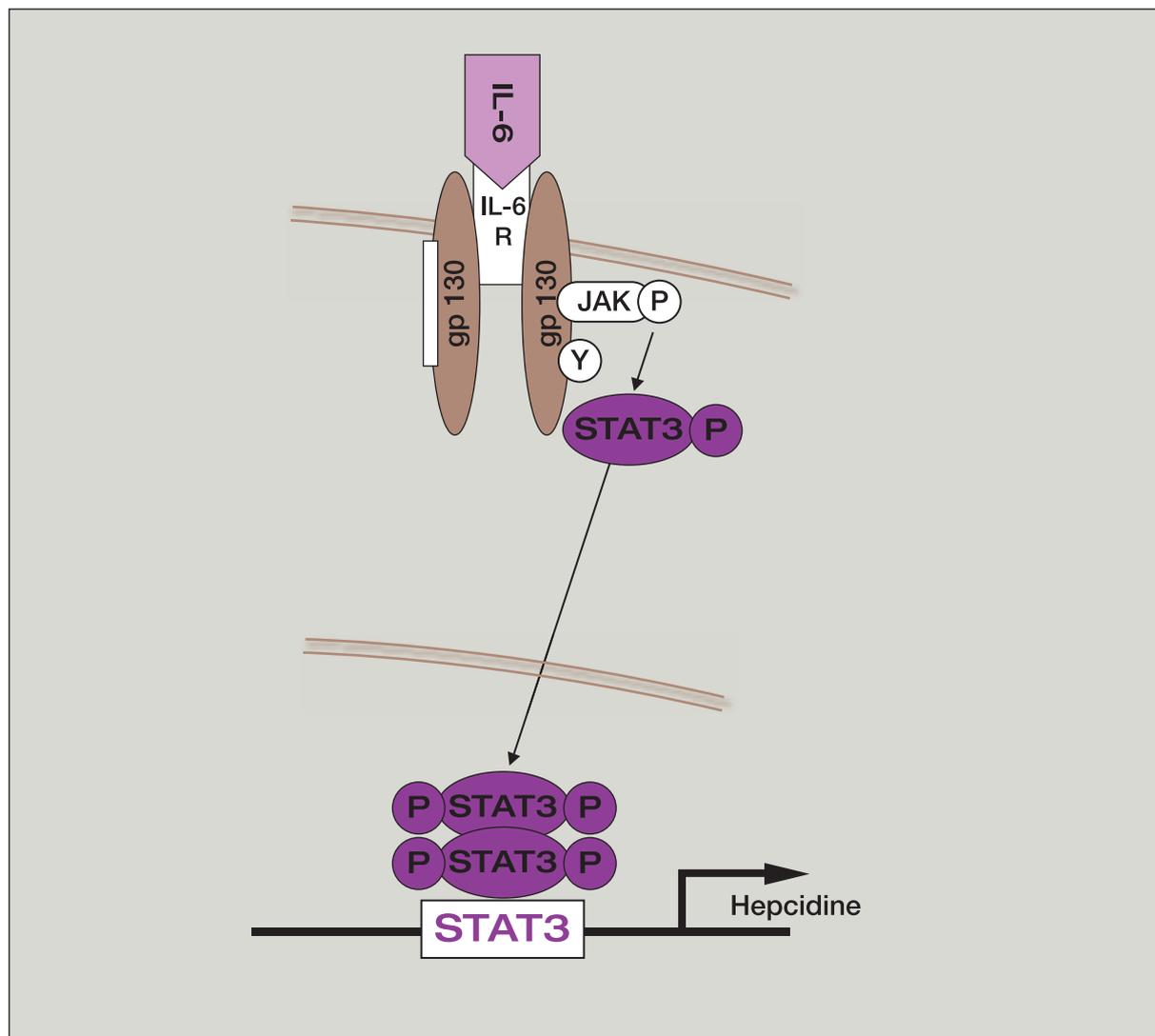
Dans la majorité des cas, la réponse de l'hepcidine est médiée par les cytokines inflammatoires.

L'effet de l'IL6 sur la réponse à l'hepcidine a été extrêmement bien documenté (figure 11) de même que, plus récemment, les effets de l'oncostatine M, une cytokine appartenant également à la famille de l'IL6 [110].

L'IL6, libérée suite à un stimulus inflammatoire, se fixe à un complexe de récepteur α et gp130 (β). Cette interaction entraîne une activation de la voie JAKs (janus kinases) qui phosphoryle les activateurs de transcription STAT et particulièrement STAT3 (signal transducer and activator of transcription3). Après phosphorylation sur une tyrosine, STAT3 est transloqué dans le noyau où il régule la transcription de gènes cibles. Une étude in vivo et en culture primaire d'hépatocytes confirme le rôle de STAT3 dans la régulation de l'expression de l'hepcidine via l'IL6.

Cette augmentation de l'hepcidine par les cytokines inflammatoires est probablement responsable des anomalies du fer observées dans certaines conditions pathologiques (voir chapitre 5).

Figure 11 : La voie JAK/STAT3 dans la régulation de l'hepcidine.



Récemment un autre rôle de l'hepcidine dans la réponse aiguë inflammatoire a été rapporté.

L'hepcidine au niveau du macrophage est capable d'induire des variations transcriptionnelles, via l'activation de JAK2 et la phosphorylation de STAT3, qui modulent la réponse au LPS du macrophage, tant *in vitro* qu'*in vivo*. Cette réponse de type « signalisation » par liaison de l'hepcidine à son récepteur est une réponse anti-inflammatoire (diminution de la production des cytokines IL6 et TNfa) qui permet de diminuer la toxicité et la mortalité induite par des inflammations aiguës induites au LPS ou à la turpentine [111].

Enfin, outre l'activation classique de l'hepcidine par la voie LPS/IL6, Vecchi et coll. ont proposé une voie alternative d'activation de l'hepcidine par ces mêmes agents, la voie du stress du réticulum, via l'activation de facteur de transcription CREBH [112]. A ce jour, l'implication du stress du réticulum dans le métabolisme du fer a été peu étudiée.

En conclusion, la découverte de l'hepcidine apporte un éclairage nouveau sur le métabolisme du fer et sur ses désordres qui touchent des dizaines de millions de personnes.

La mise en évidence de la voie BMP/HJV/SMAD ouvre des pistes thérapeutiques intéressantes et de nombreuses molécules capables d'interférer avec cette voie, et donc indirectement capables de modifier le métabolisme du fer, seront probablement identifiées ces prochaines années. Ainsi récemment, l'héparine a été montrée comme capable de réprimer l'hepcidine, *in vivo*, dans le foie de souris, tout comme *in vitro*, dans des cellules hépatomateuses, par un mécanisme impliquant la séquestration de BMP6 et le blocage de la signalisation SMAD [113]. En outre, chez l'homme, les auteurs montrent une forte réduction de l'hepcidine sérique chez cinq patients traités par l'héparine (traitement utilisé pour prévenir une thrombose veineuse), avec une augmentation concomitante du fer sérique. Ces données montrent donc pour la première fois un rôle méconnu de l'héparine dans la régulation de l'homéostasie du fer.

Dans les situations pathologiques où la production d'hepcidine est faible (hémochromatose classique, thalassémie...), les tissus se chargent progressivement en fer conduisant à leur destruction. Toute thérapeutique visant à augmenter la production d'hepcidine (comme nous l'avons vu dans le cas des thalassémies [44]) ou l'utilisation d'agonistes de la molécule sera certainement bénéfique. A l'inverse, certaines anémies chroniques inflammatoires (infections, rhumatisme, insuffisance rénale, cancer) pourraient s'expliquer par un taux anormalement élevé d'hepcidine. De même, chez les patients souffrant d'IRIDA, des taux inappropriés d'hepcidine ont été rapportés. Dans ces conditions, des antagonistes de l'hepcidine ou des inhibiteurs de sa synthèse devraient trouver leur place dans le traitement de ces anémies inflammatoires, en particulier l'anémie de l'insuffisance rénale. Dans cette lignée, un succès du traitement d'une anémie inflammatoire induite par infection à *Brucellia* par l'utilisation d'anticorps anti-hepcidine a récemment été rapporté [114].

Outre son utilisation en thérapeutique, l'utilisation de l'hepcidine comme marqueur biochimique (de même que la ferroportine comme nous l'avons vu pour le cancer du sein) sera probablement très utile pour le suivi des maladies liées au métabolisme du fer.

Références bibliographiques

1. Muckenthaler MU., Galy B., Hentze MW. Systemic iron homeostasis and the iron-responsive element/iron-regulatory protein (IRE/IRP) regulatory network. *Annu Rev Nutr.* 2008 ; 28 : 197-213.
2. Lee PL., Beutler E. Regulation of hepcidin and iron-overload disease. *Annu Rev Pathol.* 2009 ; 4 : 489-515.
3. Viatte L., Vaulont S. Hepcidin, the iron watcher. *Biochimie.* 2009.
4. Krause A., Neitz S., Magert HJ., *et al.* LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.* 2000 ; 480 : 147-150.
5. Park CH., Valore EV., Waring AJ., Ganz T. Hepcidin : a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem.* 2001 ; 276 : 7806-7810.
6. Pigeon C., Ilyin G., Courselaud B., *et al.* A new mouse liver specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem.* 2001 ; 276 : 7811-7819.
7. Lesbordes-Brion JC., Viatte L., Bennoun M., *et al.* Targeted disruption of the hepcidin 1 gene results in severe hemochromatosis. *Blood.* 2006 ; 108 : 1402-1405.
8. Nicolas G., Bennoun M., Porteu A., *et al.* Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 ; 99 : 4596-4601.
9. Viatte L., Nicolas G., Lou DQ., *et al.* Chronic hepcidin induction causes hyposideremia and alters the pattern of cellular iron accumulation in hemochromatotic mice. *Blood.* 2006 ; 107 : 2952-2958.
10. Nemeth E., Tuttle MS., Powelson J., *et al.* Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* 2004 ; 306 : 2090-2093.
11. De Domenico I., Ward DM., Langelier C., *et al.* The Molecular Mechanism of Hepcidin-mediated Ferroportin Down-Regulation. *Mol Biol Cell.* 2007 ; 18 : 2569-2578.
12. De Domenico I., Nemeth E., Nelson JM., *et al.* The hepcidin-binding site on ferroportin is evolutionarily conserved. *Cell Metab.* 2008 ; 8 : 146-156.
13. Auriac A., Willemetz A., Canonne-Hergaux F. Lipid raft-dependent endocytosis : a new route for hepcidin-mediated regulation of ferroportin in macrophages. *Haematologica.* 2010 ; 95 : 1269-1277.
14. Jordan JB., Poppe L., Haniu M., *et al.* Hepcidin revisited : Disulfide connectivity, dynamics, and structure. *J Biol Chem.* 2009.
15. Peslova G., Petrak J., Kuzelova K., *et al.* Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to alpha-2-macroglobulin in blood. *Blood.* 2009 ; 113 : 6225-6236.
16. Nemeth E., Preza GC., Jung CL., Kaplan J., Waring AJ., Ganz T. The N-terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: structure-function study. *Blood.* 2006 ; 107 : 328-333.
17. Gagliardo B., Faye A., Jaouen M., *et al.* Production of biologically active forms of recombinant hepcidin, the iron-regulatory hormone. *Febs J.* 2008 ; 275 : 3793-3803.
18. Gnana-Prakasam JP., Martin PM., Mysona BA., Roon P., Smith SB. Ganapathy V. Hepcidin expression in mouse retina and its regulation via lipopolysaccharide/Toll-like receptor-4 pathway independent of Hfe. *Biochem J.* 2008 ; 411 : 79-88.

19. Kulaksiz H., Fein E., Redecker P., Stremmel W., Adler G., Cetin Y. Pancreatic beta-cells express hepcidin, an iron-uptake regulatory peptide. *J Endocrinol.* 2008 ; 197 : 241-249.
20. Theurl I., Theurl M., Seifert M., *et al.* Autocrine formation of hepcidin induces iron retention in human monocytes. *Blood.* 2008 ; 111 : 2392-2399.
21. Pinnix ZK., Miller LD., Wang W., *et al.* Ferroportin and iron regulation in breast cancer progression and prognosis. *Sci Transl Med.* 2010 ; 2 : 43ra56.
22. Piperno A., Mariani R., Trombini P., Girelli D. Hepcidin modulation in human diseases : From research to clinic. *World J Gastroenterol.* 2009 ; 15 : 538-551.
23. Kemna EH., Tjalsma H., Willems HL., Swinkels DW. Hepcidin : from discovery to differential diagnosis. *Haematologica.* 2008 ; 93 : 90-97.
24. Ganz T., Olbina G., Girelli D., Nemeth E., Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood.* 2008 ; 112 : 4292-4297.
25. Arnold J., Sangwaiya A., Bhatkal B., Geoghegan F., Busbridge M. Hepcidin and inflammatory bowel disease : dual role in host defence and iron homeostasis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2009.
26. Hoppe M., Lonnerdal B., Hossain B., *et al.* Hepcidin, interleukin-6 and hematological iron markers in males before and after heart surgery. *J Nutr Biochem.* 2009 ; 20 : 11-16.
27. Koliaraki V., Marinou M., Vassilakopoulos TP., *et al.* A novel immunological assay for hepcidin quantification in human serum. *PLoS ONE.* 2009 ; 4 : e4581.
28. Butterfield AM., Luan P., Witcher DR., *et al.* A dual-monoclonal sandwich ELISA specific for hepcidin-25. *Clin Chem.* 2010 ; 56 : 1725-1732.
29. Peters HP., Laarakkers CM., Swinkels DW., Wetzels JF. Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant.* 2010 ; 25 : 848-853.
30. Peyssonnaud C., Zinkernagel AS., Datta V., Lauth X., Johnson RS., Nizet V. TLR4-dependent hepcidin expression by myeloid cells in response to bacterial pathogens. *Blood.* 2006 ; 107 : 3727-3732.
31. Koenig CL., Miller JC., Nelson JM., *et al.* Toll-like receptors mediate induction of hepcidin in mice infected with *Borrelia burgdorferi*. *Blood.* 2009 ; 114 : 1913-1918.
32. Sow FB., Florence WC., Satoskar AR., Schlesinger LS., Zwilling BS., Lafuse WP. Expression and localization of hepcidin in macrophages : a role in host defense against tuberculosis. *J Leukoc Biol.* 2007 ; 82 : 934-945.
33. Franchini M. Hereditary iron overload : update on pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Am J Hematol.* 2006 ; 81 : 202-209.
34. Wallace DF., Subramaniam VN. Non-HFE haemochromatosis. *World J Gastroenterol.* 2007 ; 13 : 4690-4698.
35. Pietrangelo A. Non-HFE hemochromatosis. *Hepatology.* 2004 ; 39 : 21-29.
36. Nicolas G., Viatte L., Lou DQ., *et al.* Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet.* 2003 ; 34 : 97-101.
37. Pietrangelo A. The ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis.* 2004 ; 32 : 131-138.
38. Deugnier Y., Turlin B. Pathology of hepatic iron overload. *World J Gastroenterol.* 2007 ; 13 : 4755-4760.
39. Kohgo Y., Ikuta K., Ohtake T., Torimoto Y., Kato J. Iron overload and cofactors with special reference to alcohol, hepatitis C virus infection and steatosis/insulin resistance. *World J Gastroenterol.* 2007 ; 13 : 4699-4706.

40. Trinder D., Ayonrinde OT., Olynyk JK. HCV, iron, and oxidative stress: the new choreography of hepcidin. *Gastroenterology*. 2008 ; 134 : 348-351.
41. Origa R., Galanello R., Ganz T., *et al.* Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica*. 2007 ; 92 : 583-588.
42. Gardenghi S., Marongiu MF., Ramos P., *et al.* Ineffective erythropoiesis in beta-thalassemia is characterized by increased iron absorption mediated by down-regulation of hepcidin and up-regulation of ferroportin. *Blood*. 2007 ; 109 : 5027-5035.
43. Papanikolaou G., Tzilianos M., Christakis JI., *et al.* Hepcidin in iron overload disorders. *Blood*. 2005 ; 105 : 4103-4105.
44. Gardenghi S., Ramos P., Marongiu MF., *et al.* Hepcidin as a therapeutic tool to limit iron overload and improve anemia in beta-thalassemic mice. *J Clin Invest*. 2010.
45. Harrison-Findik DD. Role of alcohol in the regulation of iron metabolism. *World J Gastroenterol*. 2007 ; 13 : 4925-4930.
46. Fujita N., Sugimoto R., Takeo M., *et al.* Hepcidin expression in the liver : relatively low level in patients with chronic hepatitis C. *Mol Med*. 2007 ; 13 : 97-104.
47. Nagashima M., Kudo M., Chung H., *et al.* Regulatory failure of serum prohepcidin levels in patients with hepatitis C. *Hepatology Res*. 2006 ; 36 : 288-293.
48. Nishina S., Hino K., Korenaga M., *et al.* Hepatitis C virus-induced reactive oxygen species raise hepatic iron level in mice by reducing hepcidin transcription. *Gastroenterology*. 2008 ; 134 : 226-238.
49. Ruivard M., Laine F., Ganz T., *et al.* Iron absorption in dysmetabolic iron overload syndrome is decreased and correlates with increased plasma hepcidin. *J Hepatol*. 2009.
50. Ruivard M. [Genetic iron overloads and hepatic insulin-resistance iron overload syndrome : an update]. *Rev Med Interne*. 2009 ; 30 : 35-42.
51. Laine F., Jouannolle AM., Morcet J., *et al.* Phenotypic expression in detected C282Y homozygous women depends on body mass index. *J Hepatol*. 2005 ; 43 : 1055-1059.
52. Handelman GJ., Levin NW. Iron and anemia in human biology : a review of mechanisms. *Heart Fail Rev*. 2008 ; 13 : 393-404.
53. Nemeth E., Valore EV., Territo M., Schiller G., Lichtenstein A., Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*. 2003 ; 101 : 2461-2463.
54. Weiss G. Iron metabolism in the anemia of chronic disease. *Biochim Biophys Acta*. 2009 ; 1790 : 682-693.
55. Swinkels DW., Wetzels JF. Hepcidin : a new tool in the management of anaemia in patients with chronic kidney disease ? *Nephrol Dial Transplant*. 2008 ; 23 : 2450-2453.
56. Babitt JL., Lin HY. Molecular mechanisms of hepcidin regulation : implications for the anemia of CKD. *Am J Kidney Dis*. 2010 ; 55 : 726-741.
57. Beaumont C., Grandchamp B. La sérine protéase membranaire TMPRSS6 : un partenaire inattendu du contrôle de la synthèse d'hepcidine. *Hématologie*. 2008 ; 14 : 335-338.
58. Ramsay AJ., Reid JC., Velasco G., Quigley JP., Hooper JD. The type II transmembrane serine protease matriptase-2--identification, structural features, enzymology, expression pattern and potential roles. *Front Biosci*. 2008 ; 13 : 569-579.
59. Andrews NC., Schmidt PJ. Iron homeostasis. *Annu Rev Physiol*. 2007 ; 69 : 69-85.
60. Vulont S., Lou DQ., Viatte L., Kahn A. Of mice and men : the iron age. *J Clin Invest*. 2005 ; 115 : 2079-2082.

61. Pantopoulos K. Function of the hemochromatosis protein HFE : Lessons from animal models. *World J Gastroenterol.* 2008 ; 14 : 6893-6901.
62. Fleming RE. Iron sensing as a partnership : HFE and transferrin receptor 2. *Cell Metab.* 2009 ; 9 : 211-212.
63. Gao J., Chen J., Kramer M., Tsukamoto H., Zhang AS., Enns CA. Interaction of the hereditary hemochromatosis protein HFE with transferrin receptor 2 is required for transferrin-induced hepcidin expression. *Cell Metab.* 2009 ; 9 : 217-227.
64. Schmidt PJ., Toran PT., Giannetti AM., Bjorkman PJ., Andrews NC. The transferrin receptor modulates hfe-dependent regulation of hepcidin expression. *Cell Metab.* 2008 ; 7 : 205-214.
65. Ramey G., Deschemin J., Vaulont S. Cross talk MAPK and BMP/HJV pathways is required for the induction of hepcidin by holotransferrin in primary culture mouse hepatocytes. *Haematologica.* 2009 ; sous presse.
66. Lin L., Valore EV., Nemeth E., Goodnough JB., Gabayan V., Ganz T. Iron-transferrin regulates hepcidin synthesis in primary hepatocyte culture through hemojuvelin and BMP2/4. *Blood.* 2007.
67. Wallace DF., Summerville L., Crampton EM., Frazer DM., Anderson GJ., Subramaniam VN. Combined deletion of Hfe and transferrin receptor 2 in mice leads to marked dysregulation of hepcidin and iron overload. *Hepatology.* 2009 ; 50 : 1992-2000.
68. Wang RH., Li C., Xu X., *et al.* A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metab.* 2005 ; 2 : 399-409.
69. Babitt JL., Huang FW., Wrighting DM., *et al.* Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet.* 2006 ; 38 : 531-539.
70. Babitt JL., Huang FW., Xia Y., Sidis Y., Andrews NC., Lin HY. Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *J Clin Invest.* 2007 ; 117 : 1933-1939.
71. Lin L., Goldberg YP., Ganz T. Competitive regulation of hepcidin mRNA by soluble and cell-associated hemojuvelin. *Blood.* 2005 ; 106 : 2884-2889.
72. Maxson J., Chen J., Enns CA., Zhang AS. Matriptase-2 and proprotein convertase cleaved forms of hemojuvelin have different roles in the down-regulation of hepcidin expression. *J Biol Chem.* 2010.
73. Brasse-Lagnel CG., Poli M., Lesueur C., *et al.* Immunoassay for human serum hemojuvelin. *Haematologica.* 2010.
74. Krijt J., Fujikura Y., Sefc L., Vokurka M., Hlobenova T., Necas E. Hepcidin downregulation by repeated bleeding is not mediated by soluble hemojuvelin. *Physiol Res.* 2010 ; 59 : 53-59.
75. Kautz L., Meynard D., Monnier A., *et al.* Iron regulates phosphorylation of Smad1/5/8 and gene expression of Bmp6, Smad7, Id1, and Atoh8 in the mouse liver. *Blood.* 2008 ; 112 : 1503-1509.
76. Meynard D., Kautz L., Darnaud V., Canonne-Hergaux F., Coppin H., Roth MP. Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload. *Nat Genet.* 2009 ; 41 : 478-481.
77. Andriopoulos B., Jr., Corradini E., Xia Y., *et al.* BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nat Genet.* 2009 ; 41 : 482-487.
78. Mleczo-Sanecka K., Casanovas G., Ragab A., *et al.* SMAD7 controls iron metabolism as a potent inhibitor of hepcidin expression. *Blood.* 2010 ; 115 : 2657-2665.
79. Silvestri L., Pagani A., Nai A., De Domenico I., Kaplan J., Camaschella C. The serine protease matriptase-2 (TMPRSS6) inhibits hepcidin activation by cleaving membrane hemojuvelin. *Cell Metab.* 2008 ; 8 : 502-511.

80. Finberg KE., Whittlesey RL., Fleming MD., Andrews NC. Down-regulation of Bmp/Smad signaling by Tmprss6 is required for maintenance of systemic iron homeostasis. *Blood*. 2010 ; 115 : 3817-3826.
81. Truksa J., Gelbart T., Peng H., Beutler E., Beutler B., Lee P. Suppression of the hepcidin-encoding gene *Hamp* permits iron overload in mice lacking both hemojuvelin and matriptase-2/TMPRSS6. *Br J Haematol*. 2009 ; 147 : 571-581.
82. Lenoir A., Deschemin JC., Kautz L., *et al.* Iron deficiency anemia due to matriptase-2 inactivation is dependent upon the presence of functional Bmp6. *Blood*. 2010.
83. Kautz L., Meynard D., Besson-Fournier C., *et al.* BMP/Smad signaling is not enhanced in *Hfe*-deficient mice despite increased Bmp6 expression. *Blood*. 2009 ; 114 : 2515-2520.
84. Corradini E., Garuti C., Montosi G., *et al.* Bone morphogenetic protein signaling is impaired in an HFE knockout mouse model of hemochromatosis. *Gastroenterology*. 2009 ; 137 : 1489-1497.
85. Bolondi G., Garuti C., Corradini E., *et al.* Altered hepatic BMP signaling pathway in human HFE hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis*. 2010 ; 45 : 308-312.
86. Corradini E., Schmidt PJ., Meynard D., *et al.* BMP6 treatment compensates for the molecular defect and ameliorates hemochromatosis in *Hfe* knockout mice. *Gastroenterology*. 2010 ; 139 : 1721-1729.
87. Zhang AS., Yang F., Meyer K., *et al.* Neogenin-mediated hemojuvelin shedding occurs after hemojuvelin traffics to the plasma membrane. *J Biol Chem*. 2008 ; 283 : 17494-17502.
88. Lee DH., Zhou LJ., Zhou Z., *et al.* Neogenin inhibits HJV secretion and regulates BMP-induced hepcidin expression and iron homeostasis. *Blood*. 2010 ; 115 : 3136-3145.
89. Nemeth E. Iron regulation and erythropoiesis. *Curr Opin Hematol*. 2008 ; 15 : 169-175.
90. Nicolas G., Viatte L., Bennoun M., Beaumont C., Kahn A., Vaulont S. Hepcidin, A New Iron Regulatory Peptide. *Blood Cells Mol Dis*. 2002 ; 29 : 327-335.
91. Vokurka M., Krijt J., Sulc K., Necas E. Hepcidin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis. *Physiol Res*. 2006 ; 55 : 667-674.
92. Lasocki S., Millot S., Andrieu V., *et al.* Phlebotomies or erythropoietin injections allow mobilization of iron stores in a mouse model mimicking intensive care anemia. *Crit Care Med*. 2008 ; 36 : 2388-2394.
93. Kong WN., Chang YZ., Wang SM., *et al.* Effect of erythropoietin on hepcidin, DMT1 with IRE, and hephaestin gene expression in duodenum of rats. *J Gastroenterol*. 2008 ; 43 : 136-143.
94. Robach P., Recalcati S., Girelli D., *et al.* Alterations of systemic and muscle iron metabolism in human subjects treated with low dose recombinant erythropoietin. *Blood*. 2009.
95. Pak M., Lopez MA., Gabayan V., Ganz T., Rivera S. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*. 2006 ; 108 : 3730-3735.
96. Forejtnikova H., Vieillevoye M., Zermati Y., *et al.* Transferrin receptor 2 is a component of the erythropoietin receptor complex and is required for efficient erythropoiesis. *Blood*. 2010.
97. Pinto JP., Ribeiro S., Pontes H., *et al.* Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBPalpha. *Blood*. 2008 ; 111 : 5727-5733.
98. Tanno T., Bhanu NV., Oneal PA., *et al.* High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med*. 2007 ; 13 : 1096-1101.
99. Tanno T., Porayette P., Sripichai O., *et al.* Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood*. 2009 ; 114 : 181-186.

100. Peyssonnaud C. [Hypoxia-inducible transcription factors (HIF): key regulators of iron metabolism ?]. *Med Sci (Paris)*. 2008 ; 24 : 137-138.
101. Nicolas G., Chauvet C., Viatte L., *et al.* The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*. 2002 ; 110 : 1037-1044.
102. Leung PS., Srai SK., Mascarenhas M., Churchill LJ., Debnam ES. Increased duodenal iron uptake and transfer in a rat model of chronic hypoxia is accompanied by reduced hepcidin expression. *Gut*. 2005.
103. Peyssonnaud C., Zinkernagel AS., Schuepbach RA., *et al.* Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *J Clin Invest*. 2007 ; 117 : 1926-1932.
104. Braliou GG., Verga Falzacappa MV., Chachami G., Casanovas G., Muckenthaler MU., Simos G. 2-Oxoglutarate-dependent oxygenases control hepcidin gene expression. *J Hepatol*. 2008 ; 48 : 801-810.
105. Volke M., Gale DP., Maegdefrau U., *et al.* Evidence for a lack of a direct transcriptional suppression of the iron regulatory peptide hepcidin by hypoxia-inducible factors. *PLoS One*. 2009 ; 4 : e7875.
106. Choi SO., Cho YS., Kim HL., Park JW. ROS mediate the hypoxic repression of the hepcidin gene by inhibiting C/EBPalpha and STAT-3. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 ; 356 : 312-317.
107. Lakhal S., Schoedel J., Townsend AR., Pugh CW., Ratcliffe PJ., Mole DR. Regulation of type II transmembrane serine proteinase TMPRSS6 by hypoxia-inducible factors: new link between hypoxia signalling & iron homeostasis. *J Biol Chem*. 2010.
108. Shike H., Lauth X., Westerman ME., *et al.* Bass hepcidin is a novel antimicrobial peptide induced by bacterial challenge. *Eur J Biochem*. 2002 ; 269 : 2232-2237.
109. Frazer DM., Wilkins SJ., Millard KN., McKie AT., Vulpe CD., Anderson GJ. Increased hepcidin expression and hypoferraemia associated with an acute phase response are not affected by inactivation of HFE. *Br J Haematol*. 2004 ; 126 : 434-436.
110. Chung B., Verdier F., Matak P., Deschemin JC., Mayeux P., Vaulont S. Oncostatin M is a potent inducer of hepcidin, the iron regulatory hormone. *Faseb J*. 2010 ; 24 : 2093-2103.
111. De Domenico I., Zhang TY., Koenig CL., *et al.* Hepcidin mediates transcriptional changes that modulate acute cytokine-induced inflammatory responses in mice. *J Clin Invest*. 2010 ; 120 : 2395-2405.
112. Vecchi C., Montosi G., Zhang K., *et al.* ER stress controls iron metabolism through induction of hepcidin. *Science*. 2009 ; 325 : 877-880.
113. Poli M., Girelli D., Camprostrini N., *et al.* Heparin : a potent inhibitor of hepcidin expression in vitro and in vivo. *Blood*. 2010.
114. Sasu BJ., Cooke KS., Arvedson TL., *et al.* Antihepcidin antibody treatment modulates iron metabolism and is effective in a mouse model of inflammation-induced anemia. *Blood*. 2010 ; 115 : 3616-3624.

- B -
LE FER
EN PATHOLOGIE HUMAINE



Surcharges en fer

Yves Deugnier

CHAPITRE III

Introduction

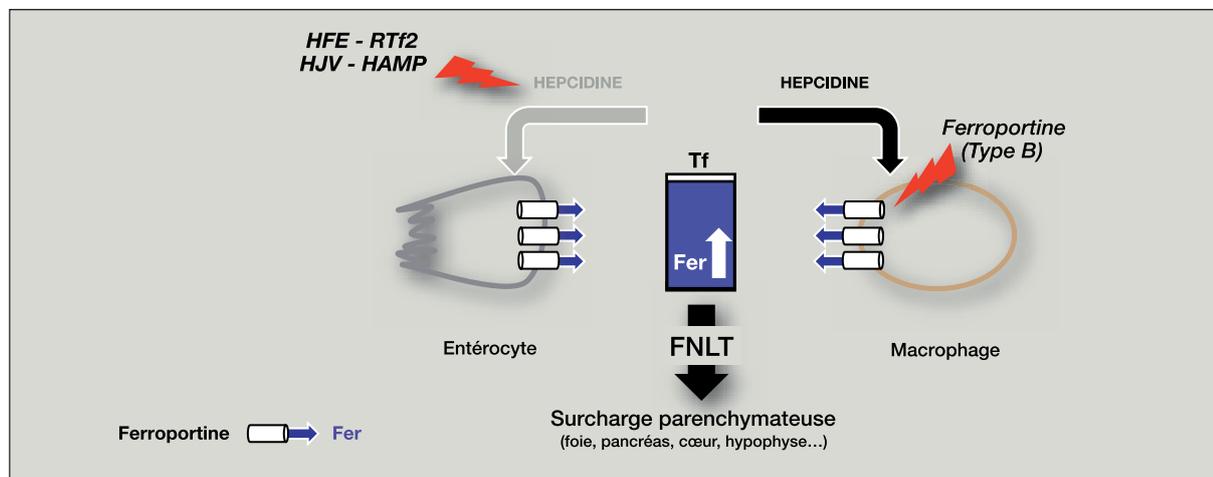
Les surcharges en fer peuvent être génétiques ou acquises. Les surcharges génétiques ([Tableau 1](#)) sont rares et se répartissent en (i) surcharges hémochromatosiques qui, relevant d'une même physiopathologie (carence en hepcidine), présentent un phénotype commun et dont la forme liée à l'atteinte du gène HFE est, de loin, la plus fréquente et (ii) surcharges non hémochromatosiques, exceptionnelles, de physiopathologie et d'expression plus variées. Les surcharges acquises, bien plus communes, sont le fait d'affections hématologiques ([voir Chapitre 4](#)), métaboliques ou hépatiques impactant le métabolisme du fer. Une telle classification est toutefois schématique, facteurs génétiques et acquis se mêlant pour moduler l'expressivité clinico-biologique de la surcharge. L'hyperferritinémie est le mode d'expression biologique le plus commun de l'excès de fer mais elle ne saurait être synonyme de surcharge en fer et, encore moins, d'hémochromatose. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) et les outils de génétique moléculaire en autorisent maintenant un diagnostic étiologique précis et non vulnérant.

