

Séminaire sur l'hémochromatose

18 septembre 2013 – Genopole - Evry

Homéostasie du fer chez les mammifères et ses dérégulations



LABEX
GLOBULE
ROUGE



ANR ERYFER



UNIVERSITÉ
PARIS DESCARTES



1- Généralités sur le fer et son homéostasie

2- La régulation systémique

3- Traitement des surcharges en fer à base d'agonistes de l'hépcidine

Je suis chercheur et non pas médecin.
Je n'ai pas le droit d'exercer la médecine
et donc pas le droit de faire un diagnostic quelconque.

1- Généralités sur le fer et son homéostasie

Pour la majorité des organismes vivants et particulièrement les mammifères, le fer est à la fois indispensable pour vivre et potentiellement toxique.

Pour ces raisons contrôler l'homéostasie du fer est absolument nécessaire pour la bonne croissance et la survie.

Le corps humain contient entre 4 et 5 grammes de fer ...
... c'est la masse d'un clou !



Ce clou rouillé est composé de fer
sous différents états d'oxydation :

(0) : Fe

(II) : Fe²⁺

(III) : Fe³⁺

Le corps humain contient aussi du fer sous deux états d'oxydation différents : Fe^{2+} et Fe^{3+}

Fe^{3+} (appelé fer ferrique) est quasiment insoluble.

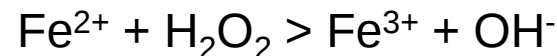
Pour être absorbé au niveau de l'intestin il doit être réduit en Fe^{2+} .

Pour le rendre « soluble » dans les fluides organiques il doit être lié à des protéines « transporteur », par exemple la transferrine pour son transport par la voie sanguine.

Fe^{2+} (appelé fer ferreux) est soluble mais il est extrêmement toxique.

Pourquoi ?

Fe^{2+} interagit avec H_2O_2 pour générer l'espèce chimique OH^- (via la réaction de Fenton-Haber-Weiss) qui, de par son instabilité chimique, va en faire le composé oxydant le plus puissant que l'on peut trouver dans la nature après le fluor.

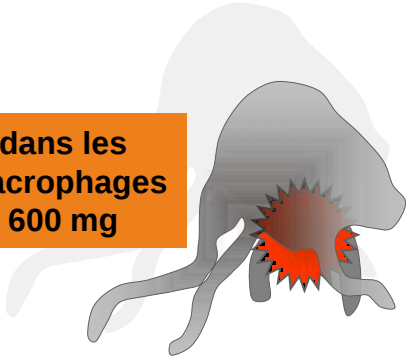


Fe^{2+} est présent dans les cellules.

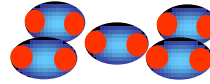
Son excès provoque l'oxydation des composés organiques intracellulaires (les lipides, les protéines, l'ADN).

Distribution de ces 4-5 grammes de fer dans le corps

**dans les
macrophages
600 mg**



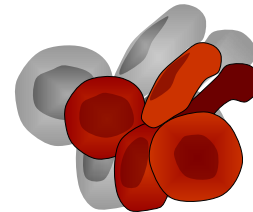
**dans le
sérum
3 mg**



**dans la
moelle osseuse
300 mg**



**dans les autres organes
(principalement le foie,
les muscles)
1000 mg**

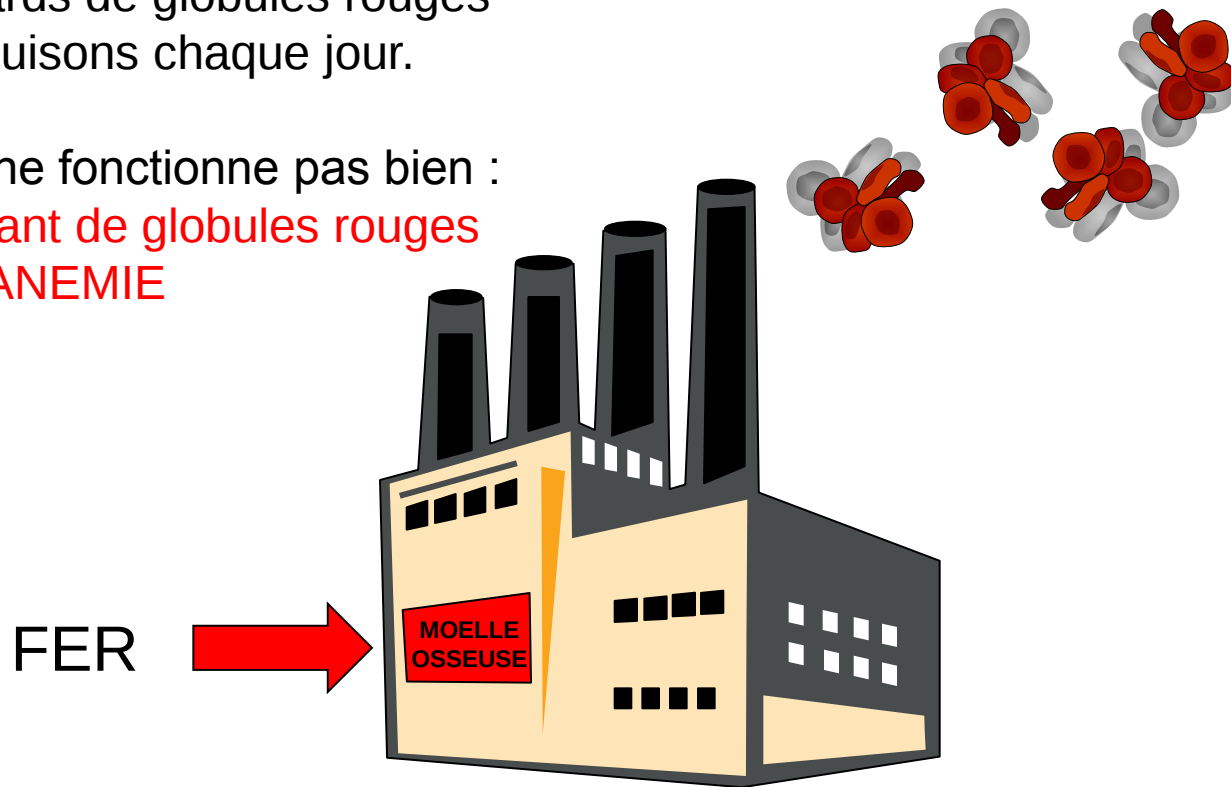


**dans l'hémoglobine
des globules rouges
2500 mg**

L'érythropoïèse consomme la très grande majorité du fer

20 mg de fer sont nécessaires
pour les 200 milliards de globules rouges
que nous produisons chaque jour.

Si l'érythropoïèse ne fonctionne pas bien :
> nombre insuffisant de globules rouges
= ANEMIE



Parce que la très grande majorité du fer est utilisée pour la fabrication des globules rouges il est commun de dire que le rôle principal du fer est de servir au transport de l'oxygène.

C'est vrai ... mais le fer intervient dans un grand nombre d'autres réactions cellulaires (par exemple pour le transport des électrons au sein de la chaîne respiratoire des mitochondries).

L'absorption et l'excrétion du fer

prise orale de fer
très importante
(1g de fer par jour
36-42 jours)



quantification du fer
dans les selles
et les urines

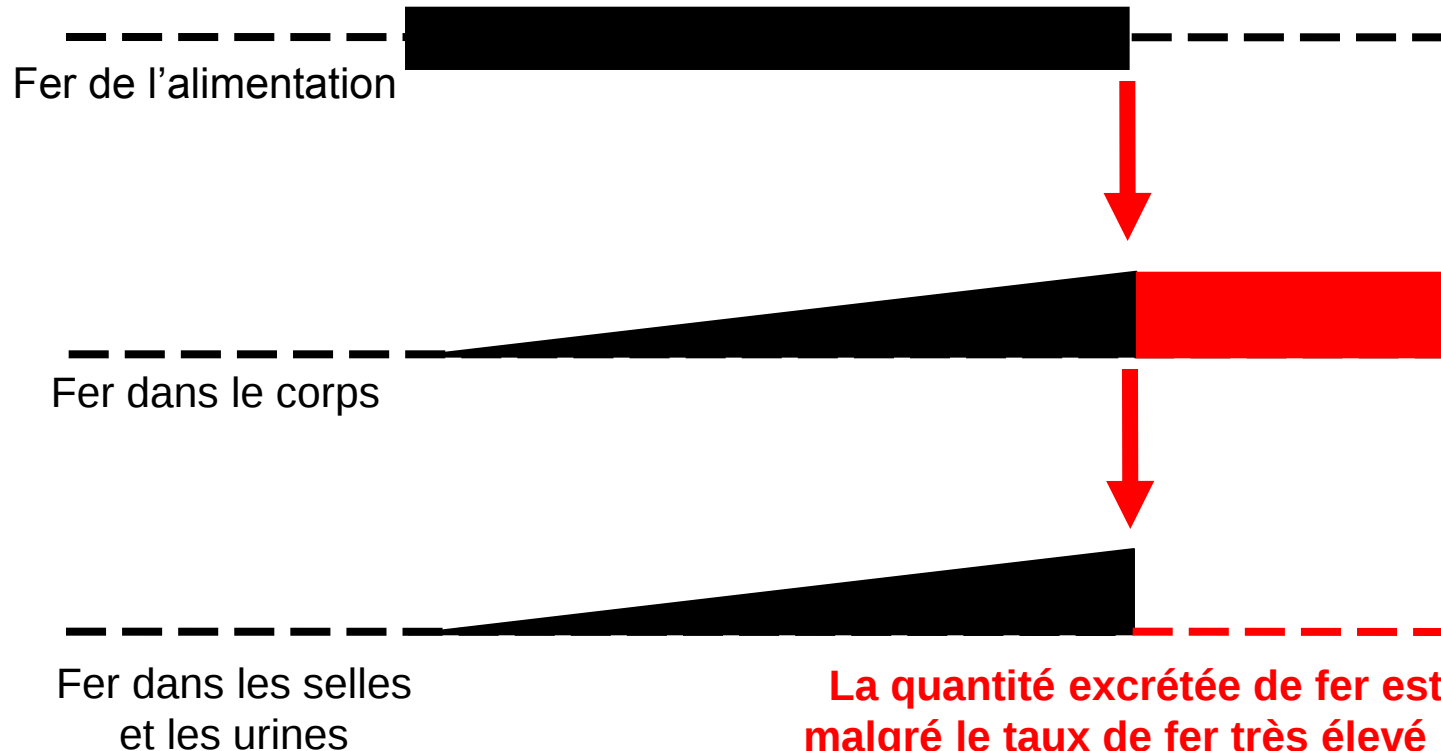
CCL. THE ABSORPTION AND EXCRETION OF
IRON BEFORE, DURING AND AFTER A PERIOD
OF VERY HIGH INTAKE

By ELSIE MAY WIDDOWSON
AND ROBERT ALEXANDER McCANCE

From the Biochemical Laboratory, King's College Hospital, S.E. 5

(Received 30 September 1937)

Biochem. J. (1937)



1/ L'excrétion du fer peut donc être considérée comme négligeable.

Point de vue : le fer est un élément rare.

En fait 1 à 2 milliards d'êtres humains sont carencés en fer. Ceci est lié à une carence en fer dans la nourriture ... ou à une carence en nourriture.

