Société Médicale des Hôpitaux de Paris
80ieme JOURNÉE FRANÇAISE DE MÉDECINE

Métabolisme du fer :
Quels tests biochimiques en 2014 ?

Hervé Puy

Centre Français des Porphyries
LABEX GR-Ex
Hôpital Louis Mourier, UFR Médecine, Université Paris Diderot
INSERM U773

ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

Epnet

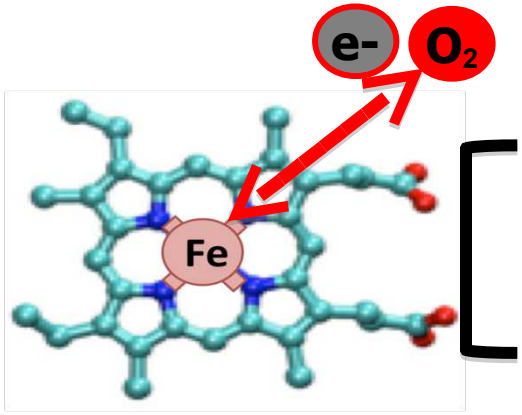
Inserm
Institut national de la santé et de la recherche médicale

LABORATORY OF EXCELLENCE GR-EX
THE RED BLOOD CELL: FROM GENESIS TO DEATH

LE FER, POUR QUOI FAIRE?

Hemoproteines :

Heme



- Hemoglobine
- Myoglobines
- Cytochromes
- Enzymes oxydo-réduction

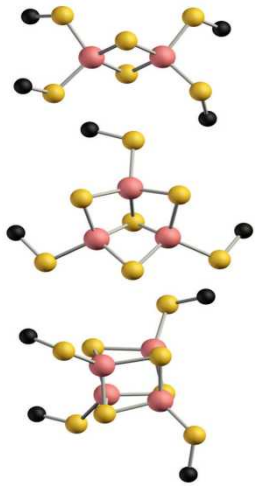
- Réactions métaboliques oxydatives:

Centres fer/soufre

[2F:2S]

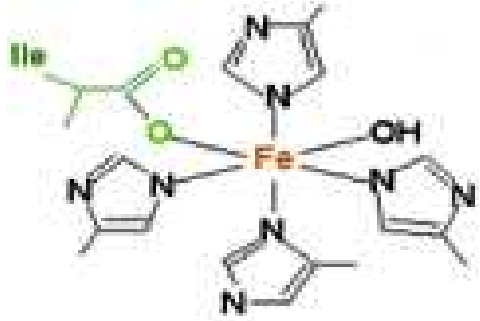
[3F:4S]

[4F:4S]



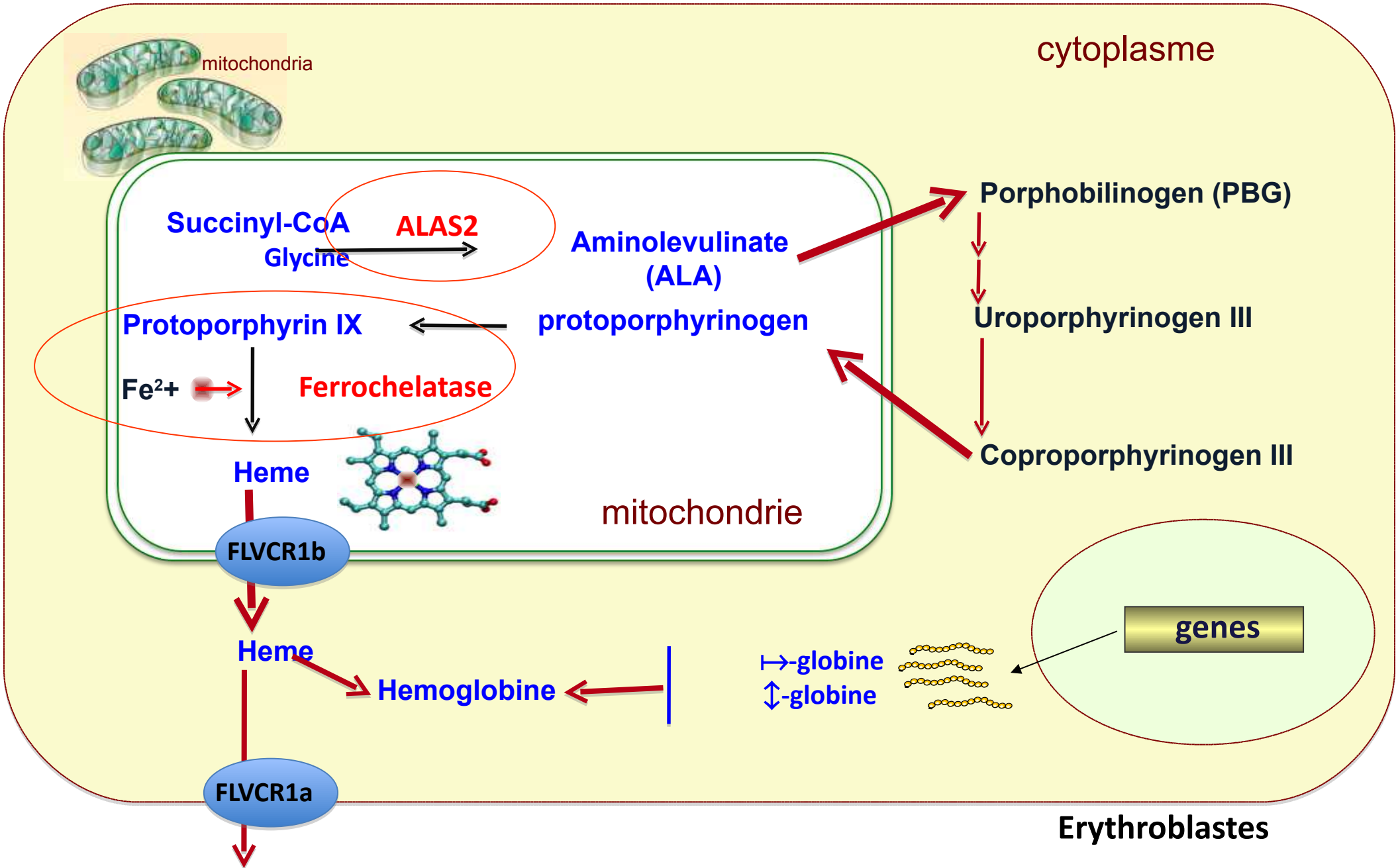
- Aconitases
- Ferredoxins
- Hydrogenases
- deshydrogenases

Fer comme cofactor

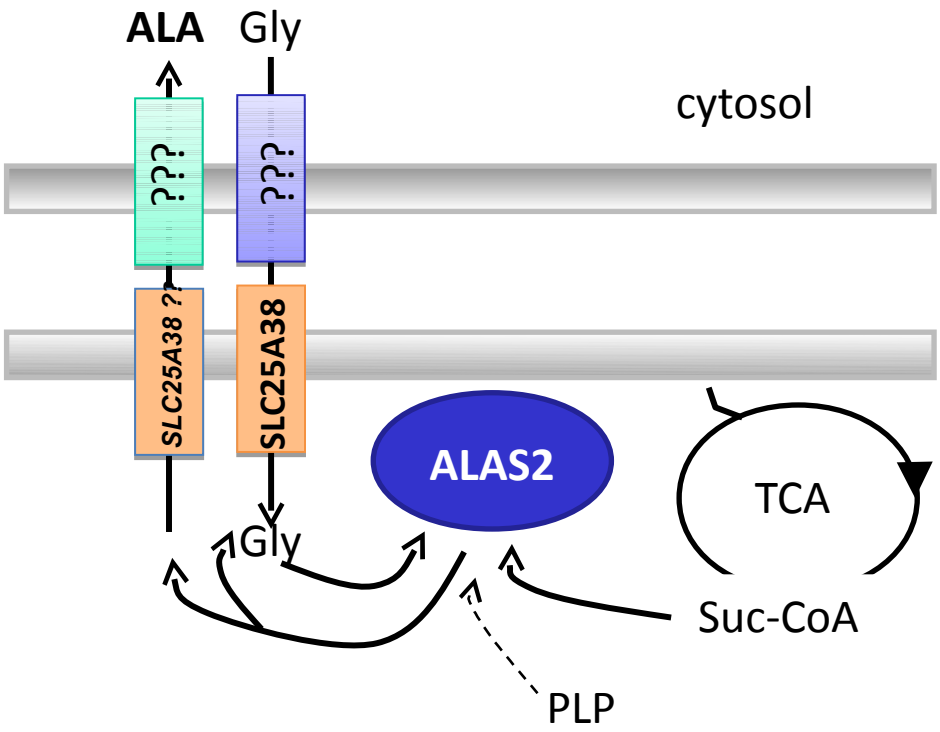


- Lipoxygenase
- Phosphatase acide
- Ribonucléotide réductase

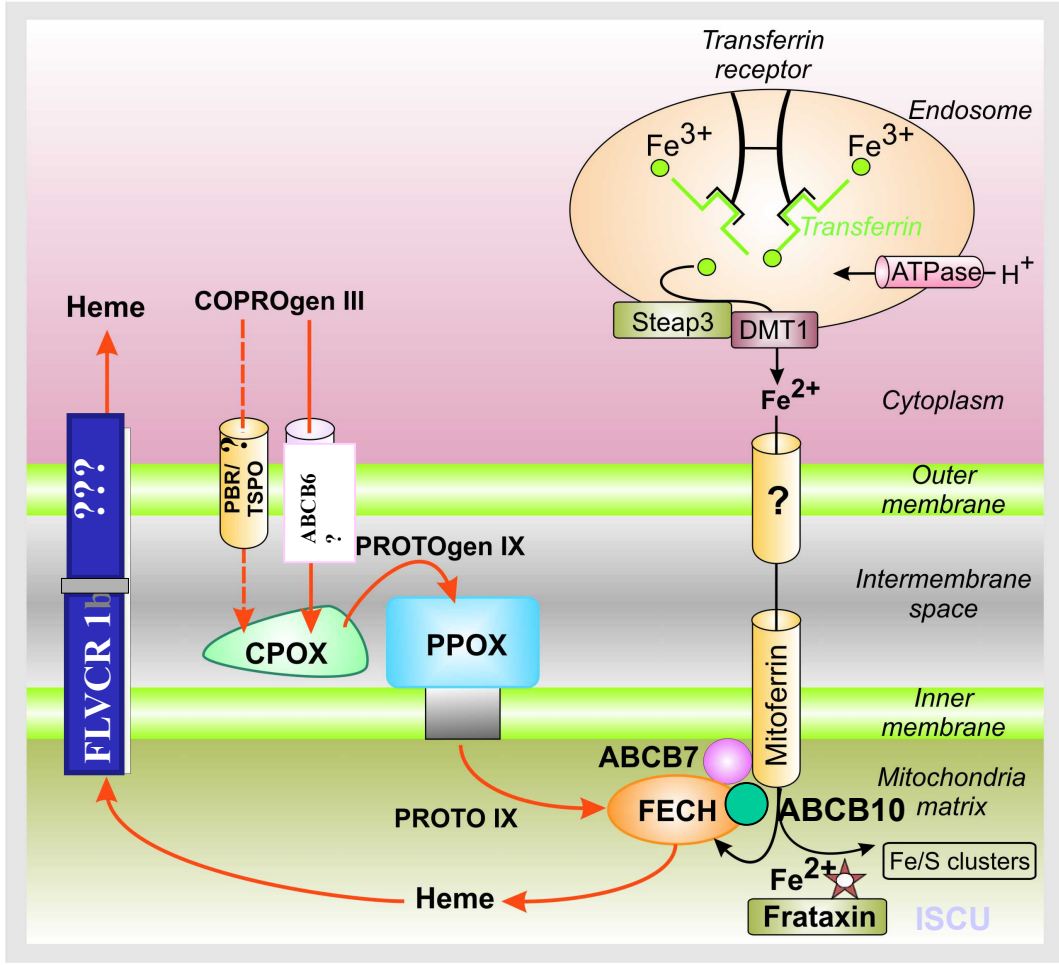
Biosynthèse de l'Heme



ALAS2



FECH



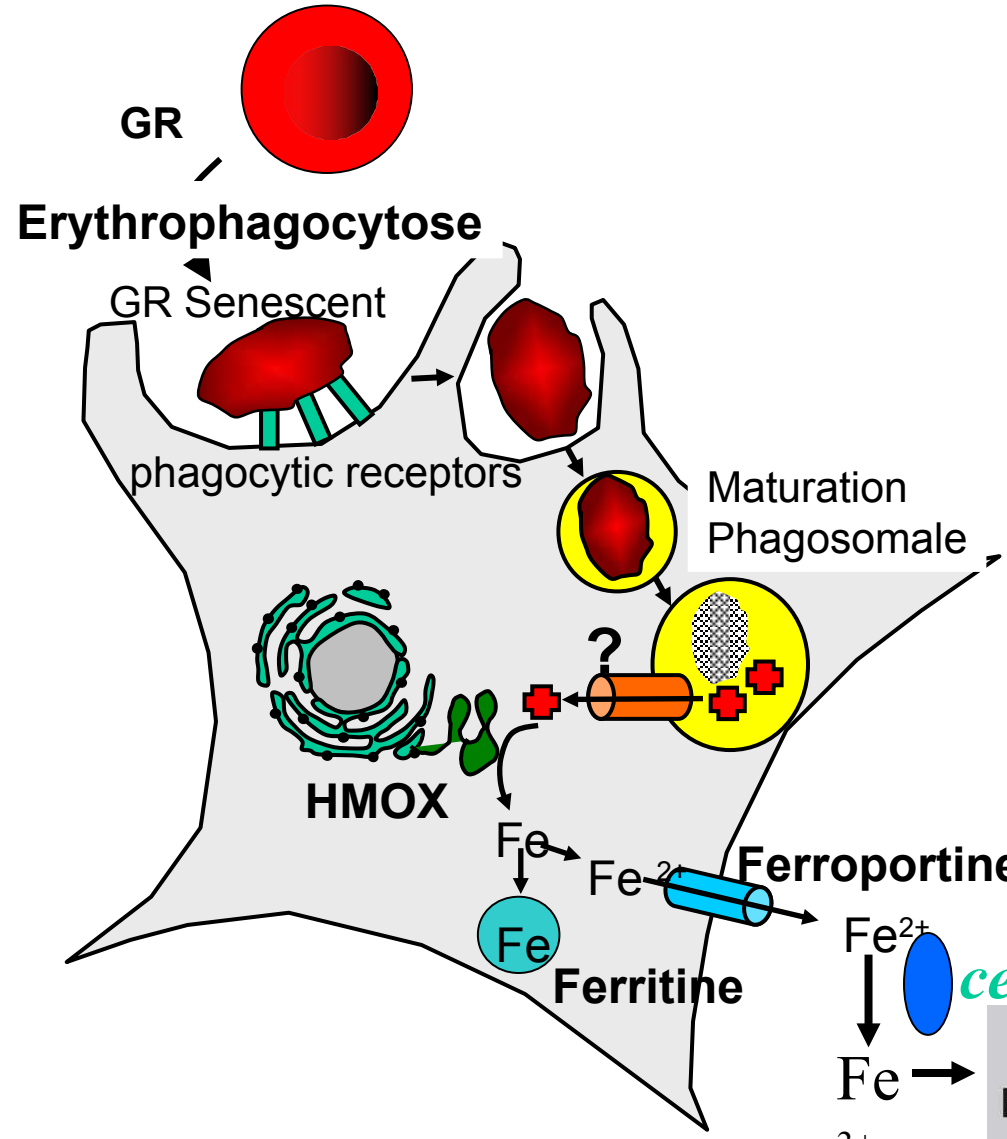
Mitoferrin proteins :
SLC25A37 /SLC25A28

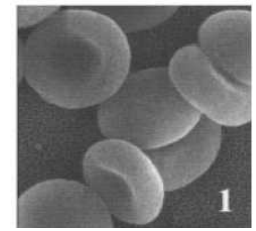
DMT: dimetal transporter
FECH: ferrochelatase
PPOX: protoporphyrinogen oxydase
CPOX: coproporphyrinogen oxydase

Mitochondrial terminal complex

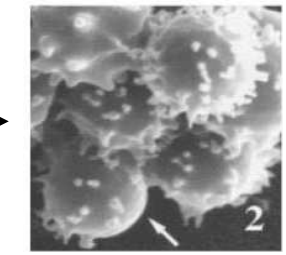
Répartition du fer dans l'organisme humain:

« La quasi autarcie »





Eryptose



>90% du fer de l'organisme recyclé par erythrophagocytose

5 million GRsenescent /sec

Chaque GR contient 1.2 billion hemes

$[5x10^6]x[1.2x10^9]$ heme/sec

EXPLORATION BIOCHIMIQUEDU METABOLISME DU FER
Les acteurs

Tests de première intention

- Stockage intra cellulaire: **Ferritines (+CRP)**
- Circulation/transport : **Transferrine / CTF; Fe / CST, céruléoplasmine**
- Utilisation périphérique**: sTfR, PPIX**

Hepcidine?

HAS
HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

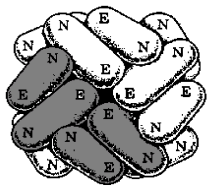
CHOIX DES EXAMENS DU METABOLISME DU FER EN CAS DE SUSPICION DE CARENCE EN FER
RAPPORT D'EVALUATION Mars 2011

•Charge hépatique ou tissulaire en fer:

- **IRM**
- **Histologie : coloration de Perls, sidéroblastes, ME**

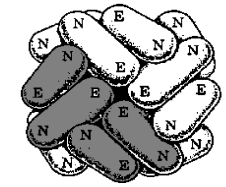
BUT => ciblage thérapeutique et de l'analyse moléculaire

Stockage du fer : ferritines

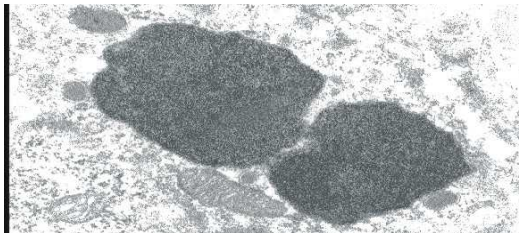


coquille protéique : hétéropolymère de 24 su (H et L)

noyau ferrique : jusqu'à 4500 atomes de fer par molécule



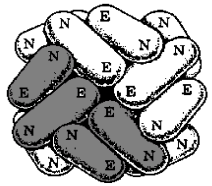
Pas de redondance fonctionnelle entre les deux sous-unités: inactivation H léthale



La sous-unité H ferritine (11q23):

- Activité ferroxydase - Catalyse $Fe^{2+} \longrightarrow Fe^{3+}$
- Contrôle le pool de fer libre => rôle dans la défense contre le stress oxydatif

- **La sous-unité L ferritine (19q13):**
  facilite la formation du noyau ferrique à l'intérieur de la molécule

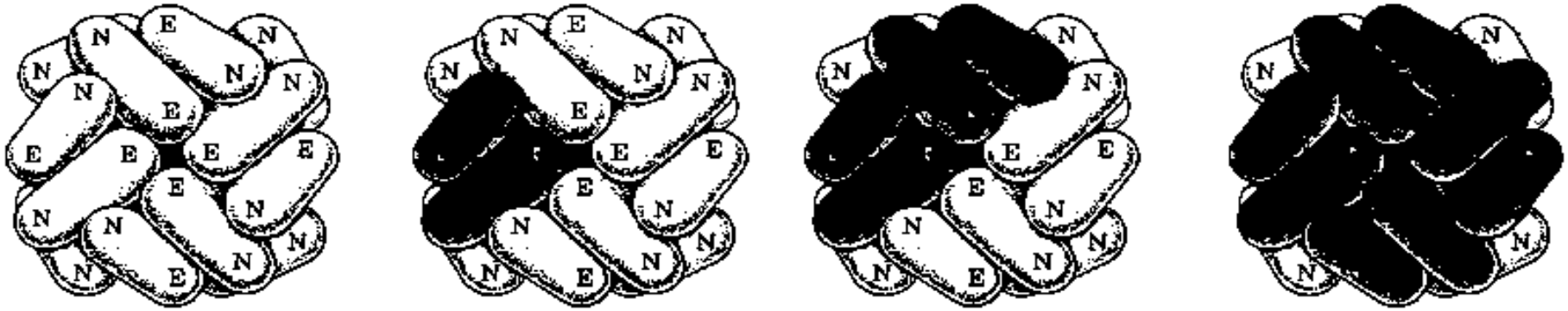


ferritine mitochondriale (5q23.1)

Structure des isoferritines

sous-unité L

sous-unité H



Distribution tissu-spécifique

Foie

Rate

Coeur

Erythroblastes

Cellules cancéreuses

La ferritine sérique

- **Valeurs normales**: 20 à 250 µg/l (* sauf Biomérieux); CRP en //

- **Propriétes**: Contient peu de fer
  Partiellement glycosylée
  Composée principalement de sous-unité L

- **Causes d'élévation multiples**:
  Surcharge en fer génétique ou secondaire
  Etats inflammatoires et infectieux
  Syndrome cataracte-hyperferritinémie
  Cancer, hépathopathies, éthylisme, SAM,
  maladie de still, Hyperthyroïdies, myolyses…

- **Diminution: Déplétion des réserves martiales**

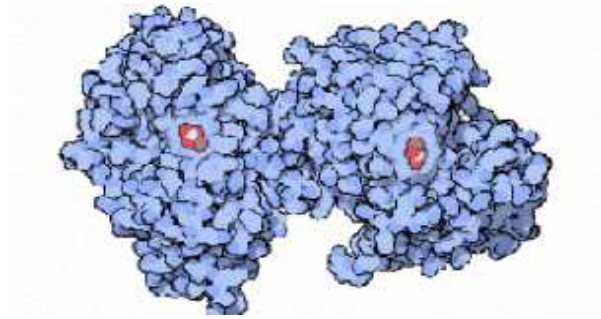
Transport sérique du fer (I): Transferrine / CTF / Fer serique / CST

Transferrine (3q21)

(ou siderophilline)

Glycoprotéine 80 kDa avec deux sites de fixation de Fe^{3+} en présence d'un ion carbonate

Transport de fer dans le plasma



HOLOTF

Plus de 20 isoformes

Synthèse foie+++, macrophages +/- Lc

Tfine en g/L N: 1,9 – 2,9

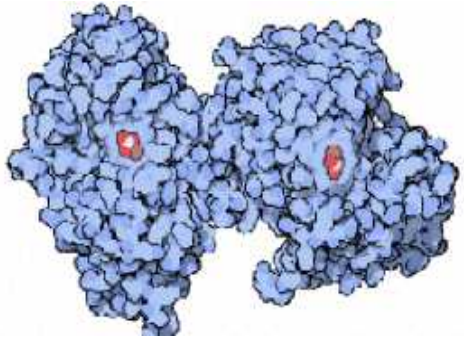
CTF (∓mol/l; Capacité totale de Fixation du fer par la Tfine) = 10^6/80 000 x Tfine (g/l) x 2;

N: 45-72

Fer serique: seul sans intérêt, variations nycthémérales +++ dosé avant et après saturation du serum par le fer=> **CSF**

Coef Sat Tfine: N # 30%

Acquisition du fer par les cellules utilisatrices rTFs



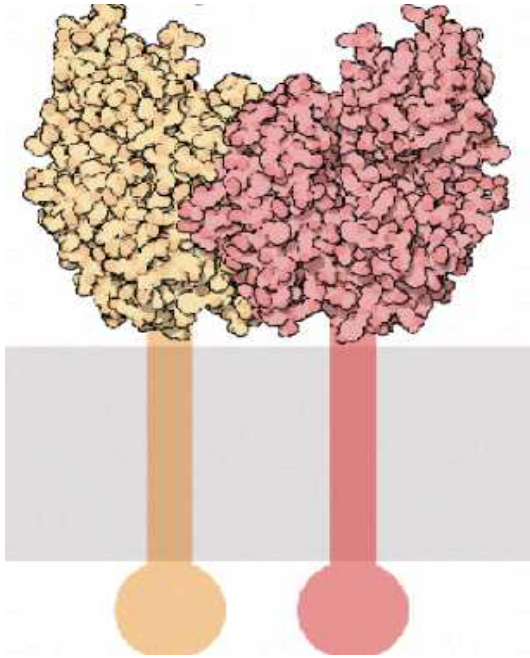
Glycoprotéine homodimérique 95 kDa transmembranaire à 2 ponts S-S

avec 2 sites de fixation de Tf

• **Récepteur à la transferrine I** (3q29)

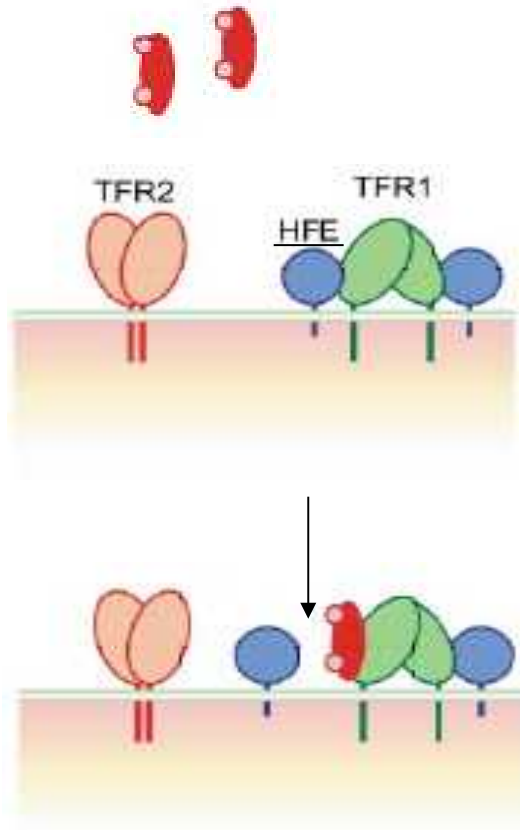
Lié HFE précurseurs érythroides, entérocyte

Macrophage



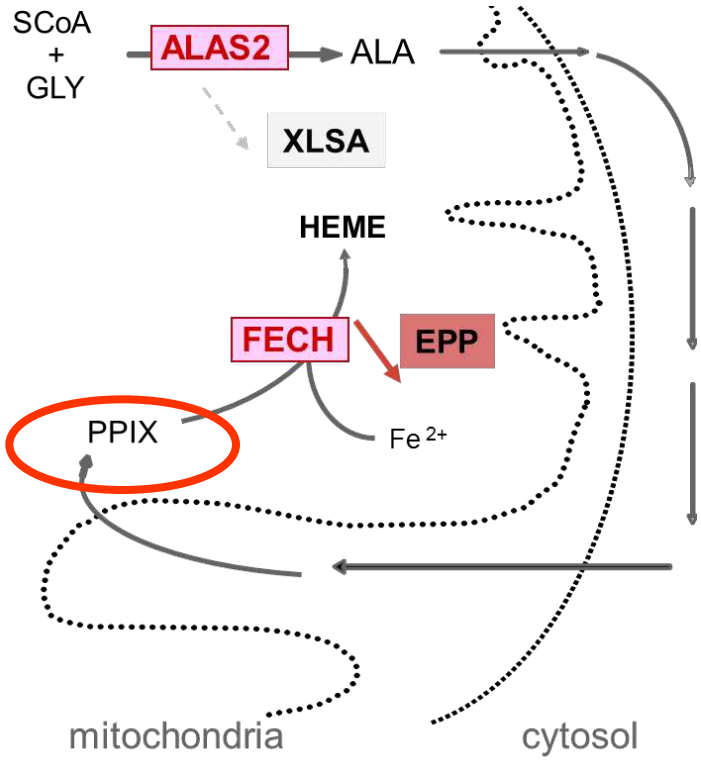
• **Récepteur à la transferrine II** (7q22)
66% d'homologie
Expression majoritairement hépatique

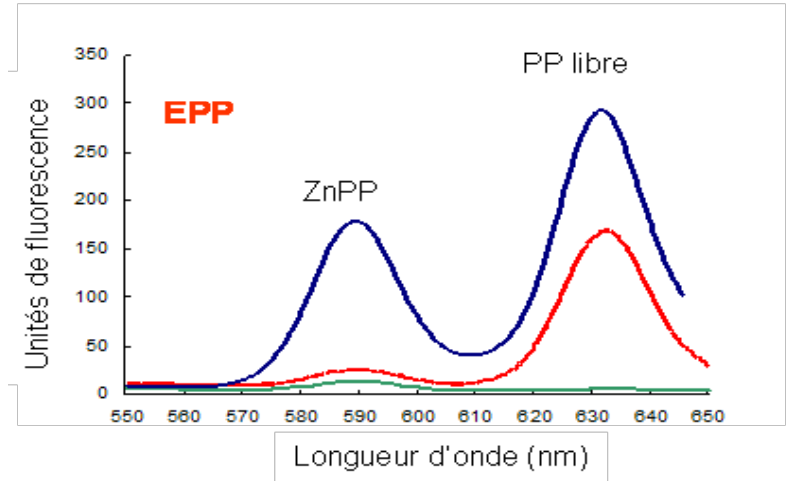
Récepteur soluble Tf:sTfR
N: 0.83-1.76 mg/l
Stable peu sensible à l'inflammation



Utilisation du fer par les cellules: PPIX érythrocytaire

N : PPIX < 1.9 ∓mol/L GR (72% ZnPP)

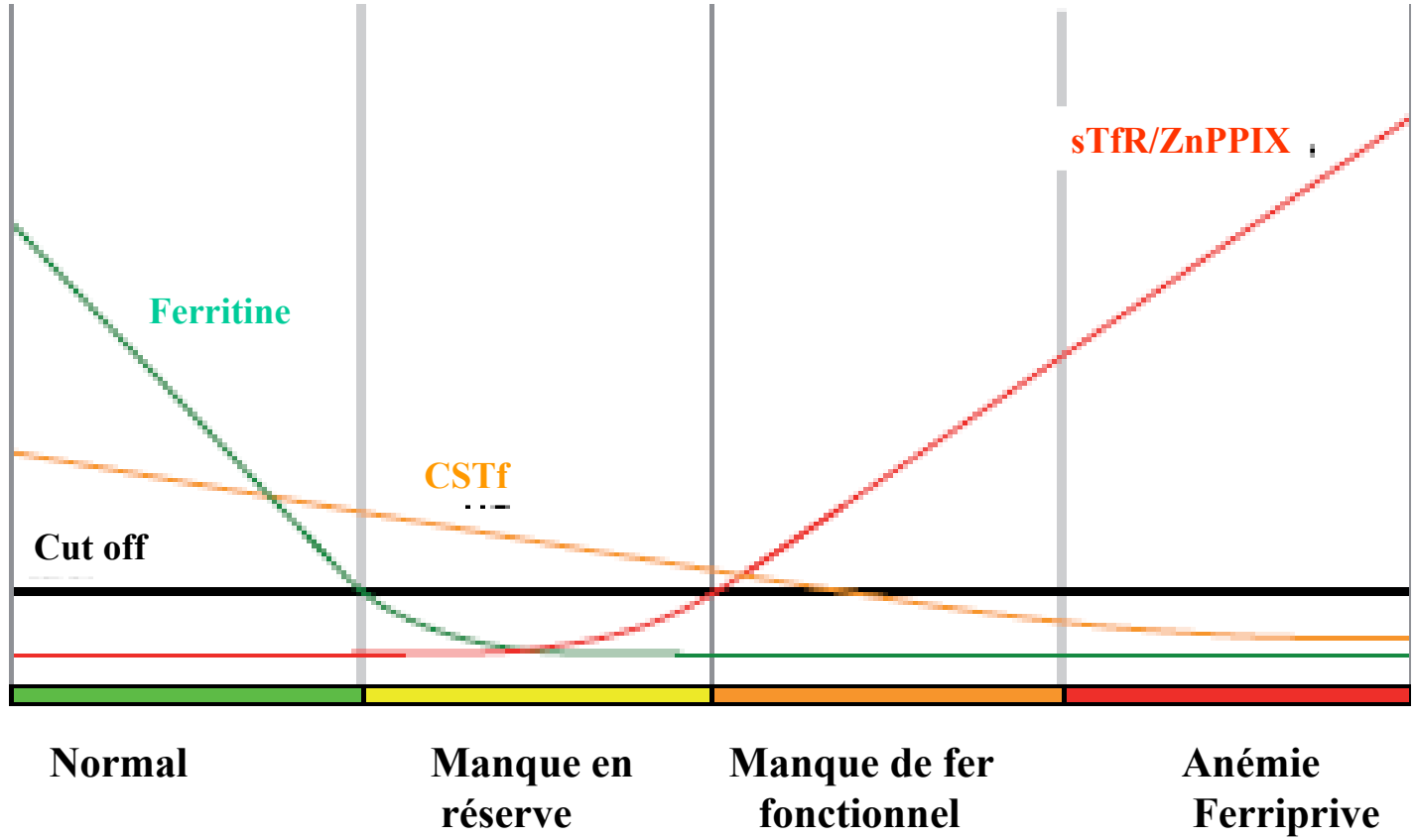




Interprétation

- Toujours apprécier la part inflammatoire (Ferr, Tfine, Hepc, anémie)
- Surcharge globale
- Carence globale
- Rétention tissulaire et carence Transport
- Rétention tissulaire, transport fonctionnel mais défaut d'utilisation périphérique

Evolution des paramètres de laboratoire dans la carence martiale



2 Pathologies héréditaires du métabolisme du fer

-A) Surcharge en fer /hémochromatose

-B) Hyperferritinémie isolée

-C) Anémies microcytaires

SURCHARGE EN FER

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

→↑ de la ferritine (CRP normale sinon ↓ différentiel)
(H >350 µg/l;F >65µg/l après 30a et >200µg/l après 50a)

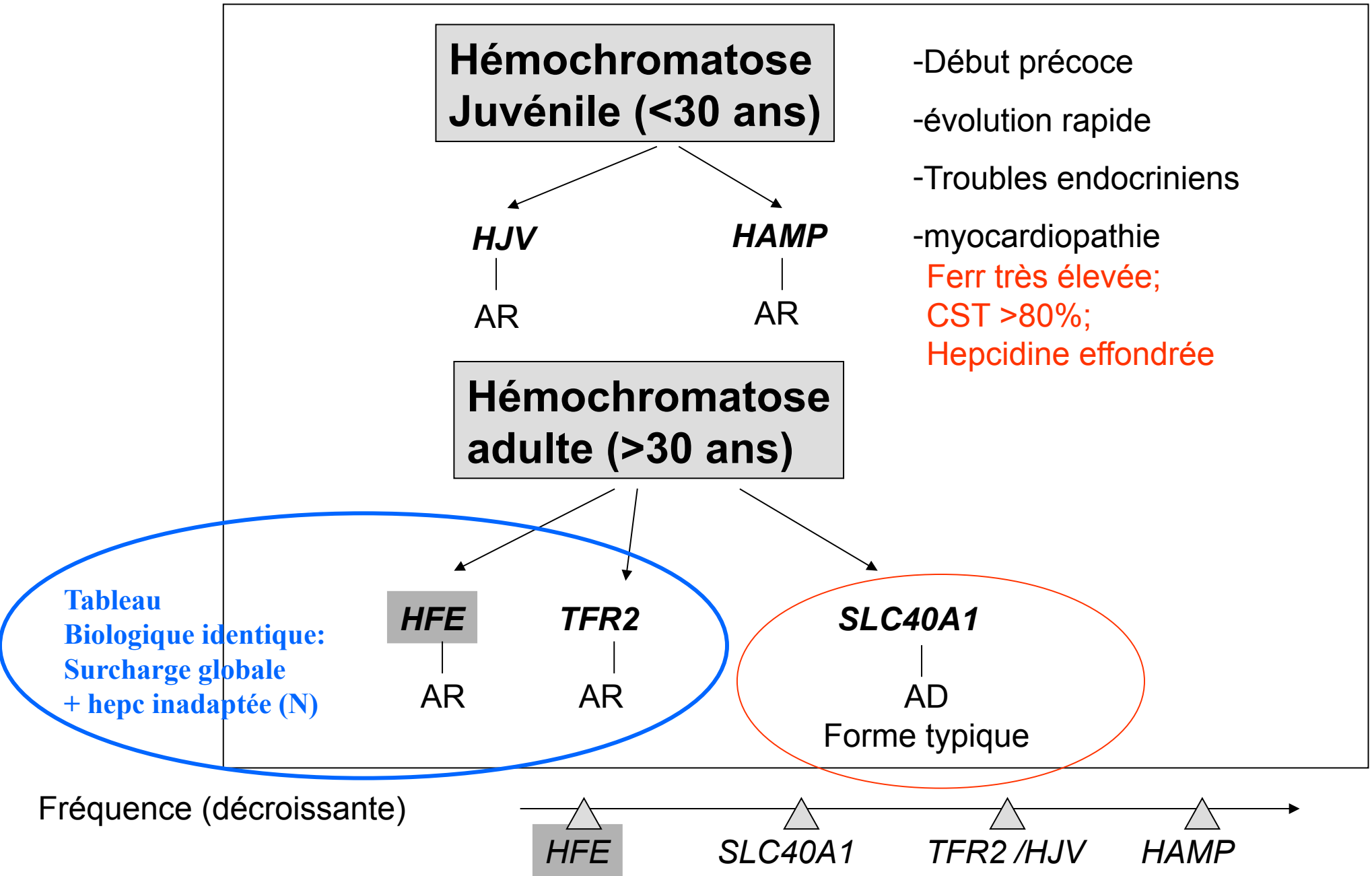
→↑ du CST (>45%)
(N 25-30%)
Interprétation du CST en fonction du sexe, de l'âge et du contexte médical

Quantification de la surcharge en fer (N <36µmol/g)
Affirmation de la **charge hépatique en fer** (CHF/IRM)
et Suivi de son évolution

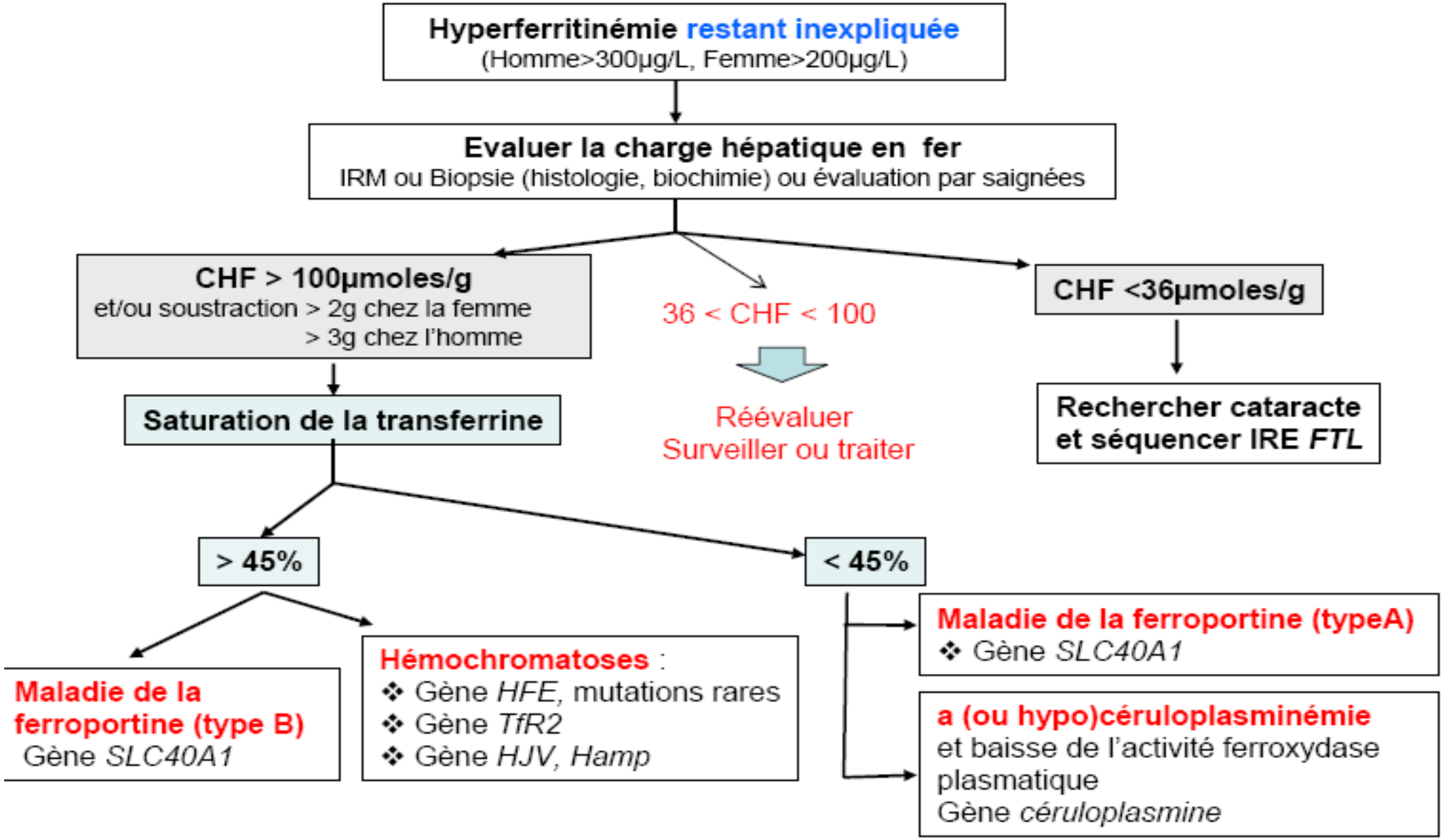
Hémochromatose héréditaire
D'origine génétique
Caractère familiale
HFE C282Y et autres gènes

surcharge secondaire en fer:
- ***Hématologique, dysérythropoièse thalassémie***
- ***Hépatite chronique***
- ***Cirrhose secondaire, chc,***
- ***Porphyrie cutanée***

Surcharge en fer d'origine génétique : classification



Diagnostic des surcharges en fer d'origine génétique - formes rares



Si difficultés ou questions contacter le centre de Référence

2 Pathologies héréditaires du métabolisme du fer

-A) Surcharge en fer /hémochromatose

-B) Hyperferritinémie isolée sans surcharge

-C) Anémies microcytaires

HYPERFERRITINEMIE isolée SANS SURCHARGE TISSULAIRE

origine génétique

-↑ inflammation,
-Cytolyse
-certaines tumeurs
-maladie de Still, SAM.

S.hyperferritinémie-cataracte
(Hereditary Hyperferritinemia Cataract Syndrome, HHCS)

Hyperferritinémie

- Hyperferritinémie
- cataracte
- sans surcharge tissulaire en fer

- Hyperferritinémie hyperglycosylée
- Sans cataracte
- sans surcharge tissulaire en fer

- Férritinémie élevée (400-2000 µg/l)
- Absence de surcharge en fer
  - % saturation Tf normal
  - Fer sérique normal
  - Pas de dépôt de fer dans le foie

(Pronostic favorable)

IRE de *FTL*
AD

***FTL* p.Thr30Ile**
AD

2. Pathologies héréditaires du métabolisme du fer

-A) Surcharge en fer /hémochromatose

-B) Hyperferritinémie

-C) Anémies par carence martiale IDA (globale : apports insuf. et/ou pertes)
Anémies inflammatoires (ACD)
Anémies mixtes (ACD)
Anémies microcytaires sidéroblastiques et non sidéroblastiques

Iron Deficient anaemia
IDA

Anaemia of Chronic Diseases
ACD

CARENCE MARTIALE PURE

Anémie microcytaire
Ferritine basse
Fer sérique basse
CST basse
sTfR élevé
PPIX augmentée
Hepcidine basse

MIXTE
++++++

In between
???

LES ANEMIES ASSOCIEES AUX ETATS INFLAMMATOIRES

Anémie généralement modérée due à une rétention anormale du fer dans les macrophages

- Fer sérique diminué
- Ferritinémie augmentée
- Anémie normo ou microcytaire

CST basse
Hepcidine élevée
sTFR normal

Plusieurs mécanismes y contribuent:

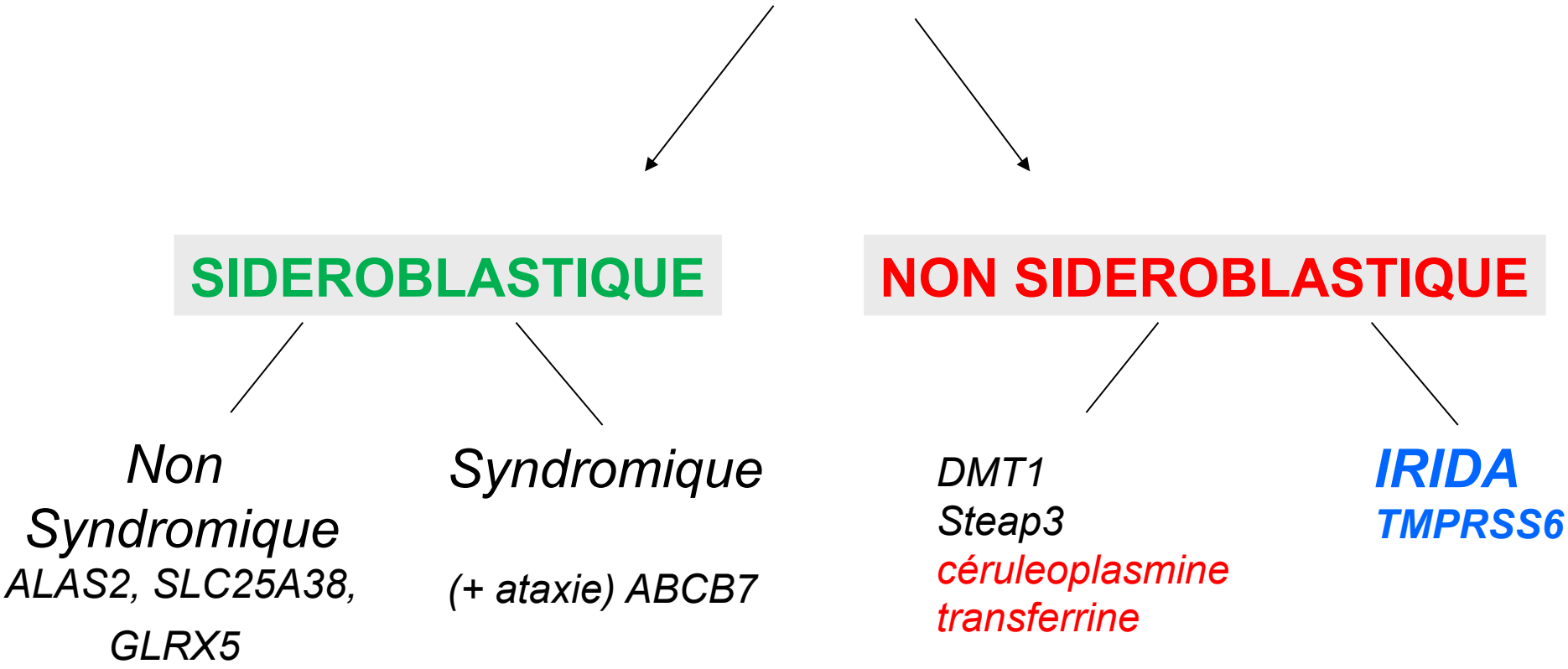
- diminution de l'absorption intestinale et du recyclage du fer macrophagique (hepcidine)
- stimulation de la synthèse de ferritine dans les macrophages, sous l'effet des cytokines pro-inflammatoires
- diminution de la durée de vie des globules rouges et répression de l'érythropoièse

ACD +/- carence: malabsorption, MICI, α et β Thalassémies, anémies hémolytiques (elliptocytose, sphérocytose, déficit en G6PD…), inflammation, infections, maladies rénales, diabètes, obésité, cancer, …..

ANEMIE MICROCYTAIRE
d'origine génétique hors carences d'apport ou saignements

Hb <10g/dl (OMS)

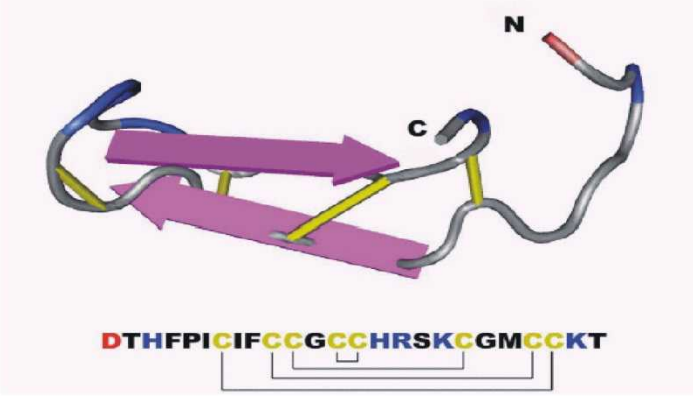
VGM < 80 fl



Anémies sideroblastiques microcytaires ⟷ **Anémies non sidéroblastiques microcytaires** ⟶

Gène en cause	*ALAS2*	*SLC25A38*	*GLRX5*	*TF*	*CP*	*DMT1*	*TMPRSS6*	*STEAP3*
Mode de transmission	XR	AR	AR	AR	AR	AR	AR	AR
Fonction de la protéine	Synthèse de l'hème	Synthèse de l'hème	Synthèse des centres fer-soufre	Transport du fer plasmatique	Oxydation du fer	Transport membranaire du fer	Régulation de l'hepcidine	Oxydo reductase
Fer sérique et saturation de la transferrine	Augmenté	Augmenté	Augmenté	Diminué Absence de transferrine	Diminué	Très augmenté	Très diminué	Augmenté
Ferritine	Augmentée	Augmentée	Augmentée	Augmentée	Augmentée	Normale ou augmentée	Normale ou diminuée	Augmentée
Surcharge parenchymateuse	++ à +++	+++	++	+++	+++ (foie, SNC)	++ (foie)	-	++
							IRIDA	

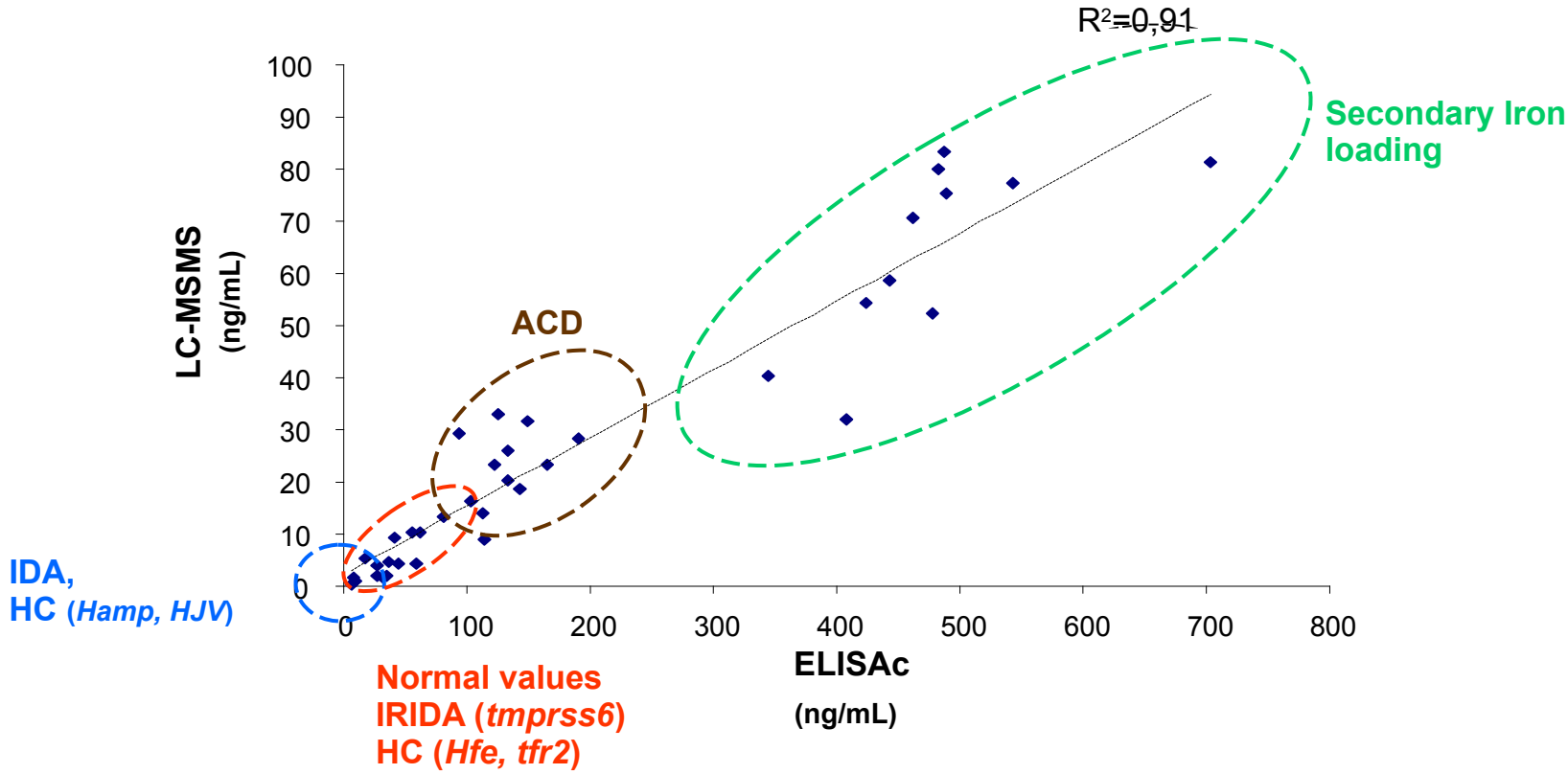
Hepcidine, hormone hyposidérémiante
En pratique médicale ??



Maturation de la protéine
clivage du peptide signal, de la prorégion par les furines / pro-convertases
Peptide mature circulant de **20, 22, 25** AA (Cys- ponts disulfures)

RIA et EIA : Dosage délicat non standardisé lié à la structure repliée et à sa faible immunogénicité

Spectrométrie de masse en tandem



IDA: iron deficient anaemia; IRIDA: iron refractory iron deficient anaemia;
ACD: anaemia of chronic disease;

Applications en pratique courante ?

Théoriquement tres importantes mais valeur ajoutée ?...

- Effondrée dans les HC juvéniles
- « Anormalement normale » dans les HC classiques

- **Orienter les recherches génétiques vers le meilleur gène candidat anémies microcytaires rares (ex IRIDA)**

- **Prévision de réponse au traitement martial: Anémies mixtes inflammatoire/carence: réanimation, MICI, anémie des cancers, IR, bypass ++++**

Anémies microcytaires IDA / IRIDA

Tmprss6 mutation	LC-MSMS (ng/mL)	ELISAc (ng/mL)
No	1,7	32
No	undetectable	<LOQ
No	undetectable	<LOQ
No	<LOQ	<LOQ
No	3,3	NA
No	undetectable	NA
No	undetectable	undetectable
No	<LOQ	<LOQ
No	<LOQ	undetectable
No	<LOQ	<LOQ
No	undetectable	undetectable
No	undetectable	undetectable
No	undetectable	undetectable
Yes*	**10,2**	**62,3**
Yes*	**13,3**	**80,9**
Yes*	**58,7**	**443**
Yes*	**40,5**	**344,4**
Yes**	**31,7**	**149,5**
Yes**	**23,3**	**122,2**
Yes**	**20,4**	**132,8**

Hc FPN *SLC40A1*

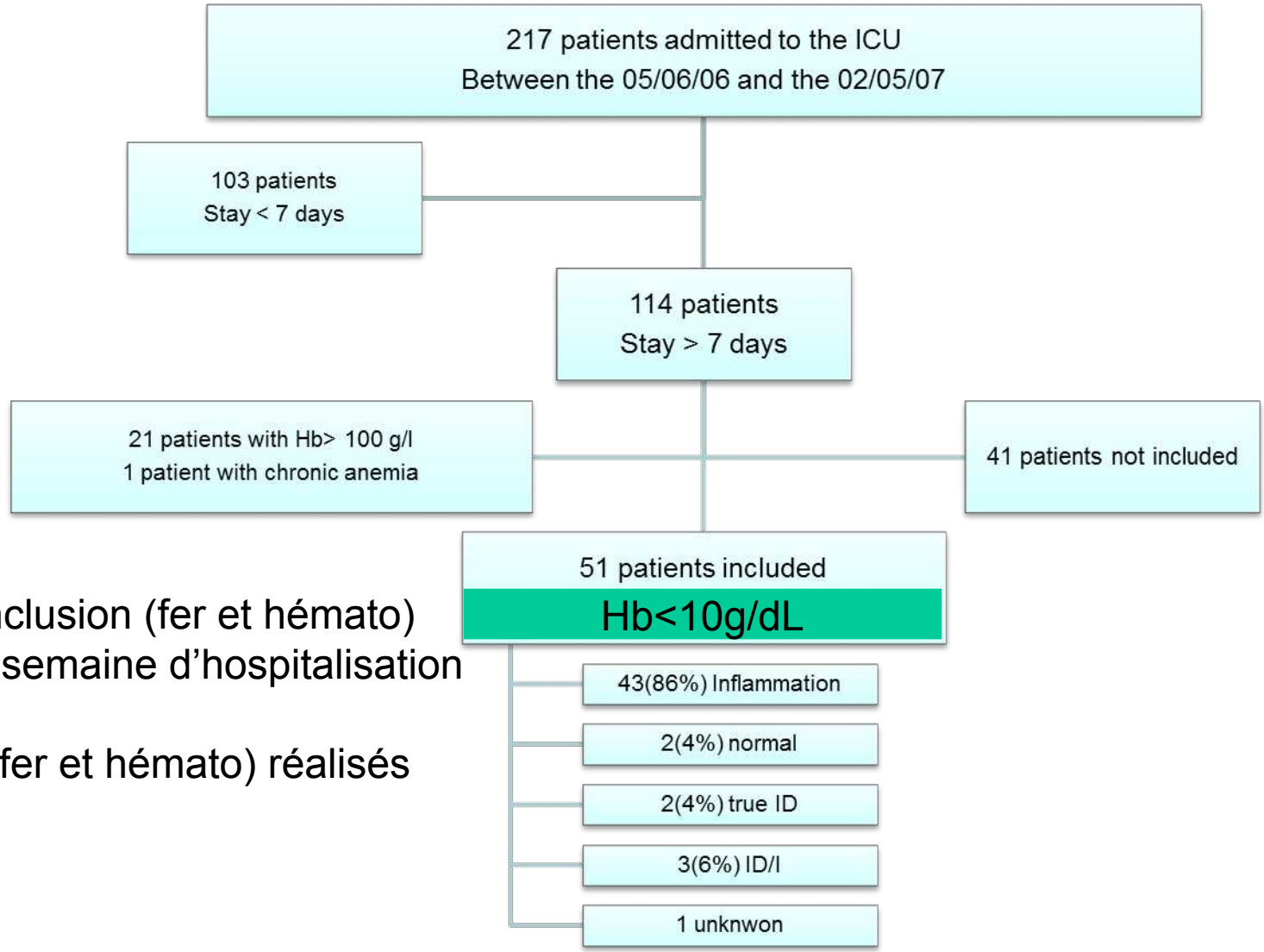
Id	Mutation	Hepcidine
F827	non	8,2
F835	p.R178Q	41,6
F837	p.R178Q	83,6
F839	p.R178Q	27,2

Hc classique N (<20 ng/mL)

MICI : 1700 patients
Statut martial complet
Traitement fer IV
Réponse : aggravation/amélioration

=> ouvert à toutes collaborations….

Etude de l'anémie des patients de réanimation

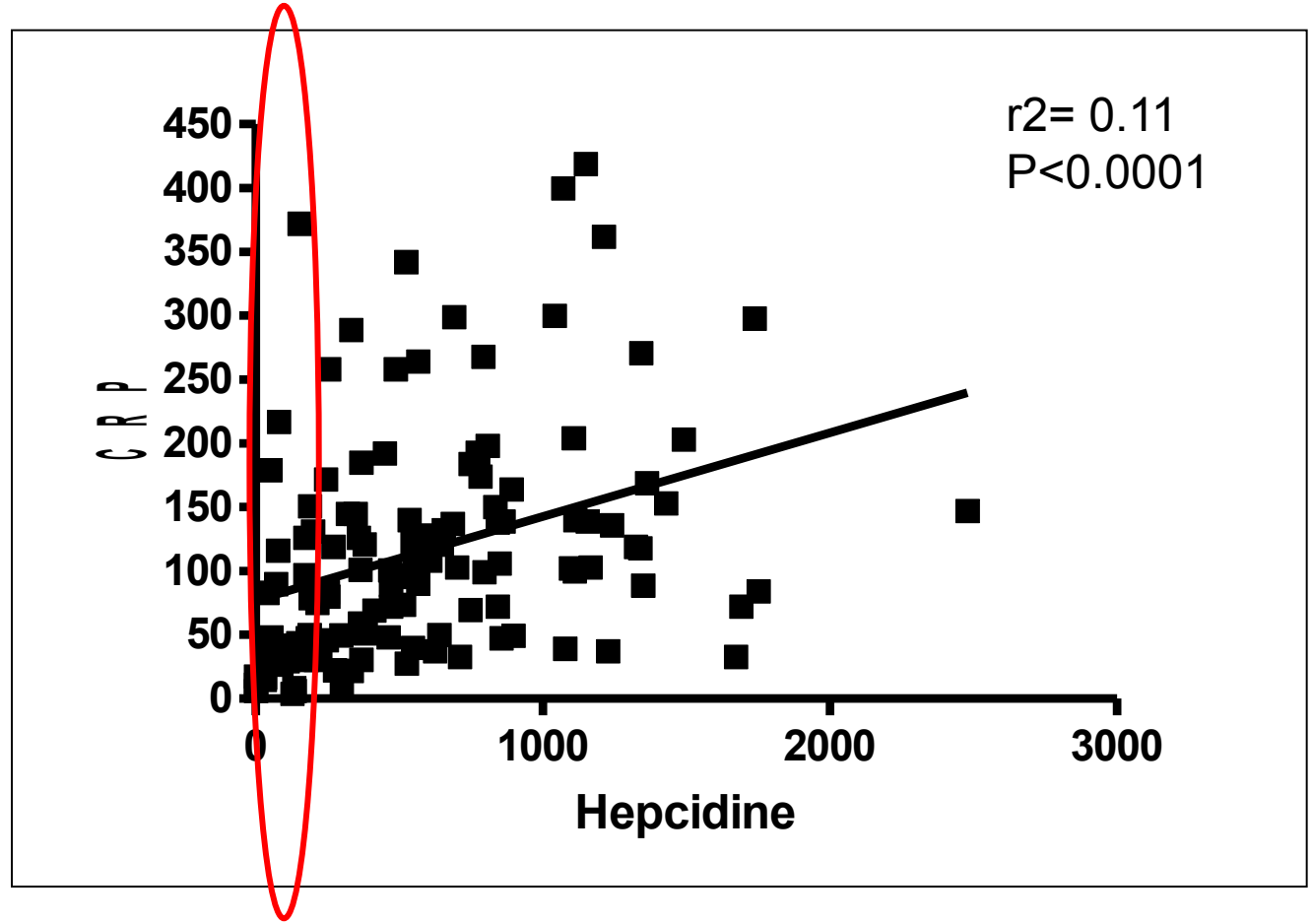


1 bilan à l'inclusion (fer et hémato)
puis un par semaine d'hospitalisation

128 bilans (fer et hémato) réalisés

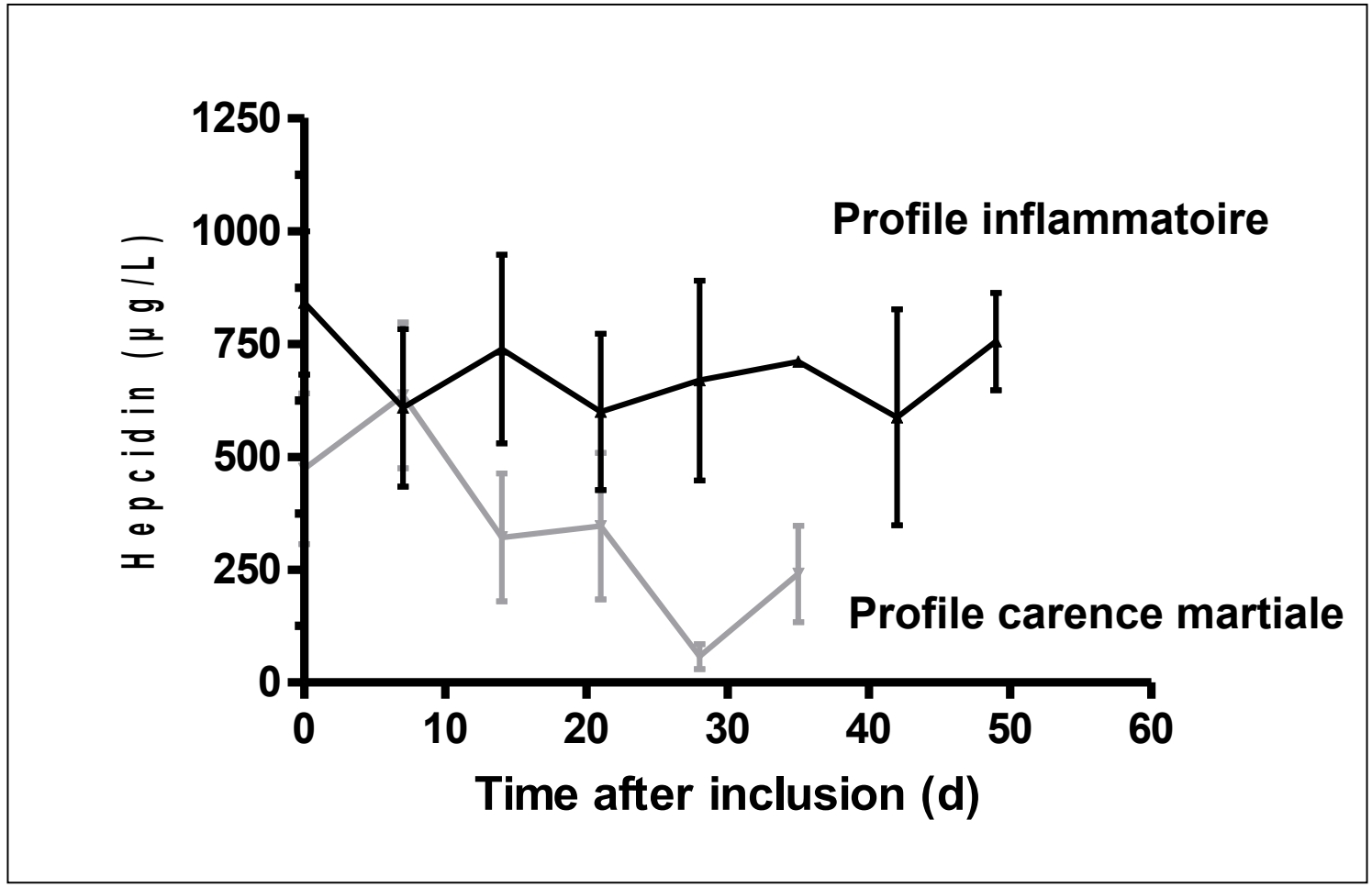
S. Lasocki et al., Intensive Care Med 2009

Dosages d'hepcidine sur 138 bilans



	Patients (n)	Samples (n)	Hepcidin (µg/L)
All screenings	47	128	
True ID	2	5	0.05 [0.05-0.05]
Inflammation	41	98	566.4 [297-1040.1]
Functional ID	11	18	185.4 [32.8-548.3]
Normal	5	7	117.4 [31.3-134.3]

Evolution de l'hepcidine sérique chez les patients au cours du séjour en Réa



Caroline KANNENGIESSER

Service de Génétique
UF de génétique moléculaire (Pr C. Boileau)
U1149 (C. Beaumont- L. Gouya)
Hôpital Bichat Claude Bernard (AP-HP)
Université Paris VII

Zoubida Karim / Laurent Gouya
Carole Beaumont
Bernard Grandchamp

Thibaud Lefebvre
Caroline Schmitt
JC Deybach

MERCI

HAS
HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

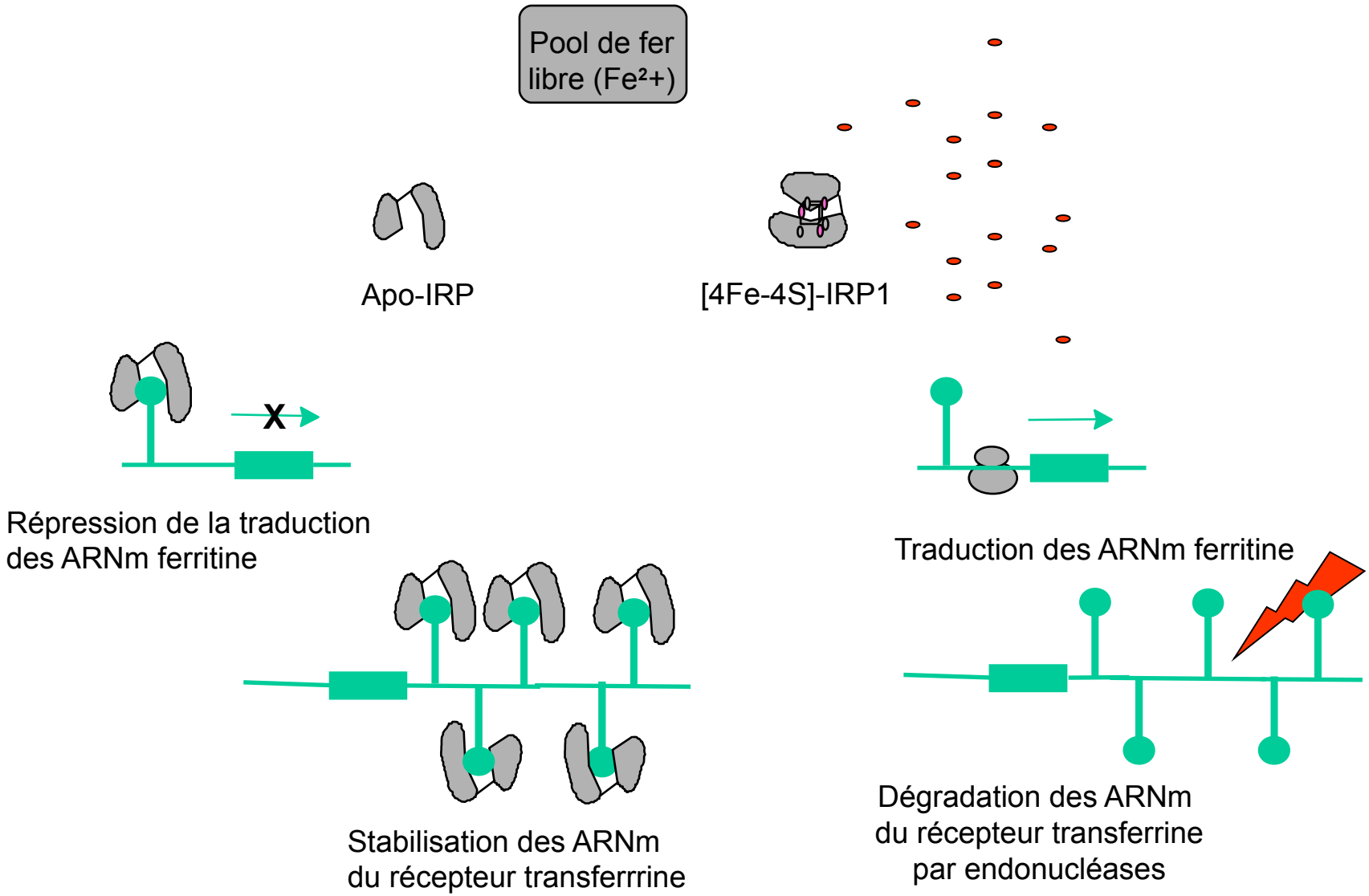
CHOIX DES EXAMENS DU METABOLISME DU FER EN CAS DE SUSPICION DE CARENCE EN FER
RAPPORT D'EVALUATION Mars 2011

REGULATIONS

- Système IRE/IRP: Homéostasie intracellulaire du fer :

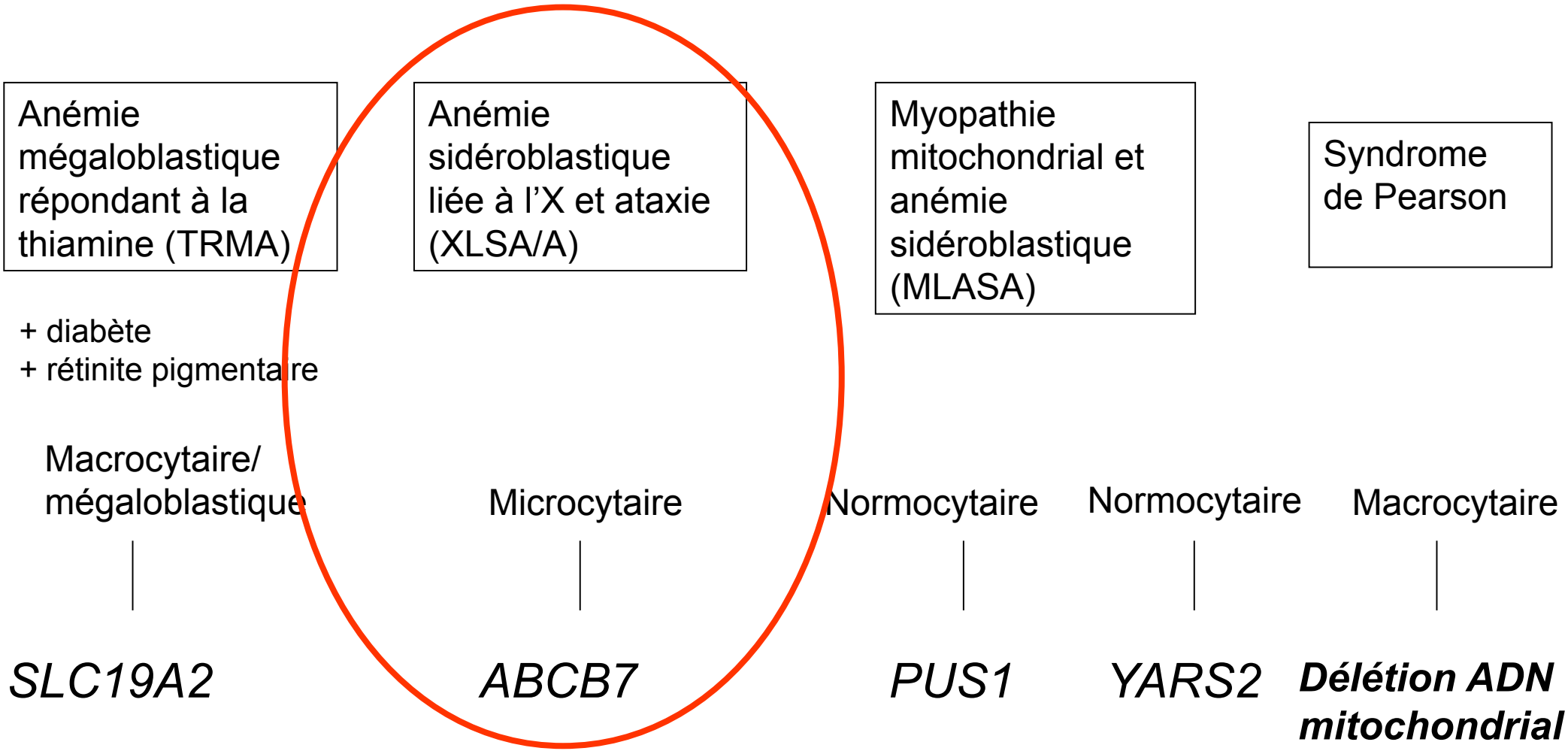
- L'HEPCIDINE : régulateur à l'échelle de l'organisme

Homéostasie intracellulaire du fer : système IRE/IRP
Modèle de régulation post transcriptionnelle



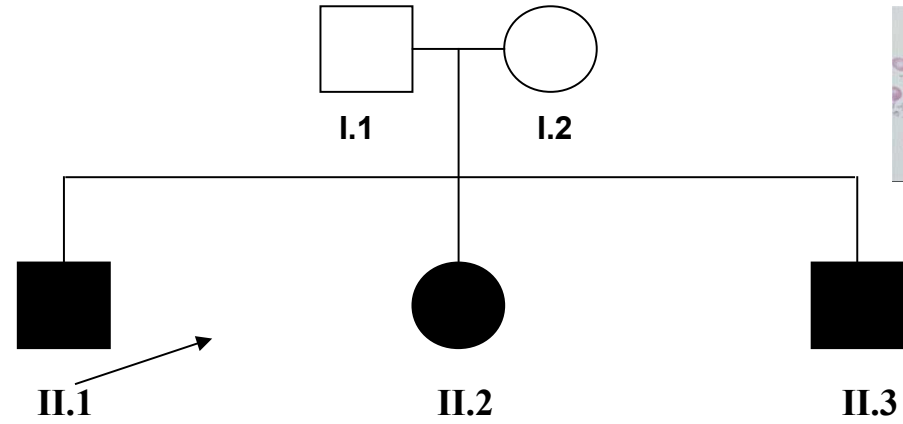
ANEMIE SIDEROBLASTIQUE

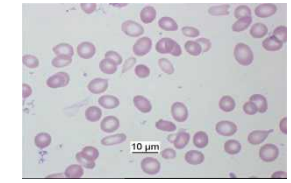
SYNDROMIQUE



Cas clinique steap3

-Anémie sévère dépendante des transfusions
-Surcharge en fer





		II.1		II.2		II.3	
Age à la 1° transfusion en années		19.1		14.9		6.8	
Nombre de transfusions total (et annuel)		115 (21.5)		106 (12.6)		301 (26.7)	
	valeurs de Référence	**Avant transf..**	**Avant Dernière transf.**	**Avant transf.**	**Avant Dernière transf.**	**Avant transf..**	**Avant Dernière transf.**
Hémoglobine g/L	120 - 150	67	88	60	92	46	94
Erythrocytes x 10^{12}/L	3.8 – 4.5	2.9	3.7	2.4	3.5	1.9	3.5
VGM fl	82 - 100	77	81.5	83	81.8	80	79.7
CMH pg	27 - 32	23	24	25	26	24	26
Réticulocytes %	0.5 – 2.5	1.3	1.0	0.6	1.0	0.6	0.6
Ferritinémie µg/L	18 - 200	308	1552*	258*	2816	902	3157
CST %	20 - 50	83*	n.a.	88*	83	87	77
Zinc Protoporphyrine µmol/ mol héme	< 40	nd	90	nd	89	nd	44

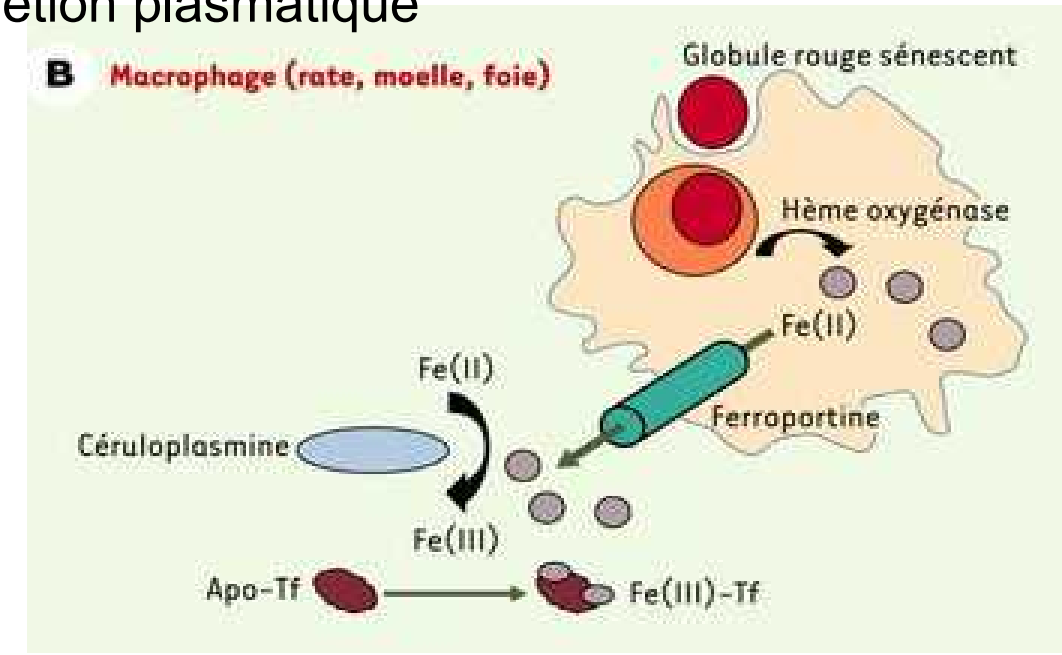
La ferroxydase Céruleoplasmine

GlycoProt 135 kDa à 6 atomes de Cu indispensable à son activité enzymatique
synthèse hépathique microsomale => secrétion plasmatique
N: 0.2 à 0.6 g/L

Oxydation du Fe (II)

Fixation du Fe (III) par la transferrine TF

Excés: infections et/ou inflammation, cancers, grossesse, prise d'oestrogènes..



(Beaumont, MS,2004)

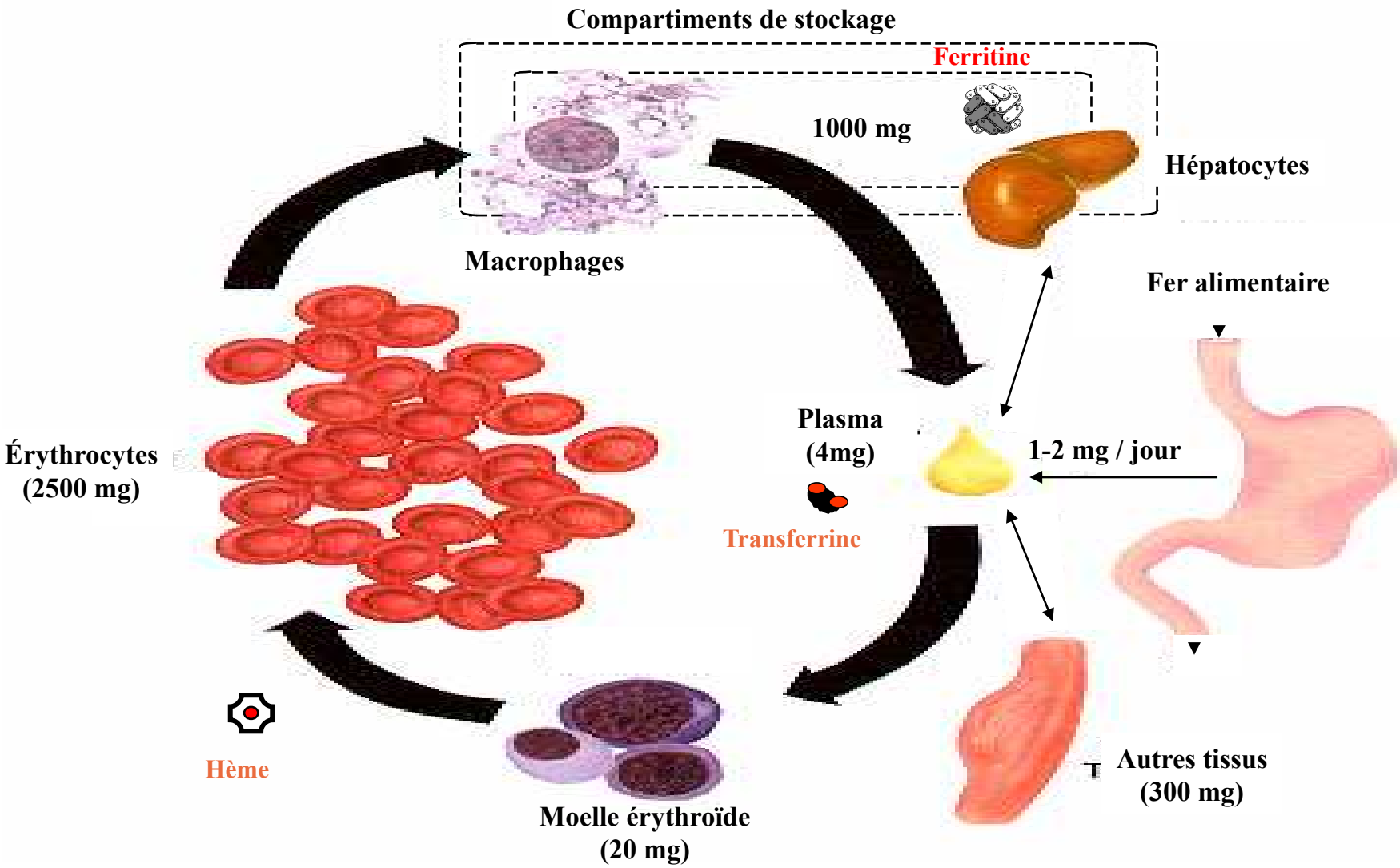
•Inactivation chez la souris de la céruleoplasmine
Accumulation excessive du fer dans les hépatocytes et les macrophages.

Déficit: Maladie de Wilson, **acéruloplasminémie héréditaire**
surcharge en fer + diabète + dégénérescence rétinienne + symptômes neurologiques

- Dénutrition sévère, néphropathies, insuf hépatique

Répartition du fer dans l'organisme humain:

« La quasi autarcie »



PRESCRIPTION D'UNE RECHERCHE GENETIQUE

Dans le cadre d'une suspicion d'anomalie du métabolisme du fer d'origine génétique

Hyperferritinémie restant inexpliquée

Charge hépatique en fer en µmol/g

Normal

-Syndrome associant hyperferritinémie et cataracte

-Hyperferritinémie sans cataracte

Gène *FTL*
codant L-ferritine

> Normal

Surcharge en fer

Suspicion d'une forme rare
(exclusion des HFE C282Y)

CST
Signes cliniques

PRESCRIPTION D'UNE RECHERCHE GENETIQUE
Dans le cadre d'une suspicion d'anomalie du métabolisme du fer d'origine génétique

Anémie

Anémie sidéroblastique

Anémie ferriprive ne répondant pas au fer oral

Présence de sidéroblastes en couronne dans la moelle osseuse

-Fer sérique, Ferritinémie et CST-VGM
-Réponse au traitement (Fer oral et IV)

Hepcidine plasmatique ou urinaire

SIDEROBLASTIQUE NON SYNDROMIQUE

SIDEROBLASTIQUE SYNDROMIQUE

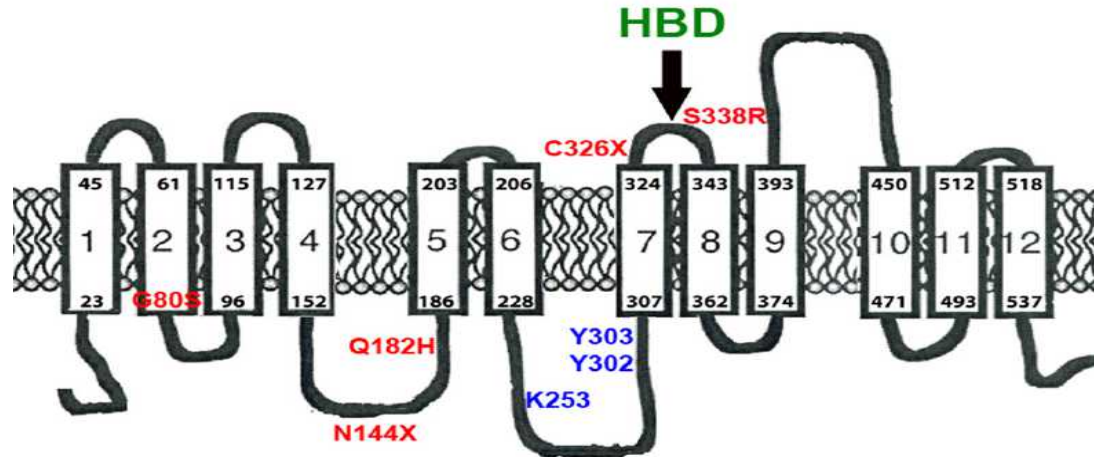
IRIDA
(Iron Refractory Iron Deficiency Anemia)

Gènes ALAS2
SLC25A38
GRX5

Gène *TMPRSS6*
codant matriptase 2

SURCHARGE EN FER d'origine génétique liée à Ferroportine

Gène *SLC40A1*
Chr2,
8 exons
12 domaines TM



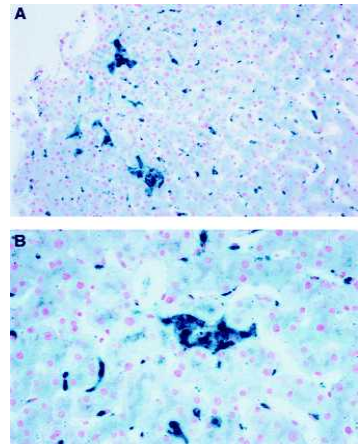
≠ types de mutants :

-A. **transport du fer** (mutation perte de fct, haploinsuffisance)
forme typique = « S. ferroportine »

CST
N ou ↗

surcharge principalement macrophagique(ç de Küpffer)

Hyperferritinémie ++++



-B. **réponse à l'hepcidine** (résistance à l'hepcidine, mutation gain de fct°)

CST
↗↗

Surcharge hépatocytaire