

Carences martiales : mécanismes moléculaires

Carole Beaumont

INSERM U1149

Centre de Recherche sur l'Inflammation – Paris Montmartre

Université Paris Diderot, site Bichat

Paris



Les principales causes d'anémie microcytaire acquise

Carence nutritionnelle en fer

Augmentation physiologique des besoins en fer
(grossesse, adolescence)

Saignements, hémolyse

Maladies inflammatoires de l'intestin

Inflammation

Helicobacter pylori

Obésité

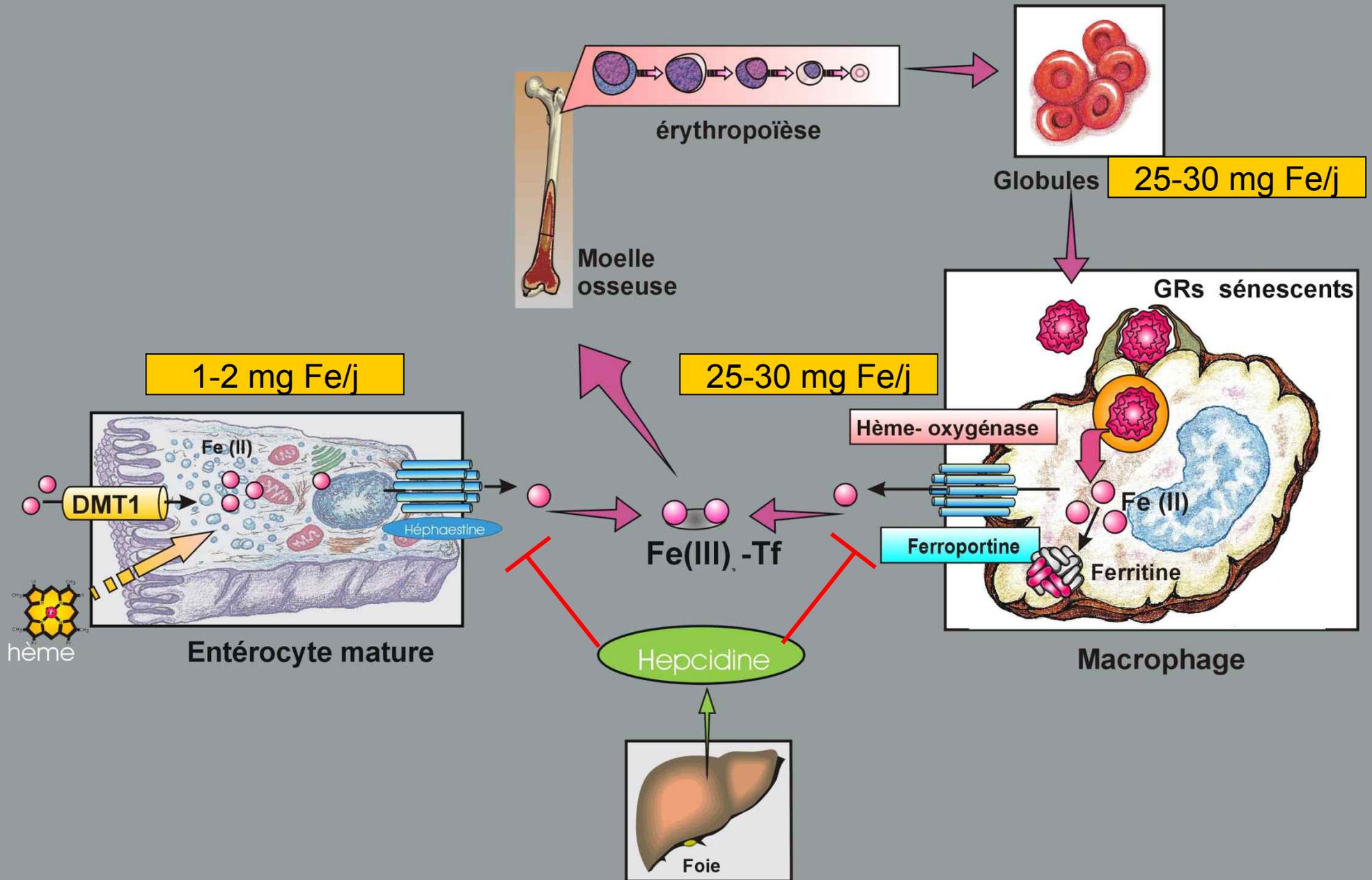
Anémie microcytaire hypochrome génétique



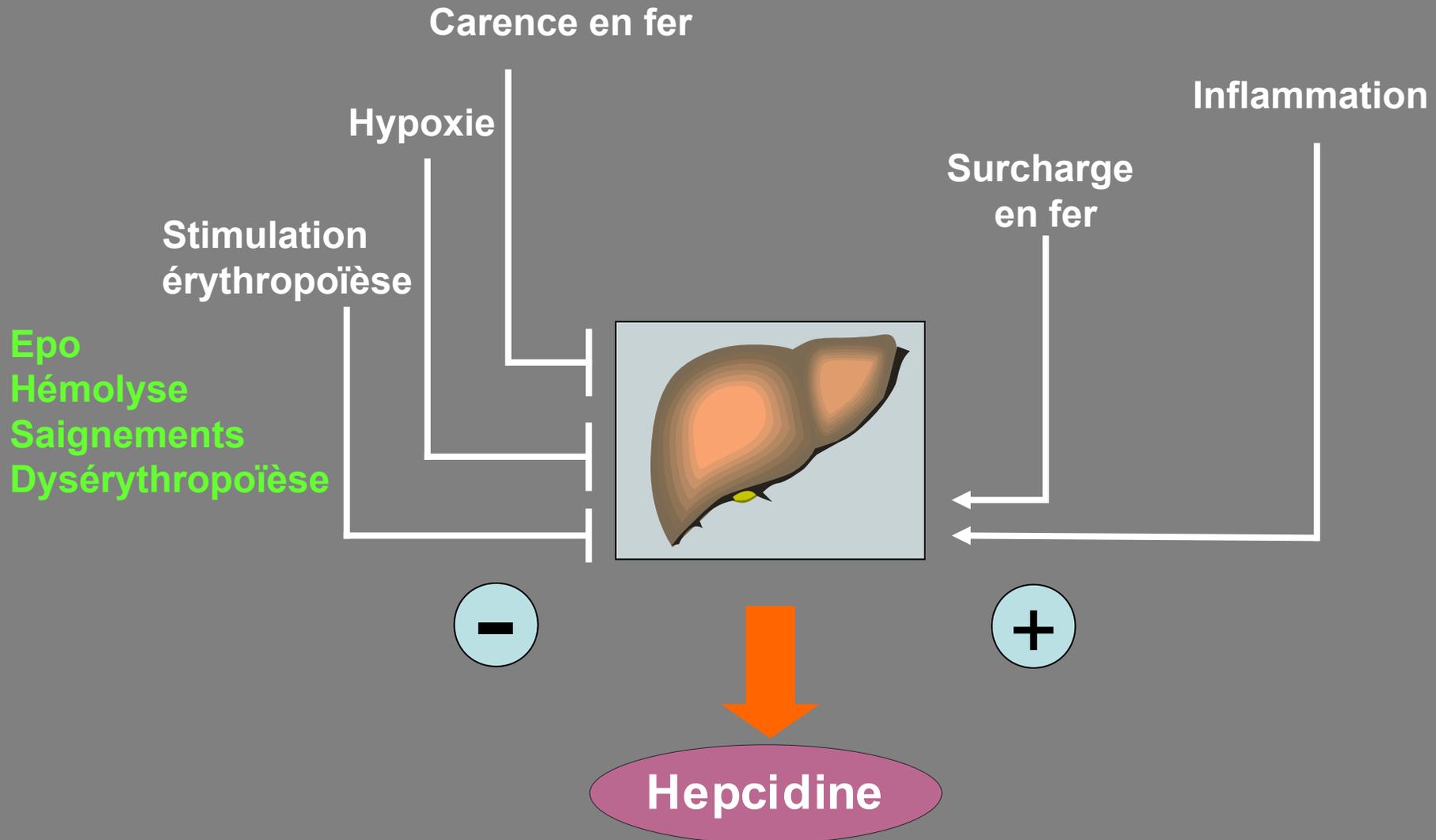
Déficit d'utilisation du fer au niveau de la mitochondrie

Défaut de la voie d'acquisition du fer par érythroblastes

Défaut de disponibilité du fer (carence tissulaire)



Régulation de l'expression de l'hepcidine



Fe (III)-Tf

Sec1511

Apo-Tf

AT

DMT1

Mb

Lumière

Cytoplasme

N

C

[Fe-S]

ISCA (GLRX5)

Mitoferrin

PPIX

Heme

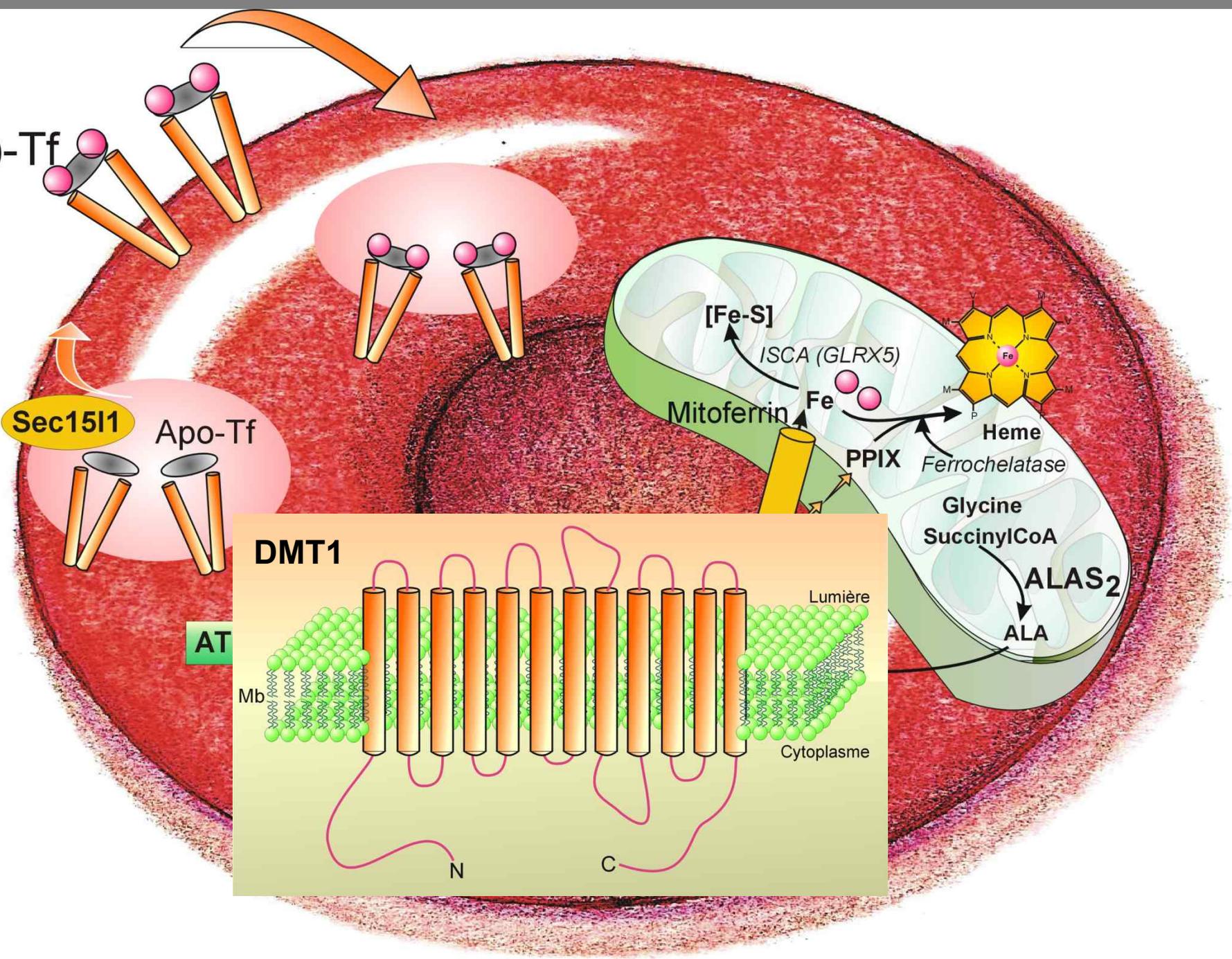
Ferrochelatase

Glycine

SuccinylCoA

ALAS₂

ALA



Anémie microcytaire hypochrome génétique



Déficit d'utilisation
du fer

Défaut de la voie d'acquisition
du fer par erythroblastes

Défaut de disponibilité du fer

↓
Anémie sidéroblastique

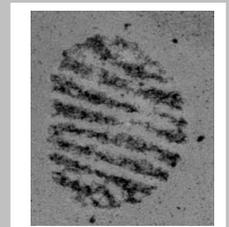
ALAS2
SCL25A38
GRX5

↓
DMT1
STEAP3

Sec15L1
Mitoferrine

↓
Iron Refractory Iron Deficiency Anemia
IRIDA

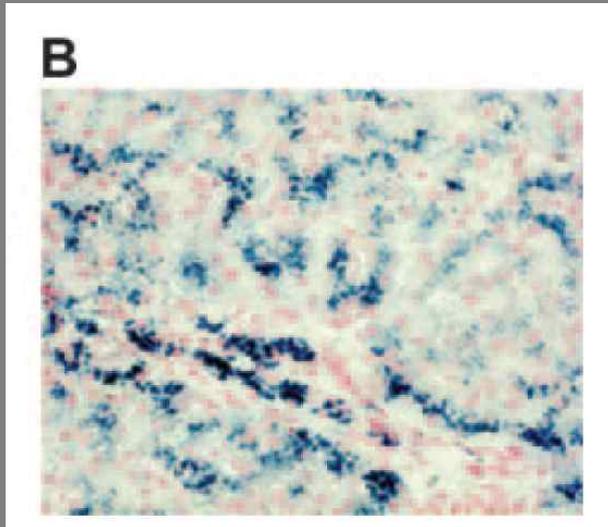
Sidéroblastes en couronne



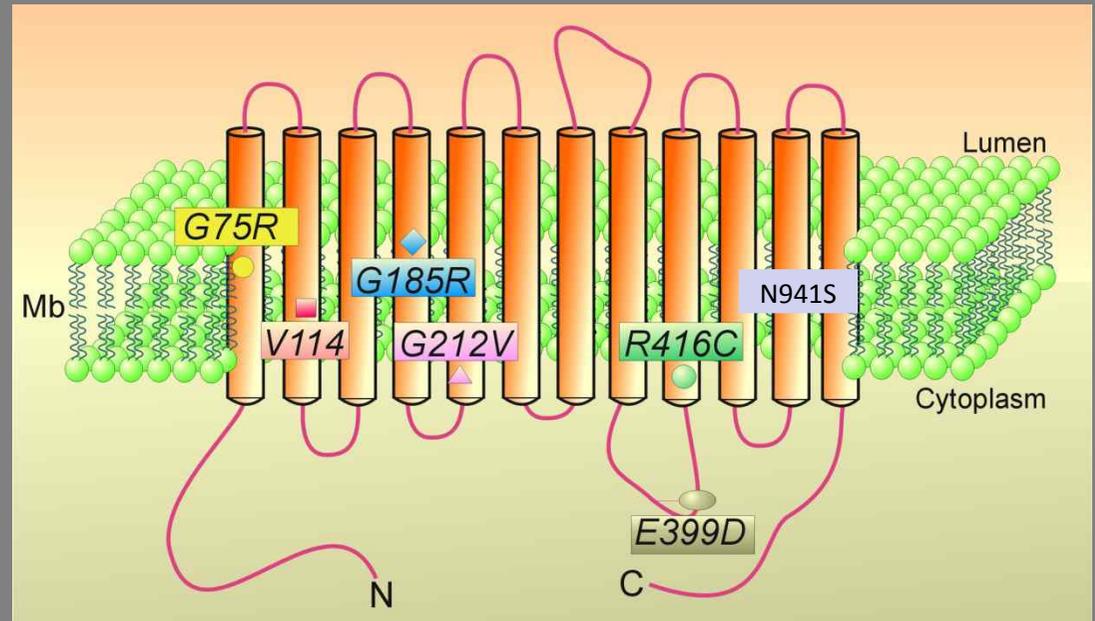
Mutations DMT1

Une autre forme de « iron loading anemia »

- une dizaine de cas dans le monde
- anémie néonatale microcytaire, hypochrome
- +/- sévère suivant les mutations
- développement précoce d'une surcharge en fer hépatique



(Iolascon et al., Blood 2006)



Iron-Refractory Iron Deficiency Anemia IRIDA

- ❖ Anémie microcytaire, hypochrome, apparaissant dès la petite enfance
- ❖ Carence en fer (saturation Tf 2-5 %)
- ❖ Réfractaire au traitement martial par voie orale, partiellement corrigée par fer i.v.

La souris *Mask*



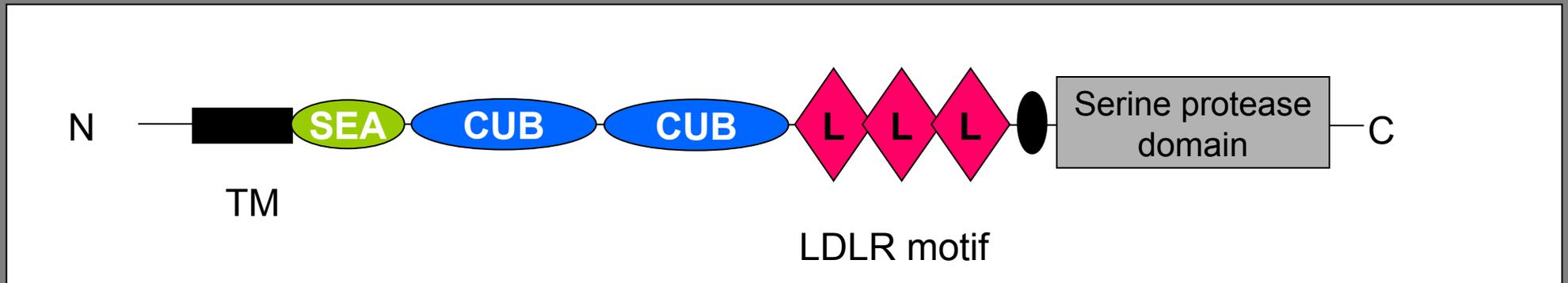
Alopécie du tronc

Anémie microcytaire hypochrome, carence en fer

- déficit d'absorption intestinale du fer
- synthèse d'hepcidine anormalement élevée

Du et al., Science 2008

Mutation de *TMPRSS6* codant pour la Matriptase 2 (MT-2)

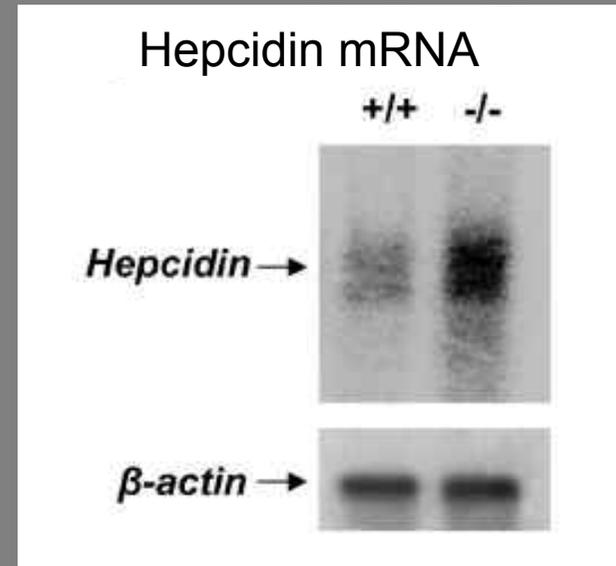


MT-2: sérine protéase transmembranaire de type II

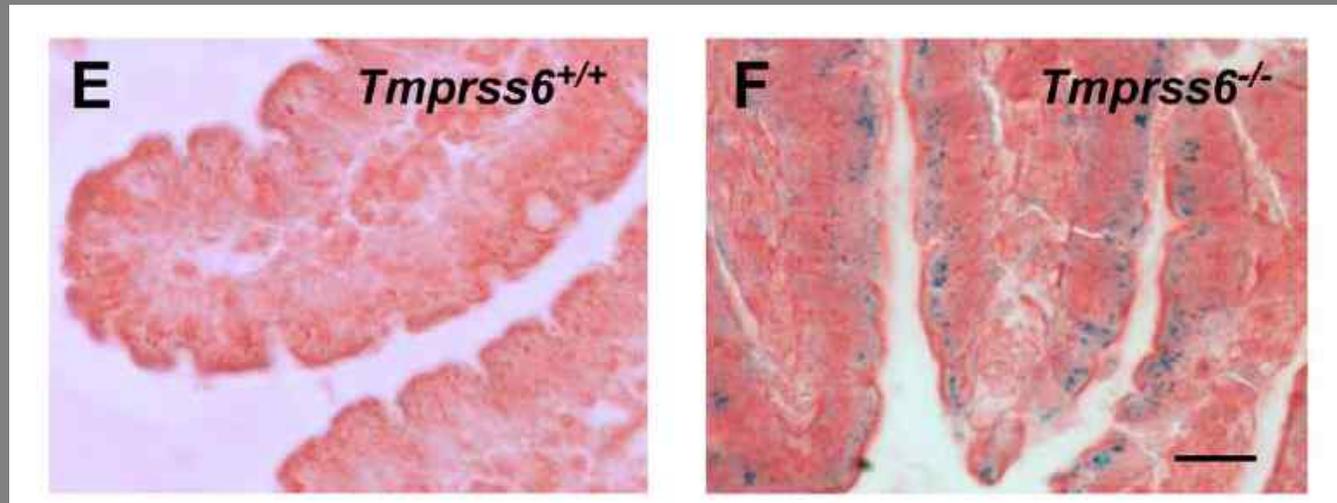
Souris KO *Tmprss6*

	Hgb (g/dL)	MCV (fL)
<i>Tmprss6</i> ^{+/+}	16.4 ± 0.3	49.8 ± 0.9
<i>Tmprss6</i> ^{-/-}	*** 12.0 ± 0.5	*** 37.5 ± 0.4

	Plasma iron (µg/dL)	Tf saturation (%)
<i>Tmprss6</i> ^{+/+}	113.3 ± 6.6	34.1 ± 3.5
<i>Tmprss6</i> ^{-/-}	*** 47.9 ± 5.8	*** 11.3 ± 1.3



Folgueras et al., Blood 2008

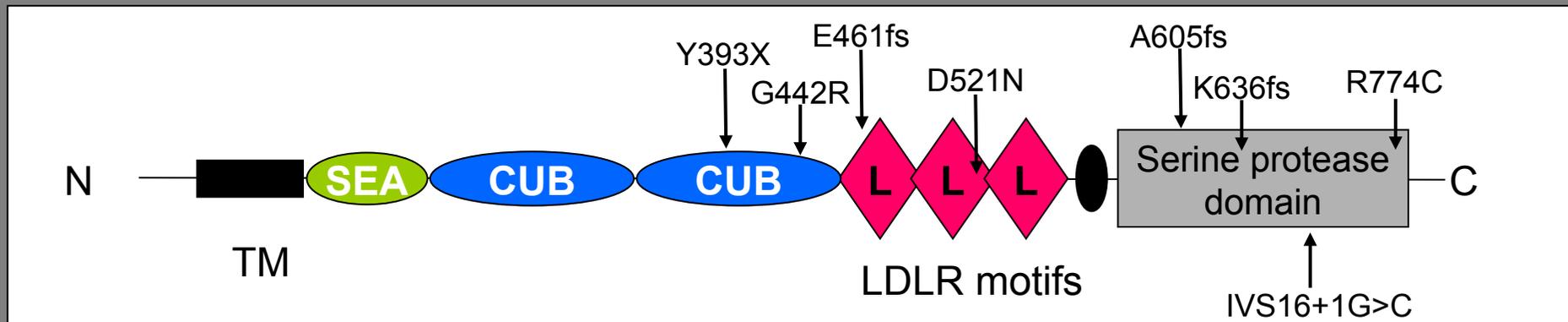


TMPRSS6 mutations in patients with Iron Refractory Iron Deficiency Anemia

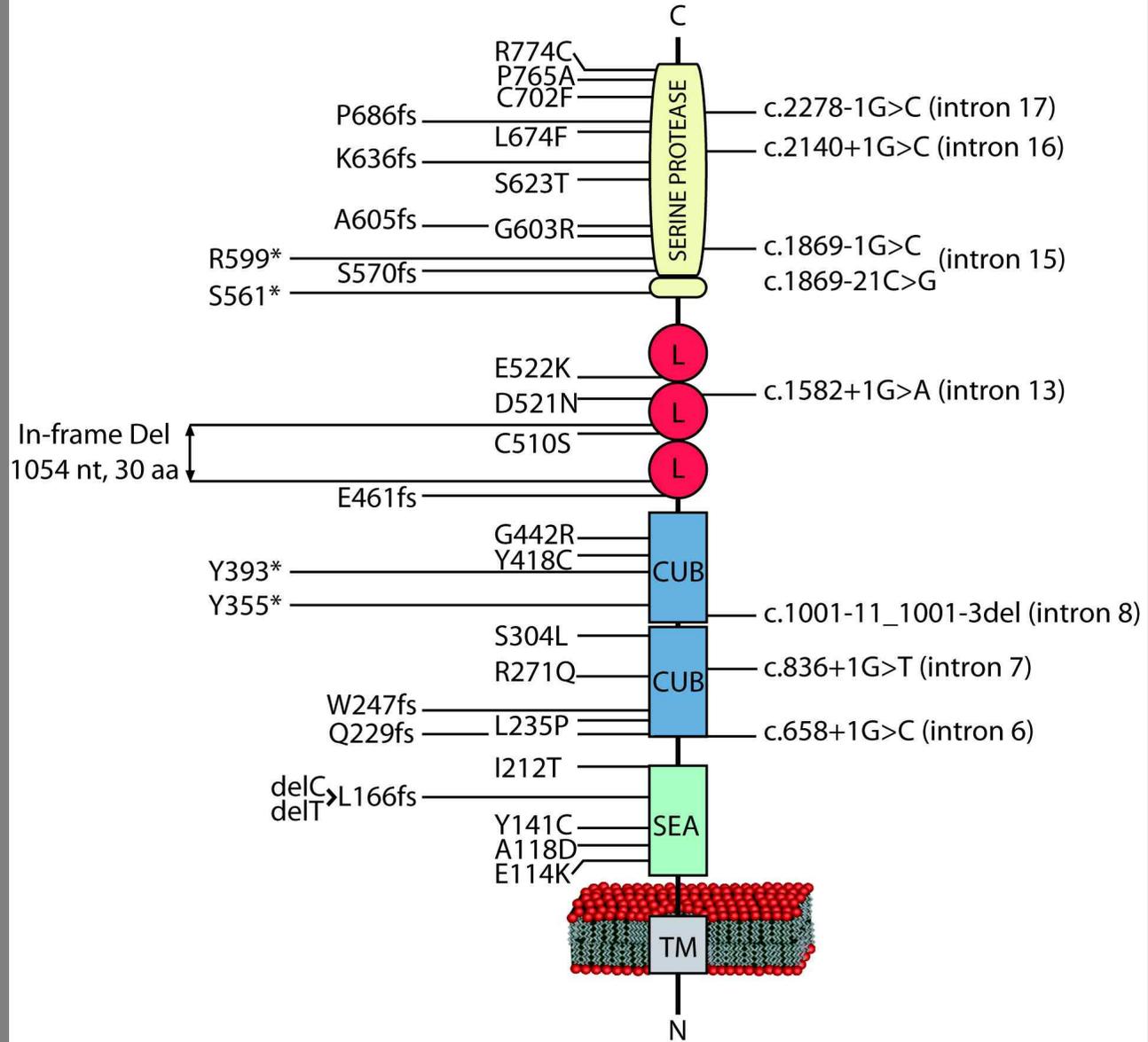
ID	BC $\times 10^{12}/l$	Hb (g/dl)	MCV (fl)	Retics (%)	Transferrin saturation (%)
Multiplex kindreds					
A					
B	5.0	8.8	58	n.d.	2
C					
D	n.d.	9.2	65	1.0	10
E	4.2	7.0	49	n.d.	5
Spontaneous	4.0	8.2	56	1.6	2

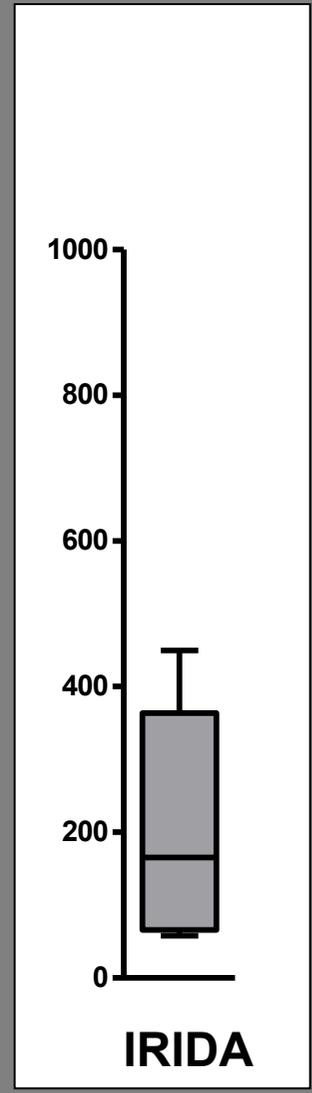
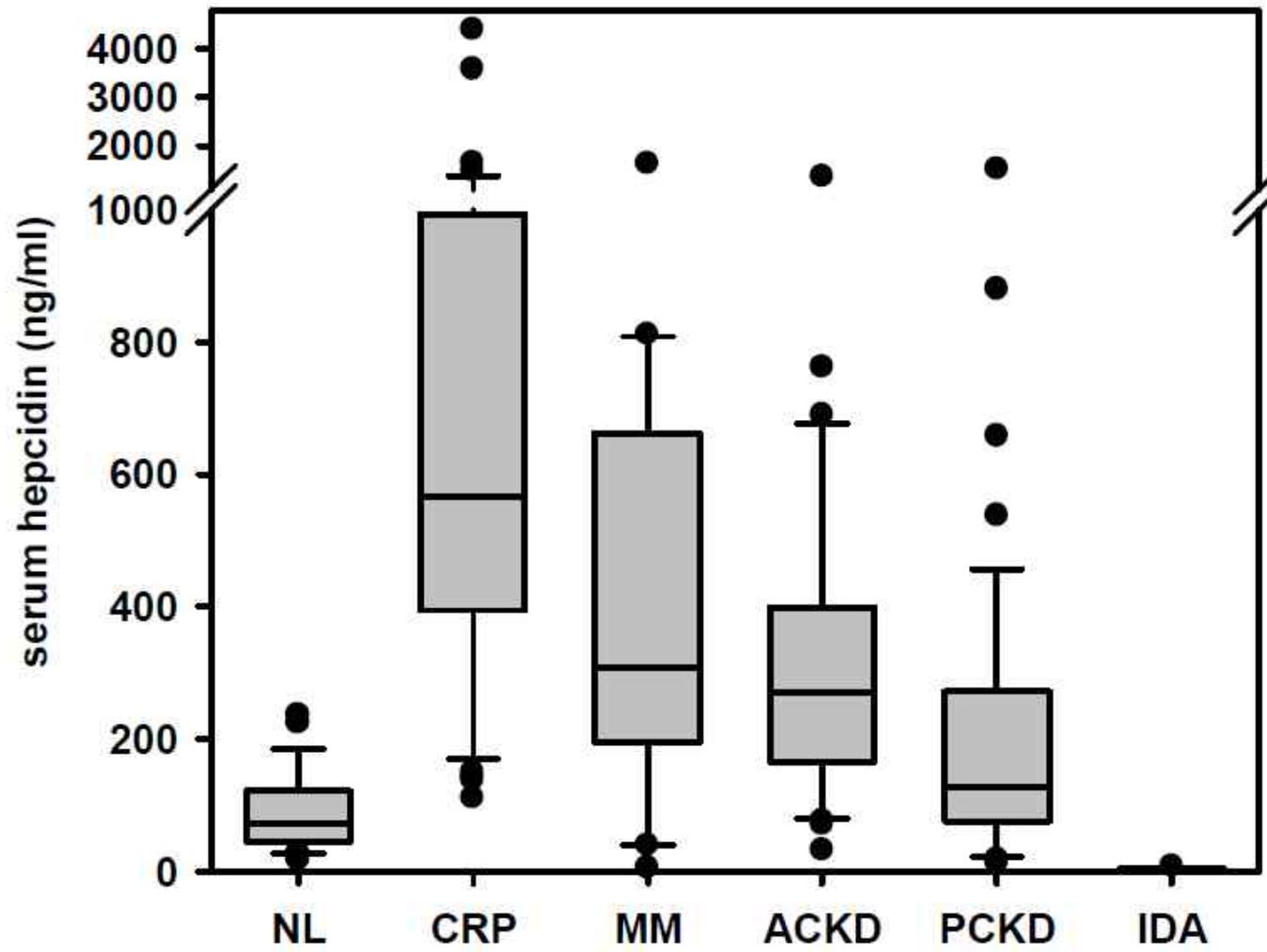
Urinary Hcpidin levels > normal

Finberg et al., Nature genetics, 2008



Others Nonsense Frameshift Missense Splicing/Intronic

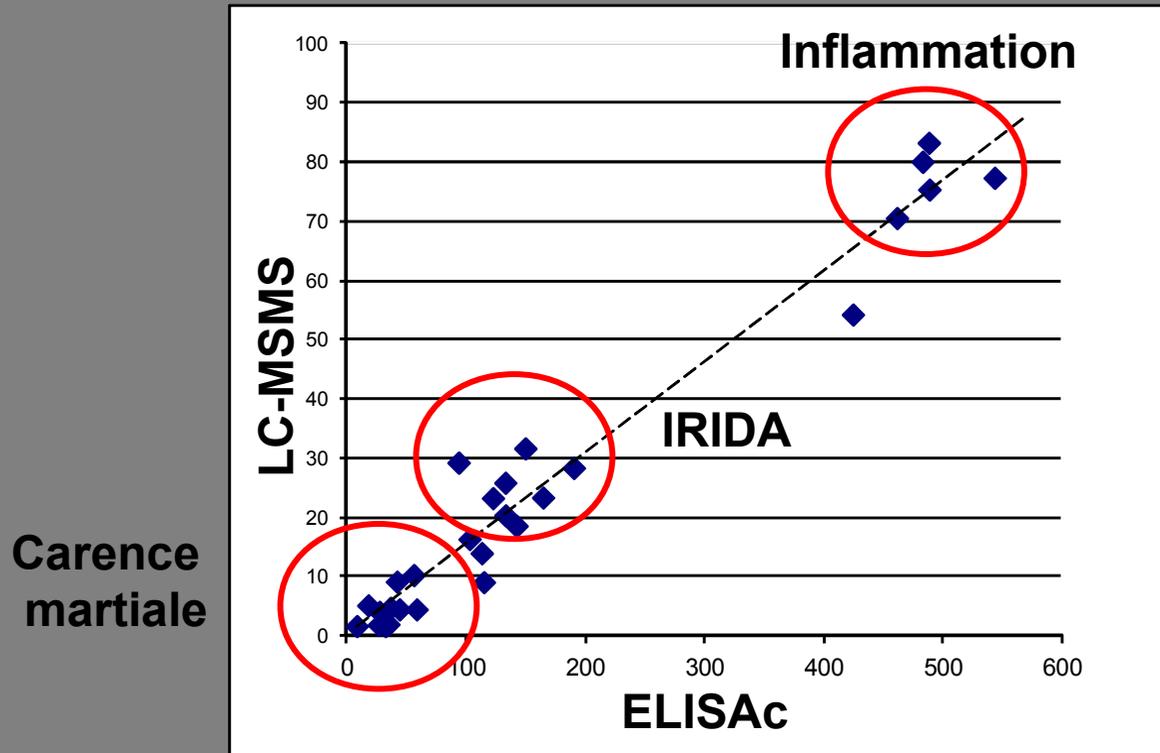




Ganz et al., Blood 2008

Intrinsic Life Sciences, CA

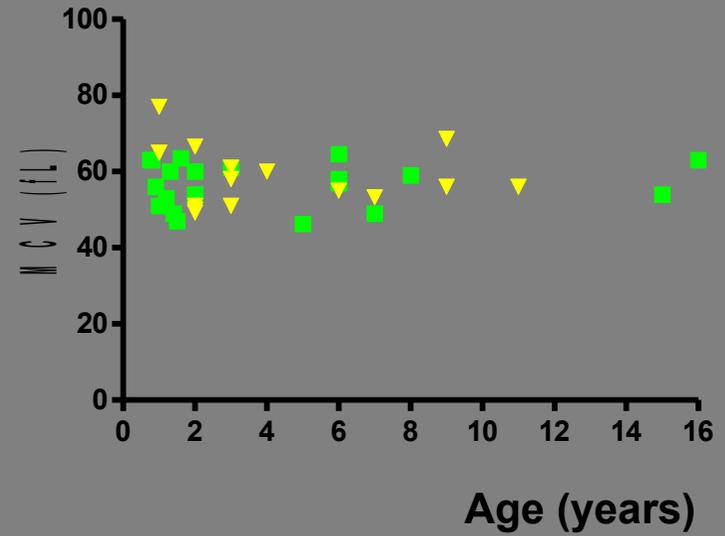
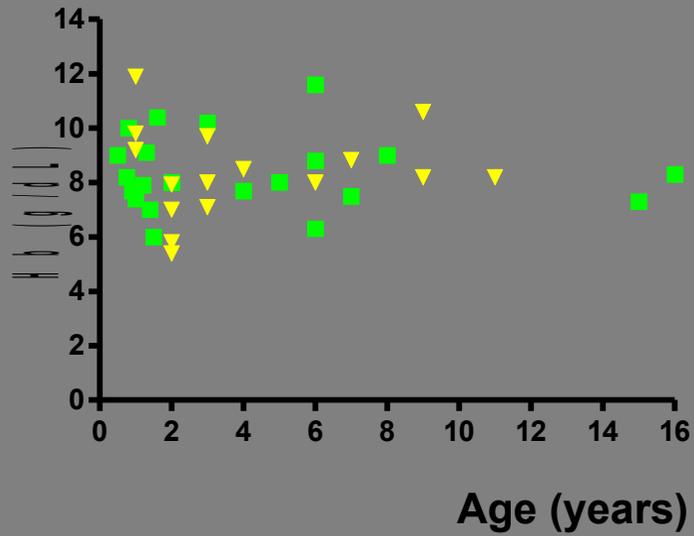
Corrélation ELISAc /LC-MSMS



CONTACT : Dr Thibaud LEFEBVRE , CFP, Hôpital Louis Mourier, Colombes

thibaud.lefebvre@lmr.aphp.fr

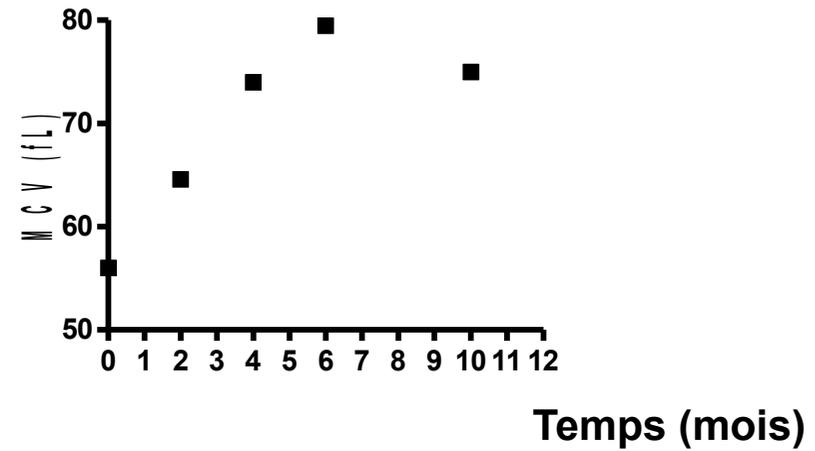
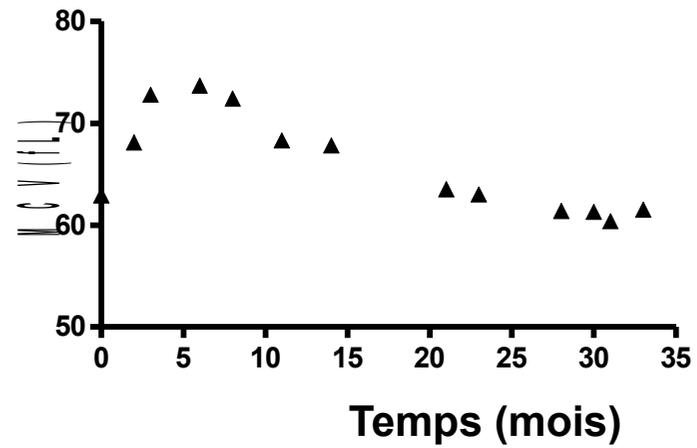
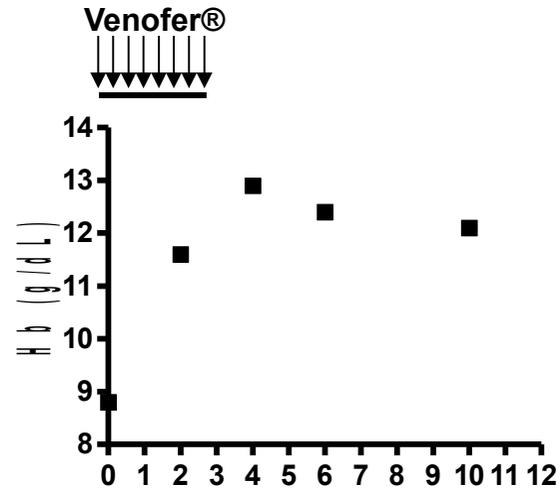
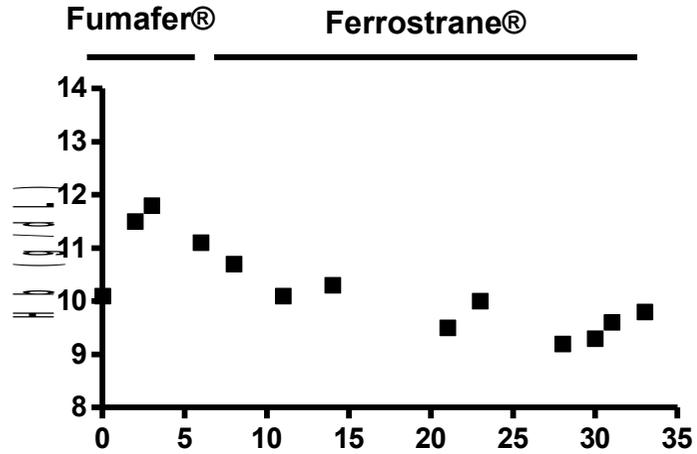
Paramètres hématologiques

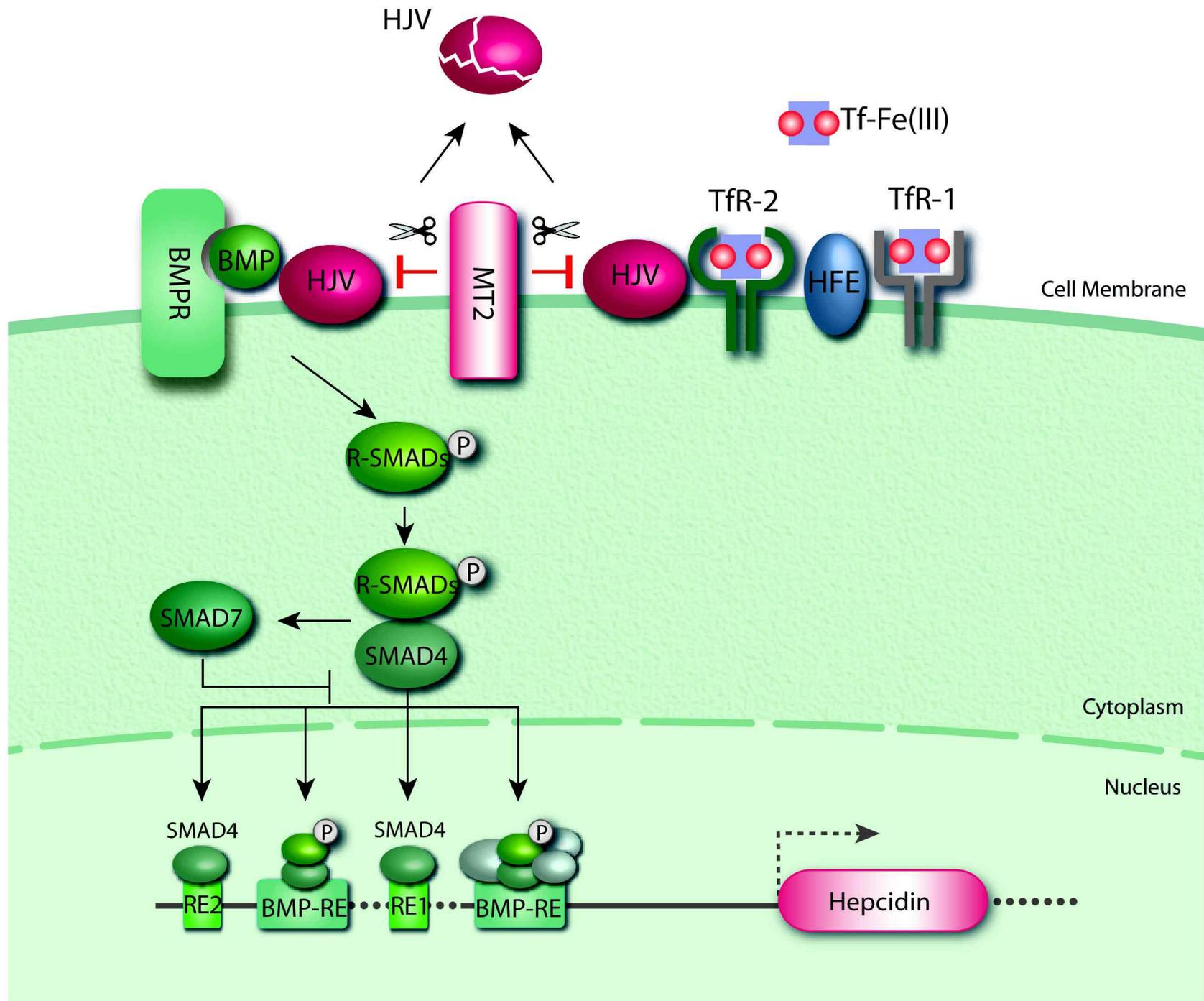


A. Iolascon (non publié)

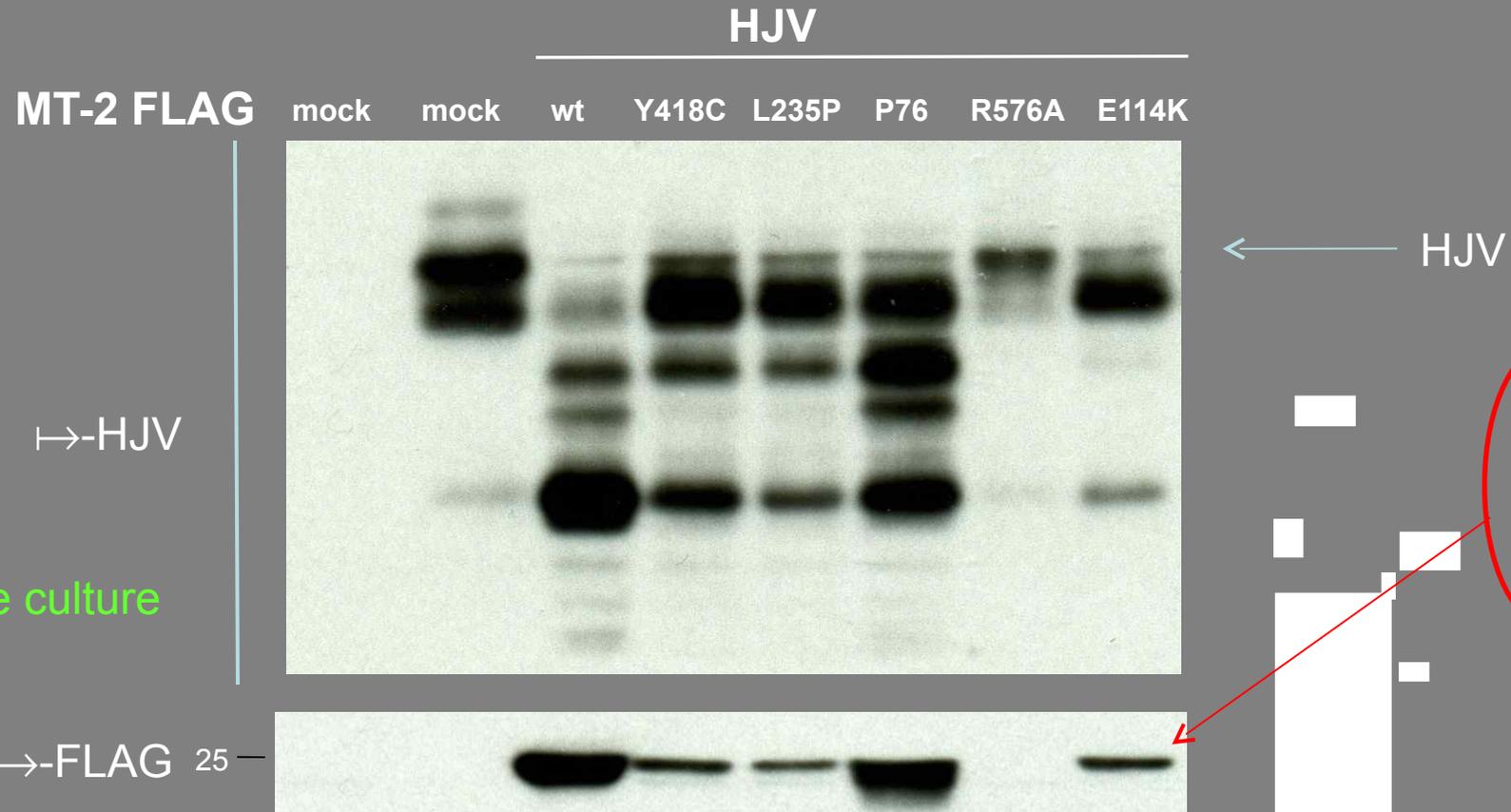
Réponse au traitement

- Réfractaire au fer oral
- Réponse partielle au fer intra-veineux avec réponse retardée mais prolongée
- Effet bénéfique de l'acide ascorbique?
- Réponse variable suivant la mutation?





Etudes fonctionnelles de MT-2

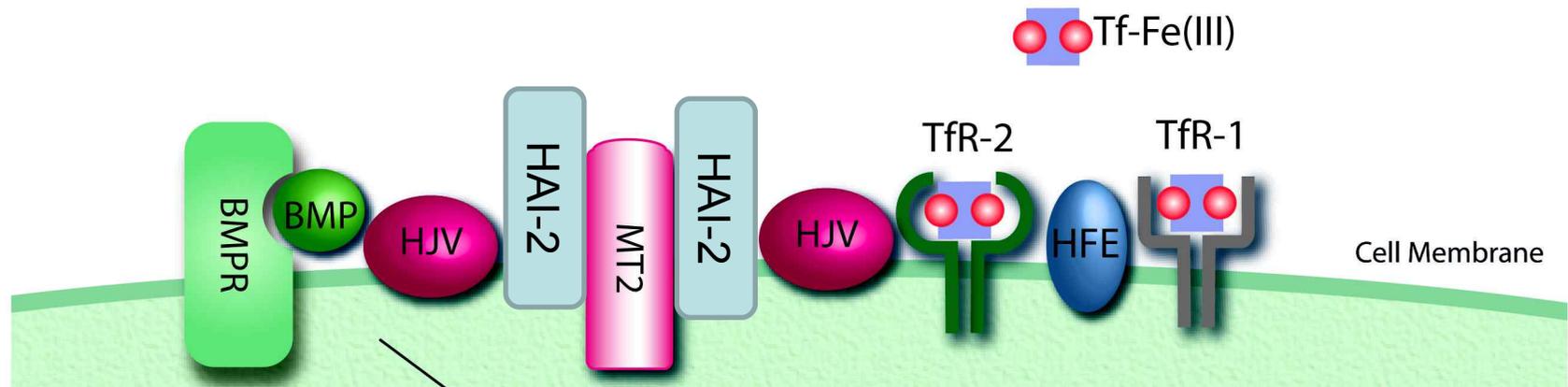


Transfections de HJV et MT2-flag dans HuH7

(F. Guillem et L. Silvestri)

Activation de MT-2 par la carence en fer?

- Activation transcriptionnelle par HIF1 \rightarrow
- Endocytose?
- Par interaction avec HAI-2, a Kunitz-type inhibitor?



Mutation *TMPRSS6* hétérozygote

2 sur 7 IRIDA (Finberg et al., 2008)

5 sur 23 IRIDA (Cohorte Bichat)

- ✓ Phénotype plus modéré
- ✓ Plutôt des femmes?

- ✓ Délétion, mutations séquences régulatrices ?
- ✓ Rôle des facteurs environnementaux ?
- ✓ Existence d'un deuxième gène ?

Genome-wide association study identifies variants in *TMPRSS6* associated with **hemoglobin levels**

Chambers et al., Nat genet 2009, 341 p1170

Study of 6 316 Europeans and 9 685 Indians from Asia
4 SNPs of *TMPRSS6* gene associated with Hb variations ($P < 5 \times 10^{-8}$)

rs855791 at *TMRSS6* locus (G → A, Val736Ala)

19 % of Europeans and 27 % of Indians with AA genotype

Hb < 0,2 g/dL as compared to GG genotype

Common variants in *TMPRSS6* are associated with **iron status** and erythrocyte volume
Benyamin et al., Nat genet 2009, 341 p1173

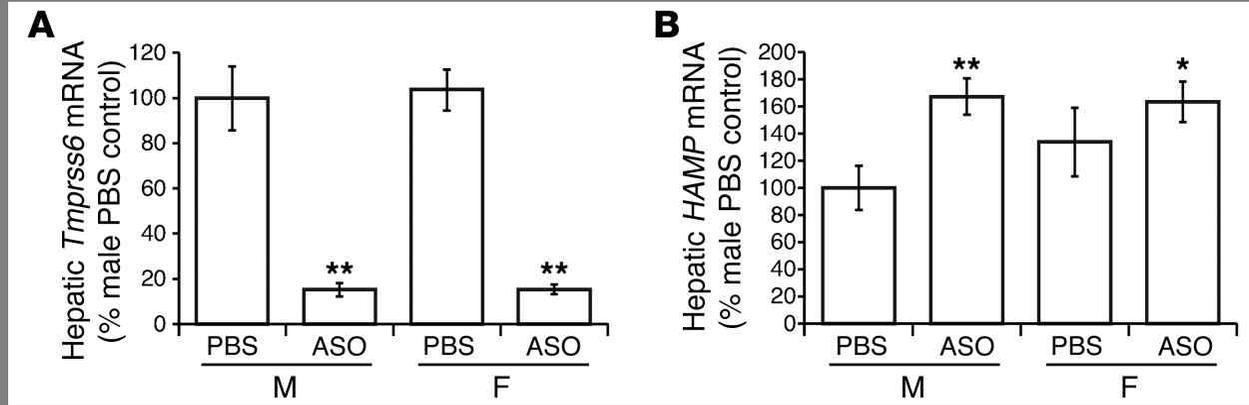
Study of 2300 adolescents et 2 500 adults

rs855791 at *TMPRSS6* locus (G → A, Val736Ala)

each allele reduces serum iron by 0.2 $\mu\text{mol/L}$

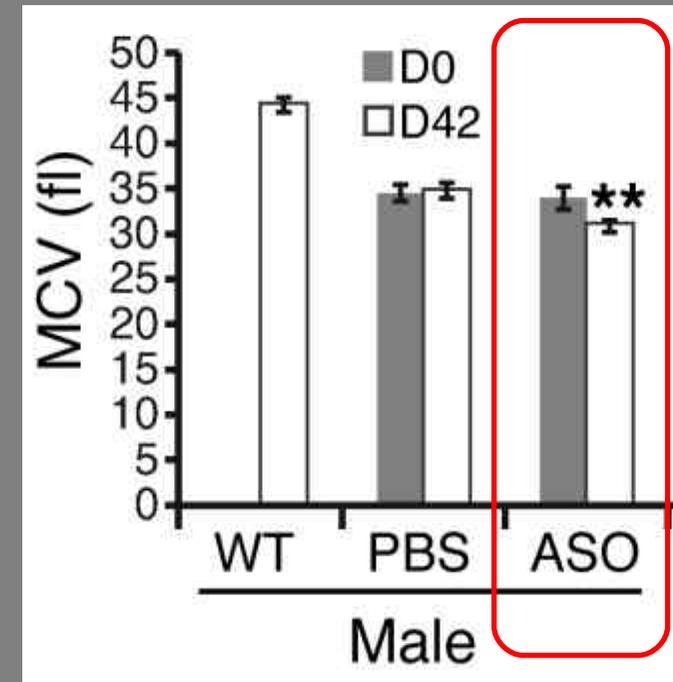
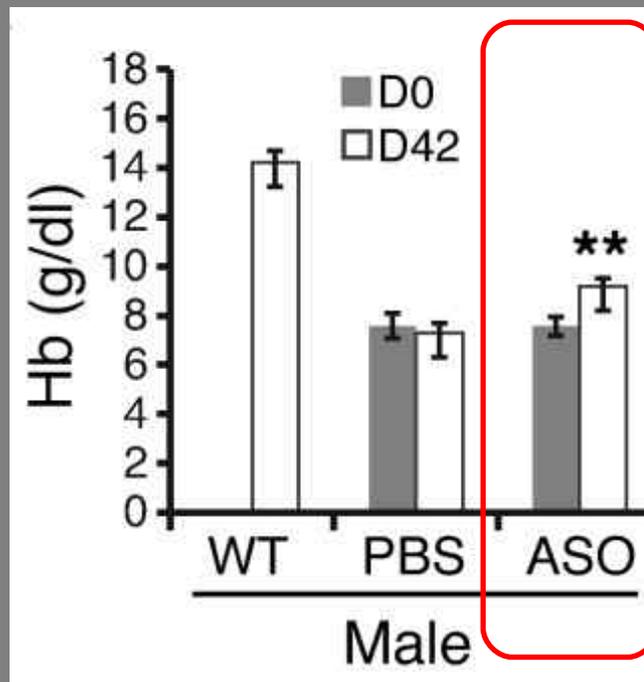
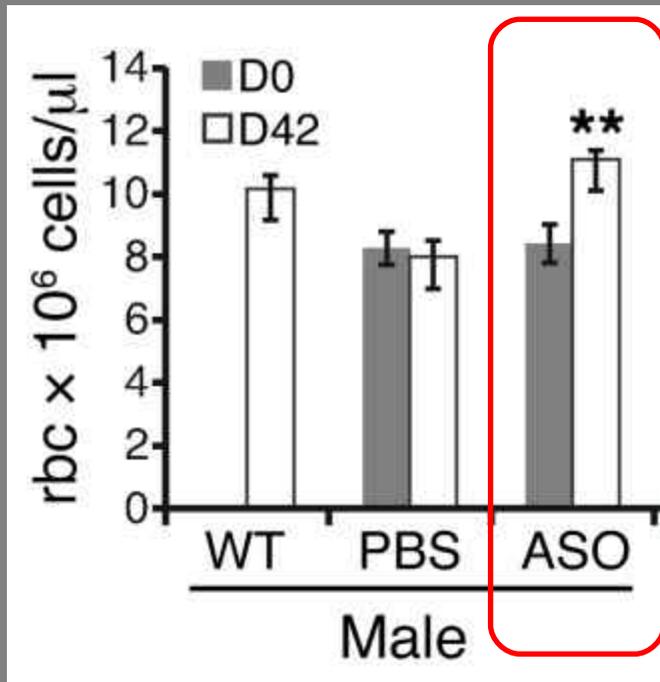
TMPRSS6, gène modulateur du phénotype thalassémique?

Souris *th3+/-*



Guo et al., J Clin Invest 2013

100 mg/kg/wk *Tmprss6*-ASO or PBS for 6 weeks before analysis



Anémie microcytaire non sidéroblastique

Défaut des apports en fer

IRIDA

mutations Matriptase 2

- Anémie absente à la naissance
âge d'apparition variable
- Carence en fer
% Tf sat bas
Ferritine normale/haute
- Hepsidine sérique normale/haute

Traitement par fer i.v

Défaut de la voie d'acquisition du fer par les érythroblastes

DMT1
STEAP3

} mutations

- Anémie sévère
présente à la naissance
- Surcharge en fer précoce
% Tf sat élevé
Ferritine normale/haute
- Hepsidine normale/haute

Traitement par Epo

Faut-il rechercher d'autres gènes dans les anémies microcytaires génétiques?

	Hb (g/dL)	VGM (fL)	Ft ($\mu\text{g/L}$)	CST (%)	Hepcidine (ng/mL)
VIA...	2,6	49	10	5	1,5
VER...	4	56	1	1	indétectable

Anémie microcytaire avec carence en fer sévère MAIS hepcidine sérique basse

Réponse au traitement par fer IV

Pas de mutation TMPRSS6

Gène en cause??



Inserm
U1149

Equipe Hème, Fer et Maladies Inflammatoires

Université Paris Diderot, site Bichat

Laurent Gouya

Hervé Puy

Zoubida Karim

Lydie Da Costa

Saïd Lyoumi

Boualem Moulouel

Dounia Houamel

Sarah Rio

Dimitri Tchernitchko

Sarah Millot

Hana Manceau

Hôpital Bichat

Département de Génétique

Caroline Kannengiesser

Bernard Grandchamp

Hôpital Louis Mourier

Centre Français des Porphyries

Jean-Charles Deybach

Anne-Marie Robreau

Caroline Schmitt

Thibaud Lefebvre

Service d'Hématologie

Valérie Andrieu