



HAL
open science

Carcinome hépatocellulaire et maladie ferroportine

Iphigénie Chaze

► **To cite this version:**

Iphigénie Chaze. Carcinome hépatocellulaire et maladie ferroportine. Biochimie [q-bio.BM]. Université Montpellier I, 2010. Français. NNT: . tel-00546815

HAL Id: tel-00546815

<https://theses.hal.science/tel-00546815>

Submitted on 14 Dec 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE MONTPELLIER I
U.F.R. DE MEDECINE**

T H E S E

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Iphigénie CHAZE

Le 26 novembre 2010

Titre :

« Carcinome hépatocellulaire et maladie ferroportine »

Directeur de thèse : Pr. Pierre BLANC

JURY

Président	Mr. le Pr. Pierre BLANC	PU-PH
Assesseurs	Mr. le Pr. Jean-François SCHVED	PU-PH
	Mr. le Pr. Benoît GALLIX	PU-PH
	Mr. le Dr. Michaël BISMUTH	PH

PERSONNEL ENSEIGNANT

ANNEE UNIVERSITAIRE 2010-2011

Professeurs honoraires

ALLIEU Yves	DEMAILLE Jacques	LAPEYRIE Henri	POURQUIER Henri
ALRIC Robert	DESCOMPS Bernard	LORIOT Jean	PUECH Paul
ASTRUC Jacques	DU CAILAR Jacques	LOUBATIERES M.Madeleine	PUJOL Henri
AYRAL Guy	DUMAS Robert	MAGNAN DE BORNIER Bernard	RABISCHONG Pierre
BAILLAT Xavier	DUMAZER Romain	MANDIN André	RAMUZ Michel
BALDY-MOULINIER Michel	FABRE Serge	MARCHAL Georges	RIEU Daniel
BALMES Jean-Louis	FREREBEAU Philippe	MARY Henri	RIOUX Jean-Antoine
BALMES Michel	GODLEWSKI Guilhem	MATHIEU-DAUDE Pierre	ROCHEFORT Henri
BALMES Pierre	GRASSET Daniel	MEYNADIER Jean-Charles	ROUANET DE VIGNE LAVIT Jean-Pierre
BANSARD Nicole	GREMY François	MICHEL François-Bernard	SANCHO-GARNIER Hélène
BAUMEL Hugues	GROLLEAU-RAOUX Robert	MICHEL Henri	SANY Jacques
BAYLET René	GUILHOU Jean-Jacques	MIMRAN Albert	SENAC Jean-Paul
BILLIARD Michel	HERTAULT Jean	MION Charles	SERRE Arlette
BLARD Jean-Marie	HUMEAU Claude	MION Henri	SIMON Lucien
BOUDET Charles	JAFFIOL Claude	MIRO Luis	SOLASSOL Claude
BOURGEOIS Jean-Marie	JANBON Charles	NAVARRO Maurice	SUQUET Pierre
BUREAU Jean-Paul	JANBON François	NAVRATIL Henri	THEVENET André
CALLIS Albert	JARRY Daniel	OTHONIEL Jacques	VERNHET Jean
CHAPTAL Paul-André	LABAUGE Robert	PAGES André	VIDAL Jacques
CIURANA Albert-Jean	LAFFARGUE François	PEGURET Claude	VISIÉ Jean Pierre
D'ATHIS Françoise	LAMARQUE Jean-Louis	POUGET Régis	

Professeurs Emérites

BONNEL François
BUREAU Jean-Paul
DEDET Jean-Pierre
GODLEWSKI Guilhem
MIMRAN Albert
SANCHO-GARNIER Hélène
SENAC Jean-Paul

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers

PU-PH de classe exceptionnelle

AUSSILLOUX Charles	Pédopsychiatrie ; addictologie
BLANC François	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
BONAFE Alain	Radiologie et imagerie médicale
BOUSQUET Jean	Pneumologie ; addictologie
BRINGER Jacques - Doyen	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
BRUEL Jean Michel	Radiologie et Imagerie médicale
CANAUD Bernard	Néphrologie
CASTELNAU Didier	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
CLAUSTRES Mireille	Génétique

CLOT Jacques	Immunologie
DAURES Jean Pierre	Epidémiologie, Economie de la santé et Prévention
DAUZAT Michel	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire : option médecine vasculaire
DIMEGLIO Alain	Chirurgie Infantile
DUBOIS Jean Bernard	Cancérologie ; radiothérapie
ECHENNE Bernard	Pédiatrie
ELEDJAM Jean Jacques	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
GODARD Philippe	Pneumologie ; addictologie
GUERRIER Bernard	Oto-Rhino-Laryngologie
HEDON Bernard	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
JEANDEL Claude	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
JOURDAN Jacques	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
LARREY Dominique	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
MARES Pierre	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
MILLAT Bertrand	Chirurgie digestive
MONNIER Louis	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
MOURAD Georges	Néphrologie
PELLISSIER Jacques	Médecine physique et de réadaptation
PREFAUT Christian	Physiologie
ROSSI Michel	Biophysique et médecine nucléaire
SULTAN Charles	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
TOUCHON Jacques	Neurologie
UZIEL Alain	Oto-rhino-laryngologie

PU-PH de 1^{re} classe

ALBAT Bernard	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
ARTUS Jean-Claude	Biophysique et Médecine nucléaire
ASENCIO Gérard	Chirurgie orthopédique et Traumatologique
AVEROUS Michel	Urologie
BACCINO Eric	Médecine légale et droit de la santé
BLAYAC Jean Pierre	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
BLOTMAN Francis	Rhumatologie
BOULENGER Jean Philippe	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
BOULOT Pierre	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
CAPDEVILA Xavier	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
COLSON Pascal	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
COMBE Bernard	Rhumatologie
COSTA Pierre	Urologie
COSTES Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
COTTALORDA Jérôme	Chirurgie infantile
COUBES Philippe	Neurochirurgie
CRAMPETTE Louis	Oto-rhino-laryngologie
CRISTOL Jean Paul	Biochimie et biologie moléculaire
DAVY Jean Marc	Cardiologie
DE LA COUSSAYE Jean Emmanuel	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
DELAPORTE Eric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
DOMERGUE Jacques	Chirurgie générale
DUJOLS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
ELIAOU Jean François	Immunologie
FABRE Jean Michel	Chirurgie générale
GALIFER René-Benoît	Chirurgie infantile
GUILLOT Bernard	Dermato-vénéréologie
HAMAMAH Samir	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
HERISSON Christian	Médecine physique et de réadaptation
JONQUET Olivier	Réanimation ; médecine d'urgence

JORGENSEN Christian	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
KLEIN Bernard	Hématologie ; transfusion
KOTZKI Pierre Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
LALLEMANT Jean Gabriel	Oto-rhino-laryngologie
LE QUELLEC Alain	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
LEROUX Jean Louis	Rhumatologie
LOPEZ François Michel	Radiologie et imagerie médicale
MARTY-ANE Charles	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
MAUDELONDE Thierry	Biologie cellulaire
MAURY Michèle	Pédopsychiatrie ; addictologie
MERCIER Jacques	Physiologie
MESSNER Patrick	Cardiologie
MEUNIER Laurent	Dermato-vénéréologie
PETIT Pierre	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PUJOL Jean Louis	Pneumologie ; addictologie
RENARD Eric	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
REYNES Jacques	Maladies infectieuses, maladies tropicales
RIBSTEIN Jean	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
RIPART Jacques	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
ROUANET Philippe	Cancérologie ; radiothérapie
SAINT AUBERT Bernard	Cancérologie ; radiothérapie
SARDA Pierre	Génétique
SCHVED Jean François	Hématologie ; transfusion
TAOUREL Patrice	Radiologie et imagerie médicale
VANDE PERRE Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
VOISIN Michel	Pédiatrie
YCHOU Marc	Cancérologie ; radiothérapie
ZANCA Michel	Biophysique et médecine nucléaire

PU-PH de 2ème classe

ALRIC Pierre	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
AVIGNON Antoine	Nutrition
AZRIA David	Cancérologie ; radiothérapie
BAGDADLI Amaria	Pédopsychiatrie ; addictologie
	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
BASTIEN Patrick	Parasitologie et mycologie
BEREGI Jean-Paul	Radiologie et imagerie médicale
BLAIN Hubert	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
BLANC Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
BORIE Frédéric	Chirurgie digestive
BRUNEL Michel	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
CAMBONIE Gilles	Pédiatrie
CAMU William	Neurologie
CANOVAS François	Anatomie
CARTRON Guillaume	Hématologie ; transfusion
CHAMMAS Michel	Chirurgie orthopédique et traumatologique
CORBEAU Pierre	Immunologie
COURTET Philippe	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
CYTEVAL Catherine	Radiologie et imagerie médicale
DAUVILLIERS Yves	Physiologie
DE TAYRAC Renaud	Gynécologie-obstétrique, gynécologie médicale (option gynécologie-obstétrique)
DE WAZIERES Benoît	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
DECHAUD Hervé	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
DEMARIA Roland	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
DEMOLY Pascal	Pneumologie ; addictologie
DEREURE Olivier	Dermatologie -vénéréologie

DROUPY Stéphane	Urologie
DUFFAU Hugues	Neurochirurgie
FRAPIER Jean-Marc	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
GALLIX Benoît	Radiologie et imagerie médicale
GARREL Renaud	Oto-rhino-laryngologie
GIACALONE Pierre-Ludovic	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
GUITER Jacques	Urologie
HAMEL Christian	Ophtalmologie
JABER Samir	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence (option anesthésiologie-réanimation)
JOYEUX Henri	Chirurgie digestive
KLOUCHE Kada	Réanimation ; médecine d'urgence
LABAUGE Pierre	Neurologie
LAVABRE-BERTRAND Thierry	Cytologie et histologie
LECLERCQ Florence	Cardiologie
LEFRANT Jean-Yves	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
LEHMANN Sylvain	Biochimie et biologie moléculaire
LESBROS Daniel	Pédiatrie
LUMBROSO Serge	Biochimie et Biologie moléculaire
MARIANO-GOULART Denis	Biophysique et médecine nucléaire
MATECKI Stéfan	Physiologie
MAURY Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
MONDAIN Michel	Oto-rhino-laryngologie
MOREL Jacques	Rhumatologie
MORIN Denis	Pédiatrie
NAVARRO Francis	Chirurgie générale
PAGEAUX Georges-Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PAGES Michel	Neurologie
PERNEY Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
PIOT Christophe	Cardiologie
POUDEROUX Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PRUDHOMME Michel	Anatomie
PUJOL Pascal	Biologie cellulaire
QUERE Isabelle	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
RIVIER François	Pédiatrie
ROGER Pascal	Anatomie et cytologie pathologiques
ROSSI Jean François	Hématologie ; transfusion
SEGNARBIEUX François	Neurochirurgie
SOTTO Albert	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
TOUITOU Isabelle	Génétique
VERNHET Hélène	Radiologie et imagerie médicale
VILLAIN Max	Ophtalmologie
VINCENT Denis	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie

Professeur des Universités de Médecine générale

BOURREL Gérard

Professeurs Associés de Médecine Générale

AMOUYAL Michel

LAMBERT Philippe

OLOMBEL Patrick

MERIC Bernard

Professeur associé

MOSHIN Nabil

Personnel Enseignant

Année universitaire 2010-2011

Maîtres de conférences des Universités – Praticiens Hospitaliers

Maîtres de conférences Associés de Médecine Générale

MCU-PH hors classe

FAUROUS Patrick	Biophysique et médecine nucléaire
HILLAIRE-BUYS Dominique	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MICHEL Françoise	Biochimie et biologie moléculaire
PIGNODEL Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
PRAT Dominique	Anatomie
PRATLONG Francine	Parasitologie et mycologie
RAMOS Jeanne	Anatomie et cytologie pathologiques
RICHARD Bruno	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
RISPAIL Philippe	Parasitologie et mycologie
RONDOUIN Gérard	Physiologie
SEGONDY Michel	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
VENDRELL Jean Pierre	Immunologie

MCU-PH de 1^{re} classe

ALLARDET-SERVENT Annick	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
ARNAL Françoise	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
BADIOU Stéphanie	Biochimie et biologie moléculaire
BAUDIN Gérard	Biochimie et biologie moléculaire
BEROUD Christophe	Génétique
BOULLE Nathalie	Biologie cellulaire
CAPTIER Guillaume	Anatomie
CARRIERE Christian	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
CHARACHON Sylvie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
DE VOS John	Hématologie ; transfusion
FABBRO-PERAY Pascale	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
GIANSILY-BLAIZOT Muriel	Hématologie ; transfusion
GIRARDET-BESSIS Anne	Biochimie et biologie moléculaire
HAYOT Maurice	Physiologie
LACHAUD Laurence	Parasitologie et mycologie
LAVIGNE Géraldine	Hématologie ; transfusion
LAVIGNE Jean-Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MASSE Christian	Physiologie

MATHIEU-DAUDE Jean Claude	Biophysique et médecine nucléaire
MOLINARI Nicolas	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PARIS Françoise	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PELLESTOR Franck	Cytologie et histologie
PEREZ-MARTIN Antonia	Physiologie
PUJOL Joseph	Anatomie
RAVEL Christophe	Parasitologie et mycologie
RIGAU Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
SIMONY-LAFONTAINE Joëlle	Cancérologie ; radiothérapie
SOLASSOL Jérôme	Biologie cellulaire
STOEBNER Pierre	Dermatologie-vénéréologie
TERRAL Claude	Physiologie
VINCENT Thierry	Immunologie

MCU-PH de 2ème classe

BOUDOUSQ Vincent	Biophysique et médecine nucléaire
BRUN Michel	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
GENEVIEVE David	Génétique
GODREUIL Sylvain	Bactériologie-virologie
GRAAFLAND Hubert	Hématologie ; transfusion
NAGOT Nicolas	Biostatistiques informatique et technologies de la communication
PANABIERES Catherine	Biologie cellulaire
PHILIBERT Pascal	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
ROULEAU Caroline	Cytologie et histologie
SCHUSTER-BECK Iris	Physiologie
STERKERS Yvon	Parasitologie et mycologie
SULTAN Ariane	Nutrition
TUAILLON Edouard	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
YACHOUH Jacques	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