Surcharges génétiques

Hémochromatoses

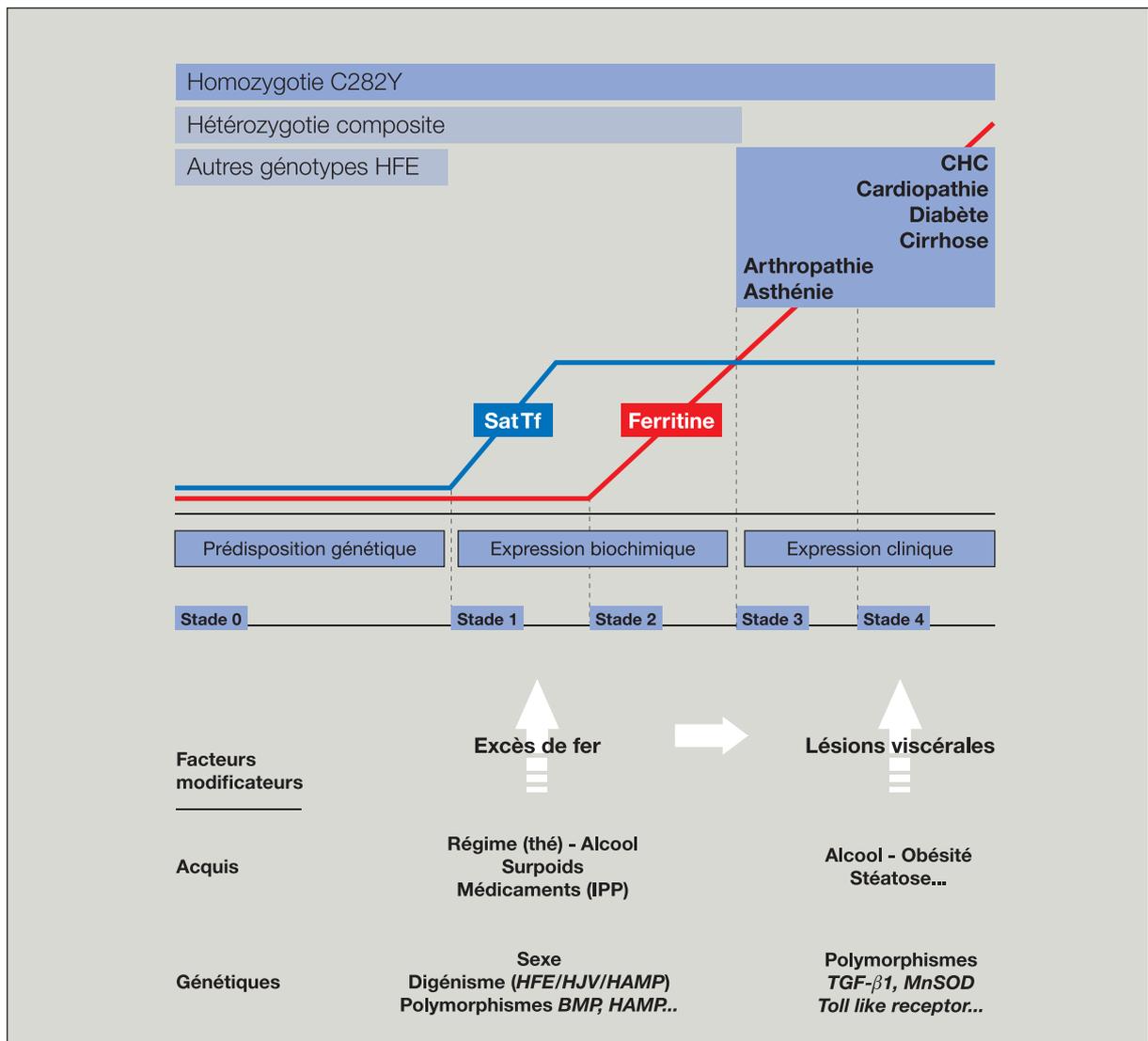
Les hémochromatoses sont le fait d'une carence absolue ou relative en hepcidine, hormone d'origine hépatique régulant la sortie cellulaire du fer, par atteinte, soit du gène même de l'hepcidine, soit d'un des gènes impliqués dans la cascade mettant en œuvre la synthèse de l'hepcidine ([figure 1](#)).

Figure 1 : Gènes en cause dans les surcharges en fer primitives (HFE, RTF2, HJV, HAMP) et physiopathologie faisant intervenir soit une diminution d'expression de l'hepcidine (à gauche) soit une perte de sensibilité à l'hepcidine (à droite). Tf = transferrine - FNLT = Fer non lié à la transferrine.



Cette carence induit une hyperabsorption digestive et une fuite macrophagique du fer. Il s'ensuit une élévation du fer plasmatique et, de ce fait, une augmentation de la saturation de la transferrine, laquelle est à l'origine de l'apparition d'une forme particulière de fer circulant, le fer non lié à la transferrine (FNLT). Ce dernier est le responsable direct de la surcharge en raison de l'avidité des parenchymes à son égard. Le phénotype hémochromatosique est donc caractérisé par une augmentation de la saturation de la transferrine et une surcharge parenchymateuse en fer de localisation essentiellement hépatique, endocrine et cardiaque (figure 2).

Figure 2 : Histoire naturelle de l'hémochromatose HFE en 5 stades. Seule l'homozygotie C282Y est susceptible d'induire une hémochromatose-maladie mais sa pénétrance est faible en raison de l'intervention de différents facteurs, acquis ou génétiques, modifiant l'importance de l'excès de fer et/ou la réponse tissulaire à la surcharge. BMP : bone morphogenic protein - CHC : carcinome hépatocellulaire - HAMP : human antimicrobial peptide (hepcidine) - HJV : hémojuvéline IPP : inhibiteurs de la pompe à protons – MnSOD : manganèse superoxide dismutase - Sat Tf : saturation de la transferrine – TGF : transforming growth factor.



La grande majorité des tableaux hémochromatosiques est le fait de l'atteinte du gène HFE, les hémochromatoses non HFE demeurant exceptionnelles (Tableau 1).

Tableau 1 : Différents types d'hémochromatose.

	Type	Gène (chromosome)	Hérédité	Age de début	Saturation transferrine	Principaux signes
Surcharges de l'hépatocyte						
Formes de l'adulte	1	HFE (6p21.3)	Récessive	Adulte	Augmentée ++	Articulations Foie (cirrhose - cancer)
	3	Récepteur transferrine 2 (7q22)	Récessive	Adulte	Augmentée ++	Foie
	4B	SLC40A1 (ferroportine) (2q32)	Dominante	Adulte	Augmentée ++	Foie (surcharge hépatocytaire - risque de cirrhose)
Formes juvéniles	2A	Hémojuvéline (1p21)	Récessive	Adulte jeune	Augmentée ++	Cœur - Foie (cirrhose) Glandes endocrines (diabète et hypogonadisme)
	2B	Hepcidine (19q13.1)	Récessive	Adulte jeune	Augmentée ++	Cœur - Foie (cirrhose) Glandes endocrines (diabète et hypogonadisme)
Surcharges du macrophage						
Maladie de la ferroportine (hémochromatose de type 4A)		SLC40A1 (2q32)	Dominante	Adulte	Normale ou peu élevée	Foie (surcharge kupfférienne sans risque de cirrhose)

Hémochromatoses HFE

Épidémiogénétique

La maladie étant transmise selon un mode autosomique récessif, seuls les individus présentant leurs 2 gènes HFE mutés sont à risque de la développer. Un sujet malade (= homozygote) naît donc, le plus souvent, du mariage entre 2 hétérozygotes. Toutefois, en raison de la fréquence de la mutation au sein de la population générale, les mariages entre un hétérozygote et un homozygote peuvent parfois être rencontrés (transmission pseudo-dominante).

La mutation C282Y (ou p.Cys282Tyr) est majoritairement en cause. Dans les populations d'origine européenne, sa fréquence allélique moyenne est de 6,2% avec un gradient décroissant nord → sud et ouest → est (12,5% en Irlande → 0% en Europe du sud). La fréquence de l'homozygotie C282Y qui en est déduite (0,38%, soit 1 : 260 individus) est nettement supérieure à celle de la maladie hémochromatosique. Une telle discordance indique que ce génotype a une pénétrance biologique incomplète (environ 50% chez la femme et 80% chez l'homme) et une pénétrance clinique faible

(de l'ordre de 1% chez la femme et de 30% chez l'homme). L'homozygotie C282Y apparaît ainsi comme une condition nécessaire mais non suffisante au développement d'une hémochromatose HFE, ce qui suggère l'existence de co-facteurs, génétiques ou acquis, susceptibles d'en moduler l'expressivité. De tels co-facteurs peuvent impacter : (i) l'excès de fer lui-même en agissant sur la synthèse d'hépcidine comme certains polymorphismes géniques, la consommation d'alcool ou le syndrome métabolique et (ii) l'expression viscérale de la maladie comme les polymorphismes de la manganèse superoxyde dismutase (risque de cardiomyopathie) ou du transforming growth factor b 1 (risque de cirrhose), l'alcool et le syndrome métabolique (risque d'hépatopathie) (figure 2). Dans les populations non caucasiennes, la mutation C282Y est tout à fait exceptionnelle.

Parmi les autres mutations HFE décrites, (i) les unes sont tout à fait exceptionnelles mais peuvent rendre compte d'un phénotype hémochromatosique parfois majeur et (ii) les autres sont fréquentes mais leur responsabilité dans le développement d'une surcharge en fer est nulle, faible ou discutée ; il en va ainsi de la mutation H63D (p.His63Asp) qui, même à l'état homozygote, n'est pas susceptible d'induire une hémochromatose-maladie mais qui, dans le cadre d'une hétérozygotie composite C282Y-H63D, s'associe, dans 25% des cas, à une discrète surcharge en fer sans traduction clinique en dehors de la présence de facteurs de co-morbidité tels un alcoolisme chronique ou un syndrome métabolique.

Histoire naturelle et expression clinique

Cinq stades de gravité croissante ont été décrits à la maladie (figure 2) mais il faut souligner que, l'histoire naturelle de l'hémochromatose n'étant pas linéaire, le passage de l'un à l'autre est loin d'être constant. Les formes peu exprimées sont aujourd'hui la règle en raison du caractère de plus en plus précoce du diagnostic lié à une meilleure connaissance de la maladie et à la systématisation des bilans biologiques et des enquêtes familiales. Toute forme majeure d'hémochromatose chez un sujet homozygote C282Y doit faire rechercher un co-facteur acquis ou génétique de surexpression (figure 2).

Atteinte hépatique

Avant le stade de cirrhose, l'hépatomégalie est un signe commun. L'anomalie biologique la plus fréquente est une augmentation du taux sérique des transaminases chez près d'un patient non cirrhotique sur 2. Cette cytololyse prédomine sur les ALAT et demeure modeste. Toute élévation des ALAT supérieure à 3 fois la limite supérieure de la normale doit faire rechercher un cofacteur hépatotoxique (alcool, médicament, virus...). En l'absence d'un tel cofacteur, le développement d'une cirrhose intervient pour des concentrations hépatiques en fer supérieures à 300 $\mu\text{mol/g}$. Cette cirrhose se complique rarement d'insuffisance hépatocellulaire ou d'hypertension portale, sauf en présence d'une autre cause de maladie chronique du foie. Les homozygotes C282Y qui boivent plus de 60 g (voire 40 g) d'alcool pur par jour présentent un risque de cirrhose multiplié par un facteur 9. La complication majeure de la cirrhose hémochromatosique est la survenue d'un cancer primitif du foie qui rend compte du décès de 30 à 45% des patients hémochromatosiques. Il s'agit, dans plus

de 80% des cas, d'un carcinome hépatocellulaire et, dans les autres cas, d'un cholangiocarcinome ou d'une tumeur mixte sans caractéristiques cliniques ou biologiques particulières. Le risque d'un patient cirrhotique de développer un cancer primitif du foie a été estimé 200 fois supérieur à celui de la population générale. Il persiste en dépit de l'évacuation de l'excès de fer dès lors qu'une cirrhose est installée. Des facteurs de risque additionnels existent : sexe masculin, âge supérieur à 50 ans, stigmates d'une infection virale B ou C et présence, sur la biopsie initiale, de foyers hépatocytaires dépourvus de fer. Plus de la moitié des patients qui présentent de tels foyers évoluent vers un carcinome hépatocellulaire.

Atteintes extra-hépatiques

Signes généraux

La fatigue est un des premiers symptômes de la maladie. Elle concerne plus de la moitié des patients et motive fréquemment un bilan martial dans l'hypothèse d'une carence martiale. Dans ce contexte, l'augmentation des paramètres sériques en fer est souvent mal interprétée et le retard au diagnostic peut atteindre 10 ans.

Signes cutané-phanériens

Une mélanodermie grisâtre est observée chez plus de la moitié des patients de carnation brune. Elle prédomine au niveau des zones découvertes, des organes génitaux et des cicatrices. Ichtyose, leuconychie (coloration blanche des ongles) et platonychie (aplatissement voire incurvation des ongles) sont des signes classiques de même qu'un aspect glabre chez l'homme.

Atteinte ostéo-articulaire

Volontiers révélateurs, notamment chez la femme, les signes ostéo-articulaires ne sont pas corrélés à l'importance de la surcharge en fer. Isolés, ils exposent, comme l'asthénie, à un retard diagnostique de plusieurs années.

Atteinte articulaire

Les lésions articulaires de l'hémochromatose engagent gravement le pronostic fonctionnel. Leur prévalence varie de 28 à 81%. Les petites articulations distales sont particulièrement concernées et, notamment, les métacarpophalangiennes et les interphalangiennes proximales des deuxièmes et troisièmes doigts (signe de la poignée de main douloureuse). D'autres articulations peuvent être touchées dont les poignets, les chevilles et, plus rarement, les hanches, les genoux et les épaules. Les symptômes consistent en des arthralgies de rythme plutôt inflammatoire, évoluant par poussées avec, dans 5 à 10% des cas, des accès aigus pseudo-goutteux. Dans les formes évoluées, les articulations sont déformées et l'impotence fonctionnelle peut devenir majeure. Radiologiquement, diminution de l'espace articulaire, ostéopathie sous-chondrale kystique, sclérose et ostéophytose s'associent diversement. Des lésions de chondrocalcinose sont présentes dans 4 à 38% des cas.

Atteinte osseuse

Il s'agit d'une ostéopénie fréquente et, en règle, latente mais qui (i) peut être responsable de fractures rachidiennes dans 2 à 18% des cas et (ii) s'inscrit au dessous du seuil ostéodensitométrique fracturaire dans 9 à 45% des cas.

Atteintes endocriniennes

Dominées par le diabète et l'atteinte hypophysaire, elles témoignent toujours d'une affection évoluée.

- Diabète. Il est devenu rare (moins de 10% des hémochromatoses au moment du diagnostic). C'est un élément pronostique indépendant majeur de la maladie, la survie des hémochromatosiques diabétiques étant clairement amputée alors que celle des sujets hémochromatosiques non diabétiques est quasi-identique à celle de la population générale. Son mécanisme est double par insulino-résistance d'origine hépatique et, à un moindre degré, musculaire et par insulinopénie secondaire à la destruction des cellules β pancréatiques par la surcharge.
- Atteinte antéhypophysaire. Sa traduction principale est l'hypogonadisme qui, chez l'homme, est présent dans 12 à 38% des cas au moment du diagnostic et s'exprime, cliniquement, par une diminution de la libido, voire une impuissance, une atrophie testiculaire et une dépilation et, biologiquement, par une diminution de la testostéronémie.

Atteinte cardiaque

Elle est classique mais, en réalité, exceptionnelle. Dans ses formes évoluées, elle se traduit par (i) des troubles du rythme cardiaque et/ou (ii) une insuffisance cardiaque congestive avec gros cœur. Le plus souvent, elle se limite à des anomalies échocardiographiques.

Diagnostic

Suspecté devant la perturbation du bilan martial sérique et, plus particulièrement, une augmentation de la saturation de la transferrine, le diagnostic d'hémochromatose est à présent facilement posé par la recherche de la mutation C282Y.

Bilan martial sérique

Sidérémie et saturation de la transferrine. Une sidérémie supérieure à 30 $\mu\text{mol/l}$ et une saturation de la transferrine au delà de 45% sont la règle au cours de l'hémochromatose. Il s'y associe une hypotransferrinémie modérée de l'ordre de 1,5 – 1,9 g/l. Dans les formes les plus exprimées, la sidérémie excède volontiers 35 $\mu\text{mol/l}$ alors que la saturation de la transferrine est rapidement totale. Il faut toutefois connaître (i) la possibilité de faux négatifs en cas de syndrome inflammatoire ou de syndrome métabolique associé et (ii) les fréquents faux positifs en rapport avec de mauvaises conditions pré-analytiques (hémolyse dans le tube), une lyse cellulaire (cytolyse hépatique, hémolyse, myolyse...) et/ou une maladie hépatique (déficit de synthèse hépatique de la transferrine). La saturation de la transferrine n'en demeure pas moins le meilleur test d'orientation diagnostique. A tel point qu'en l'absence de syndrome inflammatoire, sa normalité permet d'écarter le diagnostic avec une quasi-certitude.

Ferritinémie. Le taux de ferritine sérique renseigne sur l'importance du stock en fer de l'organisme. Au cours de l'hémochromatose, il dépasse volontiers 500 ng/ml chez la femme et 1000 ng/ml chez l'homme. Il peut cependant être normal dans les formes non ou faiblement surchargées. Les faux positifs de ce dosage sont particulièrement fréquents : consommation excessive d'alcool, syndrome polymétabolique, lyse cellulaire, syndrome inflammatoire et syndromes d'activation macrophagique, tumeurs, thésaurismoses macrophagiques (maladie de Gaucher) et mutations sur le gène de la L ferritine avec ou sans cataracte associée.

Autres tests sériques. Le dosage du récepteur soluble de la transferrine est passé en routine car il donne un reflet fidèle du stock martial, notamment en cas de syndrome inflammatoire associé, mais il est exceptionnellement utile à la prise en charge de l'hémochromatose. Les dosages du fer non lié à la transferrine et de sa forme potentiellement toxique, le LPI (labile plasma iron), qui apparaît lorsque la saturation de la transferrine excède 75%, demeure du domaine de la recherche clinique.

Recherche de la mutation C282Y

En situation de suspicion de surcharge en fer, cette recherche est indiquée si – et seulement si – la saturation de la transferrine est élevée. Elle implique l'obtention d'un consentement écrit. Le test repose sur une PCR qui, lorsque les amorces sont correctement choisies et les conditions techniques – notamment de température – respectées, conduit à un résultat très fiable. L'homozygotie C282Y permet d'affirmer le diagnostic d'hémochromatose HFE. Son absence permet quasiment de l'écarter.

Bilan pré-thérapeutique

Le diagnostic d'hémochromatose HFE implique la réalisation d'un bilan pré-thérapeutique comportant (i) un examen clinique allant à la recherche des diverses manifestations de la maladie, (ii) une détermination de la glycémie à jeun et (iii) un électrocardiogramme. D'autres examens peuvent s'avérer nécessaires en fonction du contexte :

Biopsie hépatique. Chez l'homozygote C282Y, la biopsie hépatique n'a plus d'intérêt que pronostique. Elle a pour but d'identifier une éventuelle cirrhose dont la présence modifierait la prise en charge ultérieure en raison du risque de carcinome hépatocellulaire qui lui est associé. Les homozygotes C282Y dont le foie n'est pas augmenté de volume, dont la ferritinémie est inférieure à 1000 µg/L et dont les ASAT (et non les ALAT) sont normales n'ayant jamais de fibrose en pont ni de cirrhose, la biopsie hépatique est maintenant réservée aux malades qui ne réunissent pas ces trois critères. Il est vraisemblable que, dans un proche avenir, la validation de marqueurs biochimiques, tel le dosage sérique de l'acide hyaluronique ou physiques, telle l'élastométrie, conduira à réduire davantage l'indication de la biopsie hépatique chez l'homozygote C282Y.

IRM hépatique. La quantification exacte de la charge hépatique en fer n'est pas une nécessité chez l'homozygote C282Y. Il est par contre licite de proposer une IRM au sujet de plus de 45 ans fortement surchargé de façon à dépister un éventuel nodule dépourvu de fer - et donc en hypersignal relatif - ayant valeur de lésion (pré)néoplasique.

Ostéodensitométrie osseuse. En raison de la fréquence de l'ostéoporose au cours de l'hémochromatose, il est recommandé de réaliser une ostéodensitométrie osseuse chez les sujets hémochromatosiques, notamment les femmes, de plus de 40 ans.

Les autres examens (dosage sérique de la testostérone, échocardiographie, radiographies articulaires...) ne sont envisagés qu'en cas de symptomatologie d'appel.

Traitement

Traitement de la surcharge

Phlébotomies. Elles demeurent le traitement de référence de l'hémochromatose car elles sont bien tolérées et efficaces.

Conduite. Il s'agit de phlébotomies de 5 à 7 ml/kg (sans dépasser 550 ml par saignée). Elles sont hebdomadaires dans une première phase, dite d'attaque ou de déplétion, jusqu'à l'obtention d'une ferritinémie inférieure à 50 µg/l. Cette phase peut durer de quelques semaines à plus de deux ans, en fonction de l'importance de la surcharge initiale. Elle est suivie d'une phase d'entretien qui dure à vie et consiste en des soustractions dont le rythme est individualisé de façon à maintenir la ferritinémie inférieure à 50 µg/l. Une phlébotomie tous les mois à tous les 4 mois suffit alors, sachant que (i) pendant la grossesse, le traitement est suspendu, (ii) au moment de la ménopause, le rythme et/ou le volume des phlébotomies doivent être ajustés aux nouvelles conditions physiologiques et (iii) chez les sujets âgés, il est d'usage de réduire le volume unitaire des soustractions à 150 – 250 cc.

Indication. La mise en œuvre du traitement déplétif est recommandée dès lors où la ferritinémie excède 200 µg/L chez la femme et 300 µg/L chez l'homme. Jusqu'à ces seuils, il est possible de se contenter d'une simple surveillance.

Tolérance. Elle est en règle excellente pour peu que l'on varie les points de ponction et que l'on prenne soin de faire abondamment boire le sujet à chaque phlébotomie. Elle est suivie par la prise de la tension artérielle avant et après chaque soustraction sanguine et une numération formule sanguine mensuelle ou bimensuelle pendant le traitement d'attaque et avant chaque saignée pendant la phase d'entretien. Une hémoglobinémie ≤ 11 g/dl contre-indique la soustraction sanguine.

Efficacité. Elle est suivie sur l'évolution du taux de ferritinémie, demandé tous les mois en début de traitement d'attaque, puis toutes les 2 saignées lorsque ce taux est passé au dessous de 300 µg/l chez l'homme ou de 200 µg/l chez la femme.

Modalités pratiques. Les phlébotomies peuvent être réalisées au sein des consultations hospitalières et dans les EFS mais aussi dans les laboratoires de biologie médicale, dans les cabinets médicaux et infirmiers et, même, au domicile du malade dès lors où elles bénéficient d'un encadrement médical

de proximité. La tenue d'un carnet de suivi que le patient présentera à chaque consultation est impérative. Y seront consignés, les dates et volumes des phlébotomies, la tension artérielle avant/après saignée, les résultats des examens biologiques de surveillance et tout incident intercurrent.

Résultats.

Vis-à-vis de la survie. Les sujets diagnostiqués et traités avant le stade des complications viscérales (cirrhose, cardiomyopathie et diabète) ont une espérance de vie identique à celle de la population générale.

Vis-à-vis des atteintes viscérales. L'asthénie et la mélanodermie s'atténuent progressivement pour disparaître. L'hépatomégalie et la cytolyse régressent de même que, fréquemment, la fibrose. La question reste toutefois posée du risque résiduel de cancer du foie chez ces patients. L'atteinte cardiaque répond particulièrement bien au traitement déplétif. Les manifestations articulaires sont peu influencées par les phlébotomies et, une fois déclarées, paraissent évoluer pour leur propre compte. Il en va de même pour le diabète insulino-requérant alors que, dans 50% des cas, les troubles mineurs de la glycorégulation régressent avec l'élimination de la surcharge. Quant à l'hypogonadisme, il s'améliore rarement sous l'effet des seules phlébotomies.

Mesures associées. Il n'est pas certain qu'un régime pauvre en fer soit, à long terme, bénéfique. La consommation de thé qui réduit l'absorption intestinale de fer peut être conseillée car elle permet l'espacement des phlébotomies. La constatation d'une macrocytose peut motiver la mise sous acide folique.

Traitement des complications

Complications hépatiques

Un sevrage total en boissons alcoolisées pendant la phase d'attaque est recommandé mais rien n'indique que, par la suite et en l'absence de fibrose, la reprise d'une consommation raisonnable soit préjudiciable. La transplantation hépatique peut être indiquée en cas (i) de maladie hépatique terminale, le plus souvent alors dans le cadre d'une hémochromatose compliquée d'alcoolisme ou d'une infection virale, et/ou (ii) d'un carcinome découvert lors du dépistage systématique mis en place chez tout patient cirrhotique.

Complications extra-hépatiques

Elles réclament une prise en charge classique. Certaines précautions doivent toutefois être prises. La supplémentation vitaminique C doit être évitée en début de traitement déplétif dans la mesure où elle pourrait précipiter une décompensation cardiaque en mobilisant le fer de façon massive. Le traitement de l'hypogonadisme peut faire appel aux androgènes dès lors où leur administration se fait

par voie transcutanée et à doses physiologiques, les autres formes d'androgénothérapie étant suspectées d'aggraver le risque de cancer hépatique.

Dépistage

Dépistage familial

Sujets concernés et modalités

Adultes apparentés au 1^{er} degré (= parents, fratrie et descendants). Le dépistage doit être phénotypique (= recherche de signes cliniques et biologiques de surcharge en fer) et, si possible, génotypique (= recherche de la mutation C282Y, laquelle est maintenant, dans ce cadre, remboursée par la sécurité sociale). En effet, d'une part, les anomalies du bilan martial sont fréquentes en dehors de l'hémochromatose et, d'autre part, l'expressivité de la maladie est très variable, notamment chez la femme non ménopausée qui, dans 30% des cas, a une saturation de la transferrine encore normale voire basse. Le risque est donc, d'un côté, d'attribuer à tort à une hémochromatose des perturbations clinico-biologiques d'une autre nature et, de l'autre, de faussement rassurer un(e) authentique homozygote. D'après la loi française, seul le probant est habilité à contacter ses apparentés pour les engager à bénéficier d'un dépistage. C'est dire l'importance de sa bonne information initiale sur la maladie, son traitement et l'enjeu d'un diagnostic précoce.

Enfants du probant. Il est recommandé soit d'attendre l'âge de 18 ans pour engager le dépistage (l'hémochromatose est une affection de l'âge adulte), soit de proposer au conjoint une recherche de la mutation C282Y afin de préciser leur risque d'être hémochromatosiques.

Conséquences thérapeutiques

Homozygotie C282Y. Les recommandations édictées en France sous l'égide de la Haute Autorité de Santé rejoignent celles émises aux USA et en Europe. Si la ferritinémie est inférieure à 200 µg/l chez la femme ou 300 µg/l chez l'homme, une simple surveillance est proposée, tous les 3 ans tant que la saturation de la transferrine demeure normale puis tous les ans lorsqu'elle est augmentée. Au delà de ces taux, un traitement déplétif est mis en œuvre.

Hétérozygotie C282Y. En l'absence d'anomalie du bilan martial, le sujet peut être rassuré et libéré de toute surveillance, car il n'est pas à risque de développer une hémochromatose-maladie. En cas d'élévation de la saturation de la transferrine et/ou de la ferritinémie, un bilan diagnostique est mis en œuvre qui peut déboucher sur le diagnostic d'hétérozygotie composite ou de surcharge non hémochromatosique. En cas d'hétérozygotie composite C282Y/H63D, un court programme de phlébotomies peut être engagé et suivi d'une simple surveillance. Le génotypage du conjoint est souhaitable de façon à dépister un éventuel risque d'homozygotie dans la descendance.

Absence de mutation C282Y. Si le bilan martial est normal, le sujet doit être rassuré et libéré de toute surveillance. En cas d'élévation de la saturation de la transferrine et/ou de la ferritinémie, un bilan diagnostique est mis en œuvre.

Dépistage de masse

L'hémochromatose répond aux critères qui sont habituellement retenus pour justifier un dépistage systématique. A ce jour, aucun pays n'a toutefois mis en œuvre un tel dépistage, les réticences tenant, outre aux aspects économiques et logistiques du problème, à la crainte d'un impact psychosocial négatif (risque de discrimination génétique), à la faible pénétrance de la maladie et à la difficulté de choisir entre les stratégies phénotypique et génotypique. Les recommandations actuelles sont (i) de diffuser auprès du public et des médecins une large information sur les signes précoces de la maladie, (ii) d'effectuer, à la moindre suspicion, un dosage de la saturation de la transferrine et (iii) de mener à bien l'enquête dans la famille de tout proband.

Hémochromatoses non HFE

Hémochromatoses juvéniles

Transmises sur un mode autosomique récessif, les hémochromatoses juvéniles s'expriment, parfois bruyamment, chez l'adolescent ou le jeune adulte, par une insuffisance gonadotrope, une insuffisance cardiaque et une cirrhose qui, en règle, répondent bien à un vigoureux traitement par phlébotomies éventuellement associé à une chélation. Sur le plan génétique, on distingue 2 types d'hémochromatose juvénile, l'une liée à l'atteinte du gène de *l'hepcidine* et l'autre secondaire à celle du gène de *l'hémojuvéline*.

Hémochromatoses de l'adulte

L'atteinte du gène du récepteur 2 de la transferrine induit un tableau tout à fait superposable à celui de l'hémochromatose HFE.

Certaines formes exceptionnelles de maladie de la ferroportine (cf ci-après) au cours desquelles la mutation du gène de la ferroportine rend la protéine insensible à l'action de l'hepcidine, créent les conditions d'un relargage massif de fer dans le secteur plasmatique et résultent en un tableau d'hémochromatose parfois sévère.

Surcharges en fer non hémochromatosiques

Elles sont le fait de troubles héréditaires du métabolisme du fer et de surcharges acquises dites secondaires (voir Chapitre 4).

Surcharges acquises

Apport excessif en fer

L'apport régulier et prolongé de fer peut être responsable d'une surcharge en fer et induire un tableau phénotypique proche de celui de l'hémochromatose comme cela a été démontré chez des coureurs cyclistes professionnels abusivement supplémentés en fer.

Syndrôme métabolique

Décrite chez des sujets non alcooliques d'âge mûr, essentiellement masculins, l'hépatosidérose dysmétabolique est définie par l'association (i) d'une surcharge hépatique en fer inexplicée et (ii) d'un contexte dysmétabolique associant surpoids (avec répartition androïde des graisses) et/ou hypertension artérielle et/ou dyslipidémie (hypertriglycéridémie, essentiellement) et/ou intolérance aux hydrates de carbone voire diabète non insulino-dépendant. La biologie fonctionnelle hépatique est normale ou peu perturbée (hyper gamma GT isolée ou associée à un discret courant cytolytique en ALAT). L'hyperferritinémie est souvent plus importante que ne le voudrait la seule surcharge, laquelle est, en règle, discrète (de l'ordre de 100 $\mu\text{mol/g}$) et mixte, hépatocytaire et mésenchymateuse. Dans la moitié des cas, coexiste une stéatose, voire une hépatite stéatosique et, dans 10 à 15% des cas, une fibrose en pont ou une cirrhose. Un traitement déplétif est d'ordinaire engagé après démonstration de la réalité de la surcharge par la biopsie ou l'IRM et la désaturation obtenue rapidement après la soustraction de 1,5 à 3 g de fer par des saignées espacées de 10 à 15 jours. Le mécanisme de la surcharge est encore mal compris mais un trouble primitif de la synthèse de l'hepcidine apparaît peu vraisemblable.

Maladies chroniques du foie

Au cours des hépatopathies non cirrhotiques, hyperferritinémie et, à moindre degré, élévation de la sidérémie et de la saturation de la transferrine sont fréquentes. Ces anomalies témoignent, en règle, de la seule activité nécrotico-inflammatoire de l'hépatopathie quelle qu'en soit la cause mais aussi, parfois, d'une authentique surcharge en fer. Celle-ci est alors modérée (de l'ordre de 100 $\mu\text{mol/g}$) et mixte, hépatocytaire et kupfférienne. A son origine est évoquée, tout au moins pour ce qui concerne l'alcool et le virus de l'hépatite C, une inhibition de la synthèse d'hepcidine par le facteur causal de l'hépatopathie. L'effet aggravant de la surcharge vis à vis de l'évolution de la maladie et, notamment, de la fibrose est possible mais non clairement démontré. La déplétion martiale n'améliore pas la réponse prolongée au traitement antiviral dans l'hépatite C chronique mais la ferritinémie est un facteur prédictif indépendant de cette réponse.

Toute cirrhose est susceptible de se compliquer d'une surcharge en fer progressive jusqu'à en imposer, à un stade évolué de la maladie, pour une hémochromatose. Cette surcharge est en effet essentiellement parenchymateuse mais, contrairement à celle de l'hémochromatose, elle se distribue de façon très hétérogène d'un nodule à l'autre et respecte le tissu fibreux, les vaisseaux et les canaux biliaires. Les mutations HFE n'ont pas d'implication significative dans la constitution de ce type de surcharge dont le mécanisme ferait plutôt intervenir, outre l'étiologie de la cirrhose (cf ci-dessus), une moindre synthèse de la transferrine et de l'hepcidine par insuffisance hépatocellulaire et l'augmentation du fer non lié à la transferrine qui en résulte.

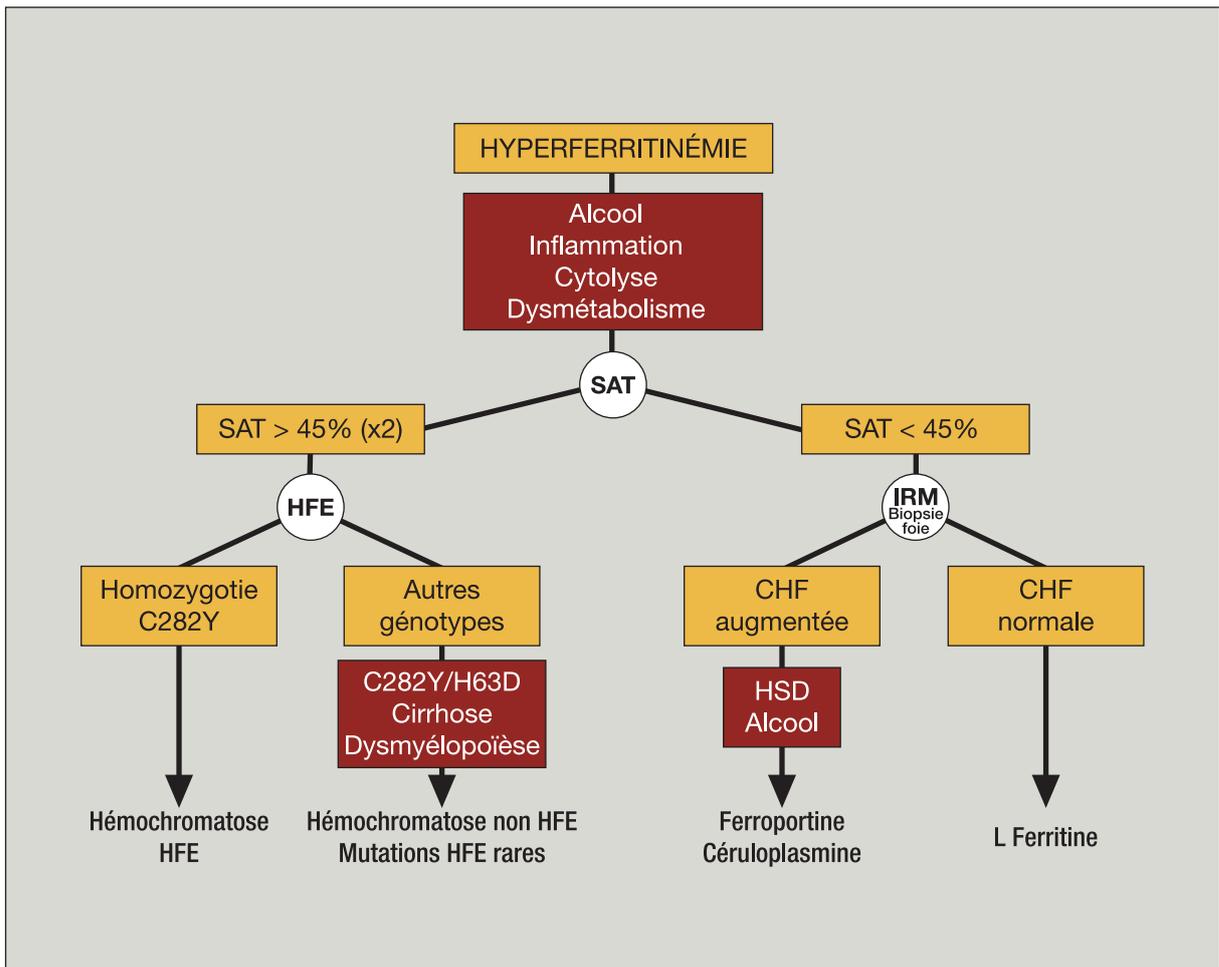
Porphyrie cutanée tardive

La porphyrie cutanée tardive (PCT) est liée à une diminution de l'activité de l'uroporphyrinogène décarboxylase. Cette enzyme de la chaîne de synthèse de l'hème est inactivée de façon réversible par un processus fer-dépendant. La PCT est marquée par des signes cutanés à type de photosensibilité, de fragilité épidermique et de bullose. L'expression clinique de la maladie requiert l'intervention de co-facteurs tels l'alcool, la prise d'oestrogènes, une hépatopathie ou le fer. De fait, une hépatosidérose mixte et, en règle, peu marquée est retrouvée dans 60 à 70% des cas de PCT. Les mutations HFE semblent conférer une susceptibilité particulière vis à vis de la PCT. La déplétion martiale par soustractions sanguines régulières conduit à l'extinction des manifestations cutanées de la maladie, même chez les patients indemnes de surcharge hépatique en fer.

Diagnostic pratique d'une surcharge en fer

En clinique quotidienne, la question d'une surcharge en fer se pose face à une hyperferritinémie repérée dans le cadre d'un bilan biologique réalisé à titre systématique (la ferritine fait, à tort, de plus en plus fréquemment partie des bilans de routine...) ou motivée par des symptômes compatibles avec une surcharge en fer (asthénie chronique, arthralgies, cytolyse, trouble de la glycorégulation...). Les mécanismes conduisant à une hyperferritinémie sont au nombre de 2 : la lyse cellulaire (essentiellement hépatique et musculaire) et l'augmentation de synthèse par induction (alcool, inflammation, surcharge en fer...) ou par dérégulation génétique (mutation sur le gène de la L ferritine). Hyperferritinémie est donc loin d'être synonyme de surcharge en fer.

Figure 3 : Diagnostic d'une hyperferritinémie. SAT = saturation de la transferrine, CHF = concentration hépatique en fer, HSD = hépatosidérose dysmétabolique.



En pratique, 4 causes d'hyperferritinémie, parfois intriquées, prédominent. Il convient de les considérer avant toute autre démarche car, du fait de leur extrême prévalence dans la population générale, elles rendent compte de la grande majorité des cas d'hyperferritinémie identifiés dans le cadre d'un bilan systématique.

- *Le syndrome inflammatoire.* Toute inflammation, qu'elle soit générale ou tissulaire, est susceptible d'élever la ferritinémie. Dans cette situation, sidéremie et saturation de la transferrine sont habituellement diminuées, ce qui doit orienter le clinicien. Mais ce n'est pas toujours le cas. Le corollaire est qu'on ne peut pas interpréter valablement une hyperferritinémie sans disposer d'un dosage de la C reactive protein (CRP) réalisé conjointement.

- *Les lyses cellulaires.* Toute cytolyse, quelle qu'en soit l'origine, hépatique, musculaire, et, à un moindre degré, globulaire rouge ou médullaire, s'accompagne d'une élévation de la ferritinémie proportionnelle à l'importance de la destruction cellulaire. L'interprétation d'une hyperferritinémie nécessite donc de disposer également d'un dosage des taux sériques des ASAT (muscle et foie) et des ALAT (foie) ainsi que d'une numération sanguine.

- *La consommation excessive d'alcool.* L'alcool est susceptible d'augmenter la ferritinémie par un mécanisme direct d'induction de sa synthèse et par deux mécanismes indirects, l'un par toxicité cellulaire (cytolyse) et l'autre par diminution de la production d'hépcidine. La détermination précise de la consommation quotidienne d'alcool fait donc partie de l'enquête étiologique d'une hyperferritinémie. Lorsque cette consommation est excessive, il convient d'effectuer un test de sevrage, dans la mesure où cela s'avère possible : la ferritinémie diminue significativement voire se normalise dans les 15 jours qui suivent l'arrêt de l'alcool.
- *Le syndrome métabolique.* Une hyperferritinémie – en règle modérée, c'est-à-dire de l'ordre de 500 µg/l - est fréquente au cours du syndrome métabolique. Son taux est proportionnel au degré d'insulino-résistance. L'interprétation d'une hyperferritinémie nécessite donc une bonne connaissance du terrain métabolique (index de masse corporelle, tour de taille, tension artérielle, bilans lipidique et glucidique...). Cette hyperferritinémie s'associe, dans la moitié des cas, à une stéatose ou une stéato-hépatite conférant au foie un aspect hyperéchogène... lequel est souvent décrit comme « foie de surcharge ». En fait, il s'agit bien d'un foie surchargé en graisse et non en fer, la surcharge en fer ne modifiant pas l'échogénicité hépatique.

En l'absence de ces 4 causes principales, l'enquête doit se poursuivre articulée autour de la détermination du coefficient de saturation de la transferrine. Cette détermination doit être effectuée dans de bonnes conditions techniques chez un patient à jeun prélevé sur le lieu de réalisation du dosage, lequel fera appel, pour la transferrinémie, à une technique néphélométrique. Quoiqu'il en soit, en cas d'augmentation de la saturation, il est souhaitable de vérifier le résultat dans la mesure où tout un arbre décisionnel générateur de coûts potentiellement importants en découle.

- **Si la saturation de la transferrine est augmentée (> 45%)**

- En présence d'une maladie hépatique évoluée, il s'agit vraisemblablement d'une surcharge en fer secondaire. Cette situation est fréquente, notamment dans les services d'hépatologie et en condition de bilan pré-transplantation hépatique. Elle ne doit pas conduire à une recherche systématique d'une hémochromatose génétique lorsque la cause de la cirrhose est connue.
- En l'absence de maladie hépatique évoluée et après avoir discuté une possible dysmyélopoïèse compensée (sujet âgé, macrocytose, tendance anémique), le diagnostic d'hémochromatose génétique est recevable et la recherche d'une homozygotie C282Y sur le gène HFE apparaît tout à fait justifiée. La mise en évidence d'une telle homozygotie signe le diagnostic d'hémochromatose HFE. Son absence le fait rejeter et, devant un phénotype évocateur et, a fortiori, une ambiance familiale de surcharge en fer, conduit à poursuivre l'enquête par la recherche d'une hémochromatose non HFE. Il est souhaitable qu'une telle enquête soit pilotée par un centre spécialisé. Elle est susceptible de déboucher, chez un sujet jeune, sur le diagnostic

d'hémochromatose juvénile par mutation du gène de l'hémojuvéline ou de l'hepcidine et, chez un sujet adulte, sur l'identification d'une surcharge par atteinte du gène du récepteur de la transferrine 2 et, de façon encore plus exceptionnelle, par mutation du gène de la ferroportine (Type B).

- **Si la saturation de la transferrine est normale voire abaissée**

- Le diagnostic d'hémochromatose génétique n'est pas recevable. Il n'y a donc pas lieu de demander un génotypage HFE (sauf en cas de syndrome inflammatoire chronique associé).

- Dans ces conditions, la question est posée de savoir si l'élévation de la ferritinémie témoigne ou non d'une surcharge en fer. Pour y répondre, il est conseillé de réaliser une IRM hépatique qui, sous certaines conditions techniques et d'appareillage, est une méthode fiable de détection et de quantification de la charge hépatique en fer, laquelle est proportionnelle au stock en fer de l'organisme :

- en cas de surcharge en fer

- si elle est modérée (c'est-à-dire $< 120 \mu\text{mol/g}$), il s'agit, le plus souvent, d'une hépatosidérose dysmétabolique,

- si elle est marquée, une surcharge génétique par mutation du gène de la ferroportine (type A) ou de la céruloplasmine (**Tableau 1**) doit être recherchée,

- en l'absence de surcharge en fer,

- il faut évoquer des causes exceptionnelles d'hyperferritinémie, soit acquises (maladie de Gaucher, dysthyroïdie, cancer...), soit génétique par mutation du gène de la L ferritine responsable d'une hyperferritinémie avec ou sans cataracte.

Conclusion

Un bon examen clinique prenant notamment en compte les paramètres biométriques, une appréciation correcte de la consommation d'alcool et la prescription de quelques examens biologiques simples (NFS, ASAT, ALAT, CRP, saturation de la transferrine...) permettent d'aboutir au diagnostic étiologique de la plupart des cas d'hyperferritinémie, lesquels, en pratique courante, relèvent rarement d'une hémochromatose HFE et exceptionnellement d'une autre anomalie génétique du métabolisme du fer. Il est important que cette démarche diagnostique initiale soit correctement menée de façon à ne pas submerger les laboratoires de génétique moléculaire ainsi que les centres de référence et de compétence de cas « tout venant » d'hyperferritinémie.

Références bibliographiques

SITES INTERNET DE CONSULTATION UTILE

Centre de référence des surcharges génétiques en fer rares du CHU de Rennes :

<http://www.centre-reference-fer-rennes.org>

Fédération française des associations de malades de l'hémochromatose :

www.ffamh.hemochromatose.org

Haute autorité de santé (recommandations 2005 pour la prise en charge de l'hémochromatose HFE) :

<http://www.has-sante.fr>

REVUES GENERALES RECENTES SUR LES SURCHARGES EN FER

Deugnier Y., Lainé F., Le Lan C., Bardou-Jacquet E., Jouanolle AM., Brissot P. Hémochromatoses et autres surcharges en fer. *Encycl Med Chir (Hépatologie)* 2010 (in press).

Pietrangello A., Deugnier Y., Dooley J., Erhardt A., Zoller H., Safadi R. EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. *J Hepatol* 2010 ; 53 : 3-22.

La surcharge en fer dans les maladies hématologiques

Robert Girot

CHAPITRE IV

Introduction

Deux mécanismes sont à l'origine d'une surcharge en fer dans les maladies hématologiques : les surcharges en fer induites par une hyper absorption digestive du fer chez les patients non transfusés (surcharge non transfusionnelle) et les surcharges secondaires aux apports de concentrés érythrocytaires (CE) (surcharge post-transfusionnelle) [1]. Dans les maladies hématologiques se compliquant d'une surcharge non transfusionnelle, l'hyper absorption est due en partie à la répression de la synthèse d'hépcidine sous l'effet de la dysérythropoïèse et qui perdure malgré la constitution d'une surcharge en fer (voir chapitre 2). Le fer apporté par la transfusion de CE s'accumule dans l'organisme du receveur. Chaque CE apporte environ 200 mg de fer selon son volume. Les complications induites par la surcharge martiale post-transfusionnelle apparaissent pour des apports de 400 à 500 mg/kg de poids. L'apport de 1000 mg/kg de poids est généralement considéré comme étant létal [2].

Les maladies hématologiques se compliquant d'une surcharge en fer (Tableau 1)

A - Maladies hématologiques se compliquant d'une surcharge en fer non transfusionnelles

- Thalassémies intermédiaires (TI)
- Anémies sidéroblastiques congénitales ou acquises
- Certains déficits enzymatiques érythrocytaires (pyruvate kinase)
- Certaines dysérythropoïèses congénitales

B - Maladies hématologiques se compliquant d'une surcharge en fer post-transfusionnelles

- Thalassémies majeures
- Certains syndromes myélodysplasiques
- Anémies de Blackfan - Diamond cortico - résistantes
- Erythroblastopénies acquises chroniques
- Certaines insuffisances médullaires globales
- Certains déficits enzymatiques érythrocytaires
- Certaines formes de drépanocytose

Les maladies hématologiques se compliquant d'une surcharge en fer non transfusionnelle

On désigne sous le terme de thalassémie intermédiaire (TI) les formes de thalassémies caractérisées par une production d'hémoglobine spontanée de plus de 8 g/dl. Ces malades ne sont pas transfusés. La TI est une définition clinique qui regroupe différentes formes génétiques de thalassémies : certaines β -thalassémies homozygotes, certaines formes d'hémoglobinoïde H (thalassémie due à la déficience de trois gènes α -globine), certaines E- β -thalassémies, ... Parmi les syndromes myélodysplasiques, les anémies sidéroblastiques se compliquent spontanément d'une surcharge en fer par un mécanisme similaire à celui des thalassémies. Le déficit enzymatique érythrocytaire homozygote ou hétérozygote composite en pyruvate kinase, certaines dysérythroïèses congénitales et certaines rares anémies sidéroblastiques congénitales se compliquent aussi d'une surcharge en fer non transfusionnelle.

Les maladies hématologiques se compliquant d'une surcharge en fer transfusionnelle

La thalassémie majeure (TM) et l'anémie de Blackfan-Diamond corticorésistante sont deux maladies hématologiques génétiques dont le traitement conventionnel exige des apports transfusionnels importants. Compte tenu de la quantité de fer apportée, les complications de la surcharge martiale peuvent apparaître chez ces malades après deux à cinq ans simplement de transfusions mensuelles [3]. Tous les patients atteints de syndromes myélodysplasiques dépendant de la transfusion sanguine développent une surcharge martiale post-transfusionnelle aggravée par l'hyper absorption digestive du fer dans les formes comportant une dysérythroïèse. Certaines insuffisances médullaires chroniques acquises (érythroblastopénie, insuffisance médullaire globale) traitées par la transfusion sanguine au long cours développent une surcharge en fer. Environ 5% des malades atteints de syndrome drépanocytaire majeur soumis à des programmes de transfusions sanguines régulières développent inéluctablement une surcharge en fer [4]. Enfin, des malades ayant bénéficié avec succès d'une transplantation médullaire allogénique ou d'une chimiothérapie lourde pour une maladie hématologique constitutionnelle (thalassémie, anémie de Blackfan-Diamond) ou acquise (hémopathie maligne) développent une surcharge en fer post-transfusionnelle [5].

Retentissement organique de la surcharge en fer

Les principaux organes cibles de la surcharge en fer sont le cœur, le foie, les parenchymes endocriniens (hypophyse, gonades, pancréas endocrine, thyroïde, parathyroïde), les articulations, les os et la peau.

Certains organes sont électivement atteints dans l'hémochromatose génétique, par exemple, les articulations des mains ; en revanche, la thyroïde et la parathyroïde sont plus volontiers atteintes au cours des hémochromatoses post-transfusionnelles et ne font pas habituellement partie des organes cibles de l'hémochromatose génétique.

Complications cardiaques

L'hémosidérose cardiaque constitue la première cause de mortalité chez les patients atteints d'hémochromatose post-transfusionnelle. Le décès peut survenir à partir d'une dizaine d'années simplement de transfusions mensuelles régulières. La gravité du dysfonctionnement cardiaque est considérée comme dépendant de la quantité de fer présente dans les fibres myocardiques et du nombre de fibres surchargées. L'expression clinique de l'atteinte cardiaque peut revêtir plusieurs aspects : hypertrophie ventriculaire, myocardie, insuffisance cardiaque congestive. Des épisodes de péricardite surviennent fréquemment chez les patients surchargés en fer polytransfusés depuis plus de 10 ans. Mais ce sont surtout les troubles de la conduction – bloc atrioventriculaire ou bloc de branches complet droit ou gauche – qui font la gravité de l'atteinte cardiaque [6]. Actuellement, les complications cardiaques rendent compte de plus de 70% des décès dans la thalassémie majeure [7]. Il existe une association entre le sexe et l'insuffisance cardiaque. En effet, les patients masculins sont plus volontiers exposés au risque de développer une insuffisance cardiaque que les sujets féminins. Dans le travail précité de C. Borgna-Pignatti l'âge moyen de l'insuffisance cardiaque était de 16,6 ans (extrêmes 7 à 25 ans). La probabilité de décès d'une cause cardiaque (insuffisance cardiaque et arythmie) est également liée à la qualité du traitement chélateur du fer proposé aux patients. Cette qualité s'est régulièrement améliorée au cours de ces trente dernières années. C'est pour cette raison que la probabilité de décès d'une maladie cardiaque est différente selon l'âge de début des transfusions. Toujours dans l'étude de C. Borgna-Pignatti, à l'âge de 20 ans, elle est de 2,5%, 6,3% et 20% pour les patients nés entre 75-79, 70-74, 65-69 et 60-64 respectivement [7].

La détection précoce de l'atteinte cardiaque est la préoccupation constante des cliniciens traitant les malades polytransfusés en vue d'intensifier le traitement chélateur du fer. Les malades doivent être régulièrement évalués du point de vue cardiaque avec les méthodes les plus précises : fraction d'éjection isotopique systolique, fraction de raccourcissement mesurée en échocardiographie, IRM appréciant la mesure de la relaxation T2* ([voir ci-dessous](#)), cette dernière technique fournissant une relation entre la quantité de fer détectée dans le cœur et la fonction cardiaque [8].

Il y a une vingtaine d'années, la survenue d'une poussée d'insuffisance cardiaque était synonyme de décès dans les trois mois suivant l'événement. Aujourd'hui, l'intensification du traitement chélateur du fer permet d'obtenir dans la majorité des cas une réversibilité de l'atteinte cardiaque avec des survies qui peuvent dépasser la décennie.

Complications hépatiques

Le foie est le premier organe cible de la surcharge en fer post-transfusionnelle. L'expression clinique inconstante de l'atteinte hépatique est une hépatomégalie modérée. L'évolution vers l'hypertension portale et l'insuffisance hépatocellulaire est rare. En revanche, la toxicité hépatique du fer s'exprime sous la forme d'une fibrose qui précède la constitution d'une cirrhose et le développement d'un carcinome hépatique [9]. Le degré de surcharge et le délai d'exposition sont les deux facteurs principaux qui participent à cette évolution aggravée par les contaminations virales post-transfusionnelles. Après l'atteinte cardiaque, l'atteinte hépatique représente l'une des toutes premières causes de décès chez les malades polytransfusés surchargés en fer. Il est par conséquent important de procéder à une mesure pondérale du fer hépatique soit par la ponction biopsie hépatique directe soit, aujourd'hui par les méthodes d'imagerie tissulaire. Chez les malades polytransfusés, il est souhaitable de maintenir le fer hépatique au-dessous d'un seuil de 7 à 10 mg par gramme de poids sec de foie. Le seuil de 15 mg par gramme de poids sec de foie est considéré comme celui au-delà duquel la fibrose commence à se former. Lorsqu'une fibrose est constituée, le traitement chélateur du fer bien conduit peut stabiliser et éviter l'évolution vers la cirrhose [10]. Dans la série de Cunningham et al publiée en 2004, les 342 patients atteints de thalassémie majeure avec un âge médian de 20 ans (extrêmes 1 à 51 ans), la prévalence de la cirrhose est estimée à 10%. Le suivi hépatique des patients surchargés en fer fait appel à la mesure régulière de l'alpha-foeto-protéine à l'échographie cardiaque à la recherche de nodules cirrhotiques et à l'IRM pour évaluer l'évolution de la surcharge en fer sous l'influence du traitement chélateur, ce dernier examen est devenu un élément de la surveillance clinique des patients polytransfusés [11].

Complications endocriniennes

Le retard statural et le retard pubertaire dus à l'hémochromatose ont été particulièrement bien étudiés chez les enfants et les adolescents thalassémiques [12]. Chez ces malades, plusieurs facteurs sont invoqués à l'origine du déficit statural : l'anémie, les insuffisances hypophysaire et thyroïdienne et le retard pubertaire. La sécrétion de GH, évaluée par le pic de GH de stimulation pharmacologique est normale. Le facteur de croissance IGF-1, GH dépendant, est diminué, témoignant d'une résistance hépatique à l'hormone de croissance. Le retard ou l'absence de puberté est très fréquent chez les adolescents atteints de thalassémie majeure. L'hypogonadisme hypogonadotrope est également fréquent chez les adultes souffrant d'hémochromatose. Ces complications posent une question sur leur origine, centrale, hypothalamo-hypophysaire ou périphérie gonadique. Les cellules gonadotropes de l'hypophyse semblent être plus altérées que les autres cellules de cette glande. Les gonadotrophines LH et FSH répondent mal à une injection de GnRH [13]. Les gonades sont souvent préservées chez les patients surchargés en fer comme en témoigne la capacité des testicules à sécréter de la testostérone sous l'effet de gonadotrophine chorionique et l'obtention d'ovulation lors de stimulations ovariennes. Parfois, un hypogonadisme secondaire est constaté après un

développement pubertaire normal, par exemple, chez la femme thalassémique, une aménorrhée secondaire survenant entre 20 et 30 ans. L'hypothyroïdie n'est pas exceptionnelle chez les malades polytransfusés surchargés en fer de même que l'hypoparathyroïdie dont la symptomatologie peut être sévère (hypocalcémie avec tétanie et décompensation d'un cœur déjà altéré par la surcharge en fer). La survenue d'un diabète insulino-dépendant est une complication fréquente chez les malades avec une surcharge en fer sévère [14]. Ce diabète est parfois précédé d'anomalies de sécrétion de l'insuline comme nous l'avons indiqué ci-dessus. Le mécanisme d'insuffisance de sécrétion d'insuline aggravé par l'insulino-résistance chez les malades qui ont développé une cirrhose conduit progressivement à un diabète insulino-dépendant. Enfin, les insuffisances surrénales objectivées par une diminution de la cortisolémie et de l'élimination des dérivés urinaires du cortisol sont inconstantes et latentes ; elles peuvent être révélées notamment à l'occasion de stress infectieux.

Complications osseuses et articulaires

L'ostéoporose secondaire à l'hémochromatose est à l'origine de fractures pathologiques et de nombreuses manifestations ostéoarticulaires [15]. Les arthropathies chroniques siégeant notamment aux hanches et aux articulations métacarpo-phalangiennes sont courantes au cours de l'hémochromatose génétique. Ces deux dernières localisations ne se voient pas au cours des hémochromatoses post-transfusionnelles. En revanche, les atteintes vertébrales s'exprimant sous la forme de douleurs dorso-lombaires sont habituelles chez les malades polytransfusés, de mécanisme complexe (ostéoporose, hypocalcémie, hypovitaminose D, insuffisance hormonale) et de traitement difficile.

Les méthodes d'évaluation de la surcharge en fer

La première estimation de la surcharge en fer est fondée sur l'histoire transfusionnelle des patients, la durée des transfusions, leur nombre, leur fréquence et leur volume. Dans un second temps, l'évaluation de la surcharge en fer fait appel à la mesure du fer et de la ferritine sériques et à l'imagerie tissulaire.

Le fer sérique, le coefficient de saturation de la transferrine et la ferritine sérique sont les marqueurs les plus utilisés en pratique courante. Les valeurs du fer sérique et de la ferritine sérique sont augmentées dans les surcharges en fer. Le coefficient de saturation de la transferrine (rapport fer sérique sur capacité totale de fixation de la transferrine) est un marqueur intéressant pour les surcharges en fer débutantes largement utilisé pour leur dépistage. Cependant, lorsque la surcharge est importante, on observe un plateau des valeurs du fer sérique et du coefficient de saturation qui ne permet plus de préciser le degré de la surcharge en fer. C'est dire tout l'intérêt de la ferritine

sérique dont l'élévation est proportionnelle au stock en fer de l'organisme, quelle que soit l'importance de la surcharge martiale. Cependant, la ferritine sérique s'élève aussi au cours de la cytolyse hépatique, de l'inflammation, de certains cancers, ... Ainsi, l'utilisation de ce marqueur devrait tenir compte des autres causes de son élévation. En outre, on observe une fluctuation des valeurs de la ferritine sérique lors de mesures rapprochées chez un même malade d'autant plus ample qu'elle est élevée. C'est la raison pour laquelle, en pratique, on estime la surcharge en fer des patients polytransfusés à l'aide d'une moyenne de plusieurs mesures établie sur 3, 6 ou 12 mois. C'est la comparaison de ces moyennes qui permet d'évaluer la tendance à l'augmentation ou à la diminution du stock martial d'une période à une autre chez les malades polytransfusés soumis à des saignées itératives ou à un traitement chélateur du fer ([voir ci-dessous](#)).

Depuis une dizaine d'années, des techniques d'IRM ont été mises au point pour la mesure du fer dans le foie et dans le cœur, deux organes cibles de la surcharge en fer. [16,17]. Elles sont basées sur la mesure du signal IRM hépatique qui diminue lors d'une surcharge en fer. Cette chute de signal, qui est évaluée sur des séquences sensibles au fer dites pondérées en T2*, est proportionnelle à la concentration en fer dans l'organe. Dans le cas de fortes surcharges, l'adjonction de séquences supplémentaires moins sensibles au fer, dites pondérées en T1, est nécessaire. Cependant, dans les surcharges hépatiques très élevées (> 350 μmol soit 19,5 mg/g de foie) le signal IRM est trop faible pour être enregistré et la mesure est saturée [17]. Pour lever cette difficulté, de nouvelles séquences adaptées aux surcharges hépatiques massives ont été mises au point et sont actuellement disponibles sur le site web : <http://oernst.f5lvq.free.fr/liver/fer/fer.html>. La durée de l'examen est d'une quinzaine de minutes. Une étude du cœur peut être réalisée dans le même temps. La mesure de la concentration de fer intramyocardique est basée sur des séquences rapides pondérées T2*, acquises en une ou plusieurs apnées. À la différence du parenchyme hépatique, le calcul n'exprime pas la concentration en μmol ou mg de fer/g de tissus mais, à défaut d'abaques connus pour le cœur, donne directement la valeur du T2* myocardique en millisecondes (valeur normale : 50 à 60 ms). Plus ce chiffre est faible plus la surcharge ferrique est forte. Une valeur inférieure à 20 ms semble être associée à une dégradation systématique des paramètres de la fonction cardiaque [18].

Traitement de la surcharge en fer

Les saignées itératives

Les patients qui relèvent des saignées itératives ont une concentration d'hémoglobine spontanée supérieure à 8-9 g/dl. Deux grandes catégories de patients constituent ce groupe, les patients avec une maladie hématologique se compliquant spontanément d'une surcharge en fer non-transfusionnelle et les patients qui ont bénéficié d'un traitement hématologique ayant nécessité des apports transfusionnels importants et dont l'hématopoïèse est devenue ou redevenue normale ou subnormale. La première catégorie correspond aux thalassémies intermédiaires, aux anémies

sidéroblastiques congénitales ou acquises, aux dysérythropoïèses congénitales et aux déficits enzymatiques érythrocytaires dont la production d'hémoglobine n'exige pas de transfusion. La seconde catégorie concerne les patients qui ont bénéficié d'une transplantation médullaire pour une thalassémie majeure ou une anémie de Blackfan-Diamond et les sujets qui ont reçu une chimiothérapie et/ou une transplantation médullaire pour une hémopathie maligne considérée comme étant en rémission [19]. Il est clair que les malades thalassémiques et les malades atteints d'anémie de Blackfan-Diamond ont une surcharge en fer d'autant plus importante qu'elle préexistait à la transplantation.

Une saignée consiste à retirer entre 5 et 10 ml/kg de sang. Les saignées itératives sont adaptées en fonction de la tolérance des malades et du taux d'hémoglobine. Il est clair qu'un patient avec un taux d'hémoglobine supérieur à 10 g/dl supportera mieux les saignées qu'un patient dont le taux d'hémoglobine est entre 8 et 10 g/dl. La fréquence des saignées est variable. Il est conseillé de les rapprocher (par exemple tous les 10 jours) lorsque la ferritinémie et la surcharge tissulaire évaluée par imagerie sont très élevées. Lorsque la phase de déplétion est achevée, la fréquence des saignées de la phase d'entretien est adaptée en fonction de la variation de la ferritinémie et de la surcharge martiale tissulaire. Certains patients doivent bénéficier de saignées mensuelles, d'autres trimestrielles, d'autres avec une fréquence encore moindre. De ce point de vue, on se retrouve dans des situations qui ressemblent à celles des patients saignés pour une hémochromatose héréditaire.

Le traitement chélateur du fer

Les malades qui reçoivent des transfusions régulières pour corriger un défaut chronique de production d'hémoglobine doivent recevoir un traitement chélateur du fer. Il s'agit des patients atteints de thalassémie majeure ou d'anémie de Blackfan-Diamond, des malades atteints de certaines insuffisances médullaires chroniques (érythroblastopénies acquises, insuffisances médullaires globales), des patients atteints de déficits enzymatiques érythrocytaires exigeant des transfusions régulières et des malades drépanocytaires soumis à des programmes transfusionnels chroniques. L'indication du traitement chélateur martial chez les patients multi transfusés atteints d'une myélodysplasie est plus délicate. En effet, les myélodysplasies sont des maladies électives du sujet âgé dont le pronostic est souvent réservé à court ou moyen terme. Outre l'âge, l'indication du traitement chélateur doit se fonder également sur l'utilisation des index pronostiques des myélodysplasies comme l'International Prognostic Scoring System (IPSS). A priori, les malades affectés d'un score élevé (AREB I et II) ne sont pas des candidats au traitement chélateur du fer. En revanche, les patients auxquels est attribué un score bas peuvent être des malades à traiter par les chélateurs du fer quand ils rentrent dans des programmes de transfusion au long cours [20].

L'objectif principal du traitement chélateur est de maintenir un stock de fer normal ou proche de la normale. Le traitement chélateur du fer dure aussi longtemps que la transfusion est maintenue. Il doit être quotidien et continu. Les traitements discontinus, souvent utilisés en pratique, ne sont pas recommandés. Chez l'enfant avant 10 ans, la chélation a pour objet immédiat d'éviter le décès par insuffisance cardiaque. Chez l'adolescent l'objectif est, en outre, d'éviter l'hypogonadisme

hypogonadotrope et l'installation d'autres complications endocriniennes. Chez l'adulte, elle vise à éviter l'ensemble des complications mortelles et morbides de la surcharge martiale. Lorsqu'une surcharge est constituée, la thérapeutique chélatrice cherche à obtenir un bilan négatif du fer (excrétion du fer supérieure aux apports transfusionnels) maintenu pendant plusieurs mois, voire plusieurs années jusqu'au retour à un stock martial normal.

La conduite à tenir devant une surcharge martiale post-transfusionnelle doit être adaptée à la spécificité de la pathologie hématologique en cause, notamment selon le caractère éventuellement curable de la maladie, l'âge du début des transfusions, la durée d'évolution prévisible, ... L'anticipation de la surcharge en fer est indispensable ; elle impose la mise en place d'une stratégie à long terme dès les premières transfusions et l'utilisation des procédures transfusionnelles les plus adaptées.

Tableau 2 : Principales caractéristiques des 3 chélateurs du fer actuellement disponibles

	DÉFÉROXAMINE	DÉFÉRIPRONE	DÉFÉRASIROX
PM	560	139	373
T 1/2	20 mn	1-3 heures	16-19 heures
Absorption orale	0	Pic à 45-60 mn	Pic 1-2,9 heures
Élimination du fer	Urine + fèces	Urines	Fèces
Dose/jour	10-50 mg/kg	75 mg/kg	20-40 mg/kg
Voie et mode d'administration	Parentérale Injection sous-cutanée de 8-12 h/jour	Orale 3 prises/jour	Orale 1 prise/jour
Principaux effets secondaires	<ul style="list-style-type: none"> - Nodules aux points d'injection - Rashes cutanés - Troubles ophtalmologiques, auditifs et troubles de la croissance (après fortes doses) - Allergie vraie exceptionnelle 	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles digestifs et articulaires - Neutropénie fréquente - Agranulocytose exceptionnelle - Cytolyse hépatique 	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles rénaux (augmentation de la créatininémie et diminution de la clearance de la créatininémie) - Troubles digestifs - Cytolyse hépatique - Rashes cutanés
AMM	France : 1965	Europe : 2002 à usage hospitalier	2007

Les médicaments disponibles

La déféroxamine (DEFERAL®)

La déféroxamine est le médicament de référence prescrit depuis plus de 40 ans. Il a montré son efficacité en termes de prévention de la morbidité et de la mortalité de la surcharge en fer post-transfusionnelle. Son administration parentérale constitue une réelle difficulté qui retentit sur la compliance de la part des malades. La demi-vie plasmatique du médicament injecté est brève, de l'ordre de 20 minutes, ce qui nécessite des perfusions quotidiennes de longue durée. L'élimination du fer chélaté se fait par voies urinaire et digestive. La dose recommandée est de 10 à 40 mg/kg/j chez l'enfant. Chez l'adulte, elle est de 10 à 50 mg/kg/j. Le nombre de perfusions est de quatre à sept par semaine selon le degré de la surcharge en fer. La modulation de la posologie se fait en pratique selon le taux de ferritine sérique, 10 à 20 mg/kg/j pour une ferritine entre 500 et 1 000 ng/ml, 20 à 35 mg/j pour une ferritine entre 1 000 et 2 000 ng/ml, 35 à 50 mg/kg/j lorsque la ferritine est supérieure à 2 000 ng/ml. La voie veineuse est la plus efficace en termes d'élimination du fer pour une dose donnée de déféroxamine. Elle permet l'administration de fortes doses à l'aide d'une chambre implantable de type port-à-cath, pendant des périodes allant de quelques semaines à quelques mois, sous contrôle médical strict, pour traiter des complications graves de l'intoxication martiale (insuffisance cardiaque en particulier) [21]. L'utilisation de chambres implantables est de plus en plus répandue chez les adultes qui doivent recevoir de la déféroxamine au long cours et ce mode d'administration a pu être maintenu pendant plusieurs années sans changer la chambre chez certains malades.

Les complications induites par la déféroxamine sont les suivantes. Les douleurs aux points d'injection peuvent être dues à une aiguille mal orientée, un liquide trop hypertonique. Des « nodules » sous-cutanés sont le fait d'injections effectuées toujours au même endroit. La variation des points d'injection évite cet inconvénient. Un prurit local, des rashes cutanés ainsi que de véritables réactions anaphylactoïdes ne sont pas rares au cours des traitements par déféroxamine. Des programmes de désensibilisation (arrêt, reprise progressive à doses faibles, antihistaminiques) permettent dans la plupart des cas de revenir aux doses nécessaires en toute sécurité. Parfois, certains malades développent une intolérance absolue à la déféroxamine mais cette complication est exceptionnelle. Des troubles de la croissance et des déformations osseuses imputables à l'administration de fortes doses de déféroxamine chez des enfants peu surchargés en fer ont été rapportées. Des complications oculaires et auditives ont été observées chez des patients peu surchargés en fer soumis à des doses fortes de déféroxamine. Elles sont dépistées par la pratique régulière d'électrorétinogramme et de potentiels évoqués auditifs. En général, ces complications régressent à l'arrêt temporaire du traitement chélateur. Un risque accru d'infections par *Yersinia enterocolitica* a été constaté chez des patients surchargés en fer recevant de la déféroxamine. En fait, la principale difficulté constatée chez les malades recevant de la déféroxamine est la mauvaise compliance à un traitement chronique contraignant, répétitif, administré tous les jours pour prévenir des défaillances organiques qui ne surviendront que dans un futur éloigné.

Les effets favorables du traitement chélateur du fer imputables à la déféroxamine sont bien établis [22]. L'efficacité du traitement est démontrée par l'allongement de l'espérance de vie des patients

thalassémiques. Entre 1960 et 1976, la médiane de survie des patients suivis à New-York n'était que de 17,1 ans [23]. En 2004, C. Borgna-Pignatti [7] rapportait que près de 70% des patients italiens atteignaient et dépassaient les 35 ans. La prévention et le traitement des complications cardiaques de la surcharge en fer par la déféroxamine sont le principal facteur de l'amélioration de l'espérance de vie des malades atteints de thalassémie et d'anémie de Blackfan-Diamond polytransfusés. La croissance des enfants, la puberté des adolescents et la fertilité des adultes sont favorablement influencées par un traitement chélateur précoce et bien conduit chez les malades thalassémiques [24]. La réversibilité, certes inconstante de la fibrose hépatique et des complications endocriniennes sous l'influence de l'intensification du traitement par la déféroxamine, contribue à la réduction de la morbidité de la surcharge en fer chez ces malades.

La déféripone (FERRIPROX®, KELFER®)

La déféripone est une molécule de synthèse qui mobilise le fer après son administration par voie orale. La déféripone bénéficie depuis 2002 d'une AMM européenne pour des indications précises : malades thalassémiques intolérants ou résistants au traitement chélateur du fer par la déféroxamine. En pratique, elle est utilisée plus largement que dans cette indication restrictive par de nombreux cliniciens. La déféripone est rapidement absorbée par l'intestin. Le pic plasmatique est retrouvé 45-60 minutes après l'administration per os. Son élimination se fait par voie urinaire. La moyenne de demi-vie d'élimination est de une à trois heures. Il semble que l'élimination hépatobiliaire et digestive soit négligeable. Contrairement à la déféroxamine qui a un effet constant, il existe une grande variabilité individuelle de l'effet du médicament chez les malades traités.

L'excrétion urinaire du fer des malades recevant la déféripone à la dose de 70 à 80 mg/kg de poids est comparable à celle des malades recevant 40 à 50 mg/kg de déféroxamine. Le meilleur effet est obtenu avec trois prises quotidiennes à 8 heures d'intervalle. On constate une variabilité individuelle importante. Les bilans équilibrés ou négatifs du fer chez les patients polytransfusés ne sont atteints que dans 50 à 60% des cas. Les données établies chez de nombreux malades maintenant avec un recul atteignant plus de 5 ans ont montré que la ferritine sérique pouvait baisser sous l'influence de la déféripone d'autant plus qu'elle était élevée avant le traitement. La ferritine sérique s'abaisse peu aux doses usuelles chez les patients dont le taux est inférieur à 2 000 ng/ml.

Les effets favorables de la déféripone sur la fonction cardiaque rapportés pour la première fois en 2001 par LJ Anderson [8] ont été confirmés par une étude multicentrique randomisée publiée en 2005 par DJ Pennell [25] et une étude rétrospective publiée en 2006 par C. Borgna-Pignatti [26]. La publication de C. Borgna-Pignatti est une étude rétrospective conduite dans sept centres italiens comparant les complications cardiaques constatées chez 359 thalassémiques majeurs recevant de la déféroxamine seule et 157 thalassémiques majeurs recevant de la déféripone seule pendant la période 1995-2003. Les patients n'avaient aucune atteinte cardiaque au début de l'étude et étaient identiques en termes de sexe et d'âge. Pendant la période concernée, 52 complications cardiaques entraînant le décès de 10 malades ont été observées dans le groupe recevant la déféroxamine et aucune complication cardiaque dans le groupe recevant la déféripone apportant la preuve manifeste de l'effet cardiaque protecteur de la déféripone à l'égard de la surcharge en fer.

Cependant, la toxicité de la déféripone n'est pas négligeable. L'intolérance digestive (douleurs abdominales, nausées, vomissements) s'observe chez un tiers des patients. Il semble que ces troubles digestifs surviennent lors de la première année du traitement et qu'ils s'atténuent après ce délai. Cependant, ces complications digestives peuvent aussi entraîner l'arrêt du traitement. Les complications articulaires (arthralgies) s'observent chez 15% des malades. Elles sont plus fréquentes au début du traitement mais peuvent provoquer aussi l'arrêt de la prise du médicament. Les complications hématologiques ne sont pas exceptionnelles puisque près de 10% des patients développent une neutropénie. Cette complication est caractérisée par un effet-dose qui peut conduire à une réduction de la posologie quotidienne.

La déféripone n'est dispensée qu'en milieu hospitalier. La posologie quotidienne recommandée est de 75 mg/kg/j en trois prises. Des antécédents de neutropénie ou d'agranulocytose, une insuffisance rénale et ou hépatique sont des contre-indications. Le médicament est également contre-indiqué chez la femme enceinte ou allaitante.

Le déférasirox (ICL 670, EXJADE®)

Le déférasirox est une molécule de synthèse administrée per os qui élimine le fer essentiellement, voire exclusivement, par voie digestive. La demi-vie plasmatique est de 11-16 heures ce qui autorise une prise de la molécule une fois par jour chez les malades. La dose efficace pour obtenir un bilan du fer équilibré est entre 20 et 40 mg/kg/j. Certains patients ont une balance équilibrée avec des doses plus faibles.

Le déférasirox est disponible depuis 2007. Dans les années qui ont précédé sa mise sur le marché, son efficacité a été démontrée par sa capacité à diminuer la ferritine sérique et les concentrations intratissulaires de fer, hépatique et cardiaque. L'efficacité est identique quelle que soit la pathologie hématologique pour laquelle la transfusion est administrée. Son efficacité est durable dans des essais cliniques qui dépassent 5 ans en 2010 [27, 28, 29, 30].

La posologie initiale recommandée dépend du degré de surcharge en fer, 10 à 15 mg/kg chez les malades peu surchargés, 25 à 30 mg/j chez les malades surchargés. C'est l'évolution des marqueurs du stock martial qui fera modifier éventuellement la posologie dans les traitements au long cours. La posologie recommandée chez les sujets atteints de syndrome myélodysplasique et/ou âgés est de l'ordre de 10 à 15 mg/kg.

Dans tous les cas, la prescription de déférasirox doit s'accompagner d'une surveillance de la fonction rénale : mesure de la créatininémie, de la clearance de la créatinine et du débit de filtration glomérulaire, recherche d'une protéinurie. Des rashes cutanés et une cytolyse hépatique peuvent survenir. Dans tous les cas d'intolérance, un arrêt temporaire de quelques jours à quelques semaines du traitement par le déférasirox précédera la reprise du traitement à posologie faible et progressivement croissante jusqu'à l'apparition du seuil de toxicité à ne pas dépasser.

Conseils pratiques

A - La mise à disposition du déférasirox en 2007 a modifié les indications des trois médicaments chélateurs du fer disponibles, la déféroxamine, la défériprone et le déférasirox.

1 - Patients recevant une chélation du fer avant 2007 :

lorsque la monothérapie par la déféroxamine ou l'association déféroxamine + défériprone est efficace, maintenir le traitement en modulant la posologie du ou des médicaments en fonction de l'évolution des marqueurs du stock martial (ferritinémie et mesure du fer intra tissulaire par IRM hépatique ou T2* cardiaque) ou proposer le remplacement du traitement antérieur par le déférasirox. Dans ce cas, commencer à la demi-dose du ou des médicaments prescrits antérieurement et augmenter la posologie en fonction de l'évolution des marqueurs du stock martial.

2 - Depuis la mise à disposition du déférasirox en 2007 :

le déférasirox est le médicament le plus largement utilisé en première intention quelle que soit la pathologie hématologique pour laquelle le malade est transfusé.

- Commencer le traitement à la posologie de 15 à 30 mg/kg en fonction du degré de la surcharge en fer et augmenter éventuellement cette posologie en fonction de l'évolution des marqueurs du stock martial.
- Être prudent chez le sujet âgé dont la clearance de la créatinine est diminuée.
- Commencer une posologie plus faible de l'ordre de 15 mg/kg chez les patients atteints de myélodysplasie.
- Prescrire une association avec la déféroxamine ou la défériprone si la normalisation du stock martial n'est pas obtenue avec le déférasirox seul.
- Respecter les contre-indications du déférasirox, notamment l'insuffisance rénale et l'insuffisance hépatique.

B - L'objectif idéal est d'obtenir une ferritinémie entre 300 et 400 ng/ml avec un fer intra tissulaire normal, c'est-à-dire un fer intra hépatique inférieur à 7 mg/kg de tissu, soit 124,6 μ mol/g de tissu et/ou un T2* myocardique normal ou proche de la normale.

Se contenter d'un objectif moins ambitieux (ferritinémie et/ou fer intra tissulaire augmentés) en réduisant la posologie du ou des médicaments en cas d'intolérance. En effet, il est préférable de maintenir une posologie réduite potentiellement efficace plutôt que de s'exposer à un arrêt du traitement de la part des patients qui le tolère mal.

C - En règle générale, quel que soit le chélateur du fer utilisé, la survenue de signes d'intolérance (rashes cutanés, troubles digestifs, rénaux, hématologiques, ...), doit faire interrompre le traitement chélateur du fer qui sera repris quelques semaines après à une posologie réduite de l'ordre du quart de celle ayant déclenché des signes d'intolérance. L'augmentation très progressive de la posologie se fera dans les mois suivant la réintroduction du médicament sous surveillance stricte. L'expérience montre que les trois médicaments peuvent être souvent prescrits à nouveau en suivant cette méthodologie.

D - En cas de grossesse ou d'allaitement, interrompre temporairement le traitement chélateur du fer jusqu'à l'accouchement.

E - En cas de surcharge cardiaque sévère, l'association déféroxamine par voie intraveineuse + défériprone est recommandée.

F - A priori, la défériprone est contre-indiquée chez les patients atteints de myélodysplasie et chez les patients atteints de maladie de Blackfan-Diamond âgés de plus de 20 à 30 ans lorsqu'une neutropénie ou une thrombopénie associée à l'érythroblastopénie apparaît. Le déférasirox doit être utilisé avec discernement chez les patients drépanocytaires homozygotes chez lesquels il est contre-indiqué en cas d'atteinte de la fonction rénale (élévation de la créatininémie, diminution de la clearance de la créatinine et du débit de filtration glomérulaire, micro albuminurie, protéinurie).

Conclusions

Des progrès importants sont survenus ces dernières années dans le traitement chélateur du fer chez les malades recevant des transfusions régulières de culots érythrocytaires pour deux raisons principales. La première est la mise à disposition récente de deux nouvelles molécules actives per os, la défériprone et le déférasirox, qui ont permis d'améliorer la compliance au traitement chélateur du fer chez les patients soumis auparavant à un traitement par la déféroxamine administrée par voie sous-cutanée de longue durée. Ces trois médicaments, prescrits seul ou en association, permettent d'atteindre avec plus de facilités maintenant l'objectif de maintenir un stock martial proche de la normale chez les patients soumis à des transfusions régulières de concentrés érythrocytaires pendant de longues périodes. La seconde raison est la mise à disposition d'une imagerie tissulaire qui permet d'évaluer le degré de surcharge en fer tissulaire du foie et du cœur, les deux principaux organes cibles de la surcharge martiale post-transfusionnelle. Ainsi, en association à la mesure de la ferritine sérique, les données de l'IRM hépatique et cardiaque sont utilisées pour moduler la posologie des médicaments chélateurs du fer. Il s'agit de deux progrès récents dont un impact favorable est attendu dans le futur sur la réduction de la morbidité et de la mortalité dues à la surcharge martiale observée chez les patients soumis à des transfusions régulières de concentrés érythrocytaires.

Références bibliographiques

1. Girot R., Hagège I., Deux JF., Lionnet F. Traitement de la surcharge en fer dans les maladies hématologiques (hémochromatoses héréditaires exclues). *Hématologie*. 2006 ; 12 : 181-93.
2. Modell B., Berdoukas V. *The clinical approach to thalassaemia*. London : Grune and Stratton, 1984.
3. Piomelli S. The management of patients with Cooley's anemia : transfusions and splenectomy. *Semin Hematol* 1995 ; 32 : 262-8.
4. Vichinsky E. Current issues with blood transfusions in sickle cell disease. *Seminars in Hematology*. 2001 ; 38 : 14-22.
5. Halonen P., Mattila J., Suominen P., Ruuska T., Salo MK., Makiperna A. Iron overload in children who are treated for acute lymphoblastic leukemia estimated by liver siderosis and serum iron parameters. *Pediatrics* 2003 ; 111 : 91-6.
6. Vecchio C., Derchi G. Management of cardiac complications in patients with thalassemia major. *Semin Hematol*. 1995 ; 32 : 288-96.
7. Borgna-Pignatti C., Rugolotto S., De Stefano P. *et al*. Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica*. 2004 ; 89 : 1187-93.
8. Anderson LJ., Holden S., Davis B. *et al*. Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J*. 2001 ; 22 : 2171-9.
9. Deugnier Y., Turlin B. Surcharges en fer. In *La Biopsie hépatique en pathologie non tumorale du foie*. Groupe Metavir. Michel Reynès coordinateur, Paris. Eds Elsevier 2000. p.97-107.
10. Hoffbrand AV., Gorman A., Laulicht M. *et al*. Improvement in iron status and liver function in patients with transfusional iron overload with long term subcutaneous desferrioxamine. *Lancet*. 1979 ; 1 : 947-9.
11. Cunningham MJ., Macklin EA., Neufeld EJ., Cohen AR. ; Thalassemia Clinical Research Network. Complications of beta-thalassemia major in North America. *Blood*. 2004 ; 104 : 34-9.
12. Kattamis CA., Kattamis AC. Management of thalasseмии : growth and development, hormone substitution, vitamin supplementation, and vaccination. *Semin Hematol*. 1995 ; 32 : 269-81.
13. Kletzky OA., Costin G., Marrs RP., Bernstein G., March CM., Mishell DR. Jr. Gonadotropin insufficiency in patients with thalassemia major. *J Clin Endocrinol Metab*. 1979 ; 48 : 901-5.
14. Merkel PA., Simonson DC., Amiel SA. *et al*. Insulin resistance and hyperinsulinemia in patients with thalassemia major treated by hypertransfusion. *N Engl J Med*. 1988 ; 318 : 809-14.
15. Rioja I., Girot R., Garabedian M., Cournot-Witmer G. Bone disease in children with homozygous beta-thalassemia. *Bone and Mineral*. 1990 ; 8 : 68-89.
16. Anderson LJ., Wonke B., Prescott E. *et al*. Comparison of effects of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentrations and ventricular function in beta-thalassaemia. *Lancet* 2002 ; 360 : 516-20.
17. Gandon Y., Olivie D., Guyader D. *et al*. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004 ; 363 : 357-62.
18. Ernst O. Evaluation de la surcharge en fer : quelle place pour l'IRM ? *Hématologie* 2009 ; 15 : 10-1.
19. Franchini M., Gandini G., Veneri D. *et al*. Efficacy and safety of phlebotomy to reduce transfusional iron overload in adult, long-term survivors of acute leukemia. *Transfusion* 2004 ; 44 : 833-7.

20. Guerci-Bresler A. Syndromes myélodysplasiques : place de la chélation du fer et optimisation du suivi thérapeutique. *Hématologie* 2009, 15 : 5-9.
21. Davis BA., Porter JB. Long-term outcome of continuous 24-hour deferoxamine infusion via indwelling intravenous catheters in high-risk beta-thalassemia. *Blood* 2000 ; 95 : 1229-36.
22. Gabutti V., Piga A. Results of long-term iron-chelating therapy. *Acta Haematol.* 1996 ; 95 : 26-36.
23. Ehlers KH., Giardina PJ., Lesser ML., Engle MA., Hilgartner MW. Prolonged survival in patients with beta-thalassemia major treated with deferoxamine. *J Pediatr* 1991 ; 118 : 540-5.
24. Bronsiegel-Weintrob Nv, Olivieri NF, Tyler B., Andrews DF., Freedman MH. , Holland FJ. Effect of age at the start of iron chelation therapy on gonadal function in beta-thalassemia major. *N Engl J Med.* 1990 Sep 13 ; 323 : 713-9.
25. Pennell DJ, Berdoukas V, Karagiorga M et al. Randomized controlled trial of deferiprone or deferoxamine in beta-thalassemia major patients with asymptomatic myocardial siderosis. *Blood* 2005 ; 106 : 3738-44.
26. Borgna-Pignatti C, Cappellini MD, De Stefano P et al. Cardiac morbidity and mortality in deferoxamine- or deferiprone-treated patients with thalassemia major. *Blood* 2006 ; 107 : 3733-7.
27. Cappellini MD, Cohen A, Piga A, Bejaoui M, Perrotta S, Agaoglu L, Aydinok Y et al. A phase 3 study of deferiasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood.* 2006 ; 107 : 3455-62.
28. Piga A, Galanello R, Forni GL, Cappellini MD, Origa R et al. Randomized phase II trial of deferiasirox (Exjade, ICL670), a once-daily, orally-administered iron chelator, in comparison to deferoxamine in thalassemia patients with transfusional iron overload. *Haematologica* 2006 ; 91 : 873-80.
29. Porter J, Galanello R, Saglio G, Neufeld EJ, Vichinsky E et al. Relative response of patients with myelodysplastic syndromes and other transfusion-dependent anaemias to deferiasirox (ICL670) : a 1-yr prospective study. *Eur J Haematol.* 2008 ; 80 : 168-76.
30. Vichinsky E, Onyekwere O, Porter J, Swerdlow P, Eckman J et al. A randomised comparison of deferiasirox versus deferoxamine for the treatment of transfusional iron overload in sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2007 ; 136 : 501-8.

Métabolisme du fer et anémies inflammatoires

Sigismond Lasocki

CHAPITRE V

Introduction

Les anémies inflammatoires, ou anémies des maladies chroniques, sont la deuxième cause d'anémie dans le monde (derrière la carence martiale), et la première cause chez les patients hospitalisés [1, 2]. Ces anémies regroupent des situations cliniques très différentes, allant de maladies chroniques (maladies inflammatoires chroniques comme la polyarthrite rhumatoïde) à des maladies aiguës (infections, traumatismes) en passant par des situations complexes alliant une part d'inflammation et d'autres anomalies de l'érythropoïèse (comme dans l'anémie de l'insuffisance rénale chronique ou l'anémie des patients de réanimation). Malgré cette grande disparité de situations, ces anémies inflammatoires partagent des caractéristiques communes et notamment des anomalies liées au métabolisme du fer [3].

Dans les lignes qui suivent, nous allons décrire succinctement les principales caractéristiques de ces anémies inflammatoires avant de discuter leur physiopathologie à la lumière des données récentes sur le métabolisme du fer. Enfin, nous aborderons la question de l'interprétation du bilan biologique explorant le métabolisme du fer et surtout du diagnostic de la carence martiale en présence d'inflammation.

Les anémies inflammatoires : généralités et principales caractéristiques physiopathologiques

Généralités

Les anémies inflammatoires sont habituellement peu sévères, avec un taux d'hémoglobine rarement inférieur à 8 g/dl. Ces anémies sont classiquement normochromes, normocytaires et faiblement régénératives. Bien entendu, c'est le contexte clinique qui permet le diagnostic, avec la présence avérée ou suspectée d'un syndrome inflammatoire [2]. Comme nous l'avons souligné, les situations cliniques sont nombreuses. Le [tableau 1](#) décrit la prévalence de l'anémie retrouvée dans ces différents contextes.

Ces anémies ont pour base physiopathologique l'existence d'une inflammation. Les médiateurs de cette inflammation, les cytokines notamment, interviennent sur plusieurs voies physiologiques et métaboliques pour aboutir à cette anémie [2, 4]. Ainsi, l'inflammation va agir directement en diminuant la durée de vie des globules rouges (par le biais de modifications membranaires notamment) et sur la synthèse de l'érythropoïétine (EPO) et la réponse médullaire à cette hormone. Mais c'est l'interaction entre l'inflammation et le métabolisme du fer qui semble jouer un rôle central dans ces anémies [3].

La réponse inflammatoire aurait pour effet de diminuer la libération du fer cellulaire afin d'en diminuer la disponibilité pour les pathogènes. Nous reviendrons sur cet aspect central après avoir décrit brièvement les liens entre inflammation et érythropoïèse.

Tableau 1 : différentes causes d'anémie inflammatoire et estimation de leur prévalence. Modifiée d'après [2].

Infections (aiguës ou chroniques) - Viral (VIH...) - Bactérienne, - Fongique - Parasitaire...	18-95 %
Cancer - Hématologique - Tumeurs solides	30 – 77 %
Maladies autoimmunes - Polyarthrite rhumatoïde - Lupus érythémateux disséminé, - Vascularites, - Maladies inflammatoires chroniques intestinales...	8 – 71 %
Insuffisance rénale chronique	23 – 50 %
Anémie des patients de réanimation	30 – 80 %

Inflammation et érythropoïèse

La durée de vie des érythrocytes est diminuée

La durée de vie normale des globules rouges est de 120 jours. Avec le temps apparaissent des signes de sénescence caractérisée par une moindre déformabilité, une modification de la composition membranaire et cytoplasmique, et des signes d'apoptose avec bourgeonnement membranaire et externalisation de la phosphatidyl sérine [5]. Toutes ces modifications permettent l'érythrophagocytose, c'est-à-dire la captation des globules rouges sénescents par les macrophages de la rate et du foie et leur destruction dans des phagolysosomes. Ces modifications sont en partie secondaires au stress oxydant, soit physiologique soit induit par un processus inflammatoire [6].

Il est connu depuis longtemps que l'inflammation, par le biais des cytokines pro-inflammatoires

(Tumor Necrosis Factor- α , Interleukin-1...), réduit la durée de vie des globules rouges [7]. Dans des modèles animaux d'anémie inflammatoire, on observe ainsi une réduction de la durée de vie des globules rouges [8]. Ceci est retrouvé en clinique humaine, y compris en présence d'inflammation aiguë comme chez les patients de réanimation. Ainsi bon nombre des modifications structurales de l'érythrocyte sénescence ont été retrouvées chez les patients de réanimation, en particulier en présence de sepsis [9]. Ceci explique probablement en partie la réduction de durée de vie des érythrocytes observée chez ces patients et dans les autres situations inflammatoires. Par ailleurs, l'érythropoïèse est elle-même réprimée.

La réponse médullaire est réduite

L'anémie des états inflammatoires est peu ou pas régénérative, caractérisée par des taux de réticulocytes circulants anormalement bas aux vues du degré d'anémie, quelque soit le type de pathologie considérée (inflammation chronique, sepsis ou même post-traumatique) [10-13]. Cette production insuffisante d'érythrocytes est en partie attribuable à une apoptose des progéniteurs médullaires induite par les cytokines pro-inflammatoires et le stress oxydant [4, 10]. Ainsi, le sérum de patients porteurs d'inflammation chronique comme dans la polyarthrite rhumatoïde [14] ou souffrant d'inflammation aiguë comme après un polytraumatisme [15] est capable d'inhiber la croissance des progéniteurs médullaires.

Ce n'est pas une seule cytokine qui est impliquée, mais plusieurs. Les différentes cytokines induisent une apoptose des progéniteurs médullaires à des stades plus ou moins précoces de leur différenciation. Parmi ces cytokines, le TGF- β est capable d'inhiber la croissance des progéniteurs les plus immatures (cellules souches hématopoïétiques totipotentes et BFU-E) et l'interleukine 1 induit un réseau de cytokines (notamment TNF- α et interféron- γ) qui inhibe la différenciation des CFU-e [4]. Cette induction d'apoptose, physiologiquement inhibé par l'EPO, l'est incomplètement dans ces situations inflammatoires [8].

La production d'érythropoïétine est inappropriée

Parallèlement aux taux anormalement bas de réticulocytes, il existe une inhibition de la synthèse d'EPO [2, 4, 13] et les taux d'EPO sont inappropriés : la relation inverse qui existe normalement entre les concentrations d'EPO et d'hémoglobine est très perturbée chez les patients ayant une inflammation aiguë (notamment chez les patients de réanimation) [11, 12, 16] comme chez les patients ayant une inflammation chronique [17]. Cette inhibition est médiée par les cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 et IL-6), qui réduisent la transcription des ARNm EPO au niveau rénal. En outre, la réponse à l'EPO est diminuée par l'induction d'apoptose médullaire (cf. ci-dessus) et par une diminution de l'expression des récepteurs à l'EPO.

Parallèlement à l'augmentation de l'érythrophagocytose, l'érythropoïèse des patients souffrant d'inflammation est donc altérée du fait d'un défaut de synthèse et d'un blocage de l'effet de l'EPO. Cependant, cette érythropoïèse est également limitée par des anomalies du métabolisme du fer qui semblent être centrales dans le mécanisme des anémies des maladies chroniques [3].

Métabolisme du fer et anémies inflammatoires

Comme d'autres l'ont souligné dans ce cahier, la découverte de l'hepcidine [18, 19] a bouleversé nos connaissances du métabolisme du fer et la compréhension de bon nombre de pathologies. Dans le contexte des anémies inflammatoires, l'hepcidine joue un rôle majeur et sa découverte a permis d'expliquer les modifications observées du métabolisme du fer [20].

L'inflammation induit une hypoferrémie

Classiquement, le profil du bilan martial des patients atteints d'anémie inflammatoire ou d'anémie des maladies chroniques est le suivant : un fer sérique bas, une transferrine abaissée, avec une saturation de la transferrine également diminuée associés à une ferritine normale ou élevée dans un contexte de syndrome inflammatoire biologique marquée par une élévation de la CRP ou de l'IL-6 [2]. La première observation de ces anomalies date de 1932 [21], mais depuis la découverte de l'hepcidine a permis de mieux comprendre ces modifications. La réponse de l'organisme à un processus inflammatoire semble être de limiter le fer disponible en circulation, possiblement pour ne pas favoriser la croissance bactérienne.

Ces anomalies rendent difficiles l'interprétation du bilan martial « standard » (dosages du fer sérique de la transferrine et de la ferritinémie). En effet, il est clair que l'augmentation de la ferritine plasmatique n'est pas directement liée à une augmentation des réserves tissulaires en fer, mais qu'elle est le fait d'une induction directe de la synthèse de ferritine. Plusieurs cytokines sont ainsi capables d'augmenter la transcription du gène de la ferritine. Le $TNF\alpha$ et l'IL-1 l'augmentent directement [22], mais il existe également des mécanismes post-transcriptionnels, notamment par le biais d'une « acute-phase box » située au niveau de la région 5' non traduite de l'ARNm de la ferritine, différente de l' « Iron Responsive Element » (facteur transcriptionnel en situation physiologique) qui est activée par les interleukines 1 et 6 [22, 23].

Ainsi, les outils habituels d'évaluation des réserves en fer (i.e. le dosage de la ferritine plasmatique) permettant le diagnostic de carence martiale ne sont plus utilisables (cf. [Chapitre II](#)). Les modifications observées du bilan martial correspondent à un stockage du fer dans les macrophages du système réticulo-endothélial (d'autant plus augmenté que l'apport de fer par l'érythrophagocytose est accrue du fait de la sénescence accélérée des globules rouges) et à une diminution du fer disponible pour l'érythropoïèse, conduisant à une « carence martiale fonctionnelle » comme nous le verrons ci-après ([Chapitre II](#)).

L'hepcidine joue un rôle central

L'hepcidine est un petit peptide de 25 acides aminés, synthétisé essentiellement par le foie et sécrété sous forme d'un pro-peptide de 85 acides aminés. L'hepcidine est éliminée par les urines. Comme cela a été rapporté dans ce cahier, l'hepcidine est une hormone hyposidéremiante. Elle se fixe sur la

ferroportine membranaire, seul exporteur connu du fer, et induit son internalisation et sa destruction, empêchant ainsi le fer de sortir des cellules (en particulier des macrophages, inhibant ainsi le recyclage du fer hémérique, et des cellules duodénales, empêchant ainsi l'absorption digestive du fer). En outre, la synthèse d'hepcidine est régulée par l'inflammation [19], l'hepcidine fait ainsi partie des protéines de la phase aiguë de l'inflammation. De fait, l'injection d'interleukine-6 chez l'homme induit une augmentation rapide de l'hepcidine urinaire, en quelques heures [24]. Chez les volontaires sains traités par du LPS on observe un pic sérique d'IL-6 dans les 3 heures et un pic d'excrétion urinaire d'hepcidine dans les 6 heures suivant l'injection (associé à une baisse concomitante du fer sérique) [25]. C'est pourquoi certains ont considéré que l'hepcidine pouvait jouer un rôle majeur dans les anomalies observées du métabolisme du fer dans les anémies inflammatoires.

Les premières descriptions de synthèse d'hepcidine en réponse à l'inflammation en pathologie humaine sont celles de T Ganz, qui a observé un pic d'excrétion urinaire d'hepcidine dans les suites d'une infection urinaire avec sepsis chez lui même [26], et de E Kemna, qui a rapporté des concentrations augmentées d'hepcidine urinaire chez des patients ayant des anémies inflammatoires [27]. Il existe beaucoup d'arguments expérimentaux soulignant l'importance de l'hepcidine dans la réponse à l'inflammation [2, 3, 20]. Les premières descriptions de l'hepcidine comme acteur de la régulation du métabolisme du fer faisaient même appel à des modèles d'inflammation. Ainsi, Nicolas et al rapportaient une augmentation par un facteur 6 des taux ARNm hepcidine hépatique, associée à une baisse du fer sérique d'animaux traités par de l'essence de térébenthine, alors que l'essence de térébenthine n'induisait pas de variation de fer sérique chez les souris déficientes en hepcidine [19]. Depuis, la synthèse hépatique d'hepcidine en réponse à l'inflammation est bien décrite. Elle est dépendante d'une stimulation par l'IL-6 médiée par le facteur transcriptionnel, STAT-3 (pour « signal transducer and activator of transcription 3 ») [28-30].

Comme nous l'avons dit, l'hepcidine induit l'internalisation et la dégradation de la ferroportine, empêchant ainsi la sortie du fer macrophagique [31]. Cette induction d'hepcidine est précoce (dans les heures suivant l'inflammation), mais pourrait ne pas être soutenue dans le temps [32]. Aussi, l'inhibition précoce de la ferroportine par l'hepcidine est-elle prolongée par une inhibition de la transcription du gène codant pour ce transporteur par l'interféron- γ et le LPS [33]. On observe donc durant l'inflammation une diminution prolongée de la sortie du fer macrophagique, empêchant ainsi son recyclage et expliquant l'hypoferrémie observée.

L'hepcidine joue donc un rôle central dans les anémies inflammatoires, mais sa synthèse est également régulée, négativement, par la carence martiale et la stimulation de l'érythropoïèse [19, 34], ainsi, son dosage pourrait permettre de mieux décrire le niveau des réserves en fer et surtout d'évaluer l'intérêt d'un traitement martial. Nous aborderons ces points dans le chapitre suivant.

Exploration du métabolisme du fer dans les anémies inflammatoires

Les anémies inflammatoires font partie des anémies au cours desquelles l'érythropoïèse est limitée par un apport de fer diminué (du fait de la séquestration de ce dernier). Cependant, elles peuvent coexister avec une carence martiale, vraie ou relative [35]. Il existe un véritable enjeu au diagnostic de la carence martiale en présence d'inflammation, puisque dans un cas le traitement martial n'a pas sa place voire est contre-indiqué, tandis qu'il est, au contraire, justifié en présence de carence martiale. Nous aborderons rapidement l'intérêt et les limites des différents marqueurs disponibles (voir Chapitre 8 pour une description plus complète de ces différents marqueurs) avant de discuter de l'intérêt du dosage de l'hépcidine. Enfin, nous proposerons un algorithme décisionnel.

Intérêt et limites des marqueurs de carence martiale en présence d'inflammation

L'anémie de l'inflammation est caractérisée par une érythropoïèse déficiente en fer, ainsi, il existe d'une part une baisse du fer sérique et d'autre part des stigmates biologiques de cette érythropoïèse déficiente en fer [35]. Nous verrons que les différents dosages biologiques disponibles sont plus ou moins spécifiques de la carence martiale proprement dite ou mettent en évidence une érythropoïèse déficiente en fer, sans différencier la véritable carence du défaut d'apport lié à une séquestration du fer. Nous essaierons de décrire les différents moyens disponibles pour faire le diagnostic de carence martiale en présence d'inflammation.

Bilan martial « usuel »

Le fer sérique

Il est invariablement diminué, en cas de carence comme en cas d'inflammation. Il n'est donc pas discriminant.

La transferrine plasmatique

La concentration de la transferrine est diminuée en présence d'inflammation et augmentée en cas de réserves abaissées. Cependant, dans les deux cas (inflammation et/ou carence martiale) la saturation de la transferrine est diminuée. Les valeurs normales de la saturation de la transferrine sont entre 35 et 45%. Une saturation < 15% est insuffisante pour répondre aux besoins quotidiens de l'érythropoïèse, à l'inverse, une saturation normale ou élevée exclue la carence martiale.

La Ferritine sérique

La ferritine sérique est actuellement le marqueur de référence pour évaluer les réserves en fer de

l'organisme, cependant, comme nous l'avons souligné c'est également une protéine de la phase aiguë de l'inflammation [22, 36, 37].

La ferritine est une protéine de 500 kD, composée de 24 sous-unités, combinaison de chaînes H et L [38]. C'est une protéine soluble, dont la principale fonction est le stockage du fer et sa libération pour permettre l'érythropoïèse. Le stockage du fer nécessite son oxydation, tandis que sa libération nécessite sa réduction [38, 39]. Les concentrations plasmatiques de ferritine sont essentiellement dépendantes de la synthèse et de la libération de ferritine. Il n'est pas connu de situation clinique associée à une altération de sa clairance plasmatique [36]. La libération de la ferritine dans la circulation peut être secondaire à une lyse cellulaire (notamment hépatocytaire), mais également à une sécrétion qui est corrélée à la synthèse tissulaire, principalement par les macrophages [39].

Plusieurs arguments existent pour utiliser la ferritine comme marqueur des réserves en fer de l'organisme [36]. Les concentrations basses de ferritine sont reconnues comme étant le meilleur marqueur de carence martiale [40].

Cependant, il existe également des situations associées à une élévation de ferritine ne reflétant pas une augmentation des réserves de fer :

- La première, que nous avons déjà évoquée, est l'inflammation. En effet, la ferritine fait partie des protéines de la phase aiguë de l'inflammation. Ainsi, l'IL-1, une des premières cytokines synthétisées dans les processus inflammatoires, est capable d'induire l'expression du gène des chaînes légères et lourdes de la ferritine [41]. Il est donc proposé d'associer systématiquement un dosage de CRP à celui de la ferritine pour distinguer les états inflammatoires qui rendent l'interprétation du résultat de dosage de ferritine aléatoire.
- Les pathologies hépatiques sont également à l'origine d'élévation de ferritinémie sans rapport avec des réserves en fer augmentées. Tout processus conduisant à une lyse cellulaire hépatocytaire conduit en effet à une libération de ferritine. Là encore, une ferritine basse représente toujours des réserves de fer diminuées, alors qu'une ferritine normale ou augmentée ne permet pas de conclure en cas de cytolyse [36].
- Une ferritine augmentée est également retrouvée dans beaucoup de cancers (notamment du pancréas, du poumon, du foie ou en cas de neuroblastome...) [42].

Finalement, il n'existe que peu d'études mettant en évidence l'intérêt de la ferritine comme marqueur de carence martiale. Il s'agit essentiellement d'études s'appuyant sur des myélogrammes avec colorations de Perls (et retrouvant une ferritine < 15 µg/L comme diagnostique de la carence martiale) [43]. Cependant la reproductibilité de cette technique invasive n'est pas parfaite [44], de même que sa capacité à prédire la réponse au traitement martial (véritable « gold standard » du diagnostic de carence martiale) [45]. Ce dernier critère a également été utilisé pour rechercher la valeur diagnostique de la ferritine pour le diagnostic de carence martiale, et permettait de définir une valeur inférieure à 12-16 µg/L comme critère diagnostique [39]. Ces études, anciennes pour la plupart, restent très limitées dans leur nombre de patients et très peu de données sont disponibles en cas de pathologies associées (particulièrement inflammatoires).

Malgré ses limites, la ferritine est le marqueur de choix de la carence martiale et/ou des réserves de fer de l'organisme pour les patients sains, indemnes de pathologies aiguës ou chroniques inflammatoires [36, 40].

En cas de pathologies inflammatoires, d'autres marqueurs sont proposés.

Les autres marqueurs de carence martiale [36, 40]

Nous allons décrire les différents marqueurs disponibles, partant de la numération formule sanguine et du bilan martial biologique « usuel » pour aller au plus spécifique.

- à partir de la **numération formule sanguine** : les paramètres conventionnels (VGM, CCMH, TCMH, réticulocytes) n'ont qu'une valeur d'orientation chez les sujets sains et sont mis en défaut en cas de pathologies associées, notamment si d'autres carences coexistent. Le VGM par exemple, classiquement normal en cas d'anémie inflammatoire, est en fait abaissé chez la moitié des patients en cas d'inflammation. Il peut être le reflet d'une érythropoïèse déficiente en fer, mais n'est absolument pas spécifique, de même que l'hypochromie [35].
- Le **pourcentage de globules rouges hypochromes** ou le **contenu réticulocytaire en hémoglobine** sont des paramètres puissants et efficaces pour détecter la carence martiale chez les sujets sains. Ils reflètent en effet un défaut d'hémoglobinisation des globules rouges. Le premier est un reflet des 3-4 derniers mois (la durée de vie des hématies étant de 120 jours) alors que le second explore les derniers jours (la durée de vie des réticulocytes n'étant que de 48 heures). Cependant, leur utilisation en cas d'inflammation reste sujette à débat. Les seuils diagnostiques de carence martiale sont respectivement > 5-10% et 28 pg pour le pourcentage de GR hypochromes et le contenu réticulocytaire en Hb [46]. Ces marqueurs ont été proposés soit isolément pour diagnostiquer la carence martiale chez des patients de réanimation notamment [47, 48] soit en association avec d'autres marqueurs comme le récepteur soluble à la transferrine [49].
- **Récepteur soluble de la transferrine (RsTf)**, c'est un reflet de la demande médullaire en fer pour l'érythropoïèse, il serait augmenté en cas de réserves en fer diminuées, même en présence d'inflammation. Le RsTf est clivé à partir des récepteurs membranaires de la transferrine, essentiellement des érythroblastes et des réticulocytes. Le RsTf est donc un reflet de l'activité érythropoïétique mais aussi de la disponibilité du fer pour la synthèse d'hème puisque l'ARNm du récepteur de la transferrine est stabilisé par les IRP lorsque le fer libre dans les érythroblastes est en faible concentration ([voir Chapitre 1](#)). Cependant, ses variations ne sont pas exclusivement secondaires aux modifications du statut martial, faisant également intervenir le niveau de stimulation de l'érythropoïèse. Il ne semble pas y avoir de variation circadienne de la valeur de RsTf et la variabilité de mesure est faible (< 5%). Le RsTf a été proposé comme marqueur de carence martiale en présence d'inflammation soit seul, soit en calculant le ratio entre le RsTf et le log(ferritine) (ratio appelé « index de ferritine ») [17, 50, 51]. Ce calcul est proposé au sein d'algorithmes que nous

détaillerons ci-après [2]. Il faut souligner que ce dosage n'est pas directement influencé par la transfusion sanguine, contrairement aux dosages du pourcentage de GR hypochromes et du contenu réticulocytaire en hémoglobine.

- **Zinc Protoporphyrine érythrocytaire (ZPP)**, il s'agit là encore d'un marqueur sensible de carence martiale (à défaut de fer, c'est un atome de Zinc qui est incorporé dans la protoporphyrine lors de la biosynthèse de l'hème). Ce serait un des premiers indicateurs à se modifier en cas de défaut d'apport de fer pour l'érythropoïèse, augmentant après une ou deux semaines de « carence » [52]. Le ratio normal entre le fer et le Zn est de 30000 : 1 dans la protoporphyrine, mais il peut augmenter en cas de carence martiale ou d'apport insuffisant de fer pour l'érythropoïèse. Les seuils définissant un défaut d'apport de fer pour l'érythropoïèse ont été fixés par le CDC et dépendent de l'âge. Pour l'adulte on retient une valeur $> 3,0 \mu\text{g/g Hb}$ (ou $> 70 \mu\text{mol/mol Hb}$). Les valeurs de ZPP se normalisent lentement sous traitement martial. Il faut souligner que ce marqueur ne permet pas de distinguer le défaut d'apport de fer (notamment en cas d'inflammation) de la déplétion des réserves.

On le voit, malgré un nombre relativement important de dosages à disposition, il n'existe pas de marqueur vraiment fiable permettant à lui seul de diagnostiquer la carence martiale en présence d'inflammation. Il est donc proposé d'utiliser un ensemble de mesures pour faire le diagnostic de carence martiale en présence d'inflammation [2, 49, 53]. Nous reviendrons sur ces algorithmes après avoir discuté de l'intérêt du dosage de l'hepcidine.

Dosages de l'hepcidine et diagnostic de carence martiale

L'inflammation et la carence martiale ont un impact opposé sur la régulation de la synthèse d'hepcidine [19], c'est pourquoi elle pourrait être un bon marqueur de carence martiale durant l'inflammation.

Ainsi, il a été montré expérimentalement, dans des modèles animaux associant inflammation et spoliations sanguines, que si la synthèse d'hepcidine était bien induite par l'inflammation, elle pouvait être réprimée par la carence martiale (ou les spoliations sanguines répétées) [34, 54]. Par ailleurs, nous avons montré dans un modèle murin que le fer splénique était mobilisable malgré l'inflammation [34] et d'autres ont montrés que le fer était absorbable malgré l'inflammation (dans cette situation mixte associant carence et inflammation) [54]. Ceci renforce l'intérêt potentiel du dosage de l'hepcidine pour le diagnostic de carence martiale en présence d'inflammation : non seulement il pourrait indiquer de quel côté penche la balance entre carence et inflammation mais, en outre, une hepcidine basse est probablement associée à une utilisation possible du fer soit via son absorption digestive soit via un recyclage depuis les macrophages (qui métabolisent le fer injectable).

Cependant, le dosage de l'hepcidine n'est pas encore pleinement validé et se heurte encore à quelques difficultés techniques (voir [Chapitre 2](#) pour une description des différentes méthodes de dosages).

Dosage d'hepcidine et diagnostic de carence martiale en situation inflammatoire

Plusieurs méthodes de dosages de l'hepcidine ont été développées, utilisant soit des méthodes Elisa soit de la spectrométrie de masse. Une étude récente a comparé ces différentes méthodes et retrouvé une relativement bonne cohérence entre elles (en terme de variation), mêmes si les valeurs absolues observées sont différentes [55]. Pour le moment, le développement commercial de ces méthodes de mesures est faible et elles restent du domaine de la recherche. Cependant, ces dosages sont prometteurs pour faire le diagnostic de carence martiale, notamment en présence d'inflammation. Quelques études ont mis en évidence cet intérêt.

Ainsi, Theurl et al rapportent chez un patient ayant une anémie inflammatoire avec carence martiale des taux indétectables d'hepcidine alors qu'ils sont élevés chez les patients sans carence [54]. Dans une étude chinoise incluant 87 patients dont 23 avec anémie inflammatoire et 7 avec une anémie mixte (associant inflammation et carence martiale), les auteurs rapportent des taux d'hepcidine plus bas dans la situation mixte (483 µg/l vs 238 µg/l, p=0,034) [56].

Dans une étude plus importante, incluant 155 patients anémiques, les concentrations d'hepcidine mesurées par spectrométrie de masse permettaient de distinguer les patients avec carence martiale de ceux ayant une anémie inflammatoire (avec un seuil ≤ 4 nmol/l (soit 11,16 µg/l), une aire sous la courbe de 0,968 [IC 95%, 0,915-0,992], une sensibilité de 98,1% et une spécificité de 84,5%) [57]. Il est intéressant de noter que dans cette étude 27 patients (52%) classés comme ayant une anémie par carence martiale avaient également un syndrome inflammatoire (CRP > 5 mg/l). La médiane de la concentration d'hepcidine chez ces patients ayant une carence martiale sans inflammation était encore plus basse, à 0,8 nmol/l [57]. En revanche, pour ces auteurs, l'hepcidine ne permet pas de distinguer les patients ayant une anémie inflammatoire de ceux ayant une anémie inflammatoire avec un apport de fer limité pour l'érythropoïèse (sans carence martiale), et il est nécessaire d'y adjoindre un dosage de contenu réticulocytaire en hémoglobine. Il semble néanmoins plus pertinent de faire le diagnostic de carence martiale (qui justifie un traitement martial), que celui « d'apport de fer limité », dont le traitement est le traitement de la pathologie causale.

Dans une étude prospective observationnelle, chez des patients de réanimation, nous avons retrouvé des valeurs d'hepcidine normales ou basses chez les patients ayant une carence martiale et un syndrome inflammatoire [58]. Dans cette étude, tous les patients avaient un syndrome inflammatoire marqué (CRP médiane [Q1-Q3] à 97 [44,8-145] mg/l) En utilisant des courbes ROC, nous avons trouvé qu'une valeur d'hepcidine < 130 µg/l (avec un dosage ELISA [59]) était indicative d'une carence martiale en présence d'inflammation avec une relativement bonne spécificité de 85 % [58].

Ces résultats plutôt encourageant pour le diagnostic de la carence martiale en présence d'inflammation, ne sont pas retrouvés dans toutes les études. L'équipe de Dorine Swinkels au Pays-Bas, a une bonne expérience dans les dosages d'hepcidine par spectrométrie de masse et méthode Elisa. Dans une publication récente, comparant ces différentes méthodes de dosage chez

186 patients et 23 sujets contrôles, cette équipe confirme l'intérêt du dosage de l'hepcidine pour le diagnostic de la carence martiale en l'absence d'inflammation, mais pas en cas d'anémie inflammatoire [60].

Ces données (en particulier les différents seuils proposés) ne sont pas à appliquer directement en l'absence de validations cliniques plus larges, mais elles ont le mérite de souligner l'intérêt du dosage de l'hepcidine, en particulier pour le diagnostic de carence martiale. En effet, ce dosage pourrait remplacer l'ensemble des dosages actuellement nécessaires pour faire le diagnostic de carence martiale en présence d'inflammation, et permettre une simplification des algorithmes nécessaires à l'heure actuelle et que nous allons décrire.

Les algorithmes pour le diagnostic de la carence martiale en présence d'inflammation

Le [tableau 2](#) résume les variations observées des différentes variables mesurables pour le diagnostic de carence martiale.

Un des problèmes principaux dans ce contexte est l'absence de méthode de référence pour le diagnostic de carence martiale. Le critère retenu classiquement est l'absence de fer visible après coloration de Perls sur myélogramme. Mais c'est un test invasif et incomplètement spécifique. Une attitude pragmatique est de poser le diagnostic de carence martiale en cas de réponse à un traitement martial d'épreuve (augmentation du taux d'hémoglobine). C'est un critère proposé par l'OMS, mais peu utilisé en pratique clinique.

En pratique il n'y a donc pas de véritable validation clinique d'un critère diagnostique, mais plutôt des propositions d'algorithmes [2, 49, 53, 61]. Tous ont en commun d'utiliser le dosage du récepteur soluble de la transferrine. Ce dosage permettrait en effet au mieux de distinguer l'érythropoïèse déficiente en fer (caractérisée par l'hypochromie, l'augmentation du pourcentage de globules rouges hypochromes etc...) de la carence martiale (\pm relative par rapport aux besoins). Ce dosage peut être utilisé en association avec un autre paramètre comme le contenu réticulocytaire en hémoglobine [49, 61] ou le dosage d'hepcidine [57]. Il peut également être utilisé dans des algorithmes.

Nous proposons ici un algorithme pour le diagnostic de la carence martiale en présence d'inflammation, dont les valeurs seuils sont à discuter ([tableau 2](#)), mais qui a le mérite d'avoir été utilisé et de prédire une réponse au traitement martial en pré-opératoire de chirurgie orthopédique [62]. Cet algorithme est présenté [Figure 1](#).

Nous allons maintenant discuter du diagnostic de « carence martiale » en fonction du contexte clinique de l'anémie inflammatoire.

Tableau 2 : Modifications des différents marqueurs biologiques en fonction du statut martial.

	Normales	Carence martiale	Anémie inflammatoire	Carence martiale et inflammation
Fer sur myélogramme	2-3 (unité arbitraire)	0-1	2	1-2
Fer sérique	0.7-1.8 mg/l 12-35 µmol/l	↘↘	↘↘	↘↘
Transferrine	1.8-2.85 g/l 25-25 µmol/l	↗↗	↘↘	N à ↘
saturation de la Transferrine	20-50 %	↘↘ < 16	↘↘ < 20	↘↘ < 20
Ferritine sérique	30-300 µg/l 50-670 pmol/l	↘↘ < 30 (femmes < 12) µg/l	↗↗ > 100 µg/l	↗ Variable ou N
% de globules rouges hypochromes	1-5%	↗↗	↗	↗↗
Contenu réticulo-cytaire en hémoglobine	28 - 35 pg	↘↘	N ou ↘	↘
zinc protoporphyrine érythrocytaire	30 – 80 µmol/mol heme*	> 200	> 100	> 200
sTfR	0.83-1.76 mg/l 1.9-4.4 mg/l ^{\$}	↗↗	↘↘	↗
sTfR/log ferritine	< 0.7 (1.5) ou < 2 (4) ^{\$}	↗↗ > 5 ou 4	↘ < 0,7 ou 2	↗ < 0,7 ou 2
Hepcidine	Pas de valeur de référence	↘↘	↗↗	N à ↘
C-Reactive Proteine	< 10 mg/l*	N	↗↗	↗

sTfR, Récepteur soluble à la transferrine.

* Les valeurs varient en fonction des kits de dosage. \$ pour respectivement les dosages de Siemens Healthcare Diagnostics (Deerfield, USA) (commercialisés avant par Dade Behring SA) et de Roche diagnostics (Meylan, France).

Les différents contextes cliniques

Comme nous l'avons souligné en introduction, il existe beaucoup de causes différentes de l'anémie inflammatoire et le diagnostic de carence martiale ou plus exactement l'indication du traitement martial varie grandement en fonction du contexte clinique. Nous aborderons ici les principales situations cliniques.

Carence martiale et insuffisance rénale chronique

Nous aborderons ici la problématique des patients hémodialysés chroniques. L'anémie de l'insuffisance rénale chronique est mixte, associant une inflammation liée à la maladie causale et/ou à l'hémodialyse chronique et des pertes d'hémoglobine (et donc de fer) liées aux prélèvements répétés (environ 0,5 g/an) et aux hémodialyses (pertes « normales » 1g/an, pertes « accidentelles par saignement 1g/an). Au total, ces pertes représenteraient environ 3g/an [63]. La baisse de la filtration glomérulaire est également responsable d'une relative accumulation de l'hepcidine (normalement excrétée par le rein). Ainsi, on observe une augmentation des concentrations d'hepcidine chez les patients hémodialysés [64].

En outre, du fait de l'utilisation de l'érythropoïétine recombinante dans cette situation clinique, c'est dans ce contexte qu'à été décrit le concept de « carence martiale fonctionnelle ». C'est à dire d'une érythropoïèse limitée par les apports de fer alors même que les réserves sont normales. La réponse à l'EPO (i.e. l'augmentation du taux d'hémoglobine) est plus importante en associant un traitement martial (habituellement par voie intraveineuse) à l'injection d'EPO. Ceci peut être expliqué par une répression de l'hepcidine secondaire à la stimulation de l'érythropoïèse par l'EPO [34, 64].

C'est dans ce contexte d'insuffisance rénale chronique (en particulier chez l'hémodialysé) que le traitement martial est le plus prescrit, soit pour traiter une carence martiale « vraie » soit pour améliorer la réponse à l'EPO dans le contexte de carence martiale fonctionnelle.

Ainsi, les critères « habituels » de carence martiale sont-ils modifiés [65]. Les principaux marqueurs utilisés sont la saturation de la transferrine et la ferritine sérique. Le traitement martial visera à maintenir une saturation de la transferrine supérieure à 20%, sans dépasser une valeur de 50% (cette notion est même retirée des derniers guidelines américains de 2006 : KDOQI accessibles sur http://www.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_Anemia/images/tables/table1.jpg, accédé le 5 janvier 2011). Il existe une corrélation entre des taux de saturation bas et une surmortalité [66], même chez les patients en pré-dialyse [67]. Il existe également une relation entre ferritine élevée (> 800 µg/l) et mortalité, mais il est clair qu'une ferritine élevée n'est pas toujours synonyme de réserves en Fer élevées. Dans ce contexte, il est recommandé de maintenir la ferritine supérieure à

200 µg/l (et < 500 ou 1200 µg/l selon les auteurs [37]). Ceci s'entend dans un contexte d'anémie traitée par EPO, avec une hémoglobine cible autour de 12 g/dl.

Pour les patients en pré-dialyse, il existe également une indication au traitement martial : l'objectif est de maintenir un taux de saturation de la transferrine > 20% et une ferritinémie > 100 µg/l. Il existe chez ces patients une bonne corrélation entre les concentrations d'hepcidine et de ferritine, rendant le dosage de l'hepcidine particulièrement intéressant dans cette population [64].

Carence martiale et maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI)

Une autre situation clinique associant relativement fréquemment l'inflammation et la carence martiale concerne les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI). En effet, dans ce contexte, la fréquence de l'anémie est élevée, autour de 30% et celle de la carence martiale est estimée à 45% [68]. Cette carence martiale est notamment liée à des saignements digestifs et/ou à un défaut d'absorption du fer (secondaire aux troubles du transit et à l'inflammation). Il est admis que cette anémie (et probablement la carence martiale) sont responsables d'une altération de la qualité de vie des patients. Il est donc recommandé de les corriger.

Un algorithme décisionnel a été proposé dans ce contexte [68]. Il repose sur le dosage de la ferritine, de la saturation de la transferrine et de la CRP. Les auteurs retiennent, en l'absence d'anémie, une ferritine basse (< 30 µg/l si CRP < 5mg/l ou < 100 µg/l si CRP > 5 mg/l) comme indicateur d'un traitement martial (dose totale de fer à donner comprise entre 600 et 1000 mg). En présence d'une anémie modérée (Hb ≥ 10 g/dl), les auteurs retiennent un seuil de ferritine <100 µg/l avec une saturation de la transferrine < 20% pour indiquer le traitement martial (dose totale 1300 – 1800 mg) et en présence d'une anémie plus sévère (Hb < 10 g/dl, un seuil de ferritine < 200 µg/l (pour une dose totale ≥ 2000 mg).

On voit, là encore, que les seuils des différents marqueurs pour le diagnostic de carence martiale doivent être modulés en fonction du contexte clinique et du degré d'inflammation. C'est particulièrement vrai pour la ferritinémie.

Carence martiale et anémie du cancer

La place du traitement martial dans l'anémie du cancer est difficile à déterminer actuellement. En effet, jusqu'à récemment, l'utilisation du fer (injectable) semblait nécessaire en association à l'érythropoïétine, sans utiliser de marqueur biologique autre que la réponse médullaire [69] (i.e. le taux d'hémoglobine). Cependant, du fait de modifications récentes des recommandations concernant l'utilisation de l'érythropoïétine la situation actuelle est plus complexe (recommandations des sociétés américaines d'hématologie et d'oncologie [70]). Devant des données récentes montrant une augmentation du risque de thrombose voire une progression tumorale, ces recommandations ont

limité drastiquement les indications de l'EPO en cancérologie [70].

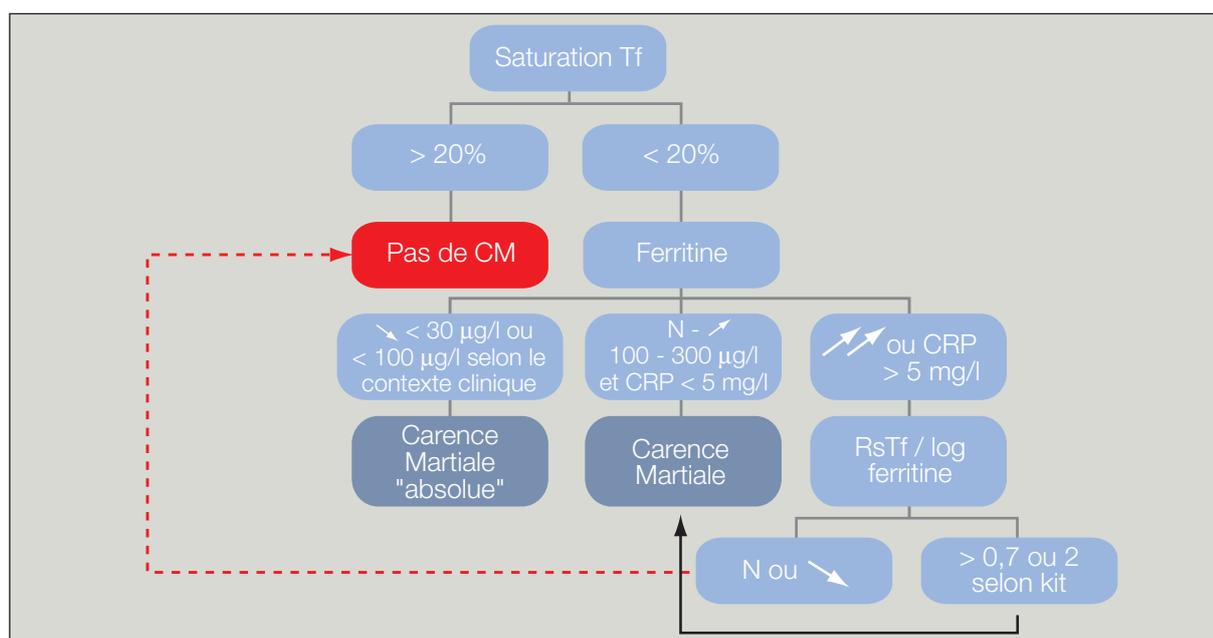
Concernant la carence martiale, il est recommandé de la rechercher en cas d'anémie chez les patients souffrants de cancer. Les marqueurs proposés sont simplement la ferritine, le fer sérique et la saturation de la transferrine. Il n'y a pas de recommandations précises sur les valeurs seuils à utiliser, mais il semble raisonnable de proposer les mêmes valeurs que pour le diagnostic de carence martiale dans les autres anémies inflammatoires (i.e. une ferritine < 100 µg/l et/ou une saturation de la transferrine < 20%). Il semble également légitime de rechercher une carence martiale par le dosage du récepteur soluble de la transferrine et le contenu réticulocytaire en hémoglobine, comme proposé par Thomas et col, en particulier en cas de traitement par EPO [49, 61].

Carence martiale en réanimation

Là encore, le contexte clinique est complexe, associant inflammation et spoliations sanguines et impliquant une régulation complexe du métabolisme du fer en général et de l'hepcidine en particulier [71]. Cependant, les résultats expérimentaux [34, 54] et les données cliniques récentes [72] plaident pour une utilisation possible du fer dans ce contexte.

Le dosage de l'hepcidine sérique est prometteur dans cette situation clinique, une valeur « normale » ou basse permettant de diagnostiquer une carence martiale [58]. Cependant, en l'absence de dosage d'hepcidine disponible, il faut là encore se reposer sur l'utilisation de plusieurs marqueurs biologiques pour faire le diagnostic de la carence martiale soit en utilisant l'index de ferritine (c'est à dire le ratio : RsTf / log(ferritine)), soit au sein d'un algorithme plus complexe utilisant la zinc protoporphyrine [53]. Nous proposons d'utiliser l'algorithme présenté dans la [Figure 1](#), bien qu'il ne soit pas validé cliniquement.

Figure 1: Algorithme diagnostique de la carence martiale (utilisables en présence d'inflammation).



Conclusions

L'inflammation interagit avec le métabolisme du fer par le biais d'une induction de la synthèse de l'hepcidine (hormone « chef d'orchestre » de la régulation du métabolisme du fer), qui conduit à une séquestration du fer au sein des macrophages et à une limitation de son absorption digestive. Parallèlement, à cette induction de synthèse d'hepcidine, l'inflammation induit la synthèse de la ferritine, indépendamment du niveau des réserves en fer, ce qui rend difficile l'évaluation de ces réserves en fer. De nouveaux marqueurs biologiques sont donc nécessaires pour l'évaluation du métabolisme du fer en présence d'inflammation. Parmi ces marqueurs, le récepteur soluble de la transferrine semble le plus simple à utiliser, seul ou au sein d'algorithmes plus complexes, mais le dosage de l'hepcidine est prometteur et pourrait s'imposer dans les années à venir.

Il existe en effet des situations mixtes, associant une carence martiale à l'inflammation. Même si le diagnostic de cette carence martiale est complexe dans ce contexte, il représente un enjeu thérapeutique.

Les champs d'investigations, cliniques et expérimentales, ouverts par la découverte de l'hepcidine et de sa régulation sont donc grands. Cette recherche devrait permettre d'améliorer la prise en charge des patients dans un grand nombre de situations cliniques.

Références bibliographiques

1. Means RT., Jr. Recent developments in the anemia of chronic disease. *Curr Hematol Rep.* 2003 ; 2 : 116-121.
2. Weiss G., Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med.* 2005 ; 352 : 1011-1023.
3. Weiss G. Iron metabolism in the anemia of chronic disease. *Biochim Biophys Acta.* 2008.
4. Bertero MT., Caligaris-Cappio F. Anemia of chronic disorders in systemic autoimmune diseases. *Haematologica.* 1997 ; 82 : 375-381.
5. Beaumont C., Canonne-Hergaux F. [Erythrophagocytosis and recycling of heme iron in normal and pathological conditions ; regulation by hepcidin]. *Transfus Clin Biol.* 2005 ; 12 : 123-130.
6. Cimen MY. Free radical metabolism in human erythrocytes. *Clin Chim Acta.* 2008 ; 390 : 1-11.
7. Moldawer LL., Marano MA., Wei H., *et al.* Cachectin/tumor necrosis factor-alpha alters red blood cell kinetics and induces anemia in vivo. *Faseb J.* 1989 ; 3 : 1637-1643.
8. Millot S., Andrieu V., Letteron P., *et al.* Erythropoietin stimulates spleen BMP4-dependent stress erythropoiesis and partially corrects anemia in a mouse model of generalized inflammation. *Blood.* 2010 ; 116 (26) : 6072-81.
9. Piagnerelli M., Boudjeltia KZ., Brohee D., Vincent JL., Vanhaeverbeek M. Modifications of red blood cell shape and glycoproteins membrane content in septic patients. *Adv Exp Med Biol.* 2003 ; 510 : 109-114.

10. Jongen-Lavrencic M., Peeters HR., Wognum A., Vreugdenhil G., Breedveld FC., Swaak AJ. Elevated levels of inflammatory cytokines in bone marrow of patients with rheumatoid arthritis and anemia of chronic disease. *J. Rheumatol.* 1997 ; 24 : 1504-1509.
11. Van Iperen CE., Gaillard CA., Kraaijenhagen RJ., Braam BG., Marx JJ., Van de Wiel A. Response of erythropoiesis and iron metabolism to recombinant human erythropoietin in intensive care unit patients. *Crit Care Med.* 2000 ; 28 : 2773-2778.
12. Von Ahsen N., Muller C., Serke S., Frei U., Eckardt KU. Important role of nondiagnostic blood loss and blunted erythropoietic response in the anemia of medical intensive care patients. *Crit Care Med.* 1999 ; 27 : 2630-2639.
13. Robinson Y., Hostmann A., Matenov A., Ertel W., Oberholzer A. Erythropoiesis in multiply injured patients. *J Trauma.* 2006 ; 61 : 1285-1291.
14. Reid CD., Prouse PJ., Baptista LC., Gumpel JM., Chanarin I. The mechanism of the anaemia in rheumatoid arthritis : effects of bone marrow adherent cells and of serum on in-vitro erythropoiesis. *Br J Haematol.* 1984 ; 58 : 607-615.
15. Wu JC., Livingston DH., Hauser CJ., Deitch EA., Rameshwar P. Trauma inhibits erythroid burst-forming unit and granulocyte-monocyte colony-forming unit growth through the production of TGF-beta1 by bone marrow stroma. *Ann Surg.* 2001 ; 234 : 224-232.
16. Rogiers P., Zhang H., Leeman M., *et al.* Erythropoietin response is blunted in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 1997 ; 23 : 159-162.
17. Noe G., Augustin J., Hausdorf S., Rich IN., Kubanek B. Serum erythropoietin and transferrin receptor levels in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 1995 ; 13 : 445-451.
18. Nicolas G., Bennoun M., Devaux I., *et al.* Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 ; 98 : 8780-8785.
19. Nicolas G., Chauvet C., Viatte L., *et al.* The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest.* 2002 ; 110 : 1037-1044.
20. Andrews NC. Anemia of inflammation : the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest.* 2004 ; 113 : 1251-1253.
21. Locke A., Main E., Rosbach D. The copper and non-hemoglobinous iron contents of the blood serum in disease. *J Clin Invest.* 1932 ; 11 : 527-542.
22. Torti FM., Torti SV. Regulation of ferritin genes and protein. *Blood.* 2002 ; 99 : 3505-3516.
23. Fahmy M., Young SP. Modulation of iron metabolism in monocyte cell line U937 by inflammatory cytokines : changes in transferrin uptake, iron handling and ferritin mRNA. *Biochem J.* 1993 ; 296 (Pt 1) : 175-181.
24. Nemeth E., Rivera S., Gabayan V., *et al.* IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest.* 2004 ; 113 : 1271-1276.
25. Kemna E., Pickkers P., Nemeth E., Van der Hoeven H., Swinkels D. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood.* 2005 ; 106 : 1864-1866.
26. Nemeth E., Valore EV., Territo M., Schiller G., Lichtenstein A., Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood.* 2003 ; 101 : 2461-2463.
27. Kemna E., Tjalsma H., Laarakkers C., Nemeth E., Willems H., Swinkels D. Novel urine hepcidin assay by mass spectrometry. *Blood.* 2005.
28. Pietrangelo A., Dierssen U., Valli L., *et al.* STAT3 is required for IL-6-gp130-dependent activation of hepcidin *in vivo*. *Gastroenterology.* 2007 ; 132 : 294-300.

29. Verga Falzacappa MV, Vujic Spasic M., Kessler R., Stolte J., Hentze MW., Muckenthaler MU. STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation. *Blood*. 2007 ; 109 : 353-358.
30. Wrighting DM., Andrews NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood*. 2006 ; 108 : 3204-3209.
31. Nemeth E., Tuttle MS., Powelson J., *et al.* Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*. 2004 ; 306 : 2090-2093.
32. Constance M., Wang D., Raymond VA., Bilodeau M., Santos MM. Repression of repulsive guidance molecule C during inflammation is independent of Hfe and involves tumor necrosis factor-alpha. *Am J Pathol*. 2007 ; 170 : 497-504.
33. Ludwiczek S., Aigner E., Theurl I., Weiss G. Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells. *Blood*. 2003 ; 101 : 4148-4154.
34. Lasocki S., Millot S., Andrieu V., *et al.* Phlebotomies or erythropoietin injections allow mobilization of iron stores in a mouse model mimicking intensive care anemia. *Crit Care Med*. 2008 ; 36 : 2388-2394.
35. Goodnough LT., Nemeth E., Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood*. 2010.
36. assessing the iron status of populations. World Health Organization. 2004.
37. Kalantar-Zadeh K., Kalantar-Zadeh K., Lee GH. The fascinating but deceptive ferritin: to measure it or not to measure it in chronic kidney disease ? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006 ; 1 Suppl 1 : S9-18.
38. Harrison PM., Arosio P. The ferritins : molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta*. 1996 ; 1275 : 161-203.
39. Worwood M. Serum ferritin. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci*. 1979 ; 10 : 171-204.
40. Guyatt GH., Oxman AD., Ali M., Willan A., McIlroy W., Patterson C. Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia : an overview. *J Gen Intern Med*. 1992 ; 7 : 145-153.
41. Rogers JT., Bridges KR., Durmowicz GP., Glass J, Auron PE., Munro HN. Translational control during the acute phase response. Ferritin synthesis in response to interleukin-1. *J Biol Chem*. 1990 ; 265 : 14572-14578.
42. Worwood M. Ferritin in human tissues and serum. *Clin Haematol*. 1982 ; 11 : 275-307.
43. Hallberg L., Bengtsson C., Lapidus L., Lindstedt G., Lundberg PA., Hulten L. Screening for iron deficiency: an analysis based on bone-marrow examinations and serum ferritin determinations in a population sample of women. *Br J Haematol*. 1993 ; 85 : 787-798.
44. Bentley DP., Williams P. Serum ferritin concentration as an index of storage iron in rheumatoid arthritis. *J Clin Pathol*. 1974 ; 27 : 786-788.
45. Tessitore N., Solero GP., Lippi G., *et al.* The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant*. 2001 ; 16 : 1416-1423.
46. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem*. 2003 ; 49 : 1573-1578.
47. Bellamy MC., Gedney JA. Unrecognised iron deficiency in critical illness. *Lancet*. 1998 ; 352 : 1903.
48. Fernandez R., Tubau I., Masip J., Munoz L., Roig I., Artigas A. Low reticulocyte hemoglobin content is associated with a higher blood transfusion rate in critically ill patients : a cohort study. *Anesthesiology*. 2010 ; 112 : 1211-1215.
49. Thomas C., Kirschbaum A., Boehm D., Thomas L. The diagnostic plot: a concept for identifying different states of iron deficiency and monitoring the response to epoetin therapy. *Med Oncol*. 2006 ; 23 : 23-36.

50. Wish JB. Assessing iron status : beyond serum ferritin and transferrin saturation. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006 ; 1 Suppl 1 : S4-8.
51. Suominen P., Punnonen K., Rajamaki A., Irlala K. Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits. *Blood.* 1998 ; 92 : 2934-2939.
52. Labbe RF., Vreman HJ., Stevenson DK. Zinc protoporphyrin : A metabolite with a mission. *Clin Chem.* 1999 ; 45 : 2060-2072.
53. Pieracci FM., Barie PS. Diagnosis and management of iron-related anemias in critical illness. *Crit Care Med.* 2006 ; 34 : 1898-1905.
54. Theurl I., Aigner E., Theurl M., *et al.* Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: diagnostic and therapeutic implications. *Blood.* 2009.
55. Kroot JJ., Kemna EH., Bansal SS., *et al.* Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. *Haematologica.* 2009 ; 94 : 1748-1752.
56. Cheng PP., Jiao XY., Wang XH., Lin JH., Cai YM. Heparin expression in anemia of chronic disease and concomitant iron-deficiency anemia. *Clin Exp Med.* 2010 ; 11 (1) : 33-42.
57. Thomas C., Kobold U., Thomas L. Serum hepcidin-25 in comparison to biochemical markers and hematological indices for the differentiation of iron-restricted erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med.* 2011 ; 49 : in press.
58. Lasocki S., Baron G., Driss F., *et al.* Diagnostic accuracy of serum hepcidin for iron deficiency in critically ill patients with anemia. *Intensive Care Med.* 2010 ; 36 : 1044-1048.
59. Ganz T., Olbina G., Girelli D., Nemeth E., Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood.* 2008 ; 112 : 4292-4297.
60. Kroot JJ., Laarakkers CM., Geurts-Moespot AJ., *et al.* Immunochemical and mass-spectrometry-based serum hepcidin assays for iron metabolism disorders. *Clin Chem.* 2010 ; 56 : 1570-1579.
61. Thomas C., Thomas L. Anemia of chronic disease : pathophysiology and laboratory diagnosis. *Lab Hematol.* 2005 ; 11 : 14-23.
62. Theusinger OM., Leyvraz PF., Schanz U., Seifert B., Spahn DR. Treatment of iron deficiency anemia in orthopedic surgery with intravenous iron : efficacy and limits: a prospective study. *Anesthesiology.* 2007 ; 107 : 923-927.
63. Sakiewicz P., Paganini E. The use of iron in patients on chronic dialysis : mistake and misconceptions. *J Nephrol.* 1998 ; 11 : 5-15.
64. Ashby DR., Gale DP., Busbridge M., *et al.* Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int.* 2009 ; 75 : 976-981.
65. Coyne D. Iron indices : what do they really mean ? *Kidney Int Suppl.* 2006 : S4-8.
66. Kalantar-Zadeh K., Regidor DL., McAllister CJ., Michael B., Warnock DG. Time-dependent associations between iron and mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* 2005 ; 16 : 3070-3080.
67. Kovesdy CP., Estrada W., Ahmadzadeh S., Kalantar-Zadeh K. Association of markers of iron stores with outcomes in patients with nondialysis-dependent chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009 ; 4 : 435-441.
68. Munoz M., Gomez-Ramirez S., Garcia-Erce JA. Intravenous iron in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2009 ; 15 : 4666-4674.
69. Auerbach M., Ballard H., Glaspy J. Clinical update: intravenous iron for anaemia. *Lancet.* 2007 ; 369 : 1502-1504.

70. Rizzo JD., Brouwers M., Hurley P., *et al.* American Society of Hematology/American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update on the use of epoetin and darbepoetin in adult patients with cancer. *Blood*. 2010.
71. Lasocki S., Longrois D., Montravers P., Beaumont C. Heparin and anemia of the critically ill patient. *Anesthesiology*. 2011 ; 114 (3) : 688-694.
72. Pieracci FM., Henderson P., Rodney JRv, *et al.* Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of effects of enteral iron supplementation on anemia and risk of infection during surgical critical illness. *Surg Infect (Larchmt)*. 2009 ; 10 : 9-19.



**Anémies microcytaires rares
liées à des anomalies
du métabolisme du fer**

Bernard Grandchamp

CHAPITRE VI

Introduction

Les anémies microcytaires, caractérisées par un volume globulaire moyen inférieur à 80fL, résultent généralement d'une anomalie de synthèse de l'hémoglobine. Les formes les plus habituelles sont dues à une carence en fer alimentaire et touchent une partie importante de la population mondiale, particulièrement dans les pays en voie de développement. A côté de ces formes fréquentes qui relèvent d'une supplémentation en fer, il existe des formes beaucoup plus rares d'origine génétique. Certaines sont relativement bien connues : les thalassémies, d'autres beaucoup plus rares et de découverte plus récente, sont dues à des anomalies de l'absorption ou de l'utilisation du fer. Leur diagnostic ne doit donc être envisagé qu'après exclusion des causes les plus communes d'anémie microcytaires. La notion de maladie « familiale » est retrouvée de façon très inconstante du fait du mode de transmission dans les formes récessives et de la petite taille de beaucoup de familles. Dans un nombre de cas croissant, l'analyse des gènes en cause peut confirmer et préciser le diagnostic et participer à une prise en charge adaptée. Par ailleurs, ces anomalies rares confirment le rôle fonctionnel de gènes récemment identifiés et codant pour des protéines impliquées dans le métabolisme du fer. Ces anomalies soulignent également les liens qui existent entre synthèse d'hème et métabolisme du fer. Nous distinguerons deux groupes de maladies selon qu'il existe ou non une accumulation de fer dans les érythroblastes : anémies sidéroblastiques et non sidéroblastiques ([Tableau 1](#)).

Tableau 1: caractéristiques des anémies microcytaires rares.

XR = lié à l'X récessif, AR = autosomique récessif.

	Sidéroblastiques			Non sidéroblastiques		
Gène en cause	<i>ALAS2</i>	<i>SLC25A38</i>	<i>TF</i>	<i>CP</i>	<i>DMT1</i>	<i>TMPRSS6</i>
Mode de transmission	XR	AR	AR	AR	AR	AR
Fonction de la protéine	Synthèse de l'hème	Synthèse de l'hème	Transport du fer plasmatique	Oxydation du fer	Transport membranaire du fer	Régulation de l'hépcidine
Fer sérique et saturation de la transferrine	augmenté	augmenté	Diminué Absence de transferrine	diminué	diminué	Très diminué
Ferritine	augmenté	augmenté	augmenté	augmenté	Normale ou augmentée	Normale ou diminuée
Surcharge parenchymateuse	++ à +++	+++	+++	+++ (foie, SNC)	++ (foie)	-
Traitement	pyridoxine	Grefe de moelle	Transferrine/ plasma frais	Ceruloplasmine/ plasma frais	erythropoïétine	Fer IV

Pour chaque maladie sera indiqué le numéro dans la base de données OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) consultable sur internet : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>.

Les anémies sidéroblastiques [1]

Il s'agit d'un groupe hétérogène de maladies défini par la présence de sidéroblastes en couronne dans la moelle osseuse. Lorsqu'il existe un trouble de la synthèse de la protoporphyrine, précurseur direct de l'hème, le fer s'accumule dans les mitochondries et une coloration spécifique du fer sur le myélogramme permet de voir des dépôts de fer périnucléaires dans les érythroblastes, caractéristiques des sidéroblastes en anneau (ring sideroblasts). A côté des formes acquises, probablement les plus fréquentes (syndrome myélodysplasique, carence en pyridoxine, causes toxiques), il existe des formes congénitales d'origine génétique qui sont soit isolées, soit syndromiques.

Formes syndromiques

Les formes syndromiques traduisent le plus souvent un dysfonctionnement mitochondrial consécutif à des anomalies de l'ADN mitochondrial ou à des mutations récessives de gènes nucléaires codant pour des protéines mitochondriales. Il est à noter que l'anémie est macrocytaire plutôt que microcytaire à l'exception de la Myopathie, Acidose Lactique Anémie Sidéroblastique 1 (OMIM 600462) et de l'anémie sidéroblastique et ataxie (OMIM301310). Ces formes syndromiques peuvent associer des anomalies de développement, des défauts neurosensoriels, un diabète, une myopathie. Dans tous les cas, excepté l'anémie sidéroblastique et ataxie liée à l'X, il existe des signes de cytopathie mitochondriale avec une élévation du rapport lactate/pyruvate sanguin.

Formes non syndromiques

Anémie sidéroblastique congénitale liée à l'X (OMIM #300751)

Parmi les formes d'anémie sidéroblastique congénitale non syndromique, la forme la mieux connue est transmise sur le mode récessif lié à l'X et implique des mutations du gène *ALAS2* qui code pour l'isoforme érythroïde-spécifique de la première enzyme de synthèse de l'hème, l'acide delta aminolevulinique (ALA) synthase. En accord avec la localisation sur le chromosome X du gène *ALAS2*, les sujets atteints sont le plus souvent des garçons tandis que les filles atteintes ont toutes un biais d'inactivation du chromosome X. Une quarantaine de mutations, pour la plupart privées, ont été décrites à ce jour (<http://www.hgmd.cf.ac.uk>). Le degré d'anémie ainsi que l'âge de découverte sont très variables. Environ 2/3 des patients sont sensibles au traitement par la pyridoxine (précurseur du phosphate de pyridoxal qui est le coenzyme de l'*ALAS2*). La constitution d'une surcharge en fer,

même en l'absence de transfusions, est pratiquement constante et représente une complication importante nécessitant le traitement par des chélateurs du fer. Il semble d'ailleurs que la déplétion en fer améliore l'érythropoïèse et corrige, au moins partiellement, l'anémie. La surcharge en fer résulte d'une augmentation de l'absorption du fer lié à une diminution d'hépcidine et, peut être également à un mécanisme de dérégulation du système IRP qui conduirait à une augmentation du récepteur de la transferrine sur les érythroblastes.

Anémie sidéroblastique congénitale autosomale récessive (OMIM #205950)

Plusieurs cas d'anémie sidéroblastique congénitale sporadique ou familiale, avaient été décrits en l'absence de mutation *ALAS2*, suggérant que d'autres gènes pouvaient être en cause. Une mutation homozygote du gène *GLRX5* a été rapportée en 2007 chez un patient italien [2], mais ce cas reste unique à ce jour. Récemment, l'étude de familles canadiennes originaires des provinces maritimes a permis à une équipe de Boston de localiser une région d'intérêt par cartographie des régions du génome homozygotes, en faisant l'hypothèse d'une transmission récessive et d'un effet fondateur. Le séquençage des gènes situés dans la région d'homozygotie commune aux différentes familles a permis d'identifier la même mutation nonsense du gène *SLC25A38* chez les trois enfants atteints [3]. Cette équipe a ensuite trouvé des mutations bialléliques du gène *SLC25A38* chez 11 cas index [3] et ces résultats ont été confirmés sur une autre série de patients [4].

SLC25A38 est un gène exprimé préférentiellement dans les érythroblastes. Son rôle dans l'érythropoïèse a été confirmé chez le poisson zèbre. *SLC25A38* fait partie d'une famille de gènes codant pour des transporteurs présents dans la membrane interne mitochondriale. Son homologie structurale avec d'autres membres de la famille *SCL25* suggère que le produit de *SLC25A38* est impliqué dans le transport d'acides aminés ou de molécules apparentées. L'inactivation de l'orthologue de *SLC25A38* chez *Saccharomyces cerevisiae* entraîne un défaut de synthèse d'hème qui est corrigé par l'addition d'ALA ou de glycine au milieu de culture. Il est donc vraisemblable que le transporteur codé par *SLC25A38* intervienne dans le transport mitochondrial de l'ALA vers le cytoplasme ou l'import de la glycine dans la mitochondrie (ou les deux dans l'hypothèse d'un échange).

Le phénotype associé aux mutations de *SCL25A38* est très voisin de celui retrouvé dans les cas de mutation *ALAS2* : l'anémie sidéroblastique est microcytaire, peu régénérative et associée à une surcharge en fer. La physiopathologie est commune et fait intervenir un défaut d'utilisation et une accumulation du fer mitochondrial dans les érythroblastes, consécutifs à une anomalie de synthèse de l'ALA, précurseur de l'hème. Cependant, dans tous les cas avec mutation de *SLC25A38*, l'anémie est sévère, insensible au traitement par la pyridoxine et les patients sont tous dépendant des transfusions avec pour seul traitement curatif à ce jour, la greffe de moëlle.

Depuis 2002, sur une série de 32 patients présentant une anémie sidéroblastique non syndromique, notre laboratoire a identifié des mutations du gène *ALAS2* chez 17 cas index (52 % des cas), du gène *SLC25A38* chez 5 patients (15% des cas) et aucune mutation du gène *GLRX5*. Dans une proportion relativement élevée de patients aucune anomalie génétique n'a pu être identifiée (32% dans notre série, 43% la série américaine [4]) suggérant l'implication d'autres gènes encore non identifiés dans les formes non syndromiques d'anémie sidéroblastique congénitale (Human Mutation, sous presse).

Anémies microcytaires non sidéroblastiques [5]

Plusieurs maladies rares d'origine génétique ont pour conséquence un défaut de disponibilité du fer pour l'érythropoïèse et entraînent une anémie microcytaire hypochrome. Il peut s'agir d'un défaut de transport du fer ou bien d'un défaut de régulation de l'absorption intestinale et des mouvements du fer dans l'organisme, illustrant d'une part le rôle de protéines impliquées d'une part dans le transport du fer (transporteurs et d'oxydo-réductases) et d'autre part le rôle régulateur de l'hepcidine.

Atransferrinémie ou d'hypotransferrinémie (OMIM #209300)

De rares cas de déficit en transferrine (moins d'une dizaine), hérités sur le mode autosomique récessif ont été rapportés. Il existe chez ces patients un retard de croissance, des infections intercurrentes et une anémie sévère due à un défaut d'apport du fer lié à la transferrine aux érythroblastes contrastant avec une surcharge en fer parenchymateuse massive (foie, cœur, pancréas, thyroïde, articulations). Il est vraisemblable que cette surcharge s'explique par augmentation de l'absorption intestinale du fer, consécutive à une répression de l'hepcidine du fait de l'anémie. Du fait de l'absence ou de la diminution de la transferrine, le fer absorbé se trouve sous forme de fer non lié à la transferrine et est rapidement capté par les différents tissus. Le traitement est substitutif et consiste à injecter régulièrement du plasma ou de la transferrine.

Acéruлоplasmie congénitale (OMIM #604290)

L'acéruлоplasminémie est une maladie rare transmise également sur le mode autosomique récessif qui se caractérise par une anémie microcytaire associée à une surcharge en fer et une dégénérescence neuronale progressive. La céruloplasmine est une oxydase du fer indispensable pour le passage du fer exporté par les cellules sur l'apotransferrine. En l'absence de céruloplasmine, le fer reste séquestré de manière préférentielle dans certains types cellulaires (particulièrement les hépatocytes, les cellules pancréatiques, les cellules du système réticulo-endothélial et certains neurones) entraînant les autres signes de la maladie : ataxie, démence, diabète, dégénérescence rétinienne. La concentration sérique du fer est faible, la ferritine élevée ainsi que la concentration hépatique en fer. Le diagnostic est fortement suspecté par les résultats de l'IRM qui reflète l'accumulation de fer dans le cerveau et le foie et confirmé par l'absence ou la très forte diminution de céruloplasmine sanguine. Le traitement chélateur peut être utilisé si l'anémie est modérée (plus de 9 g/dL d'hémoglobine) et combiné avec la transfusion de plasma frais qui apporte de la céruloplasmine.

Déficit en DMT1 (OMIM #206100)

Le déficit de DMT1 est à l'origine de formes autosomiques récessives d'anémie microcytaire. Il s'agit d'un transporteur membranaire du fer ferreux impliqué d'une part dans l'absorption intestinale et d'autre part dans son utilisation par les érythroblastes : en effet, DMT1 permet la sortie du fer de l'endosome après l'internalisation des complexes fer-transferrine. Des mutations de DMT1, initialement mises en évidence chez la souris mk ont été trouvées dans un petit nombre de familles (5 cas décrits dans la littérature). Curieusement, contrairement à la souris mk, les patients présentent une surcharge hépatique en fer. Leur anémie peut être partiellement corrigée par l'administration d'érythropoïétine qui semble également diminuer la surcharge en fer.

IRIDA (OMIM #206200)

Très récemment, plusieurs publications ont montré que des mutations du gène *TMPRSS6* codant pour la matriptase-2 étaient à l'origine d'une forme génétique d'anémie microcytaire résistante au traitement par le fer oral (IRIDA pour Iron Resistant Iron Deficiency Anemia) et transmise sur le mode autosomique récessif (voir [6] pour revue). La matriptase-2 est une serine protéase membranaire de type 2 qui régule négativement l'expression de l'hepcidine en dégradant l'hémojuvéline, protéine membranaire présente à la surface des hépatocytes et nécessaire pour l'expression de l'hepcidine (voir Chapitre 2). Le diagnostic peut être suspecté devant une anémie microcytaire avec un fer sérique très diminué, en l'absence de carence d'apport en fer chez un jeune enfant. L'absence de carence en fer est confirmée par le test thérapeutique de supplémentation en fer oral qui ne corrige pas l'anémie (ou ne la corrige que partiellement). La ferritine sérique est souvent basse mais parfois également normale, particulièrement chez des enfants qui ont déjà reçu un traitement par le fer. Le dosage d'hepcidine sérique ou urinaire montre des valeurs qui sont élevées compte tenu de l'anémie. Dans plusieurs études, l'administration de fer IV à des doses relativement élevées entraîne une augmentation de la ferritine sérique puis une amélioration hématologique à long terme (plusieurs mois à plusieurs années) avec une correction de l'hémoglobine malgré la persistance d'une saturation de la transferrine faible et d'une microcytose. Il semble que les besoins en fer IV pour corriger l'anémie aient tendance à diminuer avec l'âge.

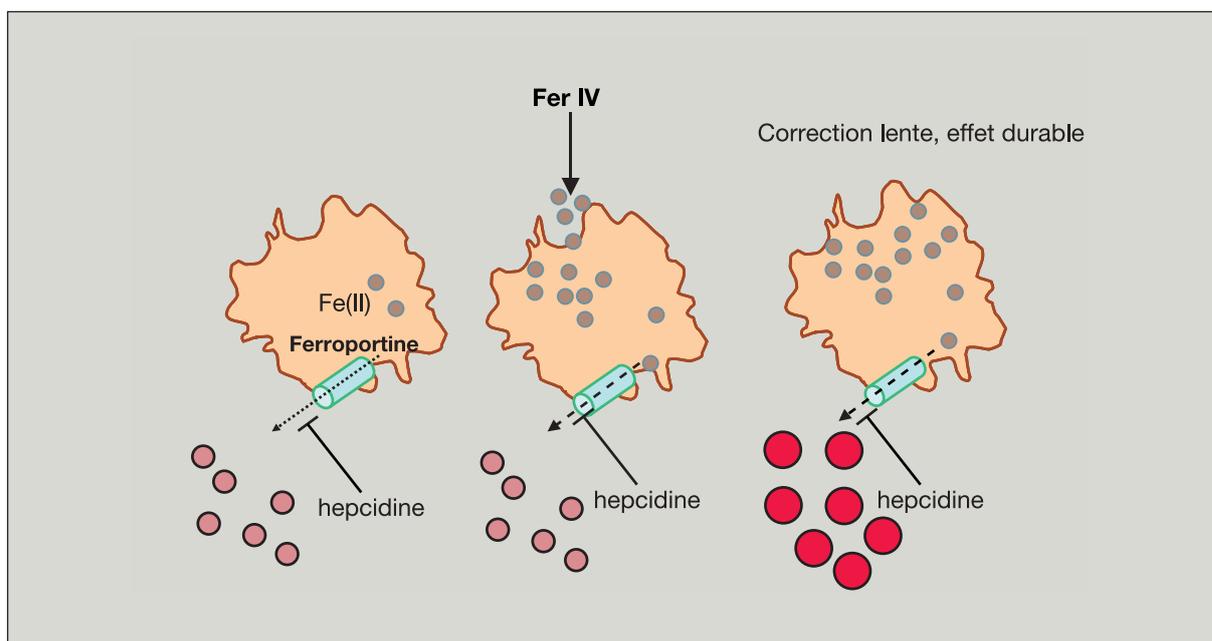
Ces observations indiquent que :

- le défaut d'absorption du fer joue un rôle majeur dans l'apparition de l'anémie chez le jeune enfant, particulièrement dans l'enfance où les réserves en fer doivent normalement se constituer.
- Ce défaut d'absorption est circonvenu par l'administration de fer IV. Celui-ci est capable de restaurer les réserves en fer et d'assurer une correction de l'anémie à long terme malgré un fer sérique restant anormalement bas. En effet, le fer administré par voie intraveineuse est initialement capté par les cellules macrophagiques puis, malgré la présence d'une concentration d'hepcidine augmentée, est lentement relâché dans la circulation (voir figure 1) et utilisé par les cellules érythropoïétiques. Les caractéristiques de l'IRIDA traitée par le fer IV rappellent celles de l'anémie des états inflammatoires

chroniques qui sont également caractérisées par la coexistence de réserves en fer macrophagiques et d'une saturation basse de la transferrine.

Figure 1 : Efficacité du fer intraveineux dans les IRIDA. L'excès d'hépcidine est responsable d'une diminution de l'absorption du fer et des réserves macrophagiques. Le fer intraveineux est rapidement capté par les macrophages puis lentement relâché dans le plasma permettant une correction de l'anémie.

De façon intéressante, des polymorphismes communs du gène *TMPRSS6* sont associés, dans la population générale au volume globulaire moyen et à la concentration d'hémoglobine, en dehors de toute pathologie [7-11]. Ces données suggèrent que pour un même apport alimentaire en fer, certains sujets développent plus que d'autres une carence martiale.



Références bibliographiques

1. Camaschella C. Recent advances in the understanding of inherited sideroblastic anaemia. *Br J Haematol.* 2008 ; 143 : 27-38.
2. Camaschella C., Campanella A., De Falco L., *et al.* The human counterpart of zebrafish shiraz shows sideroblastic-like microcytic anemia and iron overload. *Blood.* 2007 ; 110 : 1353-1358.
3. Guernsey DL., Jiang H., Campagna DR., *et al.* Mutations in mitochondrial carrier family gene SLC25A38 cause nonsyndromic autosomal recessive congenital sideroblastic anemia. *Nat Genet.* 2009 ; 41 : 651-653.
4. Bergmann AK., Campagna DR., McLoughlin EM., *et al.* Systematic molecular genetic analysis of congenital sideroblastic anemia : evidence for genetic heterogeneity and identification of novel mutations. *Pediatr Blood Cancer ;* 54 : 273-278.
5. Iolascon A., De Falco L., Beaumont C. Molecular basis of inherited microcytic anemia due to defects in iron acquisition or heme synthesis. *Haematologica.* 2009 ; 94 : 395-408.
6. Finberg KE. Iron-refractory iron deficiency anemia. *Semin Hematol.* 2009 ; 46 : 378-386.
7. Delbini P., Vaja V., Graziadei G., *et al.* Genetic variability of TMPRSS6 and its association with iron deficiency anaemia. *Br J Haematol ;* 151 : 281-284.
8. Kullo IJ., Ding K., Jouni H., Smith CY., Chute CG. A genome-wide association study of red blood cell traits using the electronic medical record. *PLoS One ;* 5.
9. Riley LG., Cooper S., Hickey P., *et al.* Mutation of the mitochondrial tyrosyl-tRNA synthetase gene, YARS2, causes myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia--MLASA syndrome. *Am J Hum Genet ;* 87 : 52-59.
10. Soranzo N., Sanna S., Wheeler E., *et al.* Common variants at 10 genomic loci influence hemoglobin A(C) levels via glyceemic and nonglyceemic pathways. *Diabetes ;* 59 : 3229-3239.
11. Tanaka T., Roy CN., Yao W., *et al.* A genome-wide association analysis of serum iron concentrations. *Blood ;* 115 : 94-96.

Fer
et maladies infectieuses

Bernard Grandchamp

CHAPITRE VII

Introduction

Il existe une abondante littérature sur les relations entre métabolisme du fer et maladies infectieuses. Le fer est, en effet, un élément indispensable à la survie de la plupart des microorganismes et ceux-ci ont développé des stratégies de captation du fer très diversifiées. Les agents pathogènes (bactéries, parasites, virus) ont du s'adapter pour détourner les différentes formes du fer qui existent chez leurs hôtes à leur profit. En retour, dans le conflit génomique, qui oppose les agents infectieux et leurs hôtes, ces derniers ont développé une série de mécanismes qui rendent le fer indisponible aux pathogènes, tout en permettant son utilisation pour leurs besoins propres.

Hôte	Pathogènes
<p>Le fer est hautement compartimenté et fortement pris en charge par des protéines qui le rendent indisponibles pour les microorganismes</p> <p>Les concentrations de fer libre sont très faibles ($<10^{-24}$ mol/L)</p> <p>Au cours de la réaction inflammatoire aiguë, l'absorption intestinale du fer et son export à partir des macrophages est inhibée</p> <p>La déficience et la surcharge en fer peuvent moduler les réactions immunes</p>	<p>Le fer est essentiel pour la survie des pathogènes qui ont développé des systèmes de captation du fer extrêmement divers</p> <p>Les sidérophores bactériens ont une affinité extrêmement forte pour le fer (10^{-52} mol/L pour l'entérobactine).</p> <p>Chez les bactéries, les gènes impliqués dans l'acquisition du fer sont fréquemment regroupés dans les îlots de pathogénicité du génome.</p>

Pour tenter de résumer les connaissances sur le sujet nous envisagerons deux aspects de la question : dans un premier temps, les bases théoriques et études expérimentales sur des modèles cellulaires et animaux puis, dans un second temps, les données épidémiologiques : études observationnelles et études d'intervention.

Bases théoriques et données expérimentales

Les relations entre métabolisme du fer et pathogènes s'exercent à deux niveaux : d'une part, celui d'une « lutte » pour le fer dont les microorganismes ont besoin et que l'organisme infecté va s'efforcer de leur soustraire et d'autre part, au niveau des liens étroits qui existent en immunité et homéostasie du fer.

Lutte pour le fer [1-4]

Pour des pathogènes cellulaires (bactéries, parasites) la captation du fer par les microorganismes est un enjeu majeur de survie et de nombreuses « parades » de l'hôte consistent à rendre le fer de l'organisme indisponible. Ainsi, la synthèse de ligands du fer de haute affinité par les cellules peut être considérée comme une défense non spécifique anti-infectieuse déjouant les mécanismes bactériens de captation du fer par les agents pathogènes.

La lactoferrine, sécrétée dans le lait et dans de nombreuses autres sécrétions externes, est également sécrétée par les granules des polynucléaires neutrophiles. Elle appartient à la même famille que d'autres protéines fixant le fer comme la transferrine et l'ovotransferrine, protéines largement distribuées chez de nombreuses espèces. La lactoferrine fixe deux atomes de fer par molécule et relâche ces atomes à un pH beaucoup plus bas que ne le fait la transferrine ; cela pourrait expliquer sa fonction au niveau de foyers infectieux où, à faible pH, elle peut encore fixer le fer, le rendant ainsi indisponible pour la croissance bactérienne ; il faut cependant noter que certaines bactéries sécrètent dans le milieu des sidérophores de très haute affinité pour le fer (catéchols et hydroxamates), qui extraient le fer de la lactoferrine ; le complexe ainsi formé est internalisé et le fer délivré à l'intérieur de la bactérie.

La lipocaline 2 (NGal) est une petite molécule sécrétée par différents tissus (rein, poumon, polynucléaires neutrophiles) qui se lie à des ligands de faible poids moléculaire dont des sidérophores bactériens se complexant au fer ferrique avec une grande affinité. De façon intéressante, les souris dont le gène NGAL a été inactivé présentent une sensibilité accrue aux souches bactériennes de différentes espèces utilisant l'entérobactine comme sidérophores, dont certaines souches d'E coli [5].

Des modifications de la compartimentation cellulaire du fer interviennent au cours de la réaction inflammatoire : l'induction de l'hepcidine par l'IL6 et par la voie TLR4 conduit à un blocage de la sortie du fer des macrophages et à une diminution de son absorption intestinale entraînant une hyposidérémie ([voir Chapitre 2](#)). Il est, à cet égard, tout à fait intéressant d'observer que l'hepcidine a été initialement identifiée comme un peptide antibactérien et que même si, chez les mammifères, cette fonction est remise en question, les homologues d'autres espèces, comme de nombreux poissons, ont conservé cette activité anti-infectieuse directe. Si cette « réaction » de l'hôte est efficace, comme l'indique à contrario l'étude des modèles animaux où ces mécanismes sont inactivés ou encore, dans certains cas, l'étude de la pathologie génétique humaine, elle peut aussi, lorsque des

pathogènes ont acquis des mécanismes qui mettent en défaut ces défenses, se révéler délétère : ainsi, les bactéries intracellulaires qui infectent les macrophages peuvent tirer bénéfice de l'augmentation de la concentration en fer macrophagique favorisée par la réaction inflammatoire. En retour, il est établi que Nramp1, transporteur du fer, agit en exportant le fer du phagosome et en prive les bactéries qui se multiplient dans ce compartiment [6]. Au sein du macrophage, l'expression de Nramp1, régulée positivement par l'interféron- γ , joue donc ainsi un rôle dans la défense contre des bactéries intracellulaires comme les salmonelles, les mycobactéries et les clamidia. Nramp1 avait d'ailleurs été initialement identifié par une approche de génétique positionnelle chez la souris basée sur des différences de sensibilité aux pathogènes intracellulaires entre lignées de souris : les souris qui ont une mutation inactivatrice de ce gène sont sensibles aux infections par des germes intracellulaires tandis que la présence de Nramp1 leur permet de contrôler la prolifération intracellulaire de ces microorganismes. Plusieurs études ont montré, chez l'homme, une association entre des polymorphismes génétiques de Nramp1 et la susceptibilité à la tuberculose [7] bien que ces résultats n'aient pas été confirmés dans d'autres études [8].

Pour les virus, qui utilisent pour leur réplication la machinerie cellulaire des hôtes qu'ils infectent, la disponibilité du fer dans les cellules infectées semble également jouer un rôle important dans le cycle réplicatif [2].

Ainsi, plusieurs étapes de la réplication du virus HIV-1 dépendent du fer. Par exemple, la transcription de l'ADN proviral est initiée par le facteur NF-KB. Le fer active NF-KB dans les macrophages par génération de formes activées de l'oxygène et activation de I-KB kinase. La protéine virale Nef, modifie la localisation de la protéine HFE en déroutant cette protéine au cours de son adressage membranaire vers l'appareil de Golgi et il en résulte une accumulation de fer dans les macrophages. L'action de Nef sur HFE suggère que le virus a développé des moyens de favoriser un environnement riche en fer propice à sa propagation. Le traitement de macrophages et de lymphocytes CD4+ en culture par de l'hepcidine induit, en empêchant l'export du fer cellulaire par la ferroportine, une augmentation de la production virale tandis que la réplication du virus est diminuée dans les cultures cellulaires en présence d'un chélateur du fer (desferrioxamine) qui bloque NF-KB.

Dans le cas du virus de l'hépatite C, la suppression d'hepcidine observée au cours de l'infection pourrait être liée à la production d'espèces réactives de l'oxygène promue par le virus. L'étude d'un modèle de souris transgéniques exprimant la polyprotéine virale a montré qu'il existait une diminution de l'expression de l'hepcidine hépatique conduisant à une surcharge en fer, un stress oxydatif accru et un risque d'hépatocarcinome. Les études sur cellules en culture ont produit des résultats parfois contradictoires : augmentation de l'expression des gènes viraux pour certains, diminution de la réplication virale pour d'autres. L'évolution du virus C qui conduit à une diversification en « quasi-espèces » est de mauvais pronostic. Il est possible que la production d'espèces activées de l'oxygène, en augmentant le taux de mutation, favorise, conjointement avec la pression immunologique cette évolution.

Certains virus utilisent le récepteur-1 de la transferrine pour pénétrer dans les cellules : ainsi, les Arénovirus qui infectent les rongeurs mais sont également responsables de fièvres hémorragiques

chez l'homme, expriment une glycoprotéine de surface qui se lie au récepteur de la transferrine, ce récepteur étant surexprimé dans les cellules qui prolifèrent, il est possible que le virus y trouve un avantage répliatif.

Immunité et métabolisme du fer [3, 9]

Il existe des interactions entre métabolisme du fer et immunité. Une accumulation de fer cellulaire, principalement macrophagique, est associée à l'inflammation chronique dans de nombreux tissus. Le fer intracellulaire module la sécrétion de cytokines et, en retour, les protéines de la phase aiguë de l'inflammation, dont les cytokines inflammatoires, contrôlent l'homéostasie du fer au niveau de l'organisme et au niveau cellulaire. Ces influences réciproques sont brièvement illustrées par quelques exemples. La stimulation de macrophages par le LPS ou le TNF- α induit une augmentation transitoire du fer « libre » intracellulaire qui précède l'activation de NF-KB(10). Les chélateurs du fer, en diminuant le fer libre intracellulaire diminuent l'activation de NF-KB. L'activation, de NF-KB fait intervenir un mécanisme complexe de transduction qui implique la génération d'espèces activées de l'oxygène et la phosphorylation de l'inhibiteur de NF-KB, I-KB. Ces données obtenus sur des macrophages en culture sont confirmées par des résultats in vivo, chez la souris : les souris dont le gène HFE est inactivé (souris KO HFE -/-), et qui ont une concentration diminuée de fer macrophagique, présentent un défaut dans la production de cytokines inflammatoires (TNF- α et IL6) lorsqu'elles sont infectées par des salmonelles [11]. Ce défaut est spécifique de la voie d'activation dépendant de TLR4 et cette anomalie peut être reproduite dans des macrophages de souris non mutées sous l'effet de chélateurs du fer intracellulaire [11]. Ces données suggèrent que le statut en fer du macrophage puisse moduler positivement la réponse inflammatoire à une infection.

Les cytokines inflammatoires stimulent la transcription de l'hepcidine. Réciproquement, l'hepcidine module la réponse au LPS du macrophage en diminuant la production des cytokines proinflammatoires [12] (TNF- α et IL6). Cet effet qui fait intervenir la voie d'activation Jak2/Stat3 qui suit la fixation de l'hepcidine sur la ferroportine ([voir Chapitre 2](#)). Cette régulation peut être vue comme un rétrocontrôle négatif puisque l'hepcidine est une des protéines de la phase aiguë de l'inflammation.

Ces influences réciproques entre homéostasie du fer et immunité ouvrent des perspectives thérapeutiques de modifier la réponse inflammatoire en manipulant l'homéostasie du fer soit directement par des chélateurs soit en modifiant l'action de l'hepcidine via des agonistes ou des antagonistes. Cependant, la complexité des interactions entre fer et inflammation tant au niveau cellulaire que moléculaire, l'existence démontrée ou vraisemblable de nombreuses boucles de rétrocontrôles positifs et négatifs rendent difficile de prévoir les conséquences d'une intervention et plaident en faveur d'un effort de modélisation et d'intégration des connaissances.

Données épidémiologiques

Trois types d'étude épidémiologiques ont posé la question de la relation entre statut martial et maladies infectieuses :

- 1 - des études transversales ou rétrospectives ont recherché l'existence de corrélations entre la prévalence ou bien la sévérité de différents types d'infection (hépatites C, VIH, paludisme, tuberculose) et les paramètres classiques du bilan martial (ferritine, saturation de la transferrine) ou bien des indicateurs plus spécifiques (fer hépatique, médullaire ou splénique selon les cas)
- 2 - des études d'intervention visant soit à prévenir les inconvénients de la carence en fer en apportant une supplémentation alimentaire dans des populations carencées soit à diminuer les réserves en fer chez des patients infectés (virus C) en pratiquant des saignées
- 3 - des études dans des sous-groupes spécifiques de patients surchargés en fer pour des raisons génétiques ou environnementales.

Etudes observationnelles

La grande majorité des études publiées a montré une association entre bilan martial et prévalence ou sévérité de différentes maladies infectieuses.

Paludisme. Une étude transversale menée au Kenya sur le paludisme à *Plasmodium falciparum*, a montré que l'incidence du paludisme dans une cohorte d'enfants âgés de 8 mois à 8 ans qui vivaient sur la côte kenyane était significativement plus faible chez les enfants carencés en fer (taux « d'incidence ratio » 0,70) et que l'incidence du paludisme était significativement associée à la concentration plasmatique de ferritine [13]. Une autre étude réalisée chez des femmes enceintes en Tanzanie montrait que la carence en fer diminuait significativement le risque de paludisme placentaire [14].

Infection à VIH-1. Plusieurs études indépendantes ont montré que des modifications des paramètres du bilan martial étaient associées au développement de l'infection à VIH [1]. Une de ces études montrait une surcharge en fer des macrophages chez les patients infectés par le VIH ainsi qu'une corrélation positive entre le degré de surcharge en fer dans les macrophages de la moelle osseuse et la mortalité [15].

Plus récemment, une étude prospective chez 1362 adultes infectés par le VIH en Gambie montrait, en utilisant une série d'indicateurs du statut martial au moment de l'inclusion dans l'étude, que la charge en fer était fortement prédictive de la mortalité après ajustement pour l'anémie, la réponse inflammatoire aiguë et l'immunosuppression [16]. Il est à noter que la grande majorité de ces études associant statut martial et progression de l'infection à VIH ont été menées dans des pays défavorisés sur des patients qui ne bénéficiaient pas de traitement antirétroviral efficace.

Hépatite C. De nombreuses études montrent que la surcharge hépatique en fer qui accompagne

fréquemment l'infection par le virus HCV est associée à une augmentation de la morbidité et de la mortalité [17]. L'accumulation de fer dans le parenchyme hépatique chez les patients infectés par le virus C a été reliée à une diminution de l'hepcidine circulante. La sévérité de la maladie est très variable et est liée à l'inflammation qui conduit au développement de lésions de fibrose hépatique pouvant se compliquer de cirrhose et d'hépatocarcinome, le fer hépatique étant un facteur pro-inflammatoire et fibrosant.

Tuberculose. L'hypothèse d'un effet du fer sur le développement de la tuberculose est ancienne : une série d'autopsies pratiquées en Afrique dans les années 1920 avait montré un risque relatif élevé de décès par tuberculose chez les sujets ayant une concentration élevée de fer dans la rate [18]. Plus récemment, la surcharge alimentaire du fait de l'ingestion d'une boisson riche en fer, faisait apparaître un risque accru de tuberculose au Zimbabwe et la quantité de fer médullaire était associée au risque de décès par tuberculose chez des patients africains infectés par le VIH1 [19]. Enfin, une étude génétique montrait que le génotype 2-2 de l'haptoglobine qui est associé à une concentration élevée de fer macrophagique augmentait le risque de décès lié à la tuberculose au Zimbabwe [20].

Une limitation de la plupart de ces études transversales est à noter : les paramètres d'évaluation du statut en fer sont fortement influencés par la réponse inflammatoire et le sens de la causalité entre charge en fer et sévérité des infections est souvent difficile à établir.

Etudes d'interventions

Etant donnée la prévalence élevée de la carence en fer par, plusieurs études ont été menées, à l'occasion de programmes de supplémentation de l'alimentation en fer dans des populations particulièrement exposées (enfants ou femmes enceintes de pays en voie de développement). L'impact de l'apport de fer était alors évalué soit sur des indicateurs très globaux: mortalité, hospitalisation, survenue de maladies infectieuses graves soit sur la survenue d'évènements infectieux plus spécifiques : crises graves de paludismes, charge virale dans le cas de l'infection à VIH.

Des résultats parfois contradictoires ont été rapportés quant aux conséquences de la supplémentation en fer sur les maladies infectieuses.

Une grande étude, publiée en 2006 dans *The Lancet*, indiquait que dans une région de forte endémie palustre (Pemba, île de l'archipel de Zanzibar), les enfants d'âge préscolaire recevant du fer oral et de l'acide folique avaient un risque augmenté de décès ou d'hospitalisation, principalement en raison d'accès palustre. Cependant, l'analyse d'un sous-groupe montrait que les enfants qui étaient réellement carencés en fer au début de l'étude bénéficiaient de la supplémentation [21]. Une étude semblable menée au sud du Népal ne trouvait pas d'effet adverse de la supplémentation en fer sur le risque infectieux [22].

D'autres travaux du même type semblaient plutôt confirmer que l'apport de fer pouvait dans les régions de forte endémie palustre avoir des effets négatifs sur des populations traitées, tandis que, même dans ces régions, l'apport de fer apparaissait bénéfique pour ceux des enfants qui présentaient une vraie carence en fer.

Les résultats de plusieurs études d'interventions ont fait l'objet de méta-analyses dont les conclusions sont nuancées : il existe peu d'indices montrant que la supplémentation en fer favorise le risque infectieux ou aggrave les complications sauf en ce qui concerne le paludisme. Les résultats d'une méta-analyse de 28 essais randomisés de supplémentation par le fer dans différents pays (Afrique, Asie, Amérique latine) montraient que seul le risque de diarrhée infectieuse était légèrement augmenté (RR 1.11) tandis que le risque de survenue d'autres infections n'était pas modifié [23].

Deux études récentes, menées dans le cadre de l'infection à VIH-1 ont été réalisées, l'une chez des enfants africains [24], l'autre chez des femmes toxicomanes aux Etats-Unis [25]. Les résultats indiquaient que le traitement de la carence en fer visant à corriger une anémie ferriprive au cours de l'infection par le VIH n'avait pas d'effet adverse sur l'évolution de la maladie. Là encore, ces données suggèrent que si la surcharge en fer est péjorative, le traitement de la carence n'est pas contre-indiqué.

L'ensemble des résultats incitent donc à la prudence dans les programmes de supplémentation en fer dans les régions fortement impaludées et suggèrent l'importance d'un bilan préalable de manière à ne pas traiter les enfants qui ne présentent pas de carence martiale.

En miroir des études de supplémentations en population générale, quelques études de déplétions du fer chez des patients infectés ont été réalisées [17]. Ainsi un travail chez des patients infectés par le virus de l'hépatite C indiquait que la déplétion en fer par des saignées diminuait le risque d'hépatocarcinome dont l'incidence annuelle passait de 3.9% chez les patients non déplétés en fer à 0.9% chez les patients traités par saignées. Plusieurs publications suggèrent qu'une déplétion par saignées augmente l'effet de l'interféron dans le traitement de patients sur la rémission virologique à long terme. Cependant, cet effet des saignées semble limité aux patients traités en première intention par une monothérapie et non à ceux qui sont en échec de traitement par l'interféron.

Etudes de populations spécifiques

Il s'agit de populations dont le statut martial est modifié en raison de particularités génétiques (surcharge en fer chez des sujets thalassémiques, hémochromatose primitive).

Une des premières indications que la surcharge en fer pourrait être défavorable dans le contexte de l'infection à VIH-1 venait d'une petite cohorte de patients thalassémiques, infectées par le VIH-1, et chez qui les taux moyens de ferritine sérique étaient associés positivement à mortalité [26]. De même, les patients thalassémiques infectés par virus HCV avaient un risque de fibrose et d'hépatocarcinome augmenté par rapport à des patients infectés non thalassémiques [27].

Une sensibilité accrue des patients atteints d'hémochromatose génétique à certaines espèces bactériennes a été rapporté dans de nombreuses publications [28]. Il s'agit moins d'études épidémiologiques que de rapports circonstanciels mais qui collectivement, suggèrent qu'il existe chez ces patients un risque accru d'infections à des pathogènes tels que *V. vulnificus*, *V. cholerae*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *L. monocytogenes*, *P. shigelloides*, *G. haemolysans*. Ces observations, initialement attribuées à l'effet direct de la surcharge en fer sur la croissance bactérienne ont récemment été interprétées : à la lumière des résultats expérimentaux obtenus chez les souris dont le gène HFE est

inactivé : il pourrait s'agir d'un défaut de production de cytokines proinflammatoires par les macrophages des sujets hémochromatosiques qui, paradoxalement sont appauvris en fer intracellulaire. Une autre conséquence de cet état ferriprive du macrophage pourrait être une plus grande résistance à des pathogènes intracellulaires comme *M. tuberculosis*, *S typhi*, *C. pneumoniae* [29]. Il est d'ailleurs possible que ces effets dépendent du degré d'atteinte phénotypique chez les patients atteints d'hémochromatose, l'état de déplétion en fer du macrophage est, en effet, principalement présent chez les sujets qui ont un génotype d'hémochromatose avant qu'ils ne deviennent surchargés en fer (voir Chapitre 3).

Conclusions

Le fer est l'enjeu d'une bataille entre hôte et pathogènes et il y a bon nombre de raisons théoriques et de faits expérimentaux suggérant qu'un excès de fer favorise ou aggrave les infections. A l'inverse, des effets négatifs de la carence en fer sur l'immunité ont été rapportés [30]. Au delà des arguments théoriques et expérimentaux, il existe des données épidémiologiques incitant à la prudence en ce qui concerne l'administration de fer non justifiée. Il est donc logique de prescrire une supplémentation fer (oral ou intraveineux) lorsqu'il existe une carence documentée. Par ailleurs, il semble logique de prendre en compte le contexte pathologique en se conformant, au cas par cas, à des recommandations spécifiques basées sur des essais cliniques contrôlés lorsque ceux-ci ont été réalisés. Dans le cas contraire prudence et bon sens devraient prévaloir.

En ce qui concerne les possibilités de manipuler l'homéostasie du fer pour lutter contre les pathogènes en les privant de fer ou en modulant les mécanismes de défense immunitaires, si les bases théoriques existent, la situation est fort complexe. Pour les infections bactériennes, il est nécessaire de considérer le microenvironnement du pathogène au sein de l'organisme, son mode d'acquisition du fer ainsi que les effets des chélateurs sur la réaction inflammatoire. Pour les infections virales, il faut, par exemple, s'assurer que les chélateurs ciblent les étapes du cycle répliatif viral dans les cellules infectées sans effets secondaires. Le développement d'une chimie de plus en plus sophistiquée pour fabriquer des chélateurs adaptés à des applications spécifiques est sans doute prometteuse, mais, là encore, les données expérimentales sur des cellules en culture ou chez l'animal doivent être rigoureusement validées par des études cliniques afin de permettre d'éventuelles avancées thérapeutiques

Références bibliographiques

1. Doherty, C.P. 2007. Host-pathogen interactions: the role of iron. *J Nutr* 137 : 1341-1344.
2. Drakesmith, H., and Prentice, A. 2008. Viral infection and iron metabolism. *Nat Rev Microbiol* 6 : 541-552.
3. Nairz, M., Schroll, A., Sonnweber, T., and Weiss, G. The struggle for iron - a metal at the host-pathogen interface. *Cell Microbiol* 12 : 1691-1702.
4. Ganz, T. 2009. Iron in innate immunity: starve the invaders. *Curr Opin Immunol* 21 : 63-67.
5. Flo, T.H., Smith, K.D., Sato, S., Rodriguez, D.J., Holmes, M.A., Strong, R.K., Akira, S., and Aderem, A. 2004. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 432 : 917-921.
6. Nairz, M., Fritsche, G., Crouch, M.L., Barton, H.C., Fang, F.C., and Weiss, G. 2009. Slc11a1 limits intracellular growth of *Salmonella enterica* sv. Typhimurium by promoting macrophage immune effector functions and impairing bacterial iron acquisition. *Cell Microbiol* 11 : 1365-1381.
7. Li, H.T., Zhang, T.T., Huang, Q.H., Lv, B., and Huang, J. 2006. [Meta-analysis on NRAMP1 gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility in East-Asia population]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 27 : 428-432.
8. Abe, T., Iinuma, Y., Ando, M., Yokoyama, T., Yamamoto, T., Nakashima, K., Takagi, N., Baba, H., Hasegawa, Y., and Shimokata, K. 2003. NRAMP1 polymorphisms, susceptibility and clinical features of tuberculosis. *J Infect* 46 : 215-220.
9. Wang, L., and Cherayil, B.J. 2009. Ironing out the wrinkles in host defense: interactions between iron homeostasis and innate immunity. *J Innate Immun* 1 : 455-464.
10. Xiong, S., She, H., Takeuchi, H., Han, B., Engelhardt, J.F., Barton, C.H., Zandi, E., Giulivi, C., and Tsukamoto, H. 2003. Signaling role of intracellular iron in NF-kappaB activation. *J Biol Chem* 278 : 17646-17654.
11. Chen, L., Xiong, S., She, H., Lin, S.W., Wang, J., and Tsukamoto, H. 2007. Iron causes interactions of TAK1, p21ras, and phosphatidylinositol 3-kinase in caveolae to activate I kappa B kinase in hepatic macrophages. *J Biol Chem* 282 : 5582-5588.
12. De Domenico, I., Zhang, T.Y., Koenig, C.L., Branch, R.W., London, N., Lo, E., Daynes, R.A., Kushner, J.P., Li, D., Ward, D.M., *et al.* Hepcidin mediates transcriptional changes that modulate acute cytokine-induced inflammatory responses in mice. *J Clin Invest* 120 : 2395-2405.
13. Nyakeriga, A.M., Troye-Blomberg, M., Dorfman, J.R., Alexander, N.D., Back, R., Kortok, M., Chemtai, A.K., Marsh, K., and Williams, T.N. 2004. Iron deficiency and malaria among children living on the coast of Kenya. *J Infect Dis* 190 : 439-447.
14. Kabyemela, E.R., Fried, M., Kurtis, J.D., Mutabingwa, T.K., and Duffy, P.E. 2008. Decreased susceptibility to *Plasmodium falciparum* infection in pregnant women with iron deficiency. *J Infect Dis* 198 : 163-166.
15. de Monye, C., Karcher, D.S., Boelaert, J.R., and Gordeuk, V.R. 1999. Bone marrow macrophage iron grade and survival of HIV-seropositive patients. *AIDS* 13 : 375-380.
16. McDermid, J.M., Jaye, A., Schim van der Loeff, M.F., Todd, J., Bates, C., Austin, S., Jeffries, D., Awasana, A.A., Whittlex, A.A., and Prentice, A. 2007. Elevated iron status strongly predicts mortality in West African adults with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 46 : 498-507.

17. Price, L., and Kowdley, K.V. 2009. The role of iron in the pathophysiology and treatment of chronic hepatitis C. *Can J Gastroenterol* 23 : 822-828.
18. Gordeuk, V.R., McLaren, C.E., MacPhail, A.P., Deichsel, G., and Bothwell, T.H. 1996. Associations of iron overload in Africa with hepatocellular carcinoma and tuberculosis : Strachan's 1929 thesis revisited. *Blood* 87 : 3470-3476.
19. Moyo, V.M., Gangaidzo, I.T., Gordeuk, V.R., Kiire, C.F., and Macphail, A.P. 1997. Tuberculosis and iron overload in Africa: a review. *Cent Afr J Med* 43 : 334-339.
20. Boelaert, J.R., Vandecasteele, S.J., Appelberg, R., and Gordeuk, V.R. 2007. The effect of the host's iron status on tuberculosis. *J Infect Dis* 195 : 1745-1753.
21. Sazawal, S., Black, R.E., Ramsan, M., Chwaya, H.M., Stoltzfus, R.J., Dutta, A., Dhingra, U., Kabole, I., Deb, S., Othman, M.K., *et al.* 2006. Effects of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on admission to hospital and mortality in preschool children in a high malaria transmission setting: community-based, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 367 : 133-143.
22. Tielsch, J.M., Khatry, S.K., Stoltzfus, R.J., Katz, J., LeClerq, S.C., Adhikari, R., Mullany, L.C., Shrestha, S., and Black, R.E. 2006. Effect of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on preschool child mortality in southern Nepal : community-based, cluster-randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 367 : 144-152.
23. Prentice, A.M., Ghattas, H., Doherty, C., and Cox, S.E. 2007. Iron metabolism and malaria. *Food Nutr Bull* 28 : S524-539.
24. Olsen, A., Mwaniki, D., Krarup, H., and Friis, H. 2004. Low-dose iron supplementation does not increase HIV-1 load. *J Acquir Immune Defic Syndr* 36 : 637-638.
25. Semba, R.D., Ricketts, E.P., Mehta, S., Netski, D., Thomas, D., Kirk, G., Wu, A.W., and Vlahov, D. 2007. Effect of micronutrients and iron supplementation on hemoglobin, iron status, and plasma hepatitis C and HIV RNA levels in female injection drug users: a controlled clinical trial. *J Acquir Immune Defic Syndr* 45 : 298-303.
26. Salhi, Y., Costagliola, D., Rebull, P., Dessi, C., Karagiorga, M., Lena-Russo, D., de Montalembert, M., and Girot, R. 1998. Serum ferritin, desferrioxamine, and evolution of HIV-1 infection in thalassemic patients. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 18 : 473-478.
27. Walker, E.M., Jr., and Walker, S.M. 2000. Effects of iron overload on the immune system. *Ann Clin Lab Sci* 30 : 354-365.
28. Khan, F.A., Fisher, M.A., and Khakoo, R.A. 2007. Association of hemochromatosis with infectious diseases : expanding spectrum. *Int J Infect Dis* 11 : 482-487.
29. Wang, L., Johnson, E.E., Shi, H.N., Walker, W.A., Wessling-Resnick, M., and Cherayil, B.J. 2008. Attenuated inflammatory responses in hemochromatosis reveal a role for iron in the regulation of macrophage cytokine translation. *J Immunol* 181 : 2723-2731.
30. Kuvibidila, S.R., Gardner, R., Velez, M., and Yu, L. Iron deficiency, but not underfeeding reduces the secretion of interferon-gamma by mitogen-activated murine spleen cells. *Cytokine* 52 : 230-237.

- C -
EXPLORATION
BIOLOGIQUE DU
MÉTABOLISME DU FER

Exploration biologique du métabolisme du fer

Patricia Aguilar-Martinez

CHAPITRE VIII

Bien que de nombreuses molécules soient venues enrichir nos connaissances dans le domaine du métabolisme et de l'homéostasie martiale depuis la fin du XX^{ème} siècle, seul un très petit nombre est utilisé en pratique clinique courante et dosé en routine. L'exploration biologique du métabolisme du fer repose encore actuellement sur des examens de base, qu'il convient cependant de revisiter à la lumière des avancées récentes dans ce domaine.

Les principaux marqueurs biologiques du bilan martial à notre disposition sont les suivants :

- le fer sérique
- la transferrine et le coefficient de saturation de la transferrine ou la capacité totale de fixation
- la ferritine sérique
- le récepteur soluble à la transferrine
- l'hepcidine.

Il ne faut pas oublier cependant le rôle primordial d'autres paramètres sanguins qui vont soit orienter vers une anomalie du métabolisme du fer, soit aider à l'interprétation des perturbations du bilan martial. Ce sont notamment, la numération sanguine et le bilan inflammatoire.

Méthodes de dosage, signification des différents marqueurs et leur place dans l'exploration des pathologies

Fer sérique

Le fer est apporté par l'alimentation, essentiellement sous la forme de fer héminique, c'est à dire celui contenu dans les aliments d'origine protéique. Les besoins en fer de l'organisme sont faibles, ils sont destinés à compenser les pertes physiologiques. Le fer est absorbé par les entérocytes du duodénum. Il est recyclé en permanence : libéré lors de l'hémolyse physiologique des globules rouges, récupéré par les macrophages et réutilisé ou stocké. Le fer libre est un élément toxique, responsable de dommages cellulaires et pour cette raison il est habituellement lié à des protéines qui assurent son transport, sa transformation (de Fe^{++} à Fe^{+++} et vice versa) ou son stockage, tout en protégeant les tissus.

Le dosage du fer sérique reste un élément incontournable du bilan martial malgré des difficultés d'interprétation. On parle indifféremment de sidérémie ou de fer sérique. Les conditions pré-analytiques sont très importantes, ici plus qu'ailleurs, pour assurer la qualité du résultat.

- Intérêt du dosage

Il faut insister sur le fait que le dosage isolé du fer sérique est sans intérêt pour une évaluation correcte

du statut martial d'un individu. Cependant, ce dosage reste utile, puisqu'il est indispensable à la détermination du coefficient de saturation de la transferrine et, dans l'hémochromatose évoluée, la concentration plasmatique s'avère souvent élevée, au-dessus de 30 $\mu\text{mol/L}$. Un regain d'intérêt pour ce paramètre est également lié à la découverte de nouvelles entités en pathologie, notamment des anémies microcytaires rares par carence en fer d'origine héréditaire.

- Conditions du prélèvement

Le sang doit être prélevé sur tube sec, éventuellement avec gel séparateur. Un prélèvement hémolysé est rédhitoire compte tenu de la grande quantité de fer contenue dans l'hémoglobine.

La sidérémie est fluctuante au cours du nyctémère, maximale à midi et minimale à minuit, avec une amplitude de 30 à 40% en moyenne dans la journée. Ainsi, une sidérémie demandée en cours de journée, en consultation par exemple, n'aura que peu de valeur, sauf chez les patients en état de surcharge martiale, car ce cycle circadien est aboli chez eux [1]. De plus, les fluctuations chez un même individu, même prélevé à heure fixe, peuvent être considérables.

Il est donc généralement conseillé de doser le fer sérique le matin à jeun (après 8h de jeûne) afin de limiter l'impact de ces variations nyctémérales.

- Méthodes de dosage

Toutes les techniques courantes de dosage du fer sérique procèdent par colorimétrie. Elles sont de deux sortes, selon que l'on effectue, comme dans la méthode manuelle de référence, une déprotéinisation en milieu acide suivie d'une centrifugation - qui permet d'éliminer les substances interférentes (bilirubine, hémoglobine, médicaments, cuivre) - ou que l'on évite cette étape, comme dans les automates de mesure, mais il faut alors se méfier des interférences précédentes [2].

- Interprétation des résultats

Valeurs de références [$\mu\text{mol/l} = 17,92 \times \text{mg/l}$] :

- chez l'homme : 10 - 30 $\mu\text{mol/l}$ (0,55 - 1,65 mg/l)

- chez la femme : 8 - 28 $\mu\text{mol/l}$ (0,46 - 1,62 mg/l)

- chez l'enfant (1 an à puberté) : 11 - 23 $\mu\text{mol/l}$ (0,61 - 1,33 mg/l)

Le fer circulant diminue en cas de carence et augmente en cas de surcharge en fer. Cependant, l'utilisation isolée de ce paramètre est déconseillée car il existe de nombreux éléments d'interférence pouvant le modifier en situation physiologique ou pathologique.

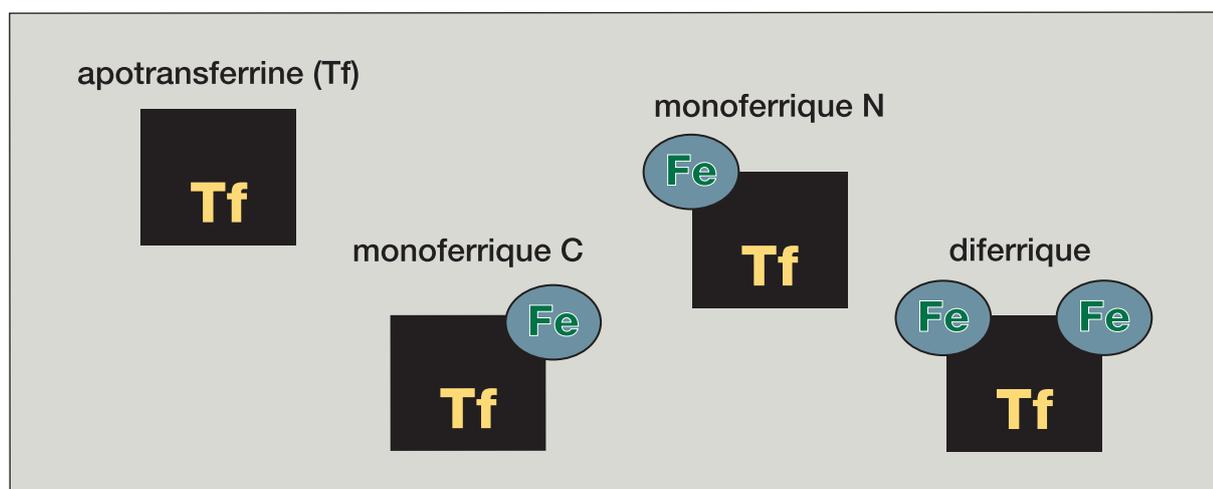
Il est indispensable à la détermination de la capacité totale de fixation du fer et du coefficient de saturation de la transferrine.

Transferrine, capacité totale de fixation du fer et coefficient de saturation de la transferrine

Transferrine et Capacité Totale de Fixation de la Transferrine

La transferrine ou sidérophiline est une beta-globuline de poids moléculaire environ 80 000 daltons, de synthèse hépatique qui transporte le fer plasmatique. Une molécule de transferrine présente deux sites de fixation ; elle peut donc fixer 2 atomes de fer Fe^{+++} et est normalement saturée au 1/3 (figure 1).

Figure 1 : Saturation de la transferrine (Tf) : proportion des sites disponibles sur la transferrine pour la liaison au fer qui sont occupés par des atomes de fer.



- Conditions du prélèvement

Ce sont les mêmes que celles du fer sérique.

- Méthodes de dosage

Le dosage préconisé pour la transferrine est immuno-chimique (immuno-néphélométrie, immuno-turbidimétrie).

La capacité totale de fixation en fer de la transferrine (CTFT) ou total iron binding capacity (TIBC) est calculée à partir du dosage de la transferrinémie par la formule :

$$CTFT (\mu\text{mol/l}) = \text{transferrine (g/l)} \times 25$$

Le coefficient 25 est obtenu à partir de la masse moléculaire de la transferrine ($2/80\,000 \times 10^6$), où 80 000 est le PM de la transferrine et 2 le nombre de valences pour le fer.

Remarque : Le dosage à proscrire est l'estimation de la CTFT par addition à un aliquote de sérum d'une solution saturante en fer et élimination du fer non lié par carbonate de magnésium, charbon ou résine échangeuse d'ion. Cette méthode est en effet imprécise, non standardisée et elle sous-évalue toujours la CTFT.

- Interprétation des résultats

Valeurs de référence de la transferrine :

- Chez l'adulte (homme ou femme) : 2 - 3,5 g/l
- Chez l'enfant (1 an à puberté) : 2,2 - 4,0 g/l

Les variations physiologiques et pathologiques sont listées dans le [Tableau 1](#).

Valeurs de référence de la CTFT (ou TIBC) :

- Adulte (homme ou femme) : 60 - 95 $\mu\text{mol/l}$ (3,5 - 5,5 mg/l)
- Enfant (1 an à puberté) : 55 - 100 $\mu\text{mol/l}$ (3,2 - 5,8 mg/l)

La quantité totale de transferrine dans l'organisme (et la CTFT) présente une corrélation inverse avec les réserves en fer. Ainsi, la synthèse de la transferrine augmente lorsque les réserves diminuent, et ceci bien avant l'apparition de l'anémie.

Tableau 1 : Variations physiologiques et pathologiques de la transferrinémie (et du CTFT).

	Augmentation Hypertransferrinémie	Diminution Hypotransferrinémie
PHYSIOLOGIQUE	<ul style="list-style-type: none"> - Grossesse (dernier trimestre) - Premières années de vie 	
PATHOLOGIQUE	<ul style="list-style-type: none"> - Carences en fer, notamment par saignements chroniques (digestifs, génitaux) - Troubles de l'absorption intestinale (gastrite, gastrectomie, transit accéléré) - Hypogonadisme sévère chez l'homme par déficit en androgènes - Médicaments : <ul style="list-style-type: none"> • Traitements oestrogéniques prolongés (contraception orale, traitement hormonal substitutif de la ménopause, cancer de la prostate) • Diurétiques, thiazidiques • Fluorides 	<ul style="list-style-type: none"> - Syndromes inflammatoires chroniques, subaigus ou aigus sévères (infections chroniques, cancers) - Insuffisance hépatocellulaire (cirrhose) - Dénutrition (carence protéique), carences en vitamine C - Fuites protéiques : glomérulaires, gastro-intestinales, cutanées (brûlures) - Surcharge en fer, hémochromatoses primitives et secondaires - Anémies hémolytiques chroniques (drépanocytose etc.) - Atransferrinémie congénitale (très rare) - Médicaments : <ul style="list-style-type: none"> • Prise d'androgènes au long cours • ACTH, chloramphénicol

Coefficient de saturation de la transferrine

- Conditions du prélèvement

Le coefficient de saturation de la transferrine (CST) est le rapport du fer plasmatique sur la CTFT (ou TIBC). De ce fait, il est l'objet des mêmes variations nyctémérales que la sidérémie. Les précautions de prélèvement sont les mêmes que pour le dosage du fer sérique. Attention notamment au risque de valeurs faussement augmentées dues à une hémolyse dans le tube.

- Méthode de dosage

Le CST est obtenu par le calcul suivant :

$$\text{CST (\%)} = \frac{\text{Fer plasmatique (\mu\text{mole/l})} \times 100}{\text{CTFT (\mu\text{mole/l})}}$$

- Interprétation des résultats

Valeurs de référence :

- Homme : 20 à 40%
- Femme : 15 à 35%

Une élévation du CST au dessus de 45% ou 55% selon les auteurs, est un paramètre clé pour le diagnostic d'une surcharge en fer, particulièrement pour l'orientation vers une hémochromatose héréditaire liée au gène *HFE*. A l'inverse, une diminution du CST est le témoin d'une érythropoïèse carencée en fer, soit par carence martiale vraie, soit dans le contexte d'un syndrome inflammatoire où le fer est séquestré dans les macrophages en raison de l'augmentation de l'hepcidine et de ce fait non disponible pour la production érythroblastique.

Les variations physiologiques et pathologiques du CST sont résumées dans le [Tableau 2](#).

Tableau 2 : Variations physiologiques et pathologiques du coefficient de saturation de la transferrine (CST).

	Augmentation du CST	Diminution du CST
PHYSIOLOGIQUE		<ul style="list-style-type: none">- Grossesse (dernier trimestre)- Premières années de vie
PATHOLOGIQUE	<ul style="list-style-type: none">- Surcharge en fer- Cytolyse hépatique ou insuffisance hépatique sévère, alcoolisme chronique- Hémolyse- Myolyse- Hémopathies malignes- Insuffisance rénale terminale- Maladie de Gaucher	<ul style="list-style-type: none">- Carences en fer- Inflammation - infection- Contraceptifs oraux- Syndrome métabolique

Fer non lié à la transferrine (FNLT) ou NTBI (pour non-transferrin bound iron)

La transferrine n'est pas la seule protéine dans le plasma à transporter du fer ferrique et tout le fer plasmatique n'est pas lié à des protéines. En effet, le fer plasmatique peut être divisé en deux fractions :

- fer lié à la transferrine (de loin, la fraction quantitativement la plus importante)
- et fer non lié à la transferrine (FNLT).

Cette dernière fraction est en fait composée de fer lié à d'autres protéines que la transferrine, soit au sein des molécules d'hémoglobine qui sont liées à l'haptoglobine, soit au sein des molécules d'hème liées à l'hémopexine. Lorsque du FNLT est présent dans le plasma, il est rapidement capté par le foie ce qui expliquerait l'aggravation de la surcharge en fer hépatique.

Le fer non lié à des protéines, qu'on appelle aussi fer de bas poids moléculaire est la fraction de fer totalement libre, ou pool de fer labile intracellulaire (LIP), qui ne se trouve en principe que dans le compartiment intracellulaire de transit du fer. Il est lié à des molécules de faible poids moléculaire, d'où son nom. Son dosage est difficile et estimé à environ 1 μM . Lorsque ce compartiment augmente à cause d'une élévation du fer du milieu extracellulaire, il serait responsable de l'apparition de radicaux libres et de dommages cellulaires.

Ainsi, si l'on souhaite connaître avec exactitude le statut martial, on comprend qu'il soit approximatif de calculer la CTFT (ou TIBC) à partir de la concentration sérique de la transferrine (en multipliant la concentration de la transferrine (en g/l) par un facteur constant de 25 comme indiqué ci-dessus) puisque cette manière de procéder ne tient pas compte de la quantité de fer non lié à la transferrine. Mais elle est utilisée en pratique clinique courante pour des raisons de commodité. En effet, la mesure directe de la CTFT est plus laborieuse, et sujette à d'autres causes d'imprécision. Il faut toutefois avoir à l'esprit que, par le biais de cette approximation, le coefficient de saturation de la transferrine est toujours surestimé. L'erreur est encore majorée en cas de surcharge en fer, où la saturation peut alors dépasser les 100 % si elle est calculée à partir de la transferrine.

• Intérêt du dosage

La connaissance de la quantité de FNLT a un intérêt physiopathologique majeur. C'est, en effet, cette fraction du pool martial qui est la plus toxique parce que métaboliquement peu contrôlable. La toxicité du fer est maintenant bien établie. Elle s'exerce à plusieurs niveaux, tantôt favorisant la prolifération des microorganismes et les infections, tantôt créant ou aggravant le stress oxydant par les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss, et induisant une peroxydation lipidique.

• Méthodes de dosage

Plusieurs techniques d'évaluation du FNLT ont été proposées : elles sont peu répandues car difficiles à mettre en œuvre et sont réalisées dans de rares laboratoires spécialisés.

Le résultat du dosage du FNLT est exprimé en $\mu\text{mol/l}$. Les valeurs normales sont de l'ordre de 0.3 - 1 $\mu\text{mol/l}$, tandis que les valeurs observées en pathologie sont comprises entre 1 - 10 $\mu\text{mol/l}$.

- Interprétation des résultats

La circonstance la plus évidente de l'apparition de FNLT est l'atransferrinémie congénitale, une maladie héréditaire très rare. Il peut aussi apparaître lorsque la transferrine est complètement saturée, en cas de surcharge en fer massive : ceci peut s'observer chez les sujets polytransfusés et non chélatés tels que des sujets porteurs de thalassémie majeure, d'aplasie médullaire, d'hémolyse chronique etc.

Ferritine sérique

- Intérêt du dosage

La ferritine est synthétisée essentiellement par le foie et les macrophages. Elle est ubiquitaire mais surtout présente dans le foie, la rate et la moelle osseuse. Une mole de ferritine (PM= 440 000) fixe et stocke environ 4500 atomes de Fe^{+++} .

Le dosage de la ferritinémie est incontournable dans la réalisation d'un bilan martial. C'est souvent, à l'heure actuelle, le premier (voire le seul) dosage demandé par le médecin. La ferritine sérique est le paramètre de choix en matière d'évaluation des réserves en fer. Elle est retrouvée dans le sang en faible quantité mais présente une bonne corrélation avec le fer stocké. Cependant, l'interprétation d'un résultat de ferritinémie ne peut s'effectuer isolément et d'autres paramètres sont le plus souvent nécessaires.

- Méthodes de dosage

Les 24 chaînes polypeptidiques qui constituent la ferritine peuvent être des chaînes H (acides) ou des chaînes L (basiques) selon l'origine tissulaire de la protéine. Les dosages immunochimiques, utilisant tous des anticorps anti-ferritine L, sont exacts lorsque, comme dans le sérum normal, les sous-unités de la ferritine sérique sont en majorité de type L. Ils le sont moins dans les pathologies où la proportion de sous-unités H augmente.

Le dosage est réalisé par immuno-enzymologie, chimiluminescence, immunonéphélométrie ou immunoturbidimétrie. Malgré la standardisation, des écarts sont observés entre les différents systèmes analytiques. C'est pourquoi il est recommandé d'utiliser la même technique pour le suivi d'un même patient.

- Interprétation des résultats

Les valeurs usuelles de la ferritinémie sont d'environ 30 à 300 $\mu\text{g/L}$ pour les hommes, de 20 à 200 $\mu\text{g/L}$ pour les femmes.

Classiquement, une diminution de la ferritine est le signe majeur de l'absence de stock martial, et donc de réserves, et synonyme de carence.

Il faut cependant se méfier d'une ferritinémie normale qui peut s'observer dans certains cas de carence véritable, parce qu'il existe une cause associée d'hyperferritinémie, ou bien dans des formes rares de carence martiale héréditaire.

L'élévation de la ferritine sérique s'observe en cas de surcharge en fer, mais peut être aussi liée à un grand nombre d'autres étiologies (voir Tableau 3), notamment syndrome inflammatoire, cytolyses (hémolyse, cytolysse hépatique ou musculaire, d'origine tumorale). Elle est également augmentée dans d'autres situations aussi différentes que l'alcoolisme chronique, l'hyperthyroïdie ou les infections.

De plus, la ferritinémie n'est pas toujours élevée dans l'hémochromatose ou certaines surcharges en fer en raison de pathologies interférentes ou en relation avec le mécanisme particulier de certaines de ces surcharges.

Tableau 3 : Principales causes d'hyperferritinémie en dehors d'une surcharge en fer et les examens complémentaires utiles à leur diagnostic.

Syndrome inflammatoire	CRP, VS
Cytolyse <ul style="list-style-type: none"> • Hépatique • Hémolyse • Médullaire • Musculaire 	ALAT/ASAT NS avec réticulocytes / bilirubine CPK (ou AST)
Alcoolisme	Test de sevrage
Syndrome dysmétabolique	Lipides, glycémie
Hyperthyroïdie	Bilan thyroïdien
Tumeurs malignes et maladies onco-hématologiques	
Maladie de Gaucher	Dosage activité bêta-glucérobrosidase leucocytaire
Syndrome Héréditaire Cataracte Hyperferritinémie	Test génétique

NS : numération sanguine (sans formule).

- Dosages spécialisés

Pour tenter d'affiner les informations fournies par la ferritine circulante, d'autres types de dosages ont été proposés : caractérisation des isoferritines, de la ferritine glycosylée, mesure de la saturation en fer de la ferritine et dosage de la ferritine érythrocytaire.

- L'intérêt du dosage des isoferritines est limité par l'extrême hétérogénéité de la ferritine plasmatique, du fait des proportions très variables en sous-unités L et H, et du degré de glycosylation de ces sous-unités. De plus, ce dosage repose sur des techniques assez sophistiquées comme l'isoélectrofocalisation ou l'immunoblot.

- Le dosage de la ferritine glycosylée est susceptible de fournir des informations sur l'origine de la protéine : sécrétion par les macrophages si elle est glycosylée, ou libération au cours d'une nécrose tissulaire si elle ne l'est pas. Mais la séparation des deux fractions par chromatographie d'affinité limite l'utilisation de ce paramètre.

- L'évaluation du fer transporté par la ferritine sérique a fait l'objet d'une attention particulière, mais les résultats se sont avérés décevants. La saturation en fer de la ferritine est indépendante de la teneur en fer dans le foie, mais varie selon le rythme des lyses cellulaires, physiologiques ou non.

La ferritine érythrocytaire

La ferritine érythrocytaire reflète l'équilibre entre les entrées de fer dans la moelle érythropoïétique, sous la forme de transferrine diférique essentiellement, et les « sorties » correspondant à la synthèse de l'hémoglobine.

Une augmentation des entrées non justifiée par des besoins accrus (hémochromatose) ou une utilisation défailante (hémoglobinopathies) sans restriction des apports, ont pour conséquence une augmentation de la concentration érythroblastique (et donc érythrocytaire) en ferritine.

A l'inverse, une carence d'apport en fer ou une accélération de son utilisation (anémie hémolytique) se traduisent par des valeurs abaissées [3].

- Méthode de dosage

Le dosage de la ferritine érythrocytaire nécessite plusieurs étapes :

- élimination des leucocytes (très riches en ferritine)
- obtention d'un hémolysat de sang total par sonication
- numération des globules rouges et détermination du taux d'hémoglobine sur le sang total initial
- détermination du taux d'hémoglobine sur l'hémolysat (pour apprécier le taux de dilution)
- dosage de la ferritine sur l'hémolysat
- application d'une formule donnant la quantité de ferritine par globule rouge (GR) en attog/GR (= 10^{-18} g/GR).

- Interprétation du résultat

Valeurs de références

- Adulte, homme ou femme : 5 - 40 attog/GR
- Enfant masculin (1 à 12 ans) : 2,8 - 24 attog/GR

La ferritine érythrocytaire est diminuée très spécifiquement dans les carences martiales et elle est augmentée en cas de surcharge. Elle a l'avantage de ne pas être influencée par les états inflammatoires. Mais sa méthode de détermination, qui nécessite une déleucocytation parfaite du prélèvement, limite son utilisation en pratique courante. Elle trouve son intérêt dans les situations diagnostiques difficiles, notamment en cas d'association carence ou surcharge martiale et syndrome inflammatoire.

Dans les hémochromatoses génétiques, elle est très élevée (jusqu'à 60 fois la normale), alors que dans l'hémochromatose secondaire (à une cirrhose alcoolique par exemple), elle l'est beaucoup moins voire pas du tout.

Récepteur soluble de la transferrine (RsTf)

La transferrine délivre le fer aux érythroblastes en se liant à un récepteur spécifique, le récepteur 1 de la transferrine, présent à la surface de leur membrane. A l'état physiologique, au moins 80 % des récepteurs de la transferrine sont localisés sur les cellules de la lignée rouge, bien que toutes les cellules en possèdent sur leur membrane. Ce nombre augmente en cas de stimulation de l'érythropoïèse. Le nombre de récepteurs est plus élevé aux stades précoces de l'érythropoïèse et décroît avec la maturation cellulaire. Une carence en fer ou une stimulation par l'érythropoïétine entraînent une augmentation du nombre de récepteurs par cellule, tandis que la surcharge en fer exerce l'effet inverse.

Au cours de la maturation érythroblastique, les remaniements de la structure membranaire conduisent au relargage de certaines protéines transmembranaires. C'est ce mécanisme de clivage protéolytique qui est à l'origine de la forme soluble du récepteur de la transferrine (RsTf) retrouvée dans le plasma. La forme circulante est complexée à la transferrine. Il existe donc une corrélation entre la concentration plasmatique des récepteurs solubles et la quantité de ces récepteurs sur la membrane des précurseurs érythroblastiques. Celle-ci est fonction des besoins en fer et des réserves. Par conséquent, le dosage du RsTf est considéré comme un témoin sensible et précoce de la carence en fer (avant le développement de l'anémie).

- Méthodes de dosage

Le récepteur soluble de la transferrine peut être dosé par méthode immuno-enzymatique (ELISA), par immunoturbidimétrie ou immunonéphélométrie. Les valeurs de référence varient selon les techniques, en fonction notamment des anticorps monoclonaux et des unités utilisés (mg/l ou nmole/l).

Un réactif de référence OMS pour le RsTf a été publié en 2010 [4]. Ce réactif de référence devrait contribuer à harmoniser et standardiser le dosage de ce paramètre.

- Interprétation des résultats (Tableau 4)

Les valeurs de RsTf sont très stables chez un même sujet à l'état normal. Au delà de 18 ans, on n'observe pas de différence liée au sexe, à l'âge ou durant le nycthémère. Cependant les valeurs sont plus élevées chez le fœtus, le nouveau-né, l'enfant et l'adolescent. Les valeurs normales doivent donc être adaptées par tranches d'âge dans ce groupe.

En pathologie, l'activité de la moelle érythropoïétique est le principal déterminant de la valeur du RsTf. Ainsi, il est abaissé dans l'aplasie médullaire, l'anémie de l'insuffisance rénale chronique, chez les sujets polytransfusés ou après une chimiothérapie intensive.

Il est augmenté en cas de stimulation de l'érythropoïèse : anémies hémolytiques chroniques comme les anémies hémolytiques auto-immunes, la drépanocytose ou la sphérocytose héréditaire, thalassémies majeures ou intermédiaires, anémies mégaloblastiques, dysérythropoïèses congénitales, polyglobulies secondaires et dans les carences en fer.

L'intérêt du dosage du RsTf a été particulièrement étudié dans le cadre de l'anémie par carence martiale, où le dosage de la ferritine sérique n'est pas fiable isolément en cas de syndrome inflammatoire associé qui augmente sa concentration. En 2004, une consultation technique conjointe OMS / Centres for Disease Control and Prevention (OMS / CDC) a conclu que l'association du dosage de la ferritine sérique et du RsTf offrait la meilleure approche pour estimer le statut en fer des populations [5]. L'utilisation du dosage du RsTf, qui était jusqu'à présent limitée par le manque de standardisation des dosages immunologiques, va certainement se développer à l'avenir du fait de la disponibilité d'un réactif de référence.

Le ratio RsTf/Ferritine (exprimé en mg/kg de poids) a été également proposé et serait plus sensible pour détecter la carence martiale.

Tableau 4 : Variations physiologiques et pathologiques du récepteur soluble à la transferrine (RsTf).

	Augmentation du RsTf	Diminution du RsTf
PHYSIOLOGIQUE	- Nouveau-né, enfant, adolescent	
PATHOLOGIQUE	<ul style="list-style-type: none"> - Carences en fer - Hémolyses chroniques : anémies hémolytiques auto-immunes, drépanocytose, sphérocytose héréditaire) - Thalassémies majeures ou intermédiaires - Anémies mégalo-blastiques - Dysérythropoïèses congénitales - Polyglobulies secondaires 	<ul style="list-style-type: none"> - Surcharge en fer - Aplasie médullaire - Anémie de l'insuffisance rénale chronique - Sujets polytransfusés - Chimiothérapie intensive.

Hepcidine

L'hepcidine est considérée comme l'hormone régulatrice du métabolisme du fer, au même titre que l'insuline pour le métabolisme glucidique. Ce petit peptide, dont la forme active circulante comporte seulement 20 ou 25 aa, à une structure très complexe avec de nombreux ponts disulfures qui rendent sa synthèse *in vitro*, ainsi que la production d'anticorps, extrêmement délicates. Par ailleurs les quantités présentes dans le plasma sont minimales et le dosage urinaire a été longtemps préféré au dosage plasmatique. Ce dernier est maintenant utilisé plus largement. Un chapitre de cet ouvrage est dédié à l'hepcidine (Chapitre S Vaultont).

- Interprétation des résultats

Les principales variations de l'hepcidine en pathologie sont résumées dans le [Tableau 5](#).

Tableau 5 : Variations de l'hepcidine en pathologie

Augmentation de l'hepcidine	Diminution de l'hepcidine
<ul style="list-style-type: none"> - Surcharges en fer non génétiques - Syndromes inflammatoires 	<ul style="list-style-type: none"> - Carences en fer - Érythropoïèse accélérée - Hypoxie - Hémochromatoses génétiques liées aux gènes : <ul style="list-style-type: none"> • <i>HFE</i> (hémochromatose commune) • <i>TFR2</i> (récepteur 2 à la transferrine) • <i>HAMP</i> (hepcidine) • <i>HJV</i> (hémoujuvéline)

• Indications du dosage en pratique clinique

Les indications actuelles ou potentielles du dosage de l'hepcidine en pratique clinique sont les suivantes :

- anémies hypochromes microcytaires avec suspicion d'une origine héréditaire, afin d'orienter le diagnostic étiologique et l'étude génétique,
- hémochromatoses héréditaires : pour le suivi thérapeutique,
- insuffisance rénale chronique et
- syndrome inflammatoire chronique : pour évaluer l'indication de supplémentation martiale.

Autres tests

Le contenu en hémoglobine des réticulocytes (CHr)

• Intérêt du dosage

Les réticulocytes sont le témoin de l'activité de la moelle érythropoïétique. Ce sont les premières cellules de la lignée érythroblastique à être relarguées dans le courant sanguin où elles sont présentes durant 1 à 2 jours avant leur maturation finale en érythrocytes. Ainsi, le contenu en hémoglobine des réticulocytes (CHr) est le reflet du fer disponible pour l'érythropoïèse dans la moelle osseuse. C'est un indicateur précoce d'une érythropoïèse carencée en fer.

• Conditions du prélèvement

Le sang total, prélevé sur EDTA, est examiné le jour même.

- Méthodes de dosage

Certains automates incluent ce dosage parmi leurs paramètres de routine. Le dosage est basé sur l'évaluation simultanée du volume cellulaire et du contenu en hémoglobine.

Valeurs normales :

De 28,8 à 32,9 pg dans la population adulte.

Un seuil < 28 pg est souvent utilisé pour définir une diminution du CHr, en faveur d'une érythropoïèse carencée en fer.

- Interprétation des résultats

Le dosage du CHr a été préconisé dans le cadre du suivi du traitement par érythropoïétine, notamment chez les insuffisants rénaux chroniques où il serait un marqueur précoce de l'érythropoïèse carencée en fer induite par le traitement. Il a également été conseillé comme un marqueur de la carence en fer chez les enfants.

Du fait de la méthode de dosage, son utilisation est limitée chez les patients ayant un volume globulaire moyen (VGM) augmenté (>100 fl), ainsi que chez les patients porteurs d'anomalies de l'hémoglobine, telles que les thalassémies (CHr abaissé en l'absence de carence en fer).

Les tests génétiques sont traités aux chapitres 3 et 6

Interprétation du bilan martial, exploration d'une surcharge en fer, exploration d'une anémie

Il n'existe pas à l'heure actuelle, de véritable consensus international sur la démarche diagnostique d'une surcharge ou d'une carence en fer. En France, des recommandations médicales opposables (RMO) ont été rédigées pour l'exploration de la carence en fer (RMO 52), mais elles mériteraient certainement d'être revues à la lueur des connaissances récentes et de la description de nouvelles entités cliniques.

Qu'il s'agisse de surcharge ou de carence martiale, l'idéal est bien sur de pouvoir réaliser un dépistage précoce, avant l'apparition des premiers signes cliniques. La démarche à ce stade pré-clinique est basée le plus souvent sur des paramètres biologiques classiques, qui sont dosés dans un premier temps. La découverte fortuite ou orientée de perturbations de l'un des paramètres du bilan martial (surtout la ferritinémie) va conduire à poursuivre les investigations.

Dans les deux groupes (carence et surcharge), le diagnostic des causes les plus communes n'a pas beaucoup évolué et la démarche reste classique. Les nouveaux paramètres biologiques sont surtout utiles dans le cadre des pathologies complexes ou pour la recherche de causes plus rares, dont certaines sont de description récente.

Exploration d'une surcharge en fer

Le diagnostic de surcharge martiale peut être suspecté devant l'apparition de manifestations cliniques. Celles-ci sont détaillées au chapitre « Surcharges en fer ». A l'heure actuelle ce diagnostic est souvent envisagé plus précocement, devant des perturbations du bilan martial, essentiellement devant une hyperferritinémie.

Diagnostic d'une hyperferritinémie : les principales étiologies et les examens complémentaires nécessaires à leur diagnostic

La découverte, orientée ou fortuite, d'une hyperferritinémie, doit conduire à une démarche diagnostique systématique visant à éliminer en priorité les causes non liées à une surcharge en fer qui sont les plus fréquentes. Ces causes sont rappelées dans le [Tableau 3](#) avec en regard, les examens complémentaires biologiques permettant d'assurer le diagnostic. L'interrogatoire du patient et l'examen clinique réalisés avant tout bilan pourront parfois orienter d'emblée le diagnostic. D'autres examens complémentaires, morphologiques notamment, seront parfois nécessaires à la recherche étiologique. La démarche diagnostique d'une hyperferritinémie est détaillée au chapitre « Surcharges en fer » ; les examens biologiques mis en œuvre ainsi que les principales étiologies sont rappelées ci-dessous.

Examens biologiques pour le diagnostic étiologique d'une hyperferritinémie

Les examens complémentaires systématiques ([Tableau 3](#)) sont la numération sanguine avec réticulocytes, les dosages de CRP, ASAT, ALAT et bilirubine (+/- CPK mais qui donnent de nombreux faux positifs). Ils seront complétés par le bilan lipidique (cholestérol total, LDL, HDL) et la glycémie à jeun. Les autres examens seront prescrits en fonction de points d'appels cliniques ou biologiques ou de données de l'interrogatoire.

Principales étiologies d'une surcharge en fer

La démarche diagnostique est basée habituellement sur la présence initiale d'une hyperferritinémie et du CST. Les autres paramètres martiaux seront déterminés en fonction des résultats obtenus au cours du bilan et des éventuelles associations pathologiques suspectées, qui compliquent le diagnostic étiologique. Le [tableau 6](#) liste les principales causes de surcharge en fer.

Tableau 6 : Principales étiologies de surcharge en fer.

Surcharges secondaires	<ul style="list-style-type: none">- Anémies chroniques<ul style="list-style-type: none">• thalassémie majeure ou intermédiaire• anémie sidéroblastique• anémie hémolytique chronique- Apport de fer exogène en excès<ul style="list-style-type: none">• surcharge en fer orale ou parentérale- Maladies hépatiques- Divers<ul style="list-style-type: none">• porphyrie cutanée tardive• surcharge en fer dysmétabolique
Surcharges primitives ou héréditaires	<ul style="list-style-type: none">- Liées au gène HFE (fréquentes) : principalement homozygotie C282Y.- Non liées au gène HFE (nombreuses entités, rares)

Exploration d'une anémie (recherche d'une anomalie du bilan martial)

Bilan biologique d'une anémie microcytaire

Le bilan biologique d'une anémie microcytaire à la recherche d'un trouble du métabolisme martial comporte plusieurs étapes dont i) le diagnostic positif, basé sur les paramètres hématologiques et biochimiques et ii) le diagnostic étiologique, qui repose sur divers examens complémentaires orientés par l'anamnèse.

Bilan hématologique

L'anémie hypochrome microcytaire est souvent le premier signe d'appel d'une carence martiale, avant l'apparition des signes cliniques. Les principales modifications du bilan hématologique sont les suivantes :

- A la numération sanguine

Anémie microcytaire hypochrome : taux d'hémoglobine (Hb) < 12g/dl (femme) et < 13g/dl (homme) ; volume globulaire moyen (VGM) < 81 fl ; teneur corpusculaire moyenne (TCMH) < 27 pg.

Leucocytes non modifiés. Il faut noter que la formule sanguine n'est pas indiquée en première intention dans le bilan d'une carence martiale.

Plaquettes augmentées (> 400 000/mm³), voire très augmentées. Cette élévation peut être due à deux mécanismes : augmentation réactionnelle de la thrombopéétine et/ou artéfact lié aux automates chez lesquels l'identification plaquettes/érythrocytes est basée sur un seuil de taille (méthodes cytométriques).

Indice de distribution des globules rouges (IDR) augmenté > 15 (anisocytose).

- Les réticulocytes sont normaux ou bas (anémie arégénérative en l'absence de traitement martial). La RMO52 précise que leur numération ne doit pas être systématique en première intention pour le diagnostic d'une carence en fer.

- La modification de l'ensemble des paramètres précédents est le reflet d'une carence martiale à un stade avancé. A un stade plus précoce, on observe seulement une hypochromie sans anémie ni microcytose.

- Le frottis sanguin lorsqu'il est examiné montre des anomalies morphologiques non spécifiques : hématies cibles, anisocytose, poïkylocytose, hypochromie, ainsi que la présence de microcytes.

Biochimie

- La diminution de la ferritine sérique est caractéristique d'une carence martiale. Cependant, les autres paramètres du bilan martial peuvent être utiles pour identifier une carence masquée par une autre cause, ainsi que certaines étiologies rares. Il faut donc connaître ces variations du bilan martial ainsi que les interférences pouvant les modifier.

En cas de carence isolée, le bilan martial montre les éléments suivants :

ferritine sérique abaissée (<15 µg/L ou <12 µg/L selon les auteurs),
transferrine et capacité totale de fixation (CTFT) augmentées,
coefficient de saturation de la transferrine (CST) diminué (< 15%),
fer sérique diminué.

- D'autres paramètres peuvent être utiles, en cas de difficulté diagnostique et notamment d'association à un syndrome inflammatoire :

récepteurs solubles à la transferrine (RsTf),
ferritine érythrocytaire,
contenu en fer des réticulocytes (CHR),
hepcidine.

- Le bilan inflammatoire (VS ou CRP) permet l'interprétation du résultat de la ferritinémie, car en cas de syndrome inflammatoire associé à une carence martiale, celle-ci peut être normale voire augmentée. D'autres paramètres biologiques, et notamment le dosage du RsTf ou des index, tel que le ratio ferritine/RsTf, ont été proposés et peuvent alors être utiles pour confirmer la présence d'une carence martiale sous jacente en présence d'un syndrome inflammatoire.

- L'étude de l'hémoglobine (Hb) sera effectuée « si nécessaire », selon la RMO52, et non en première intention. Elle est toutefois indispensable pour confirmer une suspicion de thalassémie mineure isolée ou associée à la carence en fer. Il peut s'agir d'une bêta ou d'une alpha thalassémie. L'étude de l'Hb peut révéler fortuitement une autre hémoglobinopathie, telle qu'une drépanocytose hétérozygote (sujet AS) qui ne s'accompagne isolément d'aucune anomalie de la numération sanguine. En cas de microcytose chez un sujet AS, il faut rechercher une carence martiale associée ou un trait alpha thalassémique. Un arbre décisionnel pour le diagnostic biologique des principales anomalies de l'Hb a été proposé récemment (6).

Recherche d'une cause

Une fois le diagnostic de carence martiale établi, la recherche étiologique est indispensable et fait partie intégrante de la démarche thérapeutique. En effet, si la cause persiste, le traitement martial sera inefficace ou d'effet transitoire. La démarche du diagnostic étiologique est la suivante :

- Interrogatoire : c'est une étape importante qui peut parfois révéler immédiatement la cause.
 - L'enquête alimentaire : peut montrer des apports insuffisants ou inadaptés en fer, notamment chez la femme jeune, l'enfant ou la personne âgée.
 - Les hémorragies, sont parfois de diagnostic facile : méno-métrorragies chez la femme, épistaxis abondante et répétée, hémorroïdes ou saignements digestifs qui nécessitent d'éliminer un cancer colorectal et devront être recherchés, en l'absence d'autre cause, par examen des selles. Un bilan d'hémostase pourra révéler une maladie de Willebrand ou un diagnostic de conductrice d'hémophile (qu'il existe ou non des cas index dans la famille).
 - L'établissement d'un arbre généalogique, ou a minima l'interrogatoire sur l'existence de cas similaires dans la famille, peuvent faire suspecter une forme héréditaire. Cependant les causes acquises fréquentes peuvent parfois s'observer chez plusieurs membres d'une même famille.
- Examen clinique : les principaux signes cliniques d'anémie par carence en fer sont classiquement :
 - asthénie, pâleur, dyspnée, tachycardie (signes d'anémie),
 - signes cutanéomuqueux : peau sèche, ongles cassants, perlèche, perte de cheveux, glossite, dysphagie, gastrites, dyspepsies,
 - signes neurologiques (tardif),
 - diminution des fonctions cognitives, troubles du comportement,
 - retard psychomoteur,
 - troubles du comportement alimentaire (géophagie, pica),
 - diminution des défenses immunitaires.
- Examens complémentaires orientés : ils seront prescrits par le spécialiste.
 - Biologie : par exemple, bilan de coagulation.
 - Exploration digestive ou gynécologique.
 - Myélogramme (fer intra-médullaire), IRM hépatique (avec quantification de la charge hépatique en fer).
 - Biologie moléculaire orientée (pour les formes héréditaires).
- Réponse au traitement martial : cette donnée est intéressante car elle permet de s'assurer que la cause de la carence a été correctement traitée. Elle est aussi contributive au diagnostic étiologique d'une forme particulière d'anémie héréditaire par mutations du gène *TMPRSS6* responsable d'IRIDA (pour Iron Refractory Iron Deficiency Anemia) ([voir chapitre 6](#)).

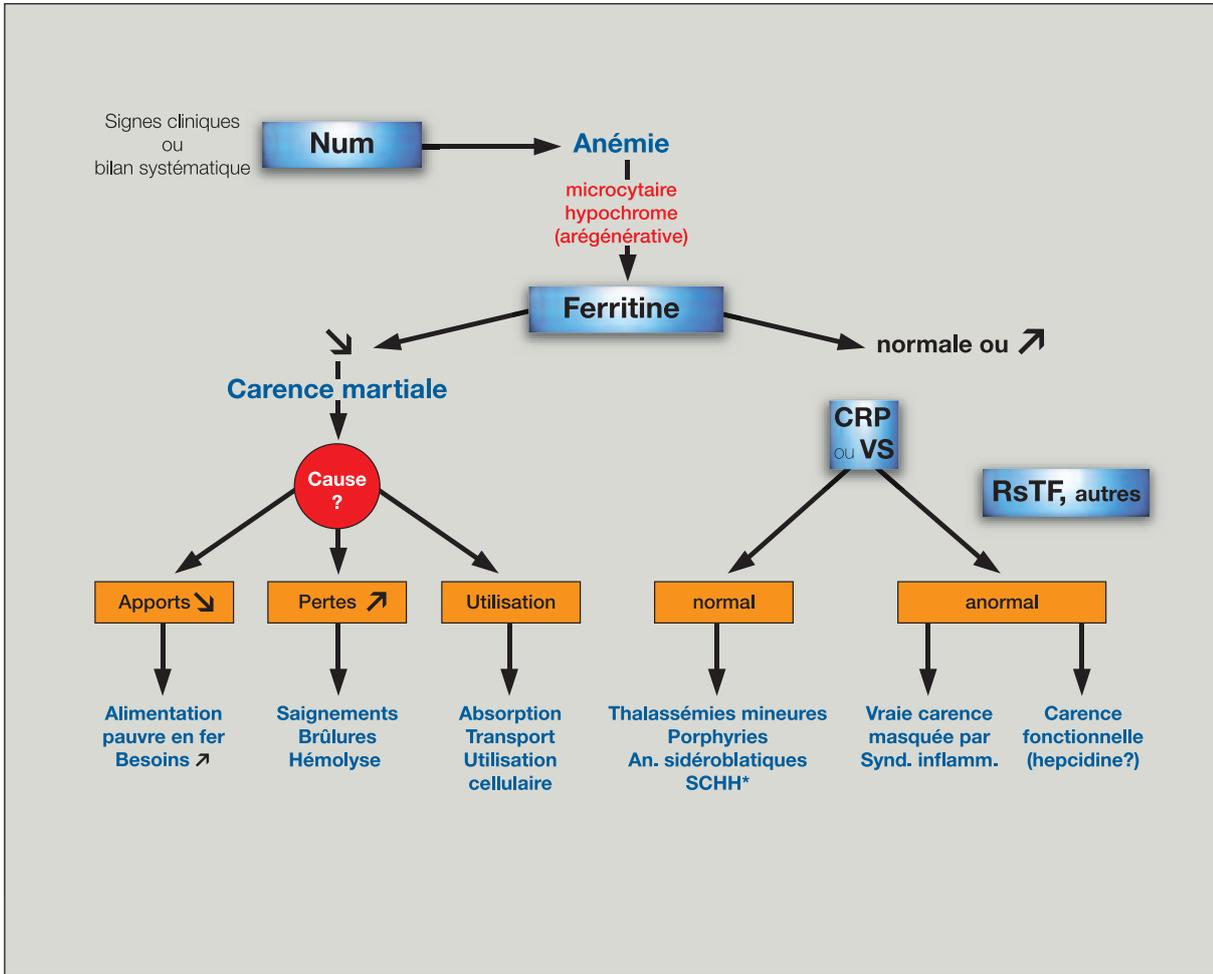
Principales étiologies

On distingue classiquement les carences d'apport et les pertes excessives, dues pour l'essentiel à des saignements chroniques ([tableau 7](#)). La [figure 2](#) reprend les étapes de la démarche étiologique.

Tableau 7 : Principales étiologies des anémies microcytaires avec carence martiale

Carences d'apport
Besoins augmentés Enfants, nourrissons, adolescents Traitement par EPO (sujets dialysé)
Apports diminués Régimes déséquilibrés ou hypocaloriques (végétariens, végétaliens), parfois dramatiques chez l'enfant Malabsorptions
Pertes excessives (saignements)
Saignements digestifs chroniques (ulcères gastriques, hémorragies intestinales ou rectales)
Saignements gynécologiques (ménorragies, pouvant être associées à un trouble de la coagulation : maladie de Willebrand, conductrice d'hémophilie A ou B à taux bas, autres)
Problèmes d'utilisation du fer
Entrée du fer, digestive et/ou cellulaire Mutations du gène Tmprss6 (IRIDA)
Transport du fer Diminution acquise de la transferrine : catabolisme, fuite urinaire

Figure 2 : Diagnostic d'une anémie microcytaire hypochrome.



* SCHH : Syndrome Cataracte Hyperferritinémie Héritaire (La carence martiale peut survenir lorsque ces sujets, porteurs d'une hyperferritinémie inexplicée, sont saignés à tort. Son diagnostic ne peut être basé sur le dosage de la ferritine qui est augmentée de manière constitutionnelle, sans relation avec le statut martial).

Conclusion

Il est important de retenir que la détermination isolée des paramètres biochimiques du bilan martial n'est habituellement pas suffisante pour établir un diagnostic fiable de surcharge ou de carence. Les arbres diagnostiques proposés dans les différents chapitres de ces cahiers montrent que d'autres données, notamment biologiques, sont indispensables à l'interprétation correcte de ce bilan.

Références bibliographiques

1. Guillygomarc'h A., Christian J., Romain M., Vincent Q., Véronique D., Deugnier Y. Circadian variations of transferrin saturation levels in iron-overloaded patients: implications for the screening of C282Y-linked haemochromatosis. *Br J Haematol.* 2003 ; 120 (2) : 359-63.
2. Vernet M., Corberand J., David V., Deugnier Y., Frey J., Giraudet P., Renverson JC., Sebahoun G. ; Groupe de travail SFBC Arbres décisionnels pour les pathologies du métabolisme du fer. *Ann Biol Clin.* 2001 ; 59 (2) : 149-55.
3. Wagner A. Le rôle du laboratoire dans l'exploration du métabolisme du fer. *Revue de l'ACOMEN*, 2000, 6. 23-27.
4. Thorpe SJ., Heath A., Sharp G., Cook J., Ellis R., Worwood M. A WHO reference reagent for the Serum Transferrin Receptor (sTfR) : international collaborative study to evaluate a recombinant soluble transferrin receptor preparation. *Clin Chem Lab Med.* 2010 ; 48 (6) : 815-20.
- 5 Communiqué OMS 2004 et rapport : Assessing the iron status of populations : report of a Joint World Health Organization / Centers for Disease Control and Prevention Technical Consultation on the Assessment of Iron Status at the Population Level, Geneva, Switzerland, 6-8 April 2004.
6. Réseau DHOS pathologie héréditaire de l'érythrocyte. Arbres décisionnels pour le diagnostic et la caractérisation moléculaire des hémoglobinopathies. *Ann Biol Clin* 2010 ; 68 (4) : 455-64.



ISSN : 1293-2892
ISBN : 2-913633-60-9
SOUS-TITRE
19, avenue d'Italie 75013 Paris
Dépôt légal : Mai 2011



CAHIER DE **Formation** Biologie médicale

Cahiers de formation déjà parus

- N° 1 : Hématologie
 - N° 2 : Immunoanalyse
 - N° 3 : Parasitologie
 - N° 4 : Bactériologie
 - N° 5 : Hormonologie - Gazométrie
 - N° 6 : G.B.E.A
 - N° 7 : Immuno-allergie (1)
 - N° 8 : Hémoglobines glyquées - Lipides
 - N° 9 : Dosage des médicaments Tome I
 - N° 10 : Hématologie Cas illustrés
 - N° 11 : Amibes et flagellés intestinaux
 - N° 12 : Les maladies à Prions
 - N° 13 : Autoimmunité et autoanticorps
 - N° 14 : L'exploration de la thyroïde
 - N° 15 : Dépistage de la trisomie 21
 - N° 16 : Immuno-allergie (2)
 - N° 17 : Virus des hépatites A (VHA) et E (VHE)
 - N° 18 : Dosage des médicaments Tome II
 - N° 19 : Vaginites et vaginoses
 - N° 20 : Hémostase et thrombose
 - N° 21 : Virus des hépatites B (VHB), Delta (VDH), C (VHC), autres
 - N° 22 : Syndrome des anti-phospholipides
 - N° 23 : Parasites sanguins
 - N° 24 : Biochimie pédiatrique
 - N° 25 : Les moisissures d'intérêt médical
 - N° 26 : Immuno-hématologie et groupes sanguins
 - N° 27 : Les marqueurs cardiaques
 - N° 28 : Immunoglobulines monoclonales
 - N° 29 : Mycobactéries - Mycobactérioses
 - N° 30 : Exploration de la fonction de reproduction - versant féminin
 - N° 31 : Les dermatophytes
 - N° 32 : Les marqueurs tumoraux sériques des tumeurs solides
 - N° 33 : Sport et Biologie
 - N° 34 : Borréliose de Lyme
 - N° 35 : L'Inflammation
 - N° 36 : Le virus Epstein-Barr et les marqueurs de l'infection
 - N° 37 : Maladies auto-immunes du foie
 - N° 38 : Les vitamines
 - N° 39 : Les dosages biologiques dans l'ostéoporose
 - N° 40 : Des agents très spéciaux en bactériologie
 - N° 41 : Le vieillissement hormonal - Tome 1
 - N° 42 : Exploration de la fonction de reproduction - versant masculin
 - N° 43 : Le pancréas
 - N° 44 : Les levures et levuroses
 - N° 45 : Les Lymphomes
 - N° 46 : Protéomique, spectrométrie de masse et analyses multiples
 - N° 47 : Insuffisance rénale
-

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.b.m privés.

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire de biologie médicale, privé ou hospitalier, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux inspections des DRASS, et aux diverses personnalités de la Biologie, de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros sont disponibles à la consultation sur le site Internet www.bioforma.net.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6000 exemplaires.