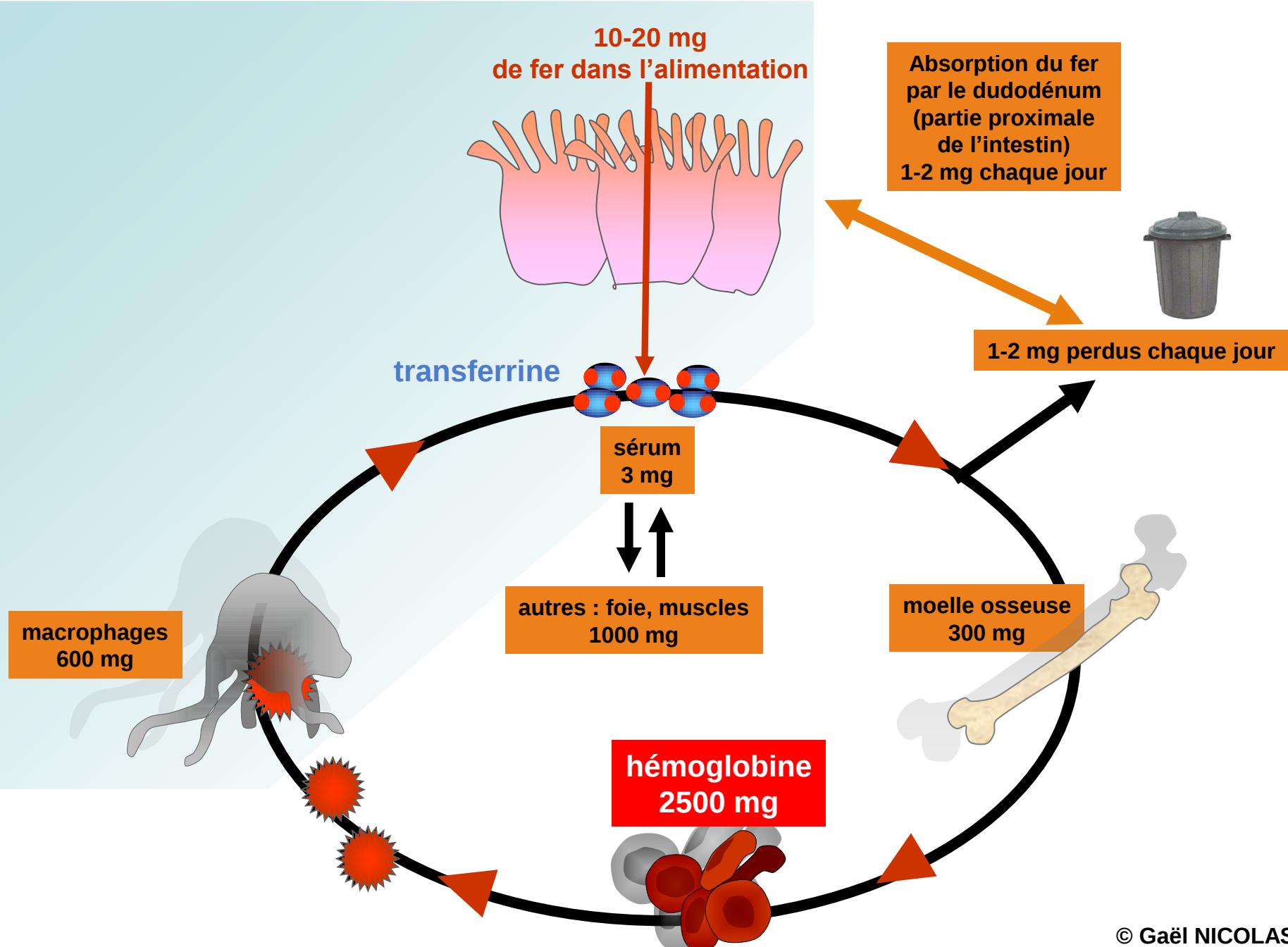
2/ Le fer qui entre ne sort pas pas voie naturelle.
C'est donc un problème s'il se trouve en excès.



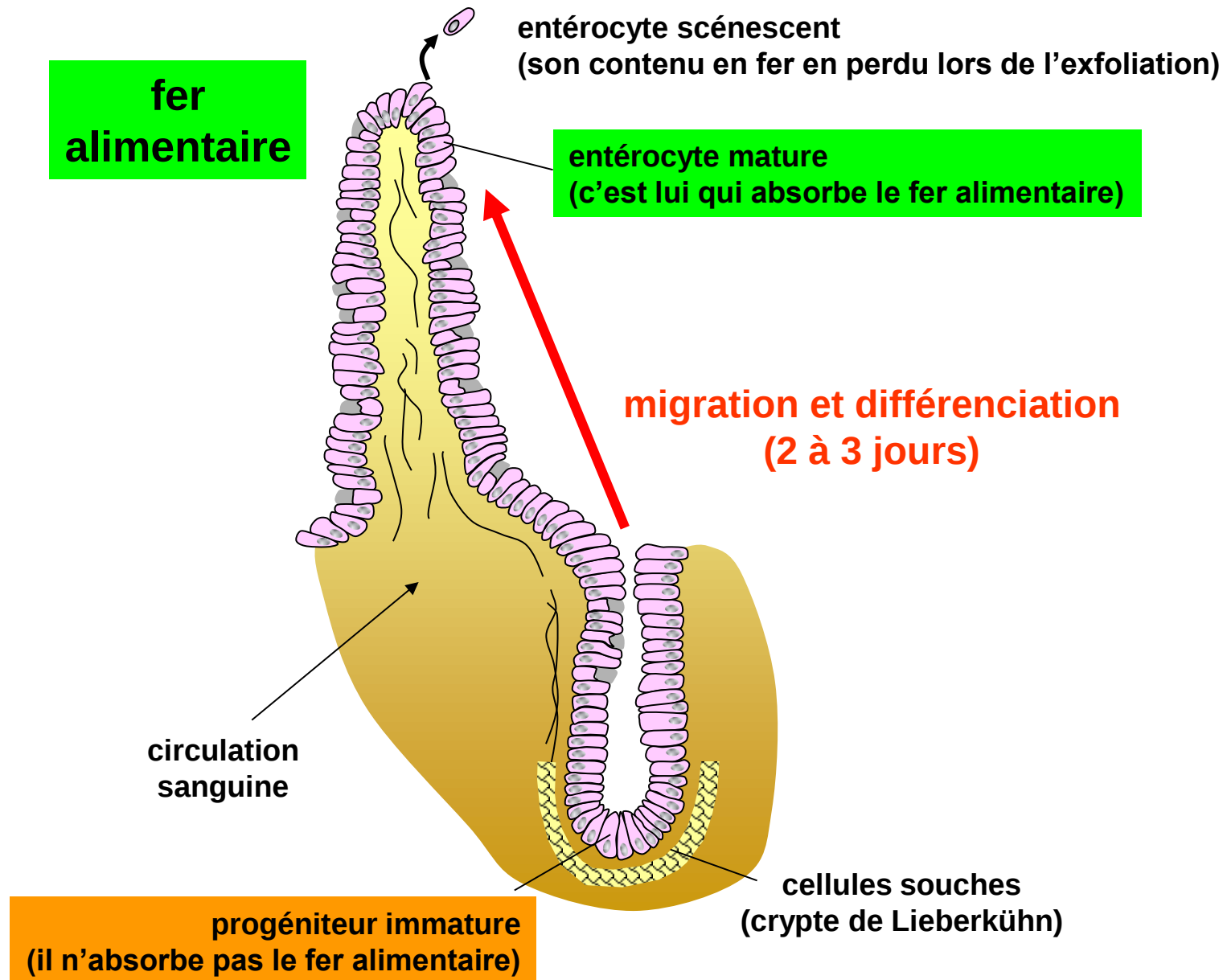
3/ Comment l'organisme contrôle t-il son fer total ?
En régulant l'absorption du fer alimentaire.

2- La régulation systémique

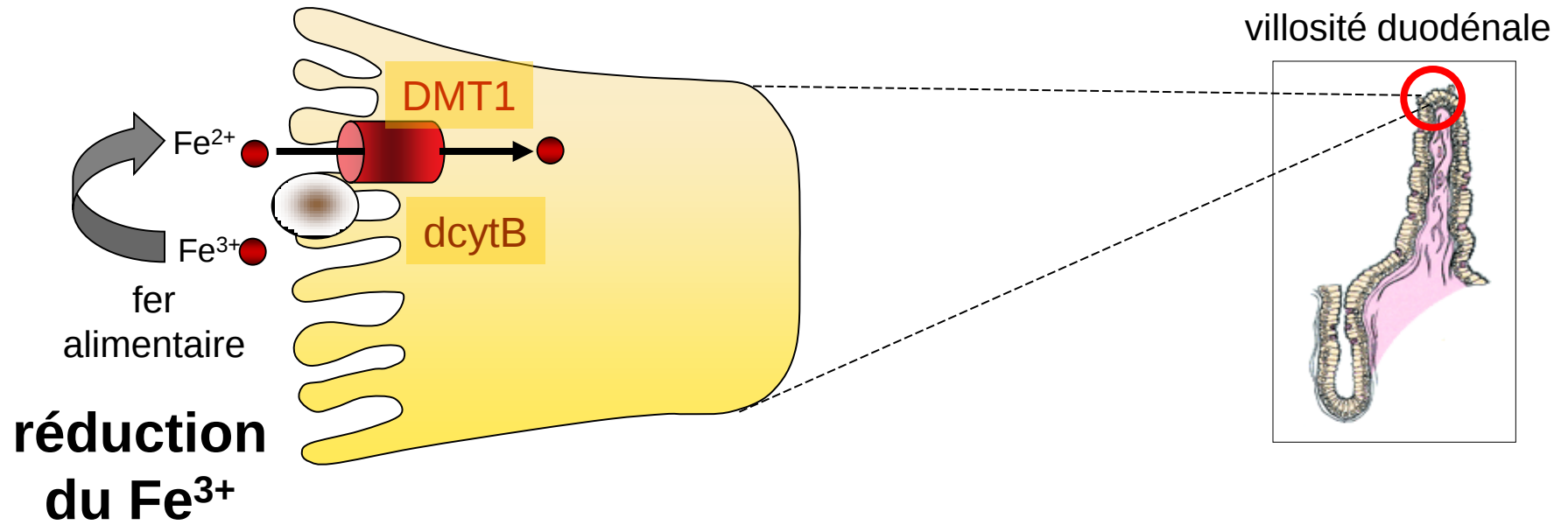
Le cycle du fer dans l'organisme



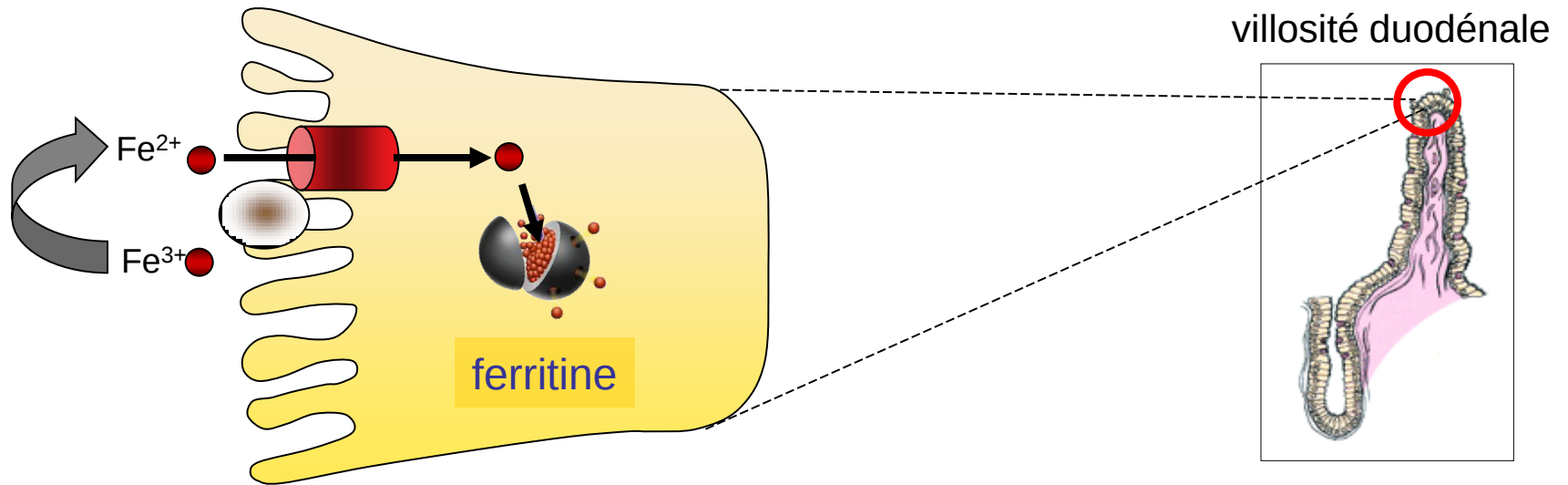
L'absorption du fer alimentaire par les entérocytes du duodénum



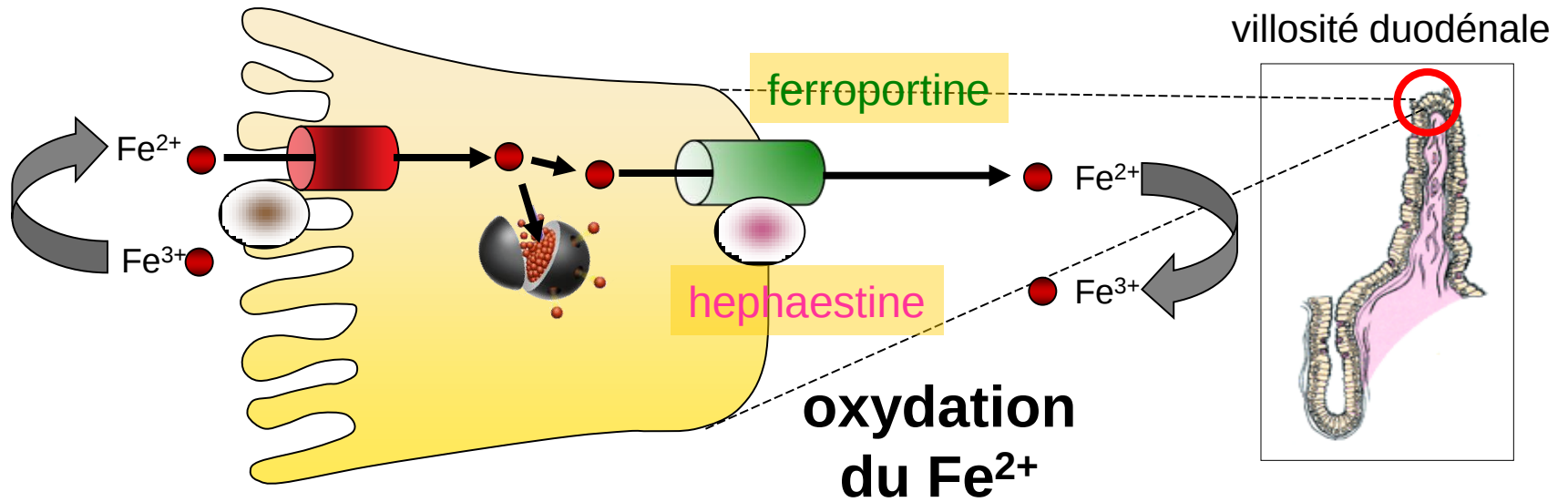
Comment l'entérocyte absorbe-t-il le fer ?



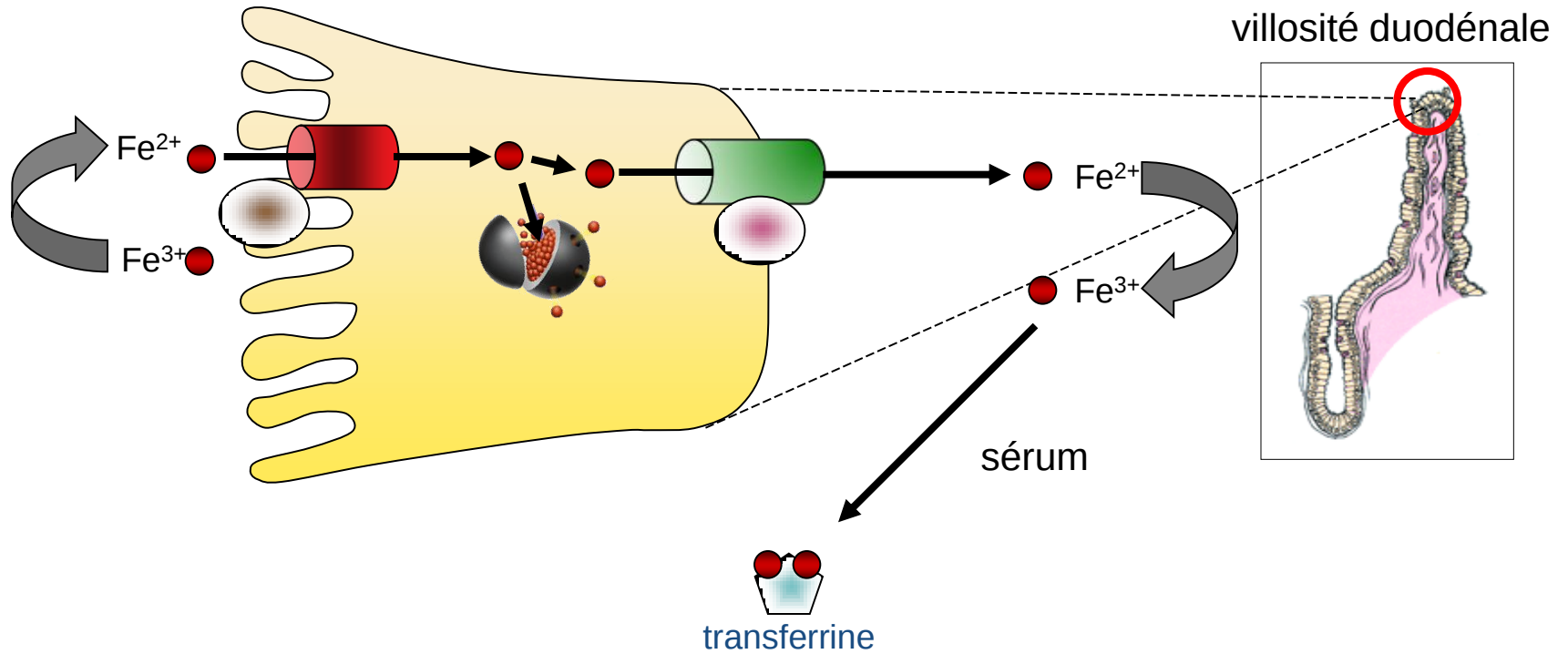
Comment l'entérocyte absorbe-t-il le fer ?



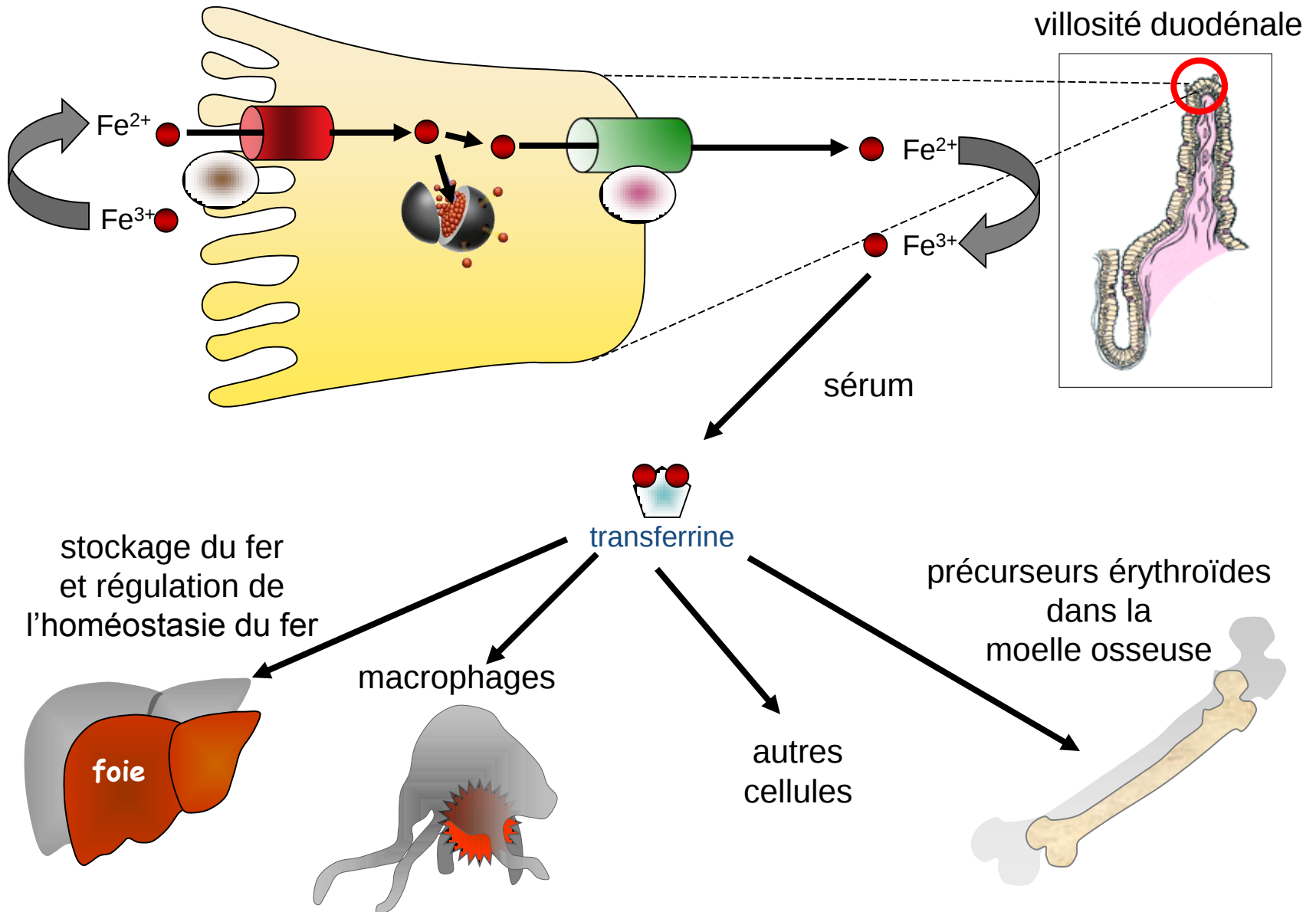
Comment l'entérocyte absorbe-t-il le fer ?



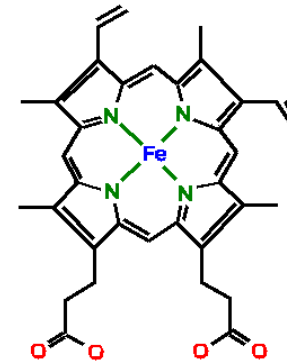
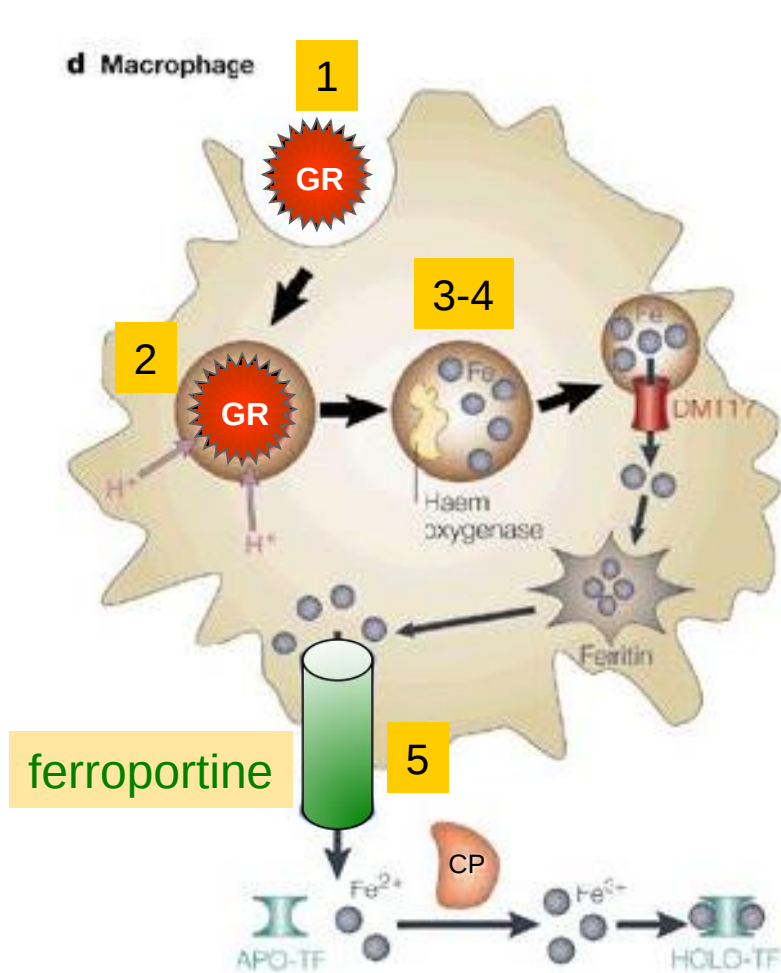
Comment l'entérocyte absorbe-t-il le fer ?



Comment l'entérocyte absorbe-t-il le fer ?



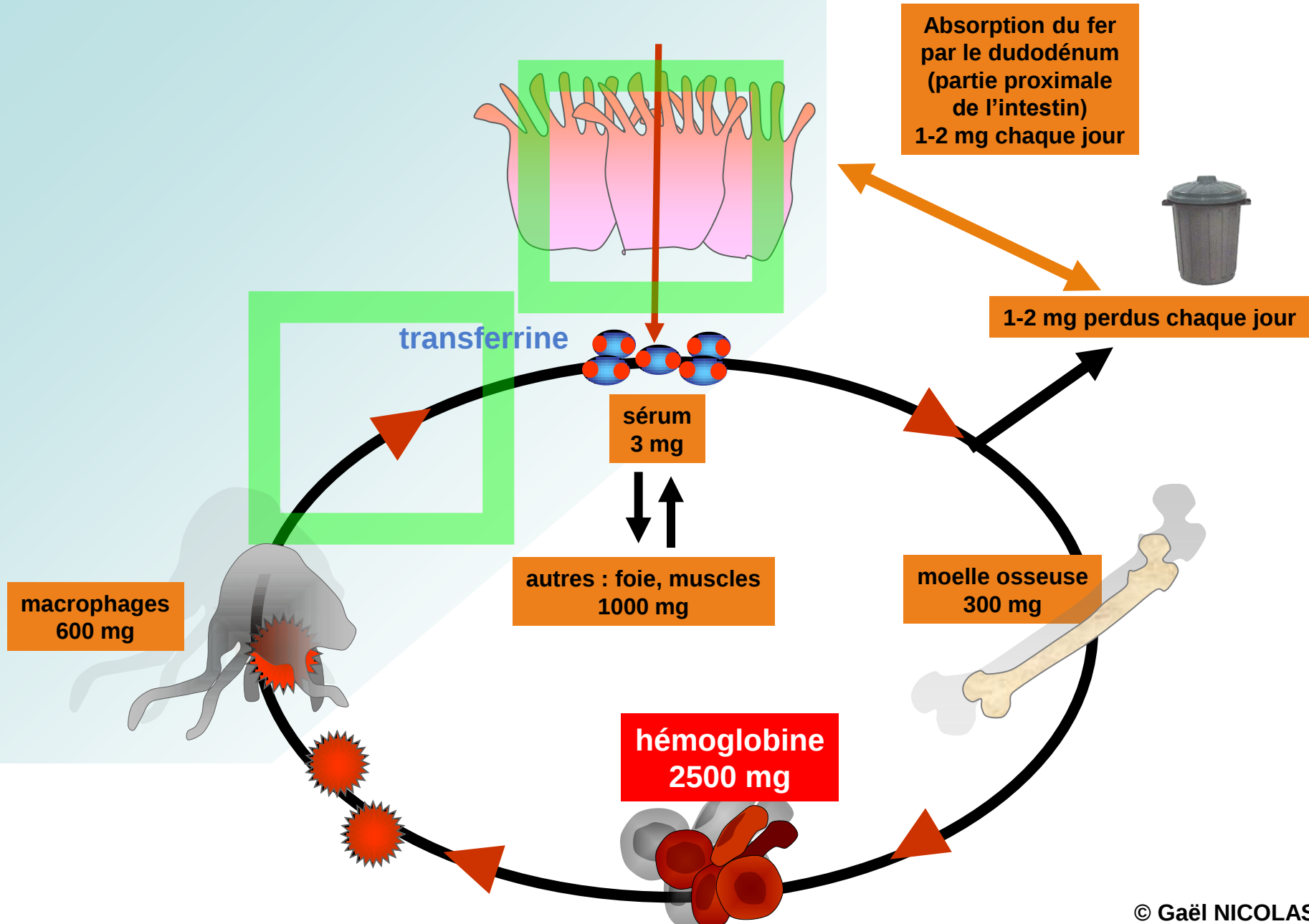
Recyclage du fer par les macrophages



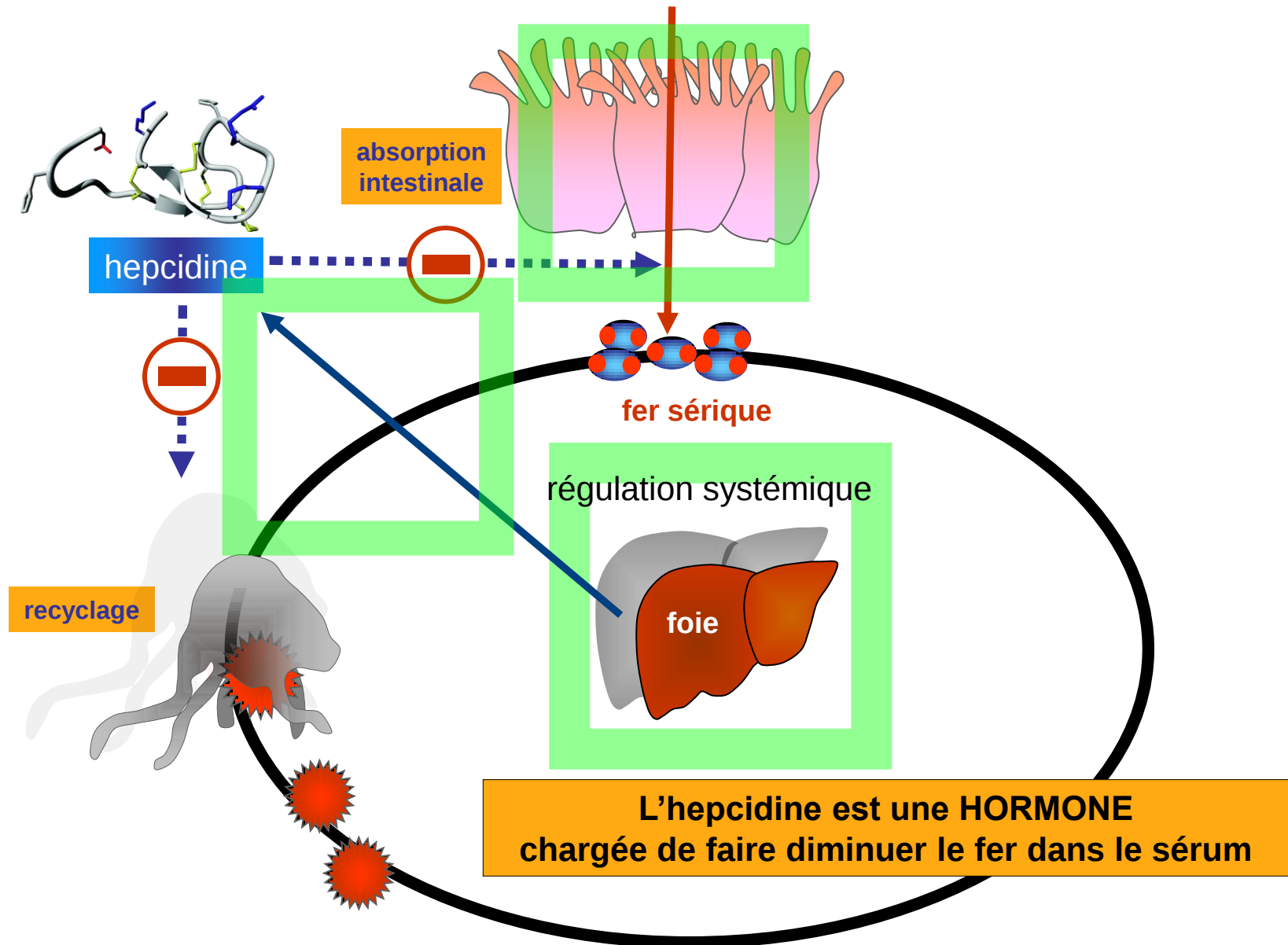
- 1 Ingestion du globule rouge âgé
- 2 Lyse du globule rouge dans le compartiment lysosomal
- 3 Dégradation de l'hémoglobine
- 4 Le fer est libéré de l'hème par une enzyme appelée HEME OXYGENASE
- 5 Le fer est exporté du macrophage par la FERROPORTINE

From Andrews Nature Review Genetics 2000

La régulation systémique opère a deux niveaux

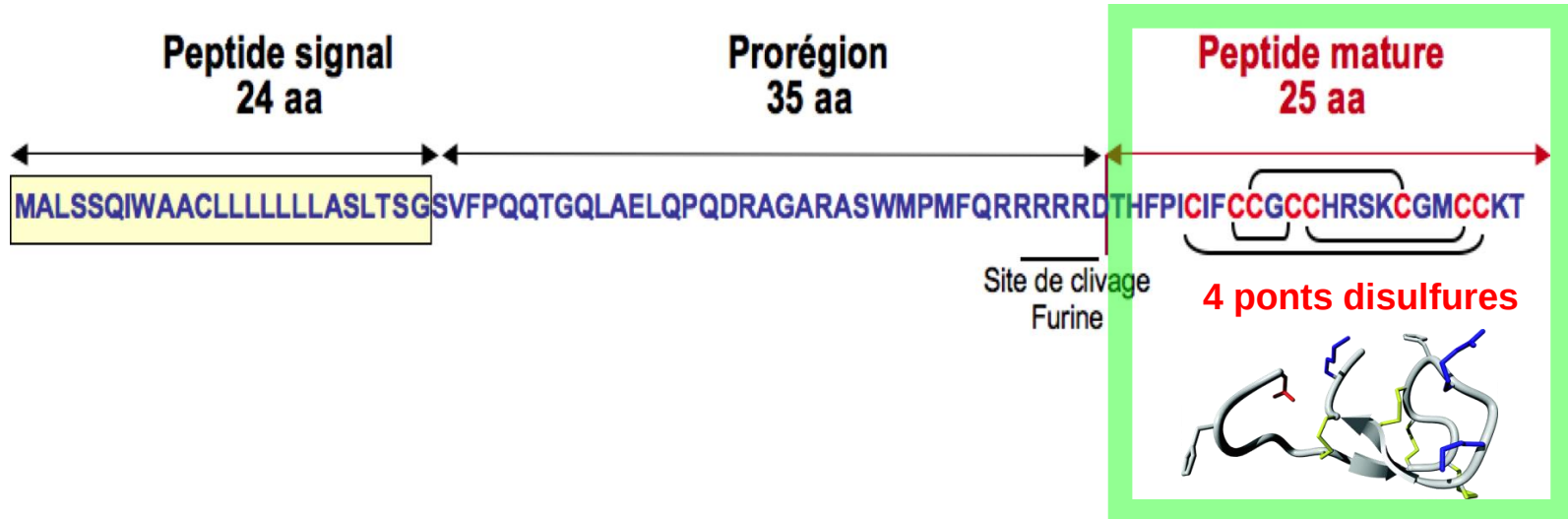


L'hepcidine est une hormone qui régule l'homéostasie du fer



L'hepcidine

Cette hormone est produite majoritairement par le FOIE.
Sa forme mature contient 25 acides aminés.

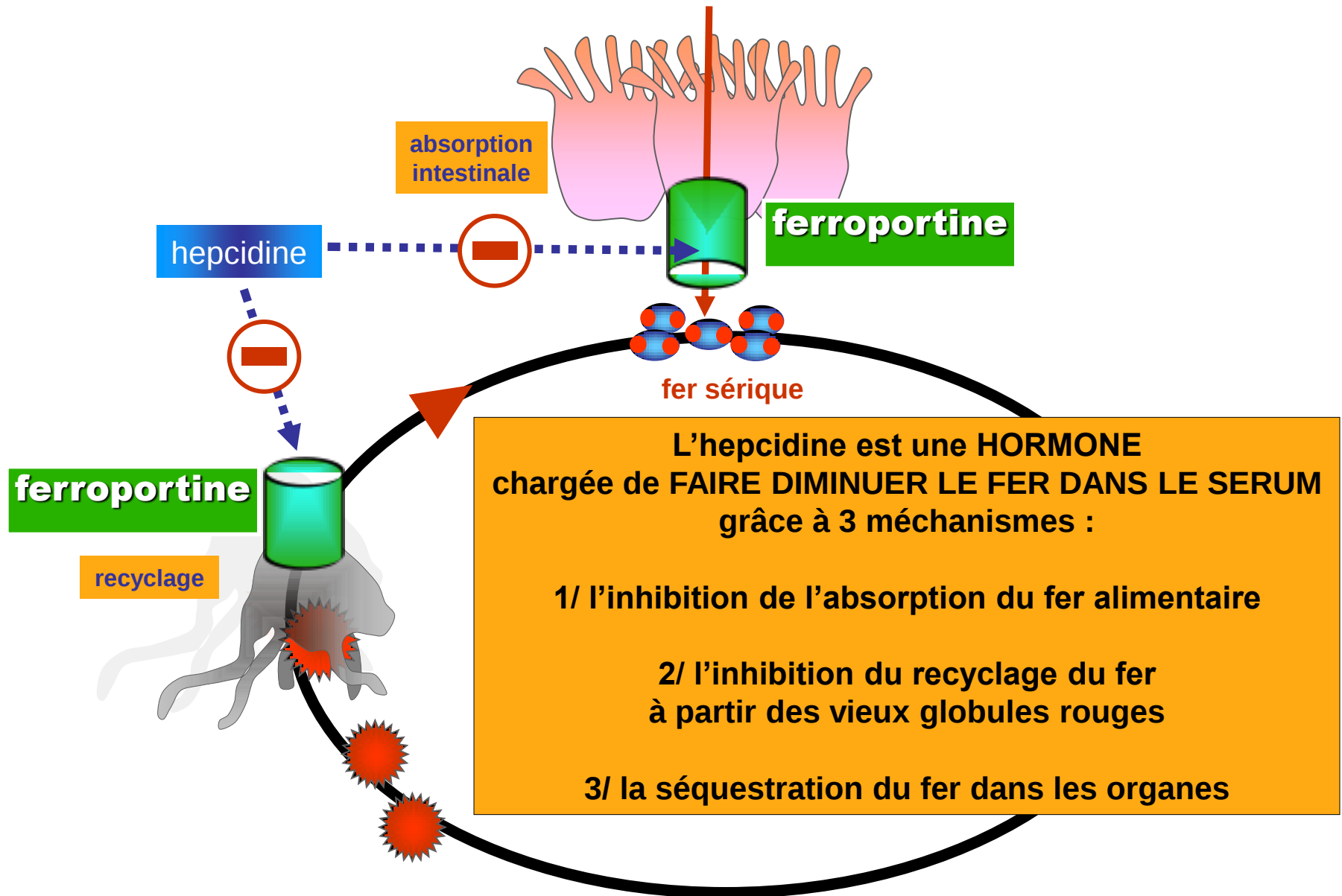


L'hepcidine se fixe sur la ferroportine et entraîne sa dégradation par la voie lysosomale.

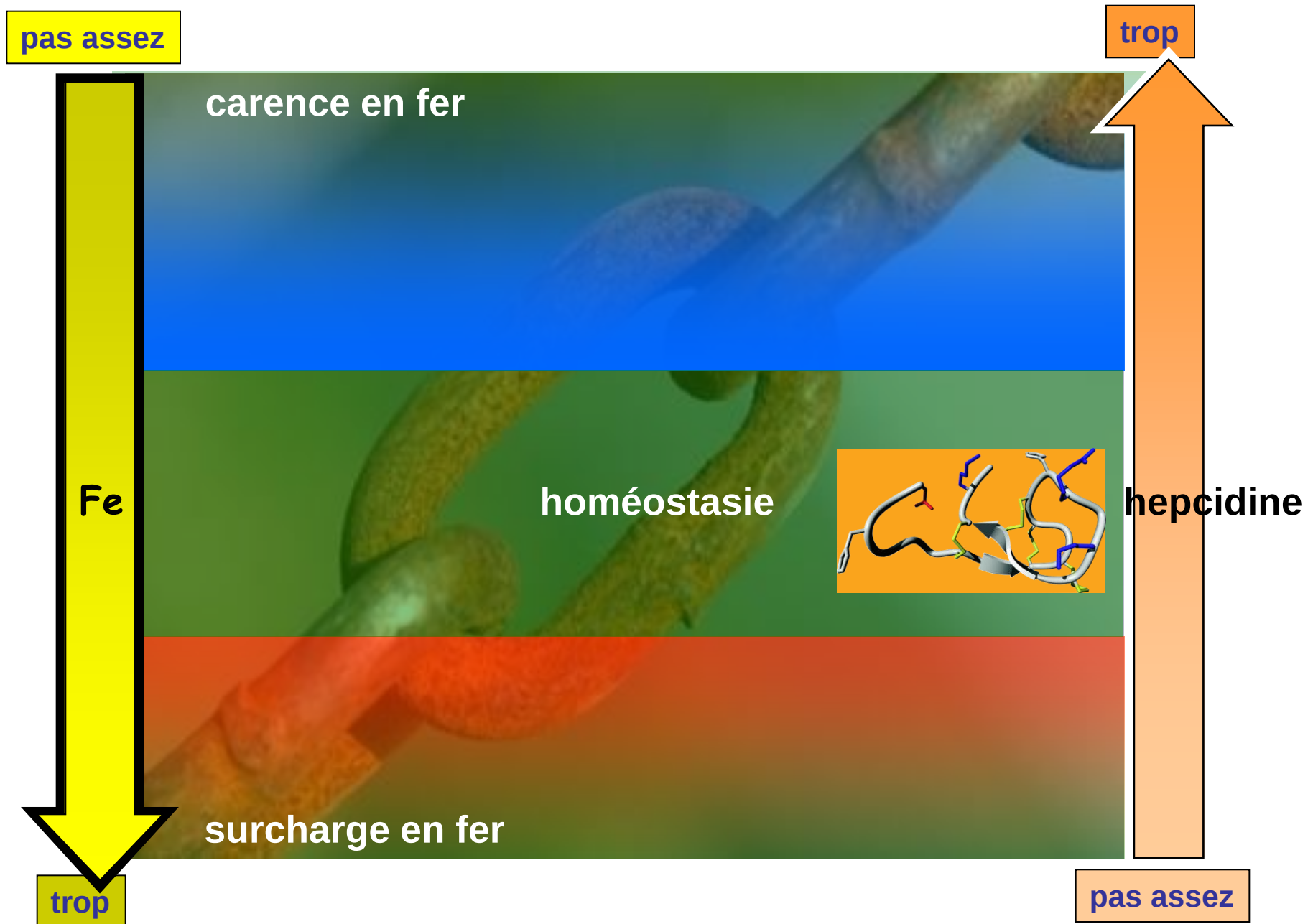
La ferroportine est le seul exporteur de fer connu chez les mammifères.

La dégradation de la ferroportine entraîne donc une rétention du fer dans les cellules cibles de l'hepcidine (principalement les entérocytes et les macrophages).

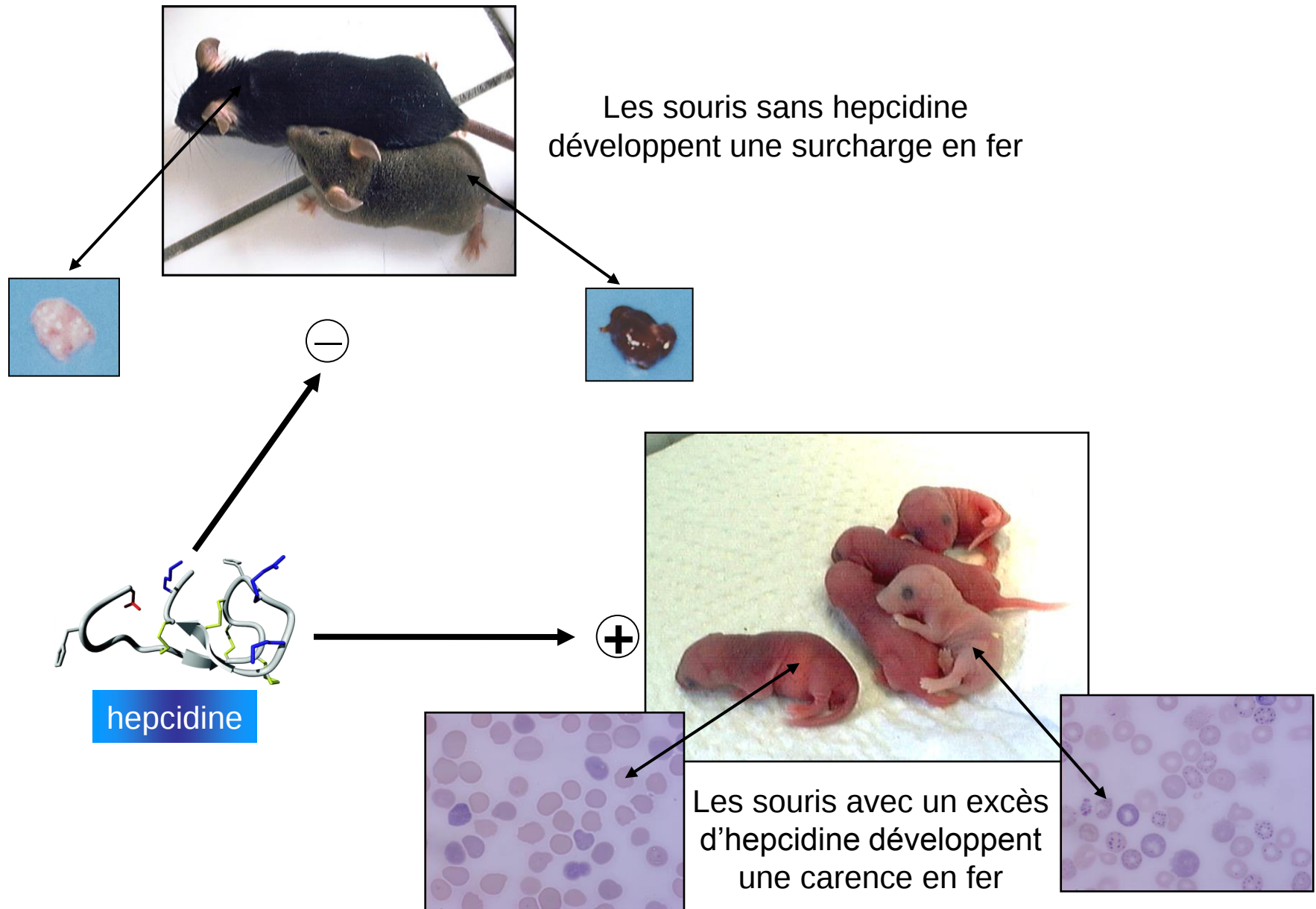
Role de l'hepcidine



L'hepcidine est un régulateur clé de l'homéostasie du fer



Des modèles de souris pour les carences ou les excès d'hépcidine



Cette maladie génétique est provoquée par un excès de fer dans l'organisme.

La surcharge en fer survient majoritairement dans certains organes :

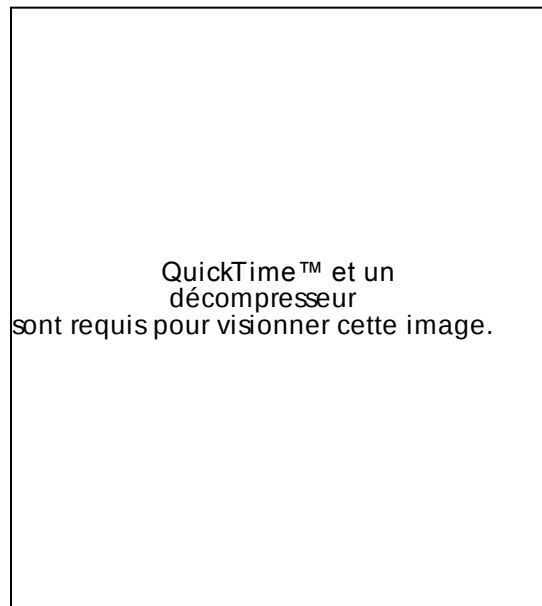
- le foie: hépatocarcinome
 - le coeur: cardiomyopathie
 - le pancréas: diabète
- de nombreuses personnes atteintes de plaignent de douleurs articulaires.

La majorité des patients sont homozygotes pour une substitution C282Y dans une protéine appelée HFE.

1 français sur 12 est porteur hétérozygote de cette mutation
= 200 000 homozygotes en France.

La pénétrance est incomplète : tous les homozygotes ne seront pas malades.

Le traitement consiste à faire des saignées répétées. On élimine ainsi des globules rouges et donc avec eux une certaine quantité de fer. Le fer qui sera utilisé pour la fabrication des nouveaux globules rouges proviendra directement des stocks de fer qui se trouvent dans les organes (principalement dans le foie).

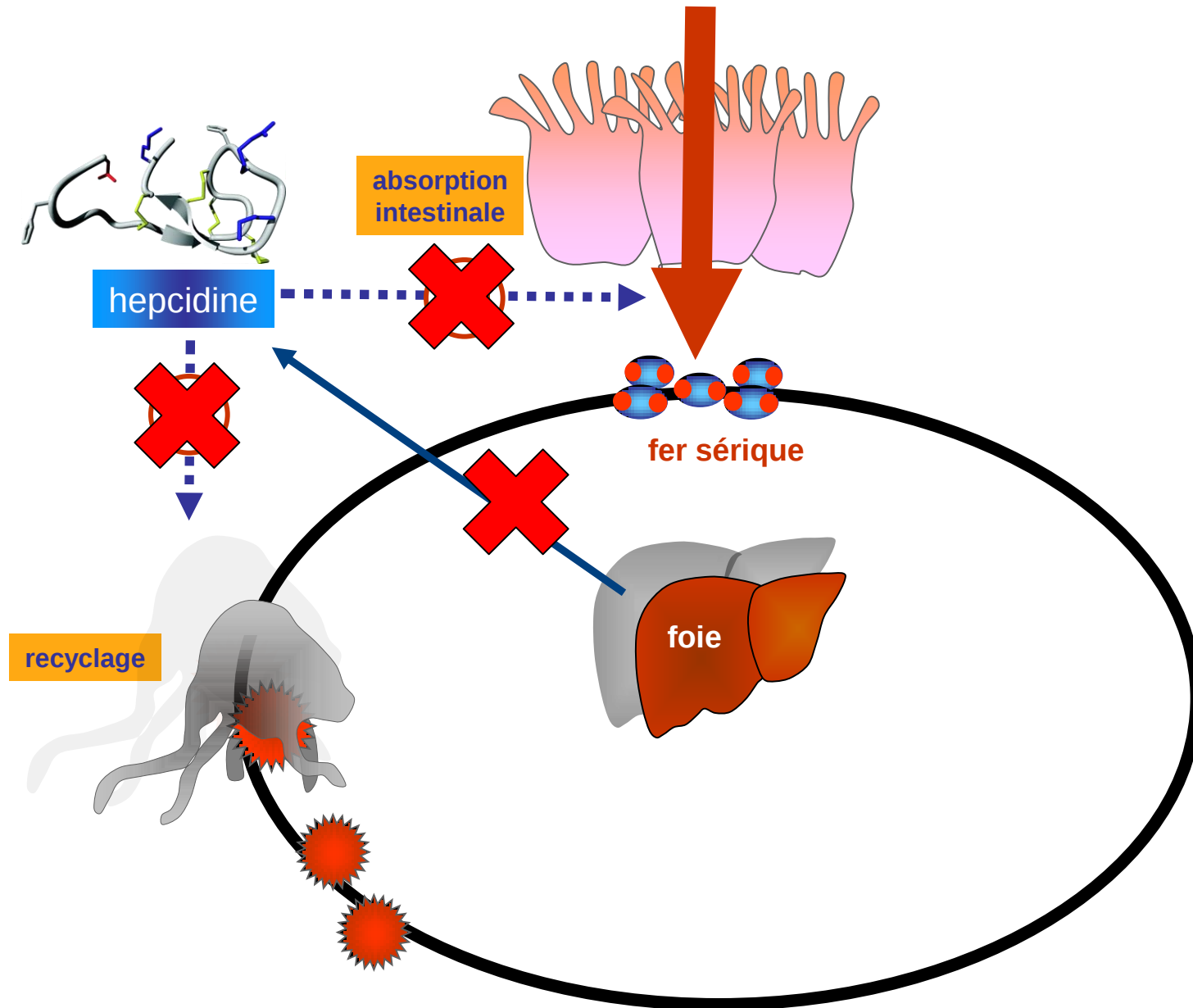


du XVI^e au XVIII^e
siècle



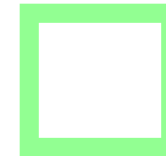
au XXI^e siècle

Les hémochromatosiques ont une « carence » en hepcidine
au regard de leur surcharge en fer



Pourquoi y a-t-il une carence en hepcidine lorsque HFE est mutée ?

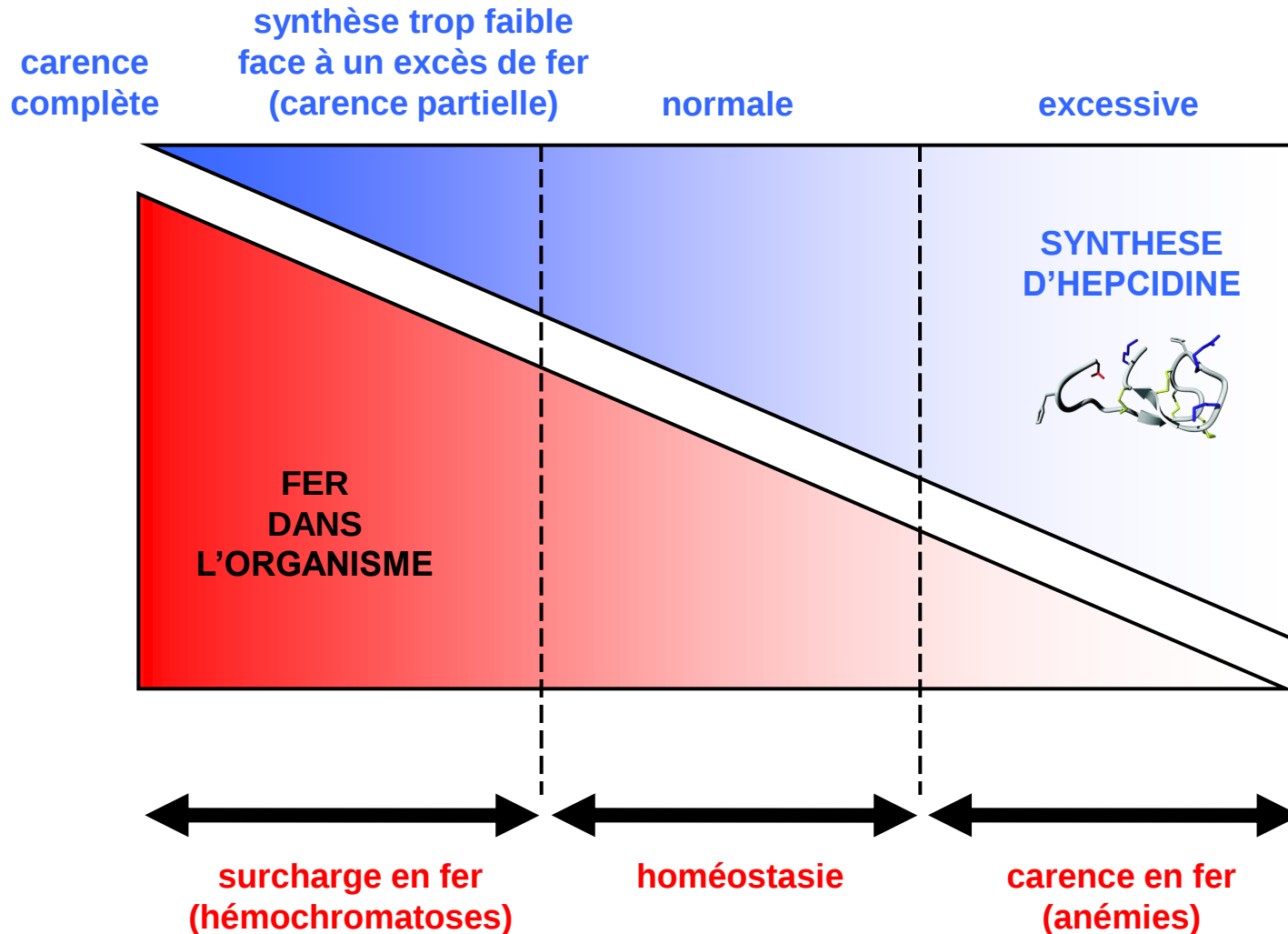
Le rôle de la protéine HFE est de moduler la quantité d'hepcidine fabriquée par le foie en fonction de la quantité de fer déjà présente dans l'organisme. Quand HFE est mutée elle fonctionne mal et interprète mal la quantité de fer de l'organisme. Il résultera de cette mauvaise interprétation une carence en hepcidine.



QuickTime™ et un
décompresseur
sont requis pour visionner cette image.

schéma tiré de Hentze *et al.* Cell (2010)

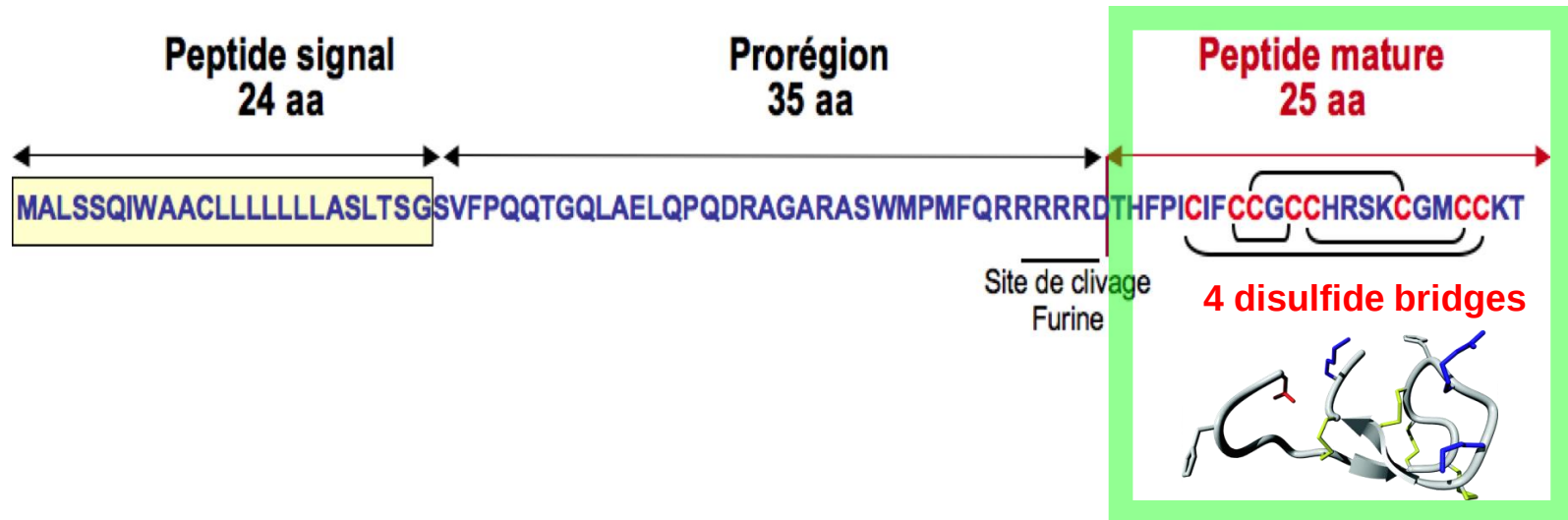
Dérégulation de la synthèse d'hepcidine chez l'humain



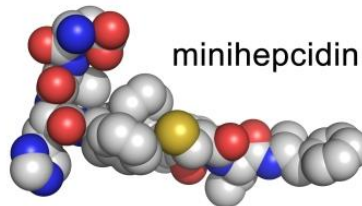
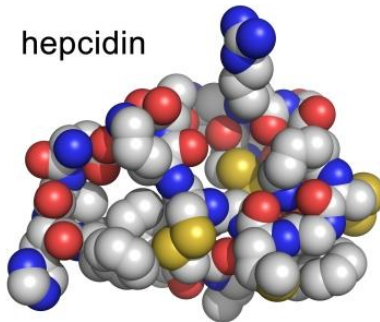
3- Traitement de l'hémochromatose à base d'agonistes de l'hepcidine

Fabrication de l'hepcidine

A cause de ses 4 pont disulfures l'hepcidine est une molécule difficile à synthétiser. Jusqu'à aujourd'hui aucune entreprise pharmaceutique n'a essayé de la fabriquer à grande échelle dans le but de traiter les surcharges en fer.



Un groupe de chercheur américain a fabriqué une mini-hepcidine qui contient les 9 premiers acides aminés de l'hepcidine. Elle ne contient aucun pont disulfure. Celle-ci a été modifiée chimiquement de façon à la rendre plus stable une fois dans l'organisme.



QuickTime™ et un
décompresseur
sont requis pour visionner cette image.

Ramos *et al.* Blood (2012)

Les chercheurs ont démontré que des injections de cette mini-hepcidine protègent des souris déficientes en hepcidine de la surcharge en fer.

Bien que prometteur ce résultat a été obtenu :

- sur des souris.
- en utilisant des quantités importantes de mini-hepcidine.

De mon point de vue il n'est pas question pour le moment que ce traitement puisse se substituer aux saignées.

En dehors des chélateurs de fer qui peuvent être difficiles à supporter pour le patient ou toxiques pour certains il n'existe pas l'alternative aux saignées pour le traitement des hémochromatose.

Merci de votre attention.

Si vous souhaitez faire un stage de M2
(et éventuellement un doctorat)
je suis intéressé.
N'hésitez pas à me contacter !

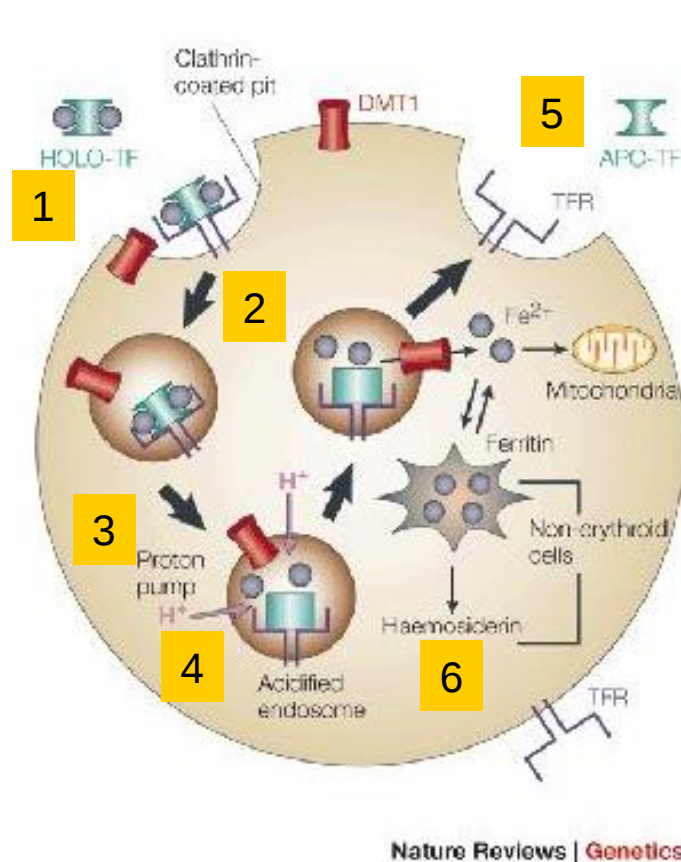
gael.nicolas@inserm.fr

<http://cvscience.aviesan.fr/cv/76/gael-nicolas>



INTRACELLULAR IRON REGULATION

THE IRON-TRANFERRIN CYCLE

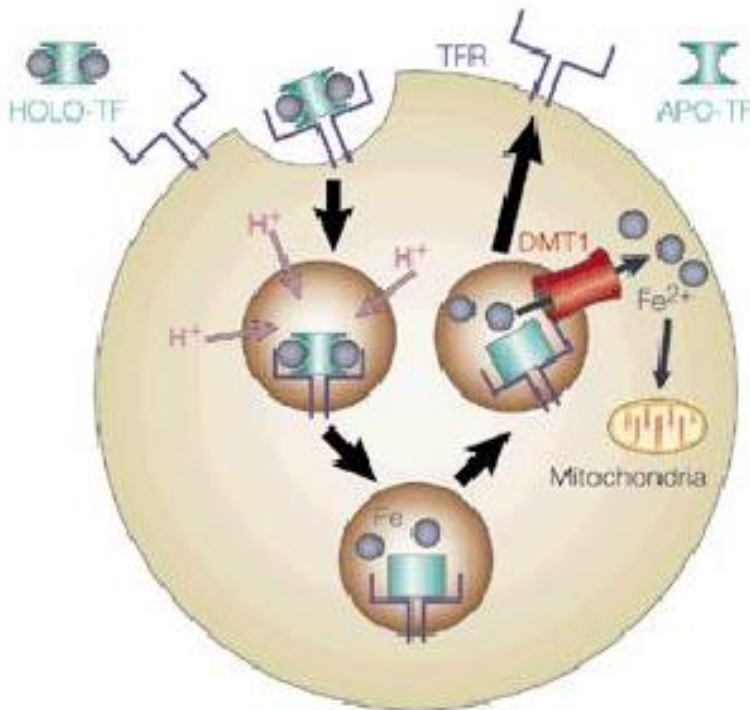


- 1** Holotransferrin binds to transferrin receptors on cell surface; complexes localize to clathrin-coated pits which invaginate and initiate endocytosis
- 2** Specialized endosomes form
- 3** Become acidified (through proton pump)
- 4** Acidification leads to conformational changes that release iron; also enables proton-coupled iron transport out of the endosomes through the activity of DMT1 (divalent metal transporter 1 protein)
- 5** Subsequently Apotransferrin and transferrin receptor returns to cell surface
- 6** In non-erythroid cells, iron stored as ferritin and hemosiderin

From Andrews Nature Review Genetics 2000

HOW CELLS DOES TAKE IRON?

b Erythroid precursor

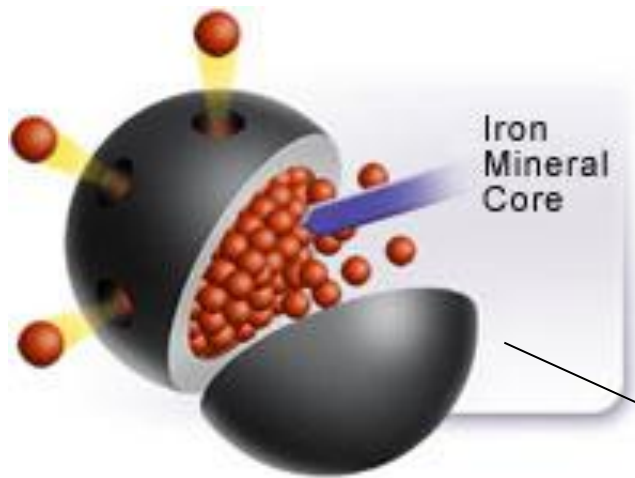


- Holotransferrin binds to transferrin receptors on cell surface; complexes localize to clathrin-coated pits which invaginate and initiate endocytosis
- Specialized endosomes form
- Become acidified (through proton pump)
- Acidification leads to conformational changes that release iron; also enables proton-coupled iron transport out of the endosomes through the activity of DMT1 (divalent metal transporter 1 protein)
- Subsequently Apotransferrin and transferrin receptor returns to cell surface
- Essentially all iron in these cells is incorporated into hemoglobin

From Andrews Nature Review Genetics 2000

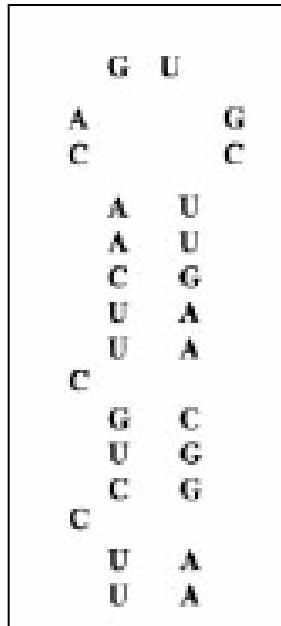
IRON IS STORED INTRACELLULARLY IN FERRITIN SHELLS

- It is the iron storage protein in all cells.
- It is composed of an assembly of different subunits - L (light) and H (heavy) chains –
- Assembly of L and H ferritin forms a shell.
- The shell can be composed with variable amount of L and H ferritin.
- Each shell can contain 4000 iron atoms.
- Can be secreted in bloodstream (used as an indicator for the iron stores).



the shell can be composed with variable amount of L and H ferritin

POST-TRANSCRIPTIONAL REGULATION BY IRON: THE IRE/IRP SYSTEM



IRE of H-chain ferritin

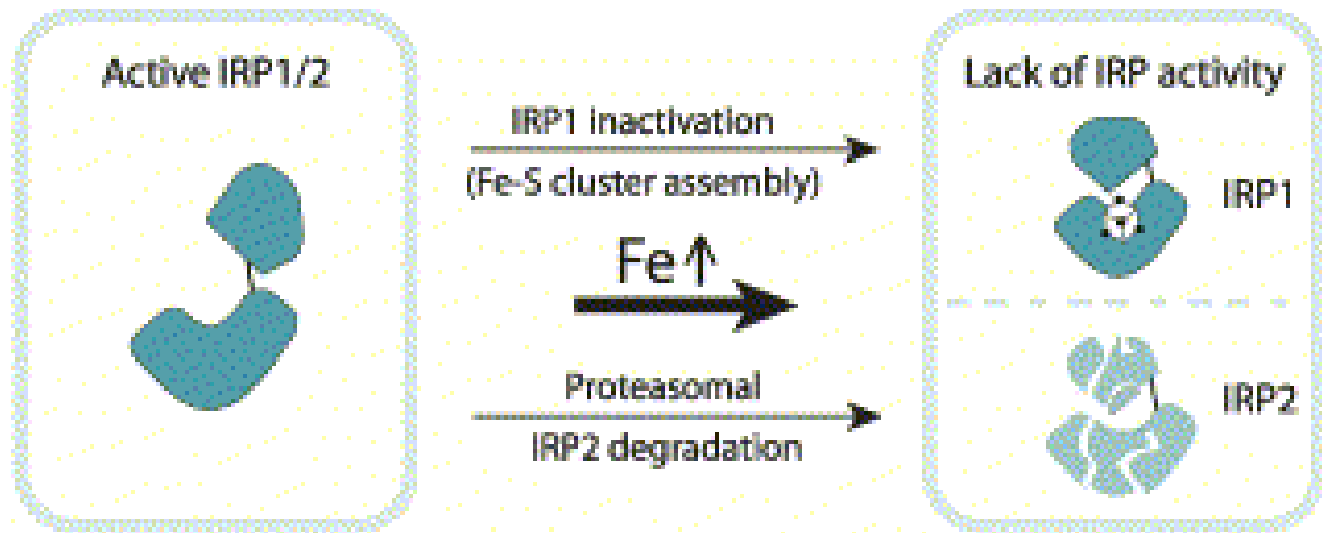
IRE (Iron Regulatory Element)

- A sequence in the 5' or 3' untranslated region of mRNA forming a hairpin/loop structure.
- IRE are present in mRNA encoding several proteins of iron homeostasis.

POST-TRANSCRIPTIONAL REGULATION BY IRON: THE IRE/IRP SYSTEM

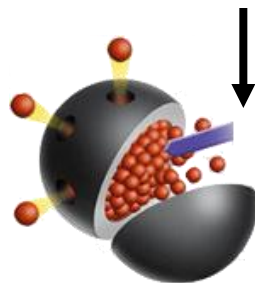
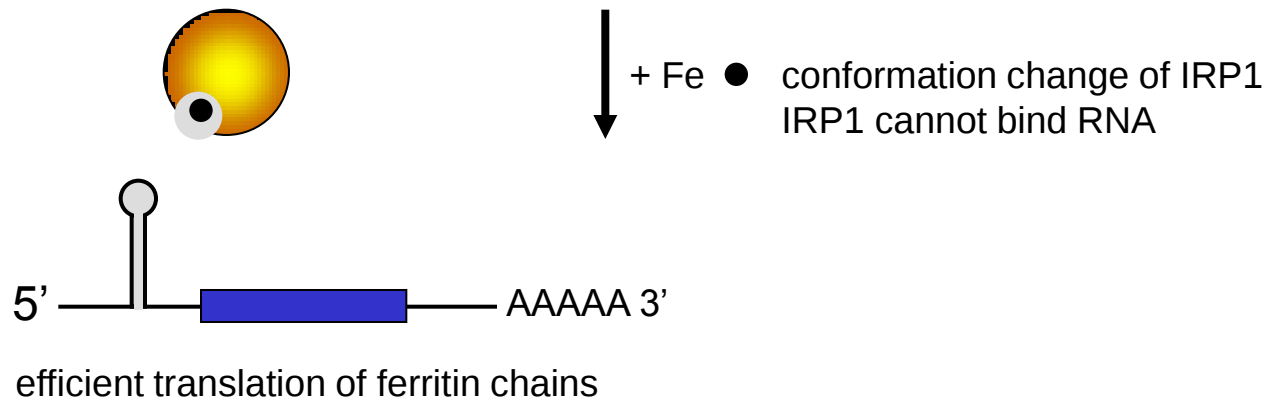
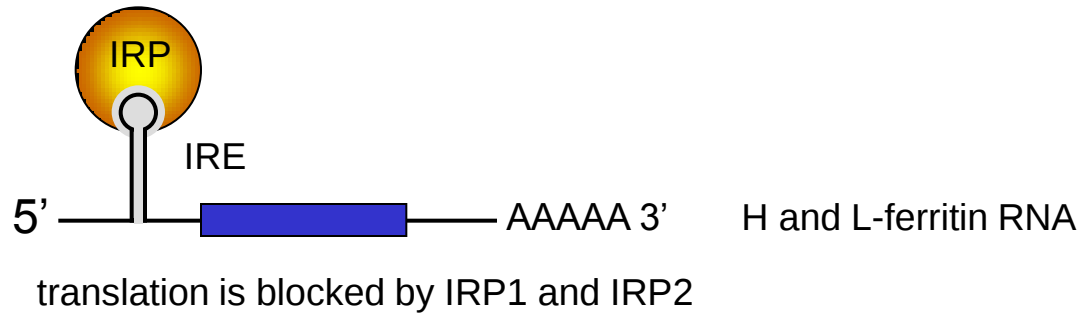
IRP (Iron Regulatory Protein)

- Two genes encode two IRPs (IRP1 and IRP2).
- IRP1 and IRP2 bind IRE.
- In absence of iron, the RNA-binding activity is high.
- In presence of iron :
 - 1- there is the formation of a Fe-S cluster inside IRP1 protein.
 - 2- it leads to a change of conformation of IRP1.
 - 3- this change of conformation leads to a loss a RNA binding activity.
 - 4- IRP2 is degraded by proteasome.



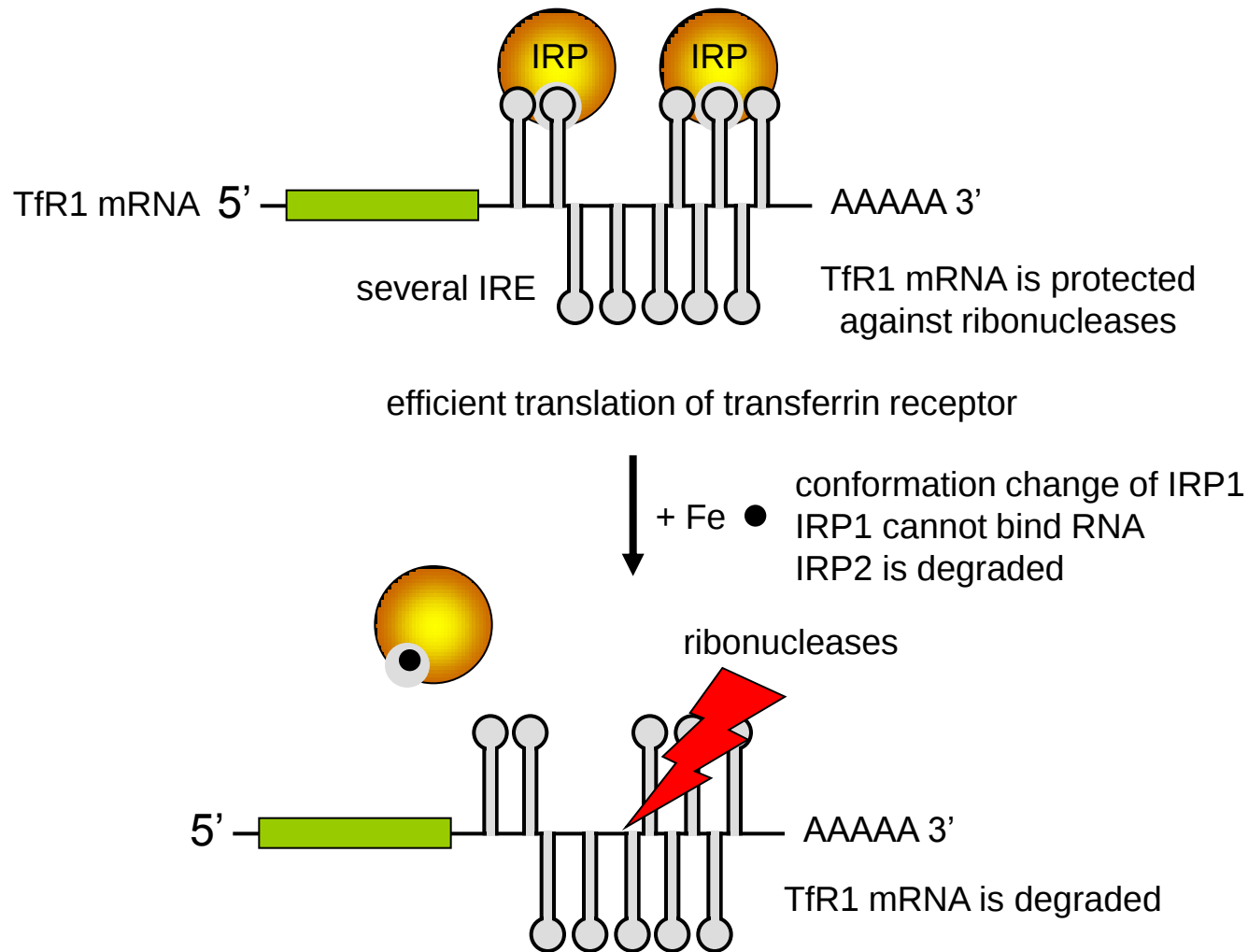
From Muckenthaler – Annual Review of Nutrition 2008

THE CASE OF H & L-FERRITINS



in the presence of cellular iron the synthesis of ferritin is increased (via the IRE/IRP system) in order to increase the storage of iron.

THE CASE OF TRANSFERRIN RECEPTOR 1



When intracellular iron increases the synthesis of transferrin receptor 1 is decreased (via the IRE/IRP system) in order to limit the input of iron inside cells.

This IRE/IRP system allows to each cell to regulate its iron uptake and iron stores to meet its own requirements (cellular regulation).

This IRE/IRP regulation depends of the extracellular iron (bound to transferrin) which is itself control by hepcidin (systemic regulation).

Enterocytes regulates iron transport thanks to this IRE/IRP system but they also have ferroportin which is targeted by hepcidin.