Disciplines pharmaceutiques

MCU-PH de 1^{re} classe

CARILLO Serge

Hématologie

Maître de conférences Associé de Médecine Générale

DAVID Michel
RAMBAUD Jacques

Personnel Enseignant

ANNEE UNIVERSITAIRE 2010-2011

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Maîtres de Conférences hors classe

BADIA Eric	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
CARBONNEAU M. Annette	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
CHAMBON Monique	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
DAURES Marie-Françoise	Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
PIVA Marie Thérèse	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
PROVANSAL Monique	Sciences biologiques fondamentales et cliniques

Maîtres de Conférences de classe normale

BECAMEL Carine	Neurosciences
CADILHAC-BONNET Claire	Sciences du langage : linguistique et phonétique générales
CHARASSON Virginie	Sciences du médicament et des autres produits de santé
CHAUMONT-DUBEL Séverine	Sciences du médicament et des autres produits de santé
CHAZAL Nathalie	Biologie cellulaire
CHENIVESSE Dalila	Biochimie et biologie moléculaire
COURET Isabelle	Sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
DEREURE Jacques	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
DUFFOUR Jacqueline	Sciences du médicament et des autres produits de santé
GAY Bernard	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
HENRY Laurent	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
LADRET Véronique	Mathématiques appliquées et applications des mathématiques
LE GALLIC Lionel	Sciences du médicament et autres produits de santé
LOZZA Catherine	Sciences physico-chimiques et technologies pharmaceutiques
NEVEU Dorine	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
PASSERIEUX Emilie	Physiologie
ROMEY Catherine	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
RUEL Jérôme	Neurosciences
SIESO Victor	Sciences biologiques fondamentales et cliniques
VIGNAUD Mireille	Sciences du médicament et des autres produits de santé
VISIER Laurent	Sociologie, démographie

Personnel Enseignant

ANNEE UNIVERSITAIRE 2010-2011

PRATICIENS HOSPITALIERS UNIVERSITAIRES

BOURDIN Arnaud	Pneumologie ; addictologie
BOURGEOIS Nathalie	Parasitologie et mycologie
BRET Caroline	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
CAPDEVIELLE Delphine	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
FABRE Sylvie	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
FESLER Pierre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillessement ; médecine générale ; addictologie
LALLEMANT Benjamin	Oto-rhino-laryngologie
NOCCA David	Chirurgie générale
THURET Rodolphe	Urologie

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je m'adresse à l'ensemble des membres du jury de ma thèse qui en acceptant de juger mon travail, m'ont honoré de leur présence ; qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur Pierre Blanc, qui m'a proposée ce projet de recherche et m'a conseillée tout au long de son élaboration, je l'en remercie. Je lui témoigne aussi ma gratitude pour la confiance qu'il m'accorde en s'efforçant de m'assurer un poste futur au sein de son service.

Qu'il me soit permis de présenter ici mes remerciements à Monsieur le Professeur Jean-François Schved, qui m'a fait l'honneur de lire cette thèse avec une extrême attention. Son regard critique et ses discussions ont été riches en enseignements. Je le remercie également pour sa bienveillance.

Mes remerciements s'étendent également au Docteur Patricia Martinez, qui est l'initiatrice de ce projet, et qui m'a prodiguée des conseils avisés malgré la distance.

Cette étude n'aurait jamais pu aboutir sans l'aide précieuse du Professeur Benoît Gallix et de son équipe qui ont permis la réalisation d'innombrables examens d'imageries dédiées uniquement à ce projet. Je l'en remercie.

J'adresse ensuite de profonds remerciements au Docteur Michaël Bismuth, pour son soutien inébranlable, sa pédagogie et son partage de la pratique médicale.

Enfin mes remerciements sont également destinés à tous les membres (permanents ou non) du service des Maladies de l'Appareil Digestif.

ITHAQUE

Constantin Cavafy (1863-1933)

Quand tu partiras pour Ithaque, souhaite que le chemin soit long, riche en péripéties et en expériences. Ne crains ni les Lestrygons, ni les Cyclopes, ni la colère de Neptune. Tu ne verras rien de pareil sur ta route si tes pensées restent hautes, si ton corps et ton âme ne se laissent effleurer que par des émotions sans bassesse. Tu ne reconteras ni les Lestrygons, ni les Cyclopes, ni le farouche Neptune, si tu ne les portes pas en toi-même, si ton cœur ne les dresse pas devant toi.

Souhaite que le chemin soit long, que nombreux soient les matins d'été, où (avec quels délices !) tu pénétreras dans des ports vus pour la première fois. Fais escale à des comptoirs phéniciens, et acquiers de belles marchandises : nacre et corail, ambre et ébène, et mille sortes d'entêtants parfums. Acquiers le plus possible de ces entêtants parfums. Visite de nombreuses cités égyptiennes, et instruis-toi avidement auprès de leurs sages.

Garde sans cesse Ithaque présente à ton esprit. Ton but final est d'y parvenir, mais n'écourte pas ton voyage : mieux vaut qu'il dure de longues années et que tu abordes enfin dans ton île aux jours de ta vieillesse, riche qu'Ithaque t'enrichisse.

Ithaque t'a donné le beau voyage : sans elle, tu ne te serais pas mis en route.

Elle n'a plus rien d'autre à te donner.

Si tu la trouves pauvre, Ithaque ne t'a pas trompé.
Sage comme tu l'es devenue à la suite de tant d'expériences,
tu as enfin compris ce que signifient les Ithaques.

Traduit par Marguerite Yourcenar et Constantin Dimaras.

A mes parents,

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

<u>CHAPITRE 1</u> : Introduction	16
<u>CHAPITRE 2</u> : Rationnel	
1 - METABOLISME DU FER.....	18
1.1 : Absorption intestinale du fer.....	19
1.2 : Recyclage du fer.....	20
1.3 : Fer plasmatique	21
1.4 : Régulation de l'homéostasie du fer au niveau cellulaire : le système IRE/IRP	22
2 - HEPCIDINE.....	23
2.1 : Physiopathologie.....	23
2.2 : Régulateur négatif du fer	24
2.3 : Protéine de l'inflammation	25
2.4 : Relation HFE hepcidine	25
3 - FER ET CARCINOGENESE	25
3.1 : Chez l'animal	25
3.2 : Potentiel redox	26
3.3 : Peroxydation lipidique.....	26
3.4 : Gènes suppresseurs de tumeur et réparation de l'ADN	27
3.5 : Oxyde nitrique	27
3.6 : Cycline D1	28
3.7 : Anomalies immunologiques	28
4 - BASES MOLECULAIRES DES HEMOCHROMATOSES GENETIQUES.....	28
4.1 : Hémochromatose de type 1, ou hémochromatose HFE	29
4.2 : Hémochromatose de type 2 ou hémochromatose juvénile	32
4.3 : Hémochromatose de type 3 (RTF2)	33
4.4 : Hémochromatose néonatale.....	34
4.5 : La surcharge en fer africaine	34
4.6 : Atransferrinémie et acéruplasminémie.....	34
5 - MALADIE FERROPORTINE.....	35
5.1 : Mécanisme moléculaire	35
5.1.1: Structure de la ferroportine	35
5.1.2: Expression et fonction	36
5.1.3: Régulation de l'expression	37
5.1.4 : Mutations du gène <i>SLC40A1</i>	39
5.2 : Phénotypes	42
5.3 : Traitement.....	44
5.4 : Quand rechercher la maladie ferroportine ?	44
5.5 : Ferroportine et carcinome hépatocellulaire	45
5.6 : IRM et maladie ferroportine	46
6 - SURCHARGE INTRA HEPATIQUE EN FER ET MALADIES CHRONIQUES DU FOIE.....	46
6.1 : Maladie alcoolique du foie	46
6.2 : Hépatite C chronique.....	47
6.3 : Hépatite B chronique.....	48
6.4 : NASH syndrome	48

7 - QUANTIFICATION DU FER HEPATIQUE	49
7.1 : Paramètres sériques	49
7.2 : Quantification du fer intra hépatique	50
7.3 : Quantification non invasive de la concentration en fer intra hépatique	52
7.4 : Quantification par IRM de la concentration en fer intra hépatique	52

CHAPITRE 3 : But, Malades, Matériel et Méthodes

1 - BUT DU PROJET	56
2 - CRITERES D'INCLUSION	56
3 - CRITERES D'EXCLUSION	57
4 - DETAILS DES INFORMATIONS RECUEILLIES	58
5 - METHODES	58
5.1 : Prélèvements (sur les patients inclus)	58
5.2 : Analyses moléculaires	58
6 - AVIS DU COMITE D'ETHIQUE	59

CHAPITRE 4 : Résultats

1 – CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION INCLUSE	61
1.1 : Répartition des facteurs de risque dans la population étudiée	61
1.2 : Gravité de la cirrhose	63
1.3 : Stadification tumorale et classifications pronostiques des patients	64
1.4 : Perturbations des paramètres sériques martiaux	65
1.5 : Fréquences alléliques C282Y et H63D de HFE	66
2 – EVALUATION DE LA CHARGE EN FER HEPATIQUE	67
3 – SEQUENCAGE DU GENE <i>SLC40A1</i>	72
4 – RECAPITULATIF DES PRINCIPAUX RESULTATS	73

CHAPITRE 5 : Discussion

1 – SELECTION DE LA POPULATION ETUDIEE	76
2 – QUE PENSER DES POLYMORPHISMES RETROUVES ?	78
3 – SURCHARGES MARTIALES ACQUISES ET CHC	80

<u>CONCLUSION</u>	82
-------------------------	----

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES

ANNEXE 1 : LETTRE D'INFORMATION AU PATIENT ET FEUILLE DE CONSENTEMENT	96
ANNEXE 2 : FICHE DE RECUEIL DES DONNEES	98
ANNEXE 3 : SCORES DE GRAVITE DE LA CIRRHOSE HEPATIQUE, SCORE PRONOSTIQUE DU CHC, ET CRITERES DU SYNDROME METABOLIQUE	102
ANNEXE 4 : SEQUENCE GENBANK DU GENE <i>SLC40A1</i>	104
ANNEXE 5 : POLYMORPHISMES CONNUS DU GENE <i>SLC40A1</i>	119
ANNEXE 6: ABSTRACT SOUMIS AUX J FHOD 2011	120

<u>SERMENT</u>	121
----------------------	-----

<u>PERMIS D'IMPRIMER</u>	123
--------------------------------	-----

Liste des abréviations

5'UTR	5' UnTranslated Region
A	Adenine
AFP	Alpha Foeto Protéine
C	Cytosine
CHC	Carcinome Hépatocellulaire
CHF	Concentration en Fer Hépatique
Cons_Alc	Consommation excessive d'Alcool
CST	Coefficient de Saturation de la Transferrine
Cybrd1	Cytochrome b réductase 1
FPN	Ferroportine
G	Guanine
<i>HAMP</i>	Hepcidin Antimicrobial Peptid
<i>HFE</i>	High Iron Fe
<i>HVJ</i>	Hémojuveline
IRE	Iron Responsive Element
IRP	Iron Responsive Protein
IVS	
NASH	Non Alcoholic Steatotic Hepatitis
Nramp2/DMT1	Natural resistance associated macrophage protein
ROI	Reactive Oxygen Intermediate
<i>SLC40A1</i>	Solute Carrier family 40 (iron regulated transporter), member 1
SM	Syndrôme Métabolique
T	Thymidine
TfR1	Récepteur 1 de la transferrine
TfR2	Récepteur 2 de la transferrine
VHB	Hépatite B chronique
VHC	Hépatite C chronique

CHAPITRE 1



INTRODUCTION

Le carcinome hépatocellulaire, principal cancer primitif du foie, est le cinquième cancer par ordre de fréquence et la troisième cause de décès par cancer au niveau mondial.

Une meilleure connaissance des facteurs de risques biologiques ou génétiques permettrait une meilleure prise en charge des malades et notamment de sélectionner les patients chez qui les mesures de surveillance d'apparition du CHC doivent être intensifiées. De plus, l'identification de facteurs prédictifs nous conduirait à une meilleure compréhension de la carcinogenèse hépatique.

Les dernières décennies ont été marquées par la chute de plusieurs dogmes : la cirrhose hépatique n'est plus la seule cause de carcinome hépatocellulaire tandis que de nouveaux facteurs de risques sont reconnus comme le syndrome métabolique et la surcharge en fer.

Ainsi, les surcharges martiales des hémochromatoses héréditaires liées au gène *HFE* sont associées à un risque accru de CHC.

Cependant, la relation hémochromatose-CHC n'est décrite que de manière occasionnelle pour les autres gènes du métabolisme du fer. Les mutations du gène *SLC40A1*, codant pour la ferroportine, dont la transmission est dominante, conduisent à des surcharges martiales majeures. Très récemment, des cas isolés de sujets atteints de maladie ferroportine et de CHC ont été rapportés dans la littérature.

S'agit-il d'une association fortuite ou d'un nouveau facteur de risque ?

Nous allons donc rechercher des mutations du gène *SLC40A1* codant pour la ferroportine chez les sujets porteurs d'un CHC avec une surcharge martiale hépatique non étiquetée, afin de déterminer si les mutations de ce gène constituent un terrain à risque pour le cancer primitif du foie.

CHAPITRE 2



RATIONNEL

1 - METABOLISME DU FER

Le fer est un élément indispensable au bon fonctionnement de l'organisme, il est en outre requis pour le transport de l'oxygène et la catalyse de réactions enzymatiques impliquées dans le transfert d'électrons et la synthèse d'ADN en tant que coenzyme de la ribonucléotide réductase. Le fer en excès est cependant toxique par son pouvoir pro oxydant. Sa réaction avec l'oxygène se traduit par la formation de radicaux libres altérant les membranes cellulaires et l'ADN.

Dans l'organisme, il est présent sous forme héminique (hémoglobine, myoglobine, cytochromes, peroxydases, catalases) et non héminique (transferrine, ferritine, hémosidérine). Environ 60 à 70 % du fer est incorporé dans l'hémoglobine et 10 % dans la myoglobine, les cytochromes et les enzymes contenant de l'hème. Le compartiment de réserve représente 30% du fer corporel, stocké dans la ferritine (réserve facilement mobilisable) et dans l'hémosidérine (réserve difficilement mobilisable), et est principalement situé dans le système macrophagique du foie, de la moelle osseuse et de la rate. Sa forme de transport plasmatique est liée à la transferrine. La transferrine est une β -globuline synthétisée par le foie, saturée à 20 à 40 % à l'état normal. La teneur globale en fer d'un organisme humain adulte est de l'ordre de 4 à 5 g. Les besoins quotidiens varient selon l'âge et le sexe : ils sont de 1 mg chez l'homme, 1,5 à 2 mg chez la femme réglée, 2,5 mg au cours de la grossesse.

Le fer est continuellement recyclé entre les sites d'absorption (duodénum), d'utilisation (moelle osseuse) et de stockage (foie, rate). L'absence de régulation de son élimination est une caractéristique fondamentale du métabolisme de ce métal : toute entrée prolongée de fer en excès peut entraîner une surcharge. A l'état physiologique, il est éliminé à raison de 1 mg par jour, principalement par la desquamation des cellules intestinales. Il faut ajouter les pertes menstruelles chez la femme. L'élimination ne varie pas et n'est pas capable d'augmenter physiologiquement en cas de surcharge. L'élimination du fer par voie rénale ou biliaire est négligeable. Ce n'est que lorsqu'on utilise des chélateurs du fer, que le fer complexé au médicament peut s'éliminer par ces voies. La régulation se fait donc au niveau de l'absorption dont le siège est quasi-exclusivement le duodénum.

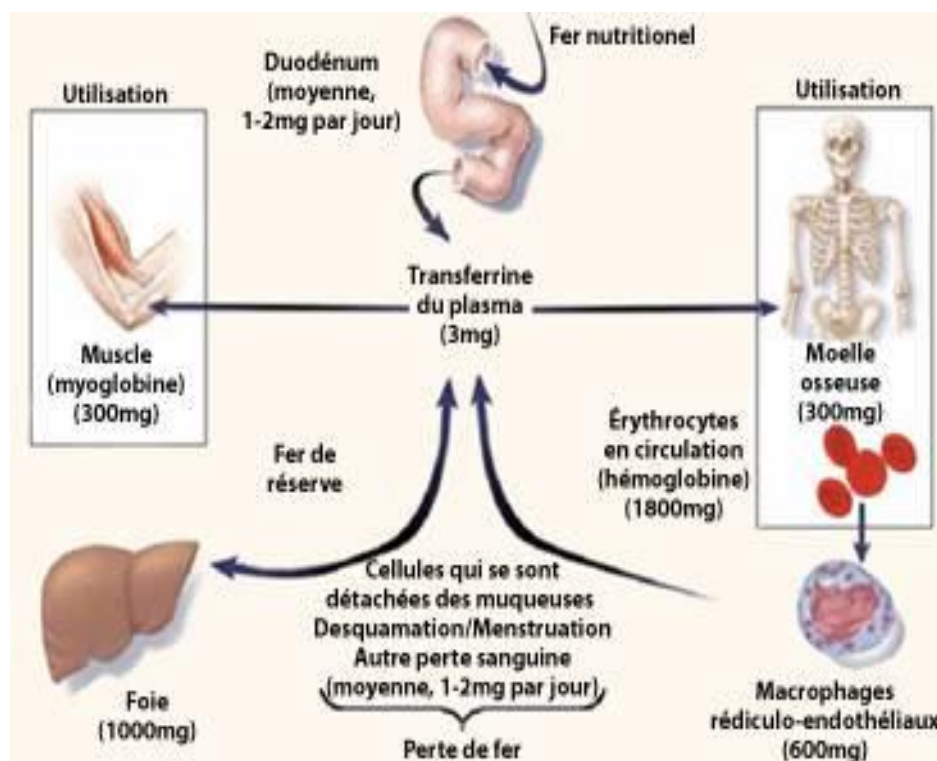


Figure 1 : Répartition du fer dans l'organisme humain [134]

1.1 : Absorption intestinale du fer

Le contenu en fer d'un régime équilibré est d'environ 10-20 mg par jour dont 1 à 2 mg sont absorbés au niveau de la partie proximale de l'intestin grêle par les entérocytes matures au sommet des villosités duodénales. Absorbé au pôle apical il est ensuite transféré au pôle basolatéral de l'entérocyte puis exporté vers le plasma. Une partie du fer reste dans la cellule associé à la ferritine puis éliminé lors de la desquamation des entérocytes.

Les mécanismes moléculaires de son absorption sont désormais mieux connus.

Le fer alimentaire non hémunique est d'abord réduit en fer ferreux par Cybrd1 (cytochrome b réductase 1, ferriréductase membranaire de la famille des cytochromes b561) puis absorbé au niveau de la bordure en brosse intestinale par le transporteur de cations divalents Nramp2/DMT1 (Natural resistance associated macrophage protein) ou SLC11A2 [1]. Ce transporteur, formé de 12 domaines transmembranaires, n'est pas spécifique de la membrane apicale des entérocytes, puisqu'il est également présent au niveau de la membrane des endosomes des précurseurs érythroïdes où il permet le transport du fer dans ces cellules. Il a été aussi mis en évidence dans la membrane plasmatique des hépatocytes avec des teneurs élevées en cas de surcharge martiale [131].

L'expression de la réductase et du transporteur est fortement inductibles par la carence en fer. Cette corrélation négative semble être absente chez les patients atteints d'hémochromatose génétique liée ou non au gène *HFE* [132].

D'autres protéines sont impliquées dans la captation du fer comme la SFT (Stimulator of Fer Transport) et le système mucine/intégrine/mobilferrine. L'absorption du fer héminique s'effectue par le transporteur apical spécifique HCP1 (Heme Carrier Protein 1) [2]. Le catabolisme de l'hème par la hème oxygénase 1 libère le fer ferreux, qui peut ainsi rejoindre le pool de fer non héminique internalisé par Nramp2/DMT1.

Le fer est ensuite soit stocké dans la ferritine, soit exporté au pôle baso-latéral de l'entérocyte pour rejoindre la circulation sanguine par l'action coordonnée de la ferroportine [3, 4], de l'héphaestine [5], voire de la céruloplasmine [6]. L'héphaestine est une protéine de 155 kDa constituée d'un seul domaine transmembranaire, elle présente une forte homologie avec la céruloplasmine, ferroxidase elle-même impliquée dans la mobilisation et l'association du fer à la transferrine à partir des tissus de stockage [133]. Il semblerait que son activité soit liée à la présence de cuivre. L'héphaestine catalyse notamment l'oxydation en fer ferrique (Fe^{+++}) du fer ferreux (Fe^{++}) après sa libération par la ferroportine, étape préalable à la fixation du fer sur la transferrine plasmatique.

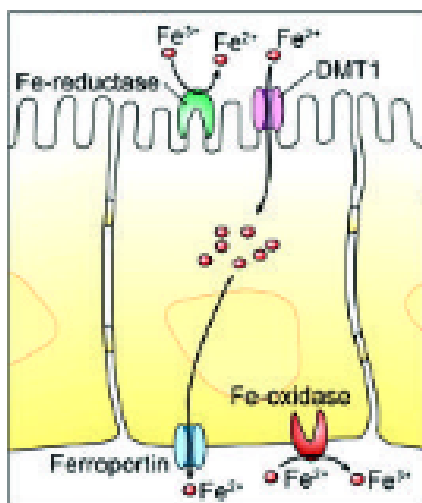


Figure 2 : Absorption du fer alimentaire par les entérocytes duodénaux [134]

1.2 : Recyclage du fer

Une part importante du fer de l'organisme est associée à l'hémoglobine des globules rouges circulants (environ 2,5 g). Ce fer héminique est recyclé suite à la phagocytose et au catabolisme des globules rouges sénescents (érythrophagocytose) par les macrophages tissulaires de la rate, de la moelle osseuse et dans une moindre mesure, par les cellules de

Küpfner du foie. Ce processus permet de recycler 25 à 30 mg de fer par jour, ce qui correspond aux besoins en fer de l'érythropoïèse quotidienne. Après une étape de reconnaissance, le globule rouge est internalisé par phagocytose et la maturation du phagosome va conduire à la dégradation des constituants du globule rouge.

Le catabolisme intracellulaire de l'hème par le complexe enzymatique formé par la NADPH cytochrome C (P450) réductase, hème oxygénase 1 et la biliverdine réductase conduit à la libération de biliverdine, monoxyde d'azote et de Fe^{++} [9]. Le fer libéré par le catabolisme des globules rouges sénescents est ensuite soit stocké dans le macrophage associé à la ferritine soit exporté dans le plasma par l'action de la ferroportine. Cet exportateur de Fe^{++} est exprimé majoritairement dans les macrophages du foie et de la rate. Le Fe^{++} transporté vers le plasma par la ferroportine est oxydé par la céruloplasmine, une ferroxidase plasmatique, synthétisée par le foie, cuivre dépendante. Le Fe^{+++} est ensuite fixé par la transferrine et redistribué dans l'organisme, en particulier dans la moelle osseuse où il est capté par les érythroblastes.

1.3 : Fer plasmatique

Du fait de sa réactivité, le fer circulant plasmatique n'est pas libre mais une partie est liée à la transferrine (ou sidérophiline) [7]. La concentration plasmatique de la transferrine est stable entre 2 et 3 g/L.

L'internalisation dans la cellule de la transferrine liée au fer (holo-transferrine) est conditionnée par la présence d'un grand nombre de récepteurs à la transferrine (TfR1). Ce mode d'incorporation du fer est utilisé en particulier par les cellules érythroïdes au cours de la différenciation [8].

Lorsque la capacité de fixation de la transferrine est dépassée, du fer en excès, non lié à la transferrine peut apparaître dans le plasma. Il pénètre facilement dans les cellules, en particulier au niveau du foie et du cœur, conduisant ainsi à une altération tissulaire.

1.4 : Régulation de l'homéostasie du fer au niveau cellulaire : le système IRE/IRP

Il existe un système original qui vise à stabiliser le pool de transit et qui fait intervenir le couple IRE/IRP. Le contrôle de l'équilibre des pools intracellulaires se fait par régulation post-transcriptionnelle de l'expression du récepteur 1 de la transferrine et de la ferritine.

Les IRE (Iron Responsive Element) sont des séquences d'environ 50 nucléotides, avec des structures secondaires en épingle à cheveux, contenant une séquence consensus 5'-CAGUGN-3' (les bases soulignées interagissent entre elles par une liaison hydrogène) interrompue par un résidu C non apparié. Elles sont présentes au niveau des régions 5' ou 3' non traduites des ARNm de la ferritine et du récepteur de la transferrine.

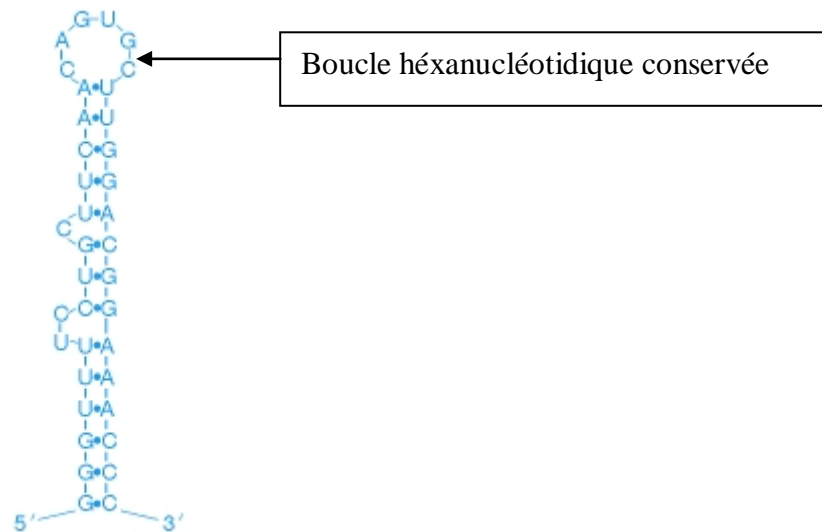


Figure 3 : Séquence et structure de l'IRE de la chaîne H de l'ARNm de la ferritine

Lorsque le contenu cellulaire en fer est trop bas, l'IRP (Iron Responsive Protein) peut se lier sur les séquences IRE entraînant une stabilisation de l'ARNm de la transferrine, ce qui conduit à une production soutenue du récepteur à la transferrine alors que parallèlement la fixation de l'IRP en 5' de l'ARNm de la ferritine empêche sa traduction et donc la synthèse de la protéine. La cellule utilise donc ce système pour s'adapter à un déficit en fer en augmentant l'expression du récepteur de la transferrine et en diminuant la synthèse de la ferritine. A l'inverse, lorsqu'il existe un excès cellulaire en fer, l'IRP ne peut se lier à l'IRE ce qui favorise la dégradation de l'ARNm de la transferrine et l'accroissement de la synthèse de ferritine, permettant ainsi l'entrée du fer dans la cellule et l'augmentation de la synthèse de ferritine qui sera utilisée pour stocker le fer en excès et donc protéger la cellule.

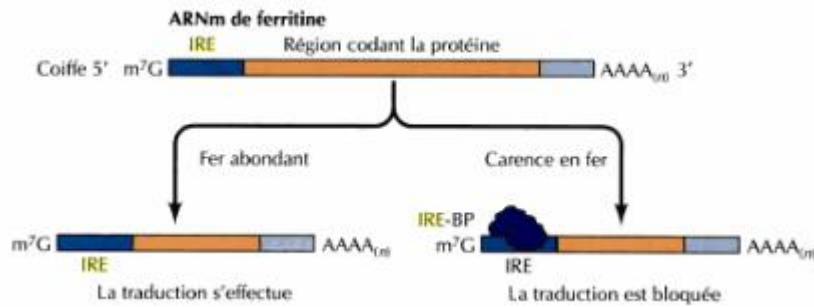


Figure 4 : Régulation de la traduction de la ferritine

Il existe deux types d'IRP susceptibles d'interagir avec l'IRE [34]. L'IRP1 possède une activité aconitase cytosolique et a une affinité pour l'IRE très augmentée en absence de fer. L'IRP2 ne possède ni centre fer-soufre, ni activité aconitase et est dégradé en présence de fer ce qui entraîne une diminution de la liaison à l'IRE.

D'autres ARNm peuvent voir leur niveau d'expression modulé par la relation IRE/ IRP selon le contenu cellulaire en fer. Ainsi, DMT1, dont l'un des transcrits contient un IRE, et la ferroportine peuvent voir leur expression régulée par la charge en fer et ainsi moduler l'absorption digestive de fer.

Des mutations au niveau des IRE des chaînes L et H de la ferritine ont été rapportées. Une mutation dans l'IRE de la chaîne L a pour conséquence une production excessive de L-ferritine qui va être responsable d'une hyperferritinémie avec cataracte du fait de la présence de ferritine en excès dans le cristallin. Par contre, celle de la chaîne H va entraîner un phénotype de surcharge en fer comparable à celui de l'hémochromatose génétique probablement du fait de l'activité oxydase de la sous-unité H qui pourrait entraîner un stockage inapproprié de fer dans la ferritine produite en excès [42].

L'homéostasie du fer au niveau de l'organisme est principalement régulée par l'hepcidine.

2 - HEPCIDINE

2.1 : Physiopathologie

Synthétisé par le foie sous la forme d'un précurseur de 84 acides aminés, l'hepcidine est une hormone peptidique de 25 acides aminés, sécrétée dans le plasma et éliminée dans les urines. Elle possède une structure très particulière, compacte, avec 4 ponts disulfures formés à partir de huit cystéines conservée dans l'évolution [10]. L'hepcidine est majoritairement exprimée au niveau de la membrane baso-latérale des hépatocytes puis larguée dans les sinusoides à ce

niveau. Elle est aussi retrouvée en faible quantité dans l'intestin, le colon, les poumons et le cœur, mais aussi dans le sang et dans les urines où elle a été initialement découverte.

Elle a des propriétés antimicrobiennes en s'apparentant aux bêta défensines mais elle est aussi une hormone clef dans la régulation de l'absorption du fer. Le gène *HAMP* (Hepcidin AntiMicrobial Peptid) codant pour l'hepcidine est situé sur le chromosome 19q3, il s'étend sur 2,5 kb et contient 3 exons. L'hepcidine est un pré pro peptide. Le peptide signal est clivé pour donner la pro hepcidine qui contient le peptide principal.

2.2 : Régulateur négatif du fer

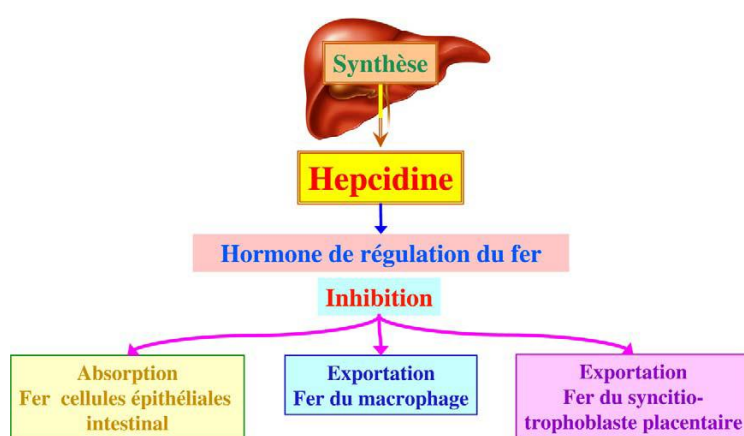


Figure 5 : Rôle de l'hepcidine dans l'homéostasie du fer [3]

L'hepcidine est un régulateur négatif de l'excrétion du fer des entérocytes dans le tube digestif et du largage du fer des macrophages qui recyclent le fer des globules rouges sénescents.

Bien que les mécanismes d'actions précis de l'hepcidine soient encore mal connus, il a été montré que la ferroportine est un récepteur de l'hepcidine. L'hepcidine se fixe sur la ferroportine, le complexe est internalisé puis éliminé par dégradation par les lysosomes. Lors des surcharges martiales ou de l'inflammation, le taux d'hepcidine augmente et celle-ci va agir au niveau des macrophages et selon les auteurs, soit au niveau des cellules de la crypte soit au niveau des entérocytes matures [11], aboutissant alors à une diminution de l'excrétion du fer (par élimination de la ferroportine) dans le plasma.

Le phénomène inverse est observé lors de la diminution de l'hepcidine. Il a été montré qu'une surexpression d'hepcidine dans des souris transgéniques provoque une anémie microcytaire massive et un contenu en fer de l'organisme très faible. Par ailleurs chez des patients souffrant d'adénomes hépatiques sur exprimant l'hepcidine, des auteurs ont rapporté une anémie

résistante à tout apport en fer. Après résection de l'adénome, ces auteurs ont observés une résolution spontanée de l'anémie [11].

2.3 : Protéine de l'inflammation

De manière générale, les états inflammatoires et infectieux stimulent la synthèse d'hepcidine, son excrétion urinaire et induisent une augmentation de la ferritine. C'est par le biais de la cytokine IL-6 que la synthèse d'hepcidine par les macrophages et les cellules de Küpffer est induite.

2.4 : Relation HFE hepcidine

Chez les patients homozygotes C282Y, on observe un déficit en hepcidine malgré la surcharge martiale. L'absence d'expression *HFE* est responsable de l'expression anormale d'hepcidine. Quand la protéine HFE est mutée, elle ne peut atteindre la membrane cellulaire et modulerait négativement l'expression de l'hepcidine. Ainsi, en absence d'hepcidine, l'augmentation de l'absorption intestinale du fer et de la sortie du fer des macrophages conduit à une surcharge en fer multi viscérale dont la gravité et la précocité dépendent de la quantité résiduelle d'hepcidine. Par ailleurs, des sujets doubles hétérozygotes (une mutation du gène *HFE* et une de celui codant l'hepcidine) ont une hémochromatose, ce qui confirme le lien entre ces deux protéines et démontre que l'hémochromatose peut être une maladie digénique [12].

3 - FER ET CARCINOGENESE

Des données récentes d'études in vitro et chez l'animal sont en faveur d'un rôle direct du fer dans la carcinogenèse hépatique. C'est le fer libre, non lié à la transferrine qui est potentiellement toxique dans l'organisme, par des mécanismes encore peu élucidés :

3.1 : Chez l'animal

La cirrhose, quelque soit sa cause, contribue à l'hépatocarcinogenèse [15]. Cependant, l'excès en fer hépatique pourrait aussi avoir un rôle direct.

Dans une étude menée par Asare et al. [16], les modèles animaux utilisés (rats Wistar albinos), étaient caractérisés par une durée de vie plus longue que les modèles classiques de l'hémochromatose, et une surcharge en fer majeure suite à un régime riche en fer. A 16 mois, le fer s'est accumulé dans les cellules parenchymateuses hépatiques et les macrophages, avec une distribution identique à celle vue dans la surcharge martiale africaine. A 20 mois ont été identifiés des foci altérés iron-free chez de nombreux animaux. A 28 mois, ces foci s'étaient multipliés et modifiés, devenant identiques aux nodules pré néoplasiques décrits par Deugnier et al. [17] chez des patients avec hémochromatose et ayant développé par la suite un CHC. Ces nodules étaient bien limités avec des travées amincies provoquant une compression du parenchyme adjacent, et contenaient des cellules en dysplasie et des globules intracytoplasmiques riches en fer [17]. Ces lésions étaient marqués positivement au placental glutathione sulfhydryl transferase ce qui était un argument supplémentaire pour le caractère prolifératif de ces lésions pré néoplasiques [18]. De plus, ces nodules présentaient d'autres caractéristiques qui auraient été considérés comme dysplasiques dans le foie humain : rapport nucléo-cytoplasmique augmenté, inclusions mallory-like [19]. Des nodules de CHC ont été mis en évidence à 32 mois. Cependant aucune fibrose portale ou cirrhose n'a été retrouvée chez ces rats.

3.2 : Potentiel redox

Le fer est capable de fonctionner comme un donneur (Fe^{++}) ou un accepteur (Fe^{+++}) d'électron. Cette potentialité d'oxydoréduction lui confère un caractère potentiellement toxique pour la cellule. En condition anaérobie, le fer libre va générer, à partir de superoxyde et de peroxyde d'oxygène, des radicaux libres oxygénés nommés ROI (Reactive Oxygen Intermediates). Cela va provoquer un stress oxydatif à la cellule, endommageant l'ADN, les lipides et les protéines des hépatocytes induisant la nécrose et l'apoptose cellulaire [20, 21, 22]. L'environnement nécrotico-inflammatoire sera alors favorable au développement d'une cirrhose et d'états pré néoplasiques.

3.3 : Peroxydation lipidique

La surcharge en fer, par l'accroissement de la peroxydation lipidique contribue à l'hépatocarcinogénèse [23, 24]. Le stress oxydatif va induire une peroxydation lipidique des

acides gras insaturés constituant les membranes et les organelles cellulaires. Cela conduit à une rupture des chaînes d'acides gras avec des insertions de groupes hydrophobes et une isomérisation cis-trans. Des produits cytotoxiques sont alors libérés comme le MDA (MalonDiAldéhyde), des substances thio-barbituriques et du 4-HNE (4 Hydroxy-2'-NonEntal) [24, 25].

La peroxydation lipidique peut aussi être induite par l'auto oxydation des lipides insaturés par des radicaux libres (voie de la lipoxygénase), ou par les enzymes du fer non hémérique.

Les produits de la peroxydation lipidique altèrent les fonctions cellulaires et la synthèse protéique. De plus, le MDA et le 4-HNE sont capables de diffuser de leur site de production et d'interagir avec l'ADN et les protéines cellulaires. Ces deux produits sont connus pour être cytotoxiques et génotoxiques, ils sont impliqués dans la carcinogénèse [24, 25]. En effet, le 4-HNE peut être métabolisé en époxyde qui interagit avec l'ADN formant une enthéno-guanine exocyclique qui, chez le rongeur, est augmentée dans les modèles d'hépatocarcinogénèse.

3.4 : Gènes suppresseurs de tumeur et réparation de l'ADN

Les ROI, radicaux libres oxygénés, peuvent induire une hydroxylation en position C8 (8OHdG), conduisant à une transversion G:C en T:A [26, 27], favorisant les mutations dans les gènes suppresseurs de tumeur et les gènes de réparation de l'ADN. Ainsi, des mutations du gène p53 et une hyper expression de p53 ont été décrites chez des patients souffrant de CHC lié à l'hémochromatose [28, 29].

3.5 : Oxyde nitrique

Un taux d'oxyde nitrique accru, par augmentation de l'activité de la NO synthétase 2, a été retrouvé chez les patients présentant une hémochromatose compliquée de CHC [30, 31]. Le mécanisme d'action impliqué ferait intervenir la peroxydation lipidique et l'atteinte des mécanismes de réparation de l'ADN.

3.6 : Cycline D1

L'enrichissement en fer in vitro est associé à une augmentation de la synthèse d'ADN [13] alors que la prolifération des hépatocytes carcinomateux est diminuée après adjonction de deferoxamine, un chélateur du fer [14].

La surcharge en fer accroît l'expression de cycline D1 et ainsi accélère le cycle cellulaire et la ploïdisation des hépatocytes, induisant une augmentation de la masse hépatique.

3.7 : Anomalies immunologiques

Enfin, la surcharge en fer hépatique provoque la baisse des défenses immunitaires contre les processus tumoraux. En effet, le fer non lié à la transferrine, inhibe la prolifération lymphocytaire, en particulier des lymphocytes T CD4 [32]. La ferritine a aussi des capacités d'inhibition de la prolifération lymphocytaire [32].

Enfin, la fonction tumoricide des macrophages murins est diminuée en présence de fer et de ferritine.

4 - BASES MOLECULAIRES DES HEMOCHROMATOSES GENETIQUES

Le terme d'hémochromatose définit une condition pathologique héréditaire primaire caractérisée par une accumulation progressive de fer dans les cellules parenchymateuses. Cette accumulation se traduit par une altération structurale et fonctionnelle des organes et tissus cibles tels que le foie, le cœur, le pancréas, les glandes endocrines, la peau et les articulations. Les manifestations cliniques sont tardives et non spécifiques avec au début une asthénie et des arthralgies et au stade des complications, un diabète, un hypogonadisme, une hyperpigmentation cutanée, une cardiomyopathie, une cirrhose ou encore un carcinome hépatocellulaire [33].

C'est l'équipe de Feder et al. qui a découvert l'existence du gène *HFE* en 1996 et sa mutation principale C282Y [34]. Par la suite, ont été mis en évidence d'autres mutations du gène *HFE* et des mutations d'autres gènes impliqués dans le métabolisme du fer [35]. D'où la classification des hémochromatoses :

Type HG	Gène	Chr	Trait	Début	Phénotype
HFE (Type 1)	<i>HFE</i>	6p21,3	AR	Tardif	Articulaire et hépatique
Hémojuvénile (Type 2A)	<i>HJV</i>	1p21	AR	Précoce	Cardiaque et endocrinien
Hepcidine (Type 2B)	<i>HAMP</i>	19q13,1	AR	Précoce	Cardiaque et endocrinien
Récepteur 2 de la Tf (type 3)	<i>TFR2</i>	7q22	AR	Tardif	Hépatique
Maladie de la ferroportine (type 4B)	<i>SLC40A1</i>	2q32	AD	Tardif	Articulaire et hépatique
(Type 4A)	Idem	Idem	Idem	Idem	Rare (surcharge en fer macrophagique) STf normale

HG : hémochromatose génétique ; Chr : chromosome ; AR : autosomique récessif ; AD : autosomique dominant ; Tf : transferrine ; STf : saturation de la transferrine.

Tableau 1 : Les cinq types d'hémochromatoses génétiques [126]

4.1 : Hémochromatose de type 1, ou hémochromatose HFE

Cette forme est la plus fréquente des hémochromatoses héréditaires dans les populations caucasiennes, elle atteint 1 à 5 sujets sur mille chez les descendants des populations du nord ouest de l'Europe. Elle est caractérisée par une hyper absorption intestinale du fer qui conduit à une surcharge martiale poly viscérale en particulier au niveau du foie, cœur et pancréas.

L'évolution de la maladie peut être schématisée en trois phases :

- La phase de latence, asymptomatique sur le plan clinique et biologique, de la naissance jusqu'à l'âge de 20 ans.
- La phase d'expression biologique, qui se traduit par une élévation du coefficient de saturation de la transferrine et une augmentation progressive de la ferritine. Cette deuxième phase s'étend de la 2^e à la 4^e décennie.
- La troisième phase, phase d'expression clinique de la maladie correspond à l'apparition de manifestations cliniques précoce (asthénie, arthralgie) puis tardifs (atteinte hépatique avec cirrhose et carcinome hépatocellulaire, diabète, hypogonadisme, ostéoporose, atteinte cardiaque).

Le traitement repose sur les saignées et permet de prévenir les complications irréversibles.

L'espérance de vie des patients rejoint alors celle de la population générale [36].

Maladie autosomique récessive, l'hémochromatose de type 1 est liée au gène *HFE*, dont la mutation la plus fréquente est C282Y (nouvelle nomenclature p.Cys282Tyr). La protéine HFE n'est alors plus exprimée à la surface cellulaire.

La fréquence allélique de cette mutation diminue selon un gradient nord-ouest à sud-est, avec un maximum de 14 % dans la population irlandaise à 7-8 % dans l'ouest de la France, 4 % dans l'est et enfin une fréquence de 1 % dans le sud de l'Italie [37, 38].

Une seconde mutation, H63D a été trouvée avec une fréquence allélique de 2,4 %. Contrairement à C282Y, cette mutation ne perturbe pas le passage transmembranaire de la protéine HFE. Elle est d'interprétation plus difficile car elle est fréquente dans la population générale (14 %) [38] et elle est retrouvée dans toutes les populations y compris dans celles où l'hémochromatose n'a jamais été rapportée [37, 39, 40]. La pénétrance de cette mutation semble moindre que la précédente. L'hémochromatose avérée semble rare chez les homozygotes H63D [41] et plusieurs auteurs supportent l'idée que la mutation H63D ne peut expliquer à elle seule la constitution d'une surcharge en fer cliniquement significatives [42, 43].

Une troisième mutation faux sens S65C a été retrouvée chez des malades non porteurs des mutations C282Y et H63D [44, 45]. Pour Wallace et al, l'hétérozygotie C282Y/ S65C pourrait de la même façon que l'hétérozygotie C282Y/H63D contribuer au développement d'une surcharge en fer [46].

D'autres type de mutations ont été rapportés sur le gène *HFE* : cf. tableau 2 suivant :

Mutation	Type de mutation	Allèle associé	Références bibliographiques
R6S (18 G → C)	faux-sens	282Y	[24]
H28H (84 C → T)	synonyme	282Y	[25]
L50-L57 del (148-169 del)	délétion	282Y	[26]
V53M (157 G → A)	faux-sens	WT	[27]
V59M (175 G → A)	faux-sens	WT	[27]
H63H (189 T → C)	synonyme	WT	[27]
R66C^a	faux-sens	WT	[28]
V68ΔT (203delT)	délétion	282Y	[25]
R74X (211 C → T)	non-sens	282Y	[29]
G93R (277 G → C)	faux-sens	282Y	[30]
H105T (314 T → C)	faux-sens	63D	[30]
Q127H (381 A → C)	faux-sens	63D	[27]
P160ΔC (478 delC)^a	délétion	WT	[31]
E168Q (502 G → C)	faux-sens	63D	[32]
E168X (502 G → T)	non-sens	282Y	[33]
W169X (506 A → G)	non-sens	282Y	[33]
A176V (527 C → T)	faux-sens	WT	[34]
IVS3+1 G → T	affecte l'épissage (épissage de l'exon 3)	282Y	[35]
V212V (636 G → C)	synonyme	NP	[36]
R224G^c	faux-sens	WT	[28]
V272I (814 G → T)	faux-sens	NP	[37]
E277K (829 G → A)	faux-sens	WT	[36]
C282S (845 G → C)	faux-sens	282Y et 63D	[38]
Q283P (848 A → C)	faux-sens	282Y	[39]
V295A (884 T → C)	faux-sens	63D et 65C	[40]
R330M (989 G → T)^b	faux-sens	WT	[27]
IVS5+1 G → A	affecte l'épissage (épissage de l'exon 5 ou absence d'épissage entre les exons 4 et 6)	IVS5+1 G → A	[41]

Les mutations apparaissant en caractère gras correspondent à des mutations associées à des phénotypes plus ou moins sévères de surcharge en fer primaire. WT : Wild Type (type sauvage) ; NP : non précisé.

^a Il a été proposé que cette mutation présente un caractère dominant.

^b Les auteurs n'ont pas fourni d'indications sur l'importance de la surcharge en fer chez le malade porteur de la mutation R330M. Il a simplement été précisé que celui-ci avait été sélectionné sur la base de la présentation d'un phénotype, dit classique, d'hémochromatose.

^c Les seules indications fournies, par le résumé du poster, sont que les mutations R66C et R224G ont été mises en évidence chez des sujets présentant un phénotype d'hémochromatose et une ferritinémie supérieure à 400 µg/L.

Tableau 2 : Mutations rares ou privées du gène *HFE* [77]

Les patients présentant une hétérozygotie composite (C282Y/H63D) peuvent avoir des anomalies des marqueurs du métabolisme du fer. L'existence d'une surcharge en fer chez ces patients doit faire rechercher des facteurs de comorbidité : mutation dans un autre gène impliqué dans le métabolisme du fer et/ou facteur environnemental [47].

Cinq stades de la maladie (0 à 4) ont été définis par les experts de la Haute Autorité de Santé [48, 49] :

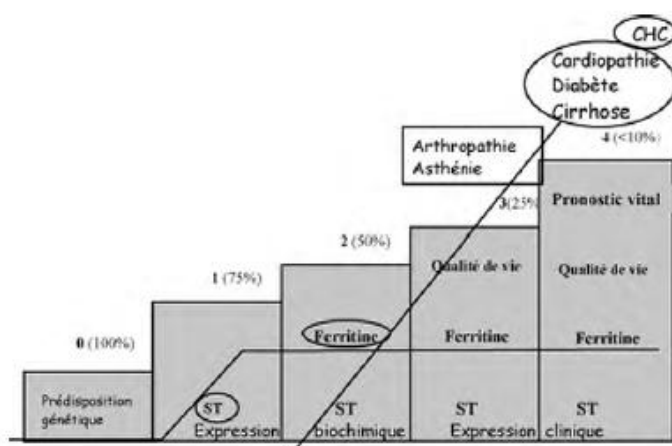


Figure 6 : Classification en cinq grades de sévérité d'un sujet homozygote C282Y selon le coefficient de saturation de la transferrine (ST>45 %) et l'élévation de la ferritinémie (>300mg/L chez l'homme et >200mg/L chez la femme) (www.has-sante.fr). Le stade 0 correspond à l'absence de manifestations clinico-biologiques ; le stade 1 à une augmentation de ST ; le stade 2 à l'augmentation conjointe de ST et de la ferritinémie sans signes cliniques ; les stades 3 et 4 à l'apparition de signes cliniques, lesquels pour le stade 3 affectent la qualité de vie et menacent le pronostic vital pour le stade 4 [48, 126].

Une étude récente du registre du sud de la France montre une pénétrance totale de 12 % (hommes et femmes) parmi les patients de stade 3 ou 4 [50]. Des raisons multiples peuvent expliquer cette pénétrance variable [47, 51] : des facteurs environnementaux (régime alimentaire), des facteurs intercurrents (alcool, infection virale, oestro-progestatifs) et des facteurs génétiques : une forme sévère homozygote pour C282Y pourrait être liée à une mutation additionnelle (digénisme) dans les gènes codant le récepteur 2 de la transferrine, l'hepcidine, l'hemojuvéline, voire la ferroportine.

Il est désormais bien établi que l'homozygotie C282Y, si elle est nécessaire n'est pas suffisante pour aboutir au phénotype de la maladie [52]. Il a été rapporté qu'une surcharge en fer pathologique ne surviendrait que chez 1 % des femmes et 28 % des hommes homozygotes [53]. La prévalence de la maladie hémochromatosique est donc moindre que celle de l'homozygotie C282Y, qui est estimée à environ 3/1000.

4.2 : Hémochromatose de type 2 ou hémochromatose juvénile

Elle se caractérise par des signes cliniques apparaissant dès la puberté à type d'hypogonadisme d'origine hypophysaire et d'insuffisance cardiaque avec ou non troubles du rythme [54, 55]. L'hypogonadisme est souvent une forme de révélation de la maladie. La mort est précoce, avant 35 ans par insuffisance cardiaque terminale.

Cette forme autosomique récessive, sévère, est rare mais semble plus fréquente en Italie et en Grèce que dans le reste de l'Europe [56, 57]. La fréquence est identique dans les deux sexes.

Des formes de révélation plus tardives et moins sévères ont été décrites, suggérant la présence de facteurs modificateurs (génétiques ou acquis) non identifiés à ce jour.

La physiopathologie de cette forme rare est mal connue. On observe, une absorption digestive très importante du fer (estimée à 3-4 fois plus importante que dans l'hémochromatose de type 1). Les études montrent par ailleurs un déficit relatif ou absolu en hepcidine mais la relation entre hepcidine et hémoujuvéline est cependant mal connue à ce jour.

Il existe une hétérogénéité génétique de ce type d'hémochromatose.

- Une première localisation génétique (forme 2A) a été faite sur le bras long du chromosome 1 (1q21) [58]. Ce gène, *HJV*, code pour l'hémoujuvéline et a été découvert en 2004. Une mutation commune, G320V a été retrouvée parmi les 12 familles ayant fait l'objet de la description originale, mais de nombreuses mutations dites privées, c'est-à-dire retrouvées dans une seule famille ou chez des sujets isolés, ont été rapportées.
- Une seconde forme, 2B, est la conséquence de mutations à l'état homozygote dans le gène *HAMP* sur le chromosome 19 (19q13), qui code pour l'hepcidine [59, 60]. Une centaine de patients ont été décrits dans la littérature.

La mise en évidence de mutations du gène *HAMP* à l'état hétérozygote associées à la mutation homozygote ou hétérozygote C282Y suggère que l'hepcidine pourrait influencer la pénétrance du génotype C282Y et conférer à l'hétérozygotie C282Y un phénotype atteint [12]. La présence d'une mutation dans certaines régions du gène *HAMP* pourrait amplifier la dérégulation de l'absorption du fer au niveau intestinal et modifier sa libération par les macrophages aggravant ou révélant le tableau d'hémochromatose de type 1.

Le traitement est basé sur une déplétion sanguine par saignées intensives, parfois associée à l'administration parentérale de deferoxamine.

4.3 : Hémochromatose de type 3 (RTF2)

Ce type d'hémochromatose est lié à des mutations dans le gène codant pour le récepteur 2 de la transferrine (7q22) [61]. C'est une protéine transmembranaire homologue au TfR1 (66 % d'homologie dans le domaine extracellulaire) exprimée majoritairement à la surface de la cellule au niveau du foie et de la lignée érythroïde. Son expression est aussi faiblement retrouvée au niveau des entérocytes de la crypte et des villosités de l'intestin grêle. Bien que son rôle ne soit pas encore très clair, TfR2, comme son homologue, fixe le fer lié à la transferrine (avec une affinité moindre cependant) et le transporte dans le cytoplasme. Contrairement à TfR1, TfR2 ne possède pas de séquence IRE, il n'est donc pas régulé par le contenu en fer de l'organisme et ne semble pas interagir avec HFE. En effet, contrairement à TfR1 dont l'expression est réprimée dans le cas d'une surcharge en fer, l'expression de TfR2 n'est pas modifiée dans ce cas. (Les souris KO *HFE* ont un taux normal de TfR2). Cette observation pourrait expliquer la susceptibilité du foie vis-à-vis d'une surcharge en fer comme celle observée dans l'hémochromatose de type 1. Certains auteurs ont proposé un modèle dans lequel TfR2 modulerait la captation du fer au niveau du foie en agissant sur l'hepcidine de la manière suivante : en cas d'augmentation du fer lié à la transferrine dans le plasma, le complexe est capté par TfR2, induisant une augmentation de la synthèse d'hepcidine. Celle-ci, libérée dans la circulation, interagit avec le complexe HFE-TfR au niveau des cellules cryptiques intestinales et au niveau des macrophages en diminuant indirectement l'absorption du fer au niveau intestinale. La coopération TfR2-hepcidine permettrait ainsi la régulation indirecte de l'absorption du fer. De la même manière, les patients présentant une mutation homozygote pour le gène *HFE* et pour le gène *TfR2* ont aussi un taux bas inapproprié d'hepcidine, suggérant que le TfR2 se trouve en amont de l'hepcidine dans la régulation du métabolisme du fer. Par ailleurs, il a pu être montré chez la souris KO *TfR2* une baisse modeste d'expression d'HFE et HVJ dans le foie. Cette observation est un argument supplémentaire en faveur d'une régulation commune associant HFE, TfR2 et HJV sur l'expression de l'hepcidine.

L'hémochromatose de type 3 est de transmission autosomique récessive et constitue un tableau semblable à l'hémochromatose de type 1. Plusieurs mutations pathogènes ont été décrites dans le sud de l'Europe [61, 62].

Le traitement par saignées est efficace.

4.4 : Hémochromatose néonatale

Cette maladie rare associe, dès les 48 premières heures de vie, une insuffisance hépatocellulaire sévère avec hyper bilirubinémie, syndrome hémorragique, œdème, ascite, hypoglycémie et acidose lactique. Il n'y a pas d'élévation massive des transaminases. Le décès survient dans la plupart des cas en période néonatale [63]. Cette maladie semble avoir une transmission autosomique récessive et dans d'autres cas une hérédité mitochondriale [64]. Le gène responsable n'a pas encore été identifié. Aucune mutation sur le gène *HFE* n'a été détectée et une liaison au gène *HJV* a pu être exclue [65].

Il n'existe aucun traitement efficace actuellement. La transplantation hépatique serait le seul traitement donnant des résultats encourageants.

4.5 : La surcharge en fer africaine

Cette forme subsaharienne d'hémochromatose, dite sidérose bantoue, peut atteindre jusqu'à 10 % de la population dans certaines populations rurales d'Afrique noire [66].

Elle résulterait d'une prédisposition génétique, et notamment de la mutation à l'état hétérozygote Q248H du gène *SLC40A1*, exacerbée par une alimentation riche en fer dont l'origine pourrait être liée à la consommation de bière avec un conditionnement vecteur de fer [67, 68, 69].

4.6 : Atransferrinémie et acéruplasminémie

Ces deux maladies exceptionnelles, à transmission autosomique récessive, se caractérisent par une surcharge en fer tissulaire [70].

- L'atransferrinémie, conséquence de l'absence du transporteur sérique du fer, est associée à une anémie microcytaire nécessitant des transfusions itératives aggravant la surcharge martiale.

- L'acéruplasminémie, conséquence de l'absence de céruloplasmine, qui permet la sortie cellulaire du fer, s'accompagne d'un diabète, d'un syndrome extrapyramidal, d'une rétinite pigmentaire et de troubles neurologiques divers pouvant aller à la démence [71, 72].

Sur le plan biologique, il existe une hyperferritinémie à fer sérique et coefficient de saturation de la transferrine bas associé à un effondrement de la céruloplasminémie.

Le seul traitement consiste à administrer des chélateurs du fer.

5 - MALADIE FERROPORTINE

La protéine ferroportine 1 a été identifiée récemment comme étant un exporteur du fer ferreux. Son expression est restreinte aux cellules impliquées dans l'homéostasie du fer : les entérocytes duodénaux, les macrophages tissulaires et les syncytiotrophoblastes placentaires.

Dans les entérocytes duodénaux, elle est localisée au pôle baso-latéral et sa fonction d'export de fer est couplée à l'activité ferroxidase de l'héphaestine. (cf. chapitre1 §1.1). Dans les macrophages, elle est principalement située dans des vésicules intracellulaires et participe au recyclage du fer suite à la phagocytose des globules rouges sénescents et au catabolisme de l'hème. Le recyclage du fer par les macrophages est couplé à son oxydation par la céruloplasmine, une oxydase cuivre dépendante plasmatique.

L'expression du gène de la ferroportine est régulée par le fer intracellulaire, par l'intermédiaire du système IRE/IRP et par des signaux systémiques. La nature moléculaire de ces signaux n'est pas parfaitement connue mais de nombreux arguments suggèrent que l'hepcidine (cf. chapitre 1 §2) serait un élément majeur de cette signalisation.

Des mutations du gène *SIC40A1* codant pour la ferroportine sont à l'origine d'une forme de surcharge en fer héréditaire, l'hémochromatose de type 4, de transmission autosomique dominante, non liée au gène *HFE*. Cette pathologie se caractérise par une élévation précoce de la ferritine sérique, malgré une saturation de la transferrine basse ou normale et une accumulation progressive de fer dans les macrophages tissulaires.

5.1 : Mécanisme moléculaire

5.1.1: Structure de la ferroportine

La ferroportine a été clonée simultanément par trois équipes en 2000, sous le nom d'IREG1 [3], MTP1 [4] et ferroportine [5]. IREG1 a été cloné à partir d'une banque d'ADNc duodéal de souris hypotransferrinémique. Dans ce modèle, l'absence de transferrine entraîne un déficit majeur de l'érythropoïèse avec une stimulation de l'absorption intestinale, malgré la constitution progressive d'une surcharge en fer hépatocytaire. Cette stratégie a permis à McKie *et al.* de cloner non seulement IREG1 [3], mais aussi Dcytb1, une réductase nécessaire à la réduction du fer ferrique présent dans l'alimentation avant son absorption par Nramp2/DMT1 [6] (cf. chapitre1 §1.1). L'expression de ces deux protéines était fortement

induite dans le duodénum des souris hypotransferrinémiques. Une stratégie différente basée sur le clonage de gènes dont l'ARNm possédait un motif de régulation traductionnelle par le fer, a permis à Abboud *et al.* de cloner MTP1 [4]. Enfin, la ferroportine a été clonée par Donovan *et al.* comme étant le gène muté responsable de l'anémie microcytaire hypochrome du mutant *weissherbst* chez le poisson zèbre [5]. Ce travail a aussi démontré l'implication de la ferroportine dans le passage transplacentaire materno-foetal du fer au cours du développement embryonnaire.

Cette protéine, d'un poids moléculaire de 62 kD, (570 acides aminés) comporte entre 9 et 10 domaines transmembranaires suivant les modèles prédictifs mais sa structure exacte n'est pas encore complètement élucidée. Elle est très conservée et des orthologues ont été identifiés chez les plantes, le poisson zèbre, les nématodes ainsi que chez certaines bactéries.

Des études de transport de fer réalisées dans des oeufs de Xénope injectés avec l'ARN de la ferroportine ont permis de mettre en évidence sa fonction d'exporteur du fer du cytoplasme vers le milieu extérieur [3].

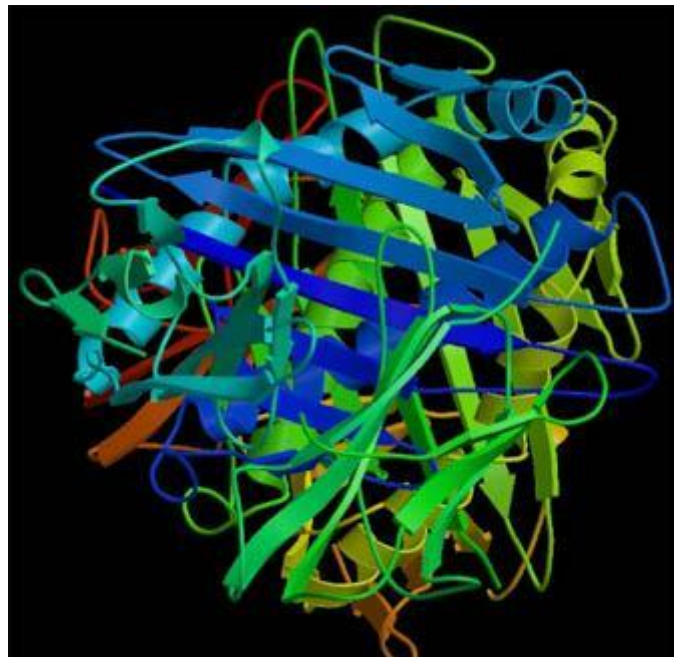


Figure 7 : Structure tridimensionnelle de la protéine ferroportine d'après Cristallographie aux Rayons X

5.1.2: Expression et fonction

La ferroportine est essentiellement exprimée dans les entérocytes du sommet de la villosité duodénale, dans les macrophages du foie (cellules de Küpffer) et de la rate. En accord avec son rôle présumé d'exporteur du fer, elle est localisée au pôle baso-latéral des entérocytes et au niveau de vésicules intra cytoplasmiques dans les macrophages. Son expression dans les

hépatocytes est faible ou inexistante, ce qui soulève le problème du mécanisme mis en œuvre par les hépatocytes pour exporter le fer des réserves. Ce mécanisme n'est pas encore connu mais il est cependant efficace, puisque le traitement d'une surcharge en fer dans les hémochromatoses héréditaires par des saignées permet la mobilisation progressive du fer hépatocytaire. Enfin, la ferroportine est exprimée au pôle basal des syncytiotrophoblastes du placenta humain [5]. La ferroportine semble donc jouer un rôle dans le passage du fer de la mère vers le fœtus au cours du développement.

La fonction d'export du fer de la ferroportine semble être étroitement couplée à l'activité ferroxidase de l'héphaestine et de la céruloplasmine. L'anémie microcytaire hypochrome des souris *sla* est due à une mutation de l'héphaestine, et s'accompagne d'une rétention de fer dans les entérocytes duodénaux, qui seront éliminés lors de la desquamation [8]. Au contraire de la céruloplasmine, l'héphaestine possède un domaine d'ancrage membranaire et semble principalement exprimée dans le duodénum et le jéjunum. Dans les entérocytes, elle se répartit entre un compartiment supra nucléaire et la membrane baso-latérale où elle colocalise avec la ferroportine [9]. La rétention intracellulaire du fer associée à la mutation héphaestine suggère que l'export du fer par la ferroportine est couplé à l'oxydation du Fe^{++} en Fe^{+++} , cette régulation permettant d'éviter l'accumulation de Fe^{++} dans le plasma pour lequel il n'existe aucun accepteur spécifique. En effet, la transferrine, la protéine de transport du fer dans le plasma, est un transporteur exclusif du Fe^{+++} .

Le lien entre le métabolisme du cuivre et celui du fer avait déjà été rapporté en 1968 avec l'observation d'une anémie microcytaire hypochrome chez des porcs déficitaires en cuivre.

L'accumulation de fer dans les entérocytes de ces animaux déficitaires en cuivre est très comparable à celles des souris *sla*, démontrant l'importance du cuivre dans la sortie du fer des entérocytes. De plus, il a été montré récemment que le déficit en cuivre diminue l'expression de l'héphaestine en favorisant son ubiquitination et dégradation par le protéasome [10]. Curieusement, le rôle de la céruloplasmine dans le contrôle de l'efflux de fer par la ferroportine semble s'exercer plutôt au niveau des macrophages, puisque le déficit en céruloplasmine chez la souris entraîne une surcharge en fer des macrophages. Les mutations du gène de la céruloplasmine responsables de l'acéruloplasminémie chez l'homme conduisent à une surcharge en fer du foie, du pancréas, du striatum et à une anémie modérée.

5.1.3: Régulation de l'expression

La ferroportine contribue à contrôler les flux de fer entre le site d'absorption (duodénum), les compartiments de stockage (macrophages) et d'utilisation (moelle osseuse). En effet,

plusieurs études récentes ont permis de mettre en évidence de multiples niveaux de régulation de la ferroportine. La régulation par le fer est complexe et dépend d'une part de la concentration intracellulaire en fer et d'autre part de signaux systémiques basés sur la charge en fer de l'organisme et l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse. Ces régulations semblent être soit transcriptionnelles soit post-transcriptionnelles, dépendant alors des IRP.

Régulation par le taux de fer

L'expression de la ferroportine dans le duodénum est fortement activée par la carence tissulaire en fer ou par l'anémie. Par contre, des études réalisées *in vitro* sur des cellules en culture ont montré que la carence en fer cellulaire entraînait une inhibition de l'expression de la ferroportine sous la dépendance du système IRE-IRP. En effet, la plupart de ces études ont été réalisées sur des lignées cellulaires qui prolifèrent rapidement et présentent généralement un déficit relatif en fer. Lorsque ces cellules sont traitées avec un chélateur du fer, elles vont limiter l'export de fer et réprimer la synthèse de ferroportine. L'ARNm de la ferroportine contient au niveau de la région 5' non codante un motif IRE comparable à celui présent dans la région 5' non codante de l'ARNm de la ferritine.

Les protéines appelées IRP jouent le rôle de détecteur du fer et présentent dans des conditions de carence en fer une forte affinité de liaison aux motifs IRE. Cette interaction entraîne une répression de la traduction de l'ARNm qui sera levée lors de l'augmentation du pool de fer labile intracellulaire [13].

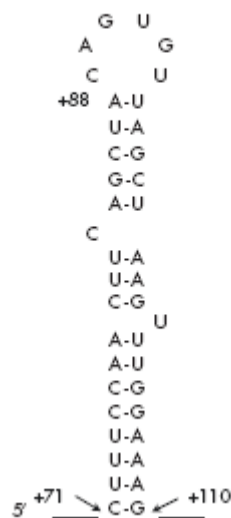


Figure 8 : séquence nucléotidique et structure de l'IRE de la région 5' non codante de l'ARNm humain de la ferroportine [127]

Le motif IRE de la ferroportine est actif *in vitro* comme l'indique des expériences où une sonde IRE ferroportine est capable de former un complexe stable avec les molécules IRP [3].

Des constructions réalisées avec un motif IRE ferroportine placé devant un gène rapporteur luciférase ont montré que cet IRE confère une régulation fer-dépendante de la traduction de l'ARNm luciférase dans les cellules transfectées, que ce soient des cellules COS peu différenciées, des lignées macrophagiques [14] ou des lignées épithéliales [15]. La traduction de l'ARNm IRE/luciférase est activée en présence de fer ou réprimée par l'adjonction d'un chélateur du fer au milieu de culture. Ce mécanisme contribuerait à la régulation de l'expression de la ferroportine par le fer libéré du catabolisme des globules rouges sénescents dans les macrophages. En effet, l'érythrophagocytose stimule transitoirement l'expression de la ferroportine dans les macrophages. L'activation est maximale 4 heures après ingestion des globules rouges par les macrophages et le niveau d'ARNm retourne à la normale au bout de 16 heures [16]. Cet effet est bloqué par une incubation préalable des cellules par un chélateur du fer avant l'érythrophagocytose, suggérant qu'il soit médié par le fer libéré par le catabolisme de l'hème. Cependant, ces expériences ont été réalisées dans des lignées macrophagiques transformées proliférant rapidement de manière spontanée, contrairement aux macrophages tissulaires.

Par contre, dans le duodénum, il semblerait qu'il existe une régulation systémique de la ferroportine, qui domine sur la régulation par le fer intracellulaire, puisque, dans l'animal entier, la carence en fer induite par un régime déplété en fer entraîne une activation de la ferroportine dans les entérocytes [3].

Régulation par l'hepcidine

L'hepcidine a été proposée comme pouvant être le signal systémique régulant l'absorption intestinale du fer et le recyclage du fer macrophagique en fonction du niveau des réserves en fer de l'organisme (cf. chapitre 1 §2). La ferroportine est comme nous l'avons vu, un récepteur de l'hepcidine. La fixation de l'hepcidine sur la ferroportine provoque l'internalisation et donc la dégradation de la ferroportine dans le lysosome [37], inhibant ainsi toute exportation du fer hors de la cellule. C'est la cystéine en position 326 de la ferroportine qui permet la liaison à l'hepcidine et une mutation au niveau du résidu 326 va aboutir à une résistance à l'hepcidine [74, 75].

5.1.4 : Mutations du gène *SLC40A1*

La ferroportine est codée par le gène *SLC40A1* (nomenclature Human Genome Organisation), situé sur le chromosome 2q32, de 20kb, constitué de huit exons, avec à son extrémité 5' non

codante une séquence IRE. Les mutations de ce gène sont à l'origine de deux phénotypes différents de la maladie ferroportine, selon l'altération de la fonction de la protéine.

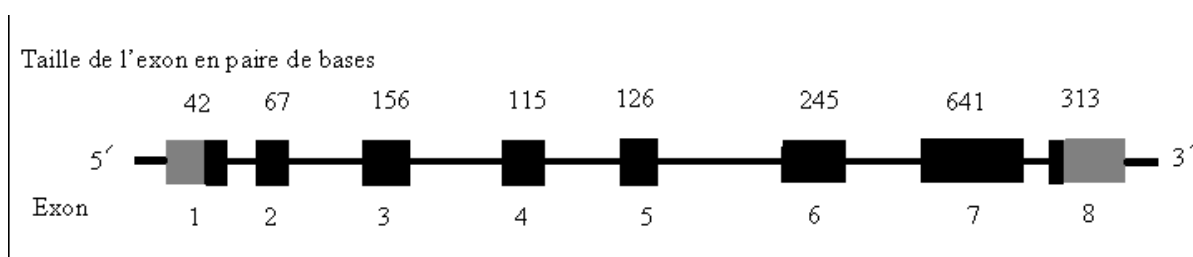


Figure 9 : Taille des exons en paires de bases du gène *SLC40A1*

La mutation ponctuelle A77D du gène de la ferroportine, *SLC40A1*, localisé en 2q32, a été la première mutation pathogène décrite et était associée à une hémochromatose sans mutation du gène *HFE* [33, 34].

D'autres mutations du gène humain codant pour la ferroportine ont été rapportées (N144H, V162del, L170F, Y64N, G490D) et associées à une forme inhabituelle de surcharge en fer actuellement appelée « hémochromatose de type IV » ou maladie liée à la ferroportine [35]. Les types de mutations décrites sont des substitutions ou des délétions. Il n'y a pas de mutations non sens.

Ces mutations sont le plus souvent privées, à l'exception d'une délétion de la valine (V162del), plus constante.

Mutations	Type de mutation	Localisation	Origine géographique	Références bibliographiques
Y64N	faux-sens	Exon 3	France / Canada	[89]
A77D	faux-sens	Exon 3	Italie	[83]
N144H	faux-sens	Exon 5	Pays-Bas	[81]
N144T	faux-sens	Exon 5	Îles Salomon	[87]
D157G	faux-sens	Exon 5	France	[90]
Val162 del	délétion	Exon 5	Australie	[86]
			Italie, Angleterre	[85]
			Angleterre	[84]
			Grèce	[91]
			France	communication personnelle (H.Tossou)
Q182H	faux-sens	Exon 6	France	[90]
Q248H	faux-sens	Exon 6	Afrique	[92]
			Afrique	[93]
G323V	faux-sens	Exon 7	France	[90]
G490D	faux-sens	Exon 8	Asie / Ile de la Réunion	[88]

Tableau 3 : Mutations décrites du gène *SLC40A1* [77]

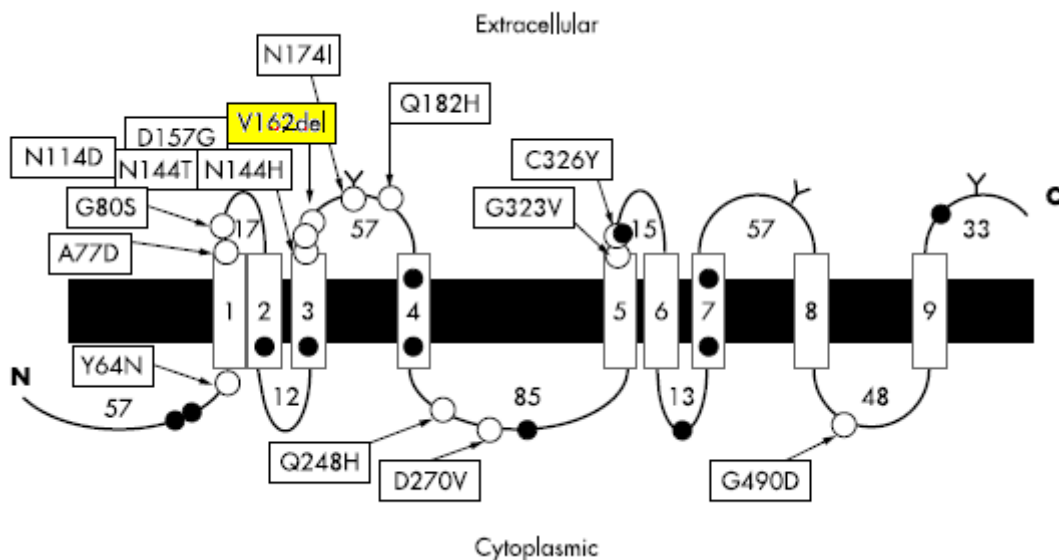


Figure 10 : Représentation schématique de la structure de la protéine ferroportine basée sur le modèle de Devalia et al, avec les positions des mutations pathogènes connues

Cette forme d'hémochromatose se caractérise par une surcharge ferrique au niveau des cellules du système des macrophages mononucléés (anciennement appelé système réticulo-endothélial) ou est mixte, associant alors une surcharge parenchymateuse et une surcharge des cellules de Küpffer hépatique [76].

Les mutations A77D, V162del, G490D sont associés in vitro à une perte de la fonction d'export du fer et une haplo insuffisance, alors que les variants Y64N, N144D, N144H, Q248H, C326Y sont caractérisés par un maintien de la fonction export de la protéine mais une perte de la sensibilité au contrôle de l'hepcidine [78].

Dans le cas d'une haplo insuffisance, les macrophages ne peuvent exporter le fer provenant de la dégradation de l'hémoglobine et celui-ci s'accumule dans ces cellules mais le transport du fer n'est pas entravé au niveau de l'entérocyte [79].

Dans le deuxième cas, l'activité de la ferroportine est normale mais ne peut être régulée par l'hepcidine. Il en résulte que les macrophages exportent constitutionnellement le fer.

L'excrétion du fer par les macrophages diminuerait la disponibilité de ce métal pour le système hématopoïétique et les autres tissus. En conséquence, il se produirait une activation de certains mécanismes permettant d'augmenter son absorption intestinale [80].

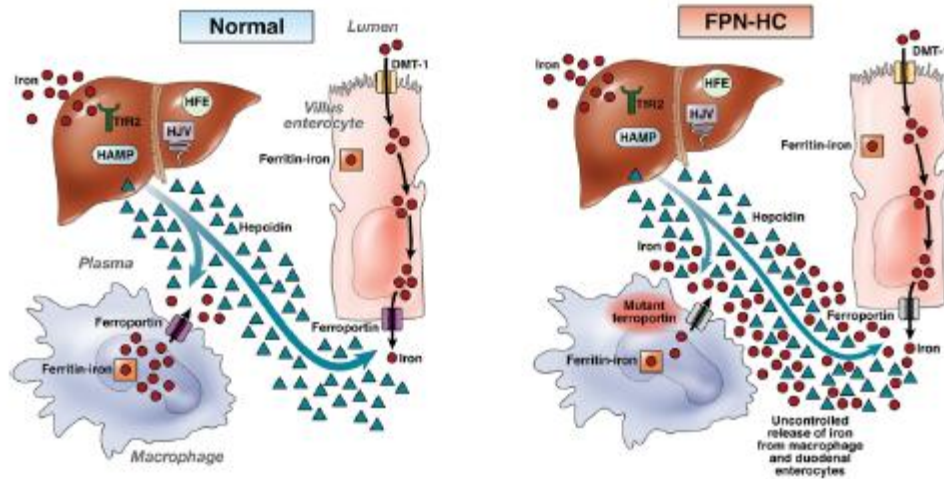


Figure 11 : Axe hepcidine-ferroportine dans la régulation du métabolisme du fer [128]

Chez le sujet normal, l’hepcidine synthétisée par le foie va réguler la libération de fer des macrophages et des entérocytes duodénaux en interagissant avec la ferroportine exprimée à leur surface. Dans le cas de la maladie ferroportine (type B), la ferroportine ne répond plus au contrôle de l’hepcidine. Malgré le fait que l’hepcidine est synthétisée de manière appropriée au taux croissant de fer plasmatique, le mutant ferroportine continue d’exporter le fer intracellulaire dans le secteur plasmatique.

5.2 : Phénotypes

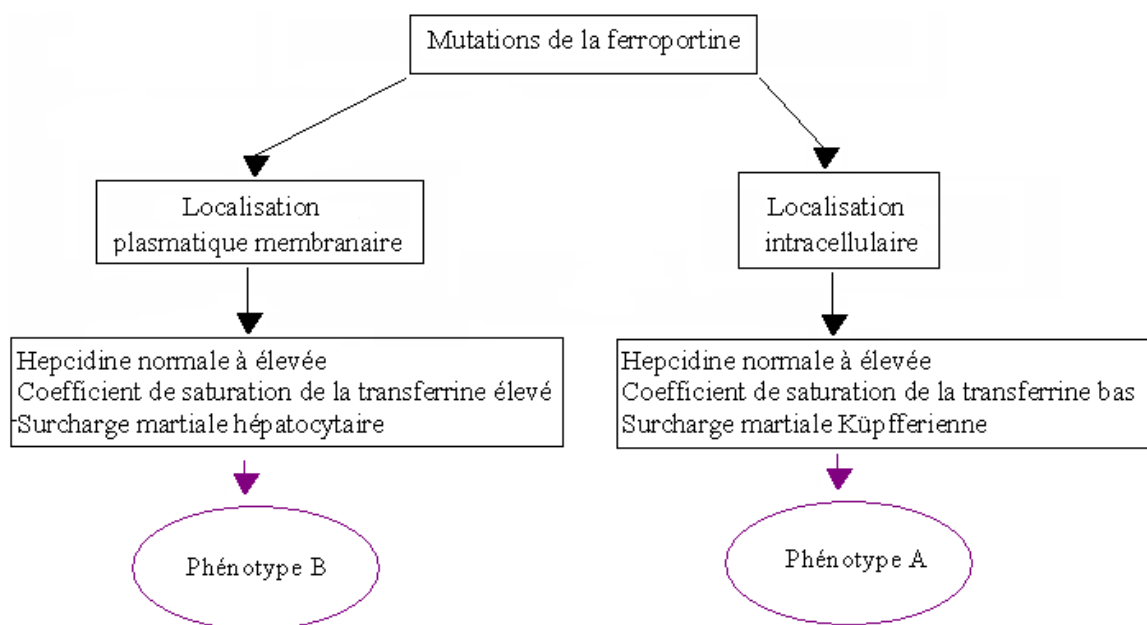


Figure 12 : effets des mutations ferroportine sur le métabolisme du fer

Deux phénotypes sont décrits :

- Type A : le taux de ferritine s'élève précocement dès l'enfance, le coefficient de saturation de la transferrine (CST) est normal ou bas puis augmente progressivement à la 3ème ou 4ème décade. Le fer s'accumule dans les macrophages, donc histologiquement, la surcharge hépatique est Kuppferienne, non hépatocytaire puis mixte. L'incidence de fibrose hépatique est faible [81].

- Type B : la ferroportine est insensible au contrôle négatif de l'hepcidine
 - ► l'excrétion du fer dans le plasma par les macrophages est augmentée
 - ► les macrophages sont pauvres en fer, l'excès est parenchymateux
 - Sur le plan biologique, on observe une hyperferritinémie et un CST très élevé
 - Histologiquement, la surcharge est hépatocytaire.

Ce phénotype se rapproche de celui de l'hémochromatose classique [82].

Une analyse fonctionnelle in vitro des principales mutations décrites de la ferroportine suggèrent une relation génotype phénotype, en distinguant ces deux catégories de phénotypes [78] mais doit encore être confirmé et élargie à toutes les mutations retrouvées de la ferroportine.

Le type A correspond à une haplo insuffisance (mutation perte de fonction) et le type B au maintien de la fonction export de la ferroportine mais une insensibilité au contrôle négatif de l'hepcidine (mutation gain de fonction).

Une méta analyse a été réalisée récemment [86] pour déterminer la pénétrance des mutations sur *SLC40A1* : 176 individus ont été recensés avec une mutation *SLC40A1*, dont 80 avec un phénotype de type A (hyperferritinémie et CST < 45 % chez la femme et < 50 % chez l'homme) et 53 de type B. L'âge moyen de diagnostic était entre la troisième et la quatrième décade. 43 % de femmes, 86 % des patients présentaient une hyperferritinémie (> 300 g/L chez l'homme et > 200 g/L chez la femme), toutes les biopsies hépatiques montraient une surcharge hépatique en fer mais seulement 11 % une fibrose significative ou une cirrhose.

Seul 8 patients ont bénéficiés d'une IRM.

En comparaison, dans l'hémochromatose de type 1, l'hyperferritinémie est présente dans 55 à 86 % des patients homozygotes pour C282Y [87, 88] et la cirrhose, dans 36 % des patients homozygotes C282Y avec une ferritine > 1000 g/L.

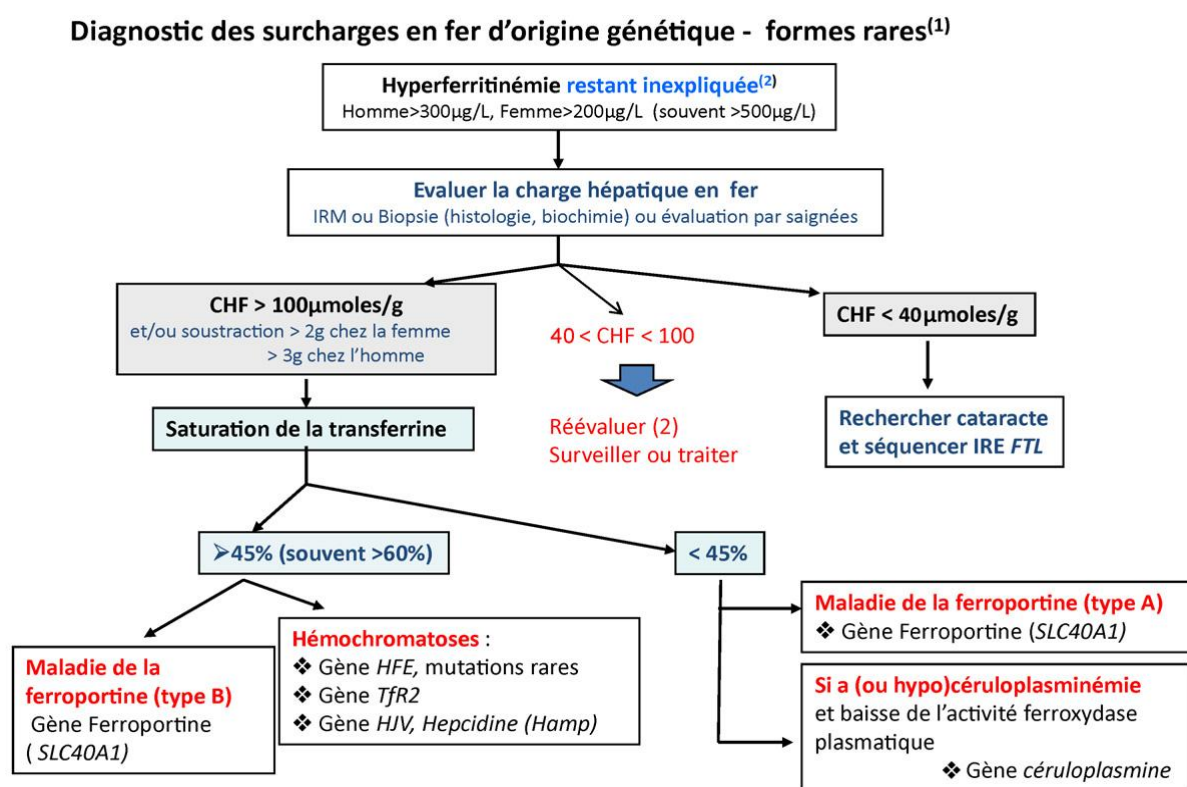
5.3 : Traitement

Des résultats divergents sont apparus en regard de la tolérance aux saignées. Une mauvaise tolérance a été signalée par deux équipes [83, 84], alors que d'autres ne rapportent aucune conséquence particulière [85]. Dans le but de prévenir une anémie, Devalia *et al.* ont administré de l'érythropoïétine à leurs deux patientes [84].

5.4 : Quand rechercher la maladie ferroportine ?

En l'état actuel des connaissances, dans quels cas est-il légitime d'effectuer un séquençage du gène de la ferroportine ?

L'arbre décisionnel est résumé ci-après :



(1) Hors hémochromatose liée au génotype p.[Cys282Tyr]+p.[Cys282Tyr]

(2) Après exclusion des formes acquises: Syndrome dysmétabolique (Diabète-insulino-résistance/intolérance au glucose, surcharge pondérale, hyperlipidémie, HTA), Consommation excessive d'alcool (réévaluer la ferritine sérique après sevrage), Syndrome inflammatoire (CRP-réévaluer la ferritine sérique après normalisation), Cytolyse hépatique ou musculaire, Apports exogènes en fer (transfusions sanguines, supplémentation en fer), Maladies hématologiques (hémolyse, myelodysplasie,...)

Figure 13 : Stratégie diagnostique d'une surcharge héréditaire en fer rare, d'après le Centre de référence des surcharges en fer rares d'origine génétique :

<http://resmed.univ-rennes1.fr/crefer>

5.5 : Ferroportine et carcinome hépatocellulaire

La relation surcharge en fer et CHC est bien connue pour l'hémochromatose de type 1, mais n'est rapportée que de manière occasionnelle pour les autres gènes impliqués dans le métabolisme du fer. Dans la littérature, trois cas de CHC ont été découverts chez des patients atteints de la maladie ferroportine.

Cunat *et al.* [129], ont décrit, au sein d'une famille porteuse de la maladie ferroportine (mutation c262 A>G), le cas d'un sujet âgé qui a développé un CHC ayant conduit à son décès.

Rosmorduc *et al.* [82], ont détaillé un autre cas : il s'agissait d'un patient de 74 ans, sans consommation alcoolique excessive, sans hépatite virale ni auto-immune, avec une surcharge martiale biologique et hépatique (concentration hépatique en fer évaluée par IRM à 190 $\mu\text{mol/g}$ de foie sec). Le séquençage complet du gène *HFE* et de l'hepcidine n'a pas montré d'altération de séquence. La mutation c431 A>G, qui aboutit à une substitution N144H a été mise en évidence (phénotype à type gain de fonction). Au cours de la surveillance de ce patient, ont été détecté deux nodules correspondant à un CHC peu différencié sur foie non cirrhotique.

Le dernier des trois cas peut être lié à une infection occulte au VHB [89].

Il s'agissait d'un sujet diagnostiqué pour la maladie ferroportine à l'âge de 59 ans, avec la mutation A77D. Il avait bénéficié de saignées hebdomadaires puis trimestrielles pendant 20 ans. A l'âge de 79 ans, les phlébotomies avaient été suspendues et en 2006, un CHC bifocal était mis en évidence (CHC bien différencié sans cirrhose). Il n'y avait pas de notion d'alcoolisme chronique, pas d'anticorps retrouvés contre VHC et VHB, mais des séquences HBV avaient été détectées par PCR dans la biopsie tumorale.

La maladie ferroportine peut donc se compliquer de CHC, même sans cirrhose sous jacente, en particulier en présence d'un cofacteur carcinologique, comme une infection occulte à VHB.

5.6 : IRM et maladie ferroportine

Comme nous l'avons déjà évoqué, il existe deux phénotypes dans la maladie ferroportine. La première, classique, à type perte de fonction, où la surcharge martiale est macrophagique et donc principalement dans la moelle osseuse, la rate et les hépatocytes et une deuxième, dite non classique, à type gain de fonction, où la surcharge est parenchymateuse, donc hépatique avec une charge en fer normale dans la rate et la moelle osseuse.

Ainsi, une IRM avec quantification du fer (algorithme de Gandon et al. cf. chapitre 1 § 8.4) va permettre, outre de faire évoquer le diagnostic de la maladie ferroportine, de répondre à la question pathogénique du type de maladie ferroportine. Le coefficient de saturation de la transferrine est clairement un test diagnostique simple et peu coûteux pour séparer les deux phénotypes, puis qu'il est bas dans la forme classique et élevée dans la forme non classique. Cependant, ce paramètre martial peut être affecté par les pathologies hépatiques ou hématologiques sous jacentes et augmente dans la forme classique à partir d'un certain âge. L'IRM est donc un bon outil supplémentaire pour diagnostiquer de manière non invasive les stades précoces de la maladie ferroportine [90].

6 - SURCHARGE INTRA HEPATIQUE EN FER ET MALADIES CHRONIQUES DU FOIE

6.1 : Maladie alcoolique du foie

L'alcoolisme chronique est souvent associé à une élévation du taux de ferritine plasmatique, du coefficient de saturation de la transferrine et de la charge hépatique en fer.

En effet, l'alcool augmente l'absorption intestinale du fer et ainsi diminue la synthèse d'hepcidine [91]. L'augmentation de l'absorption digestive du fer pourrait être liée à la up régulation du DMT1 ou une élévation du maintien du fer dans sa forme divalente réduite, forme dans laquelle le fer est plus soluble et donc plus facilement absorbable.

Une Up régulation des récepteurs hépatiques à la transferrine a aussi été décrite [92].

Le stress oxydatif généré par l'alcool induit également une production de TNF α par les macrophages, ce qui inhibe la synthèse d'hepcidine. Ainsi, l'alcool a un effet direct sur l'hepcidine via le stress oxydatif et un effet indirect par le TNF α des cellules de Küpffer.

De plus, des études in vitro et in vivo suggèrent que le TNF α augmenterait l'expression des récepteurs à la transferrine des hépatocytes, ce qui pourrait donc être lié à la prise d'alcool et

favorise ainsi l'accumulation du fer dans le foie [93]. L'anémie hémolytique [94], l'hypersplénisme, l'érythropoïèse inefficace par carence en acide folique secondaire à la consommation alcoolique, l'hypoxémie liée aux shunts inter pulmonaires ou aux anomalies du rapport ventilation perfusion, les shunts porto systémiques peuvent aussi participer à la constitution d'une surcharge martiale hépatique. Histologiquement, des dépôts de fer sont observés dans les hépatocytes et les cellules de Küpffer des patients alcooliques en particulier dans les stades avancés [95]. L'accumulation de fer est directement corrélée au degré de cirrhose [96]. Les effets de l'alcool et du fer sur le foie agissent alors en synergie et c'est ce qui a été observé aussi chez les patients hémochromatosiques avec une consommation alcoolique excessive, et notamment sur le risque de CHC [91].

D'autres facteurs génétiques peuvent affecter la surcharge martiale de ces patients comme le polymorphisme génétique qui module la réponse des mitochondries au stress oxydatif [91].

Ainsi, la charge hépatique en fer pourrait être considérée comme la cause et la conséquence du stress oxydatif et donc un facteur pronostique de la maladie alcoolique du foie.

6.2 : Hépatite C chronique

Une hyperferritinémie et une élévation du coefficient de la transferrine ont été observées chez les patients atteints d'hépatite C chronique. Le fait que la ferritine sérique s'élève dans les réactions inflammatoires ne semble pas être la seule explication.

Une surcharge en fer modérée est parfois observée chez les patients infectés par le VHC. La surcharge est alors généralement mixte et contribue à la progression de la maladie hépatique [97]. De plus, un certain nombre d'études suggèrent que cette accumulation de fer ou le portage de mutations *HFE* ont un impact sur la réponse au traitement antiviral [98]. Les mécanismes pathogéniques qui sous tendent cette accumulation ne sont pas complètement élucidés mais semblent faire intervenir l'activité nécrotico-inflammatoire et la production de cytokines [99]. Le génotype 3 est associé à une surcharge martiale plus importante [100]. L'expression d'hepcidine est diminuée dans l'infection au VHC [91].

Les mutations du gène *HFE* pourraient être un facteur affectant la surcharge martiale et la progression de la fibrose hépatique mais cette donnée est controversée [91].

6.3 : Hépatite B chronique

Peu d'études ont été dévolues à la surcharge martiale dans l'hépatite B chronique, mais il été cependant décrit que la surcharge est alors hépatocytaire, et serait liée à l'activité inflammatoire, au degré de fibrose mais également aux mutations du gène *HFE* [101].

6.4 : NASH syndrome

La stéato-hépatite non alcoolique (SHNA ou NASH des anglo-saxons) associe stéatose (accumulation intra hépatocytaire de triglycérides) et altération hépatocytaire (ballonisation, nécrose, corps de Mallory inconstants), lésions inflammatoires (infiltrat inflammatoire à polynucléaires neutrophiles prédominants).

L'hyperferritinémie est observée chez 1/3 des patients souffrant d'un NASH syndrome. L'élévation du coefficient de saturation du fer est alors moins fréquente. La surcharge hépatique en fer est généralement modérée et mixte (parenchymateuse et sinusoidale) [102]. La surcharge martiale aggraverait le stress oxydatif dans le foie et ainsi la peroxydation lipidique [103] et d'autre part activerait l'activation des cellules stellaires par la libération de ferritine [104].

De plus, le fer aurait un effet sur le développement et l'aggravation de l'insulino-résistance [105], notamment chez le rat soumis à un régime hypercalorique [106]. La surcharge en fer et l'insulino-résistance seraient des conditions prédisposant à la progression du NASH [107].

Les saignées ont un effet bénéfique sur des marqueurs indirects comme la sensibilité à l'insuline et le taux de transaminases [109].

Chez les patients caucasiens présentant un NASH syndrome, l'hyperferritinémie est associée à une atteinte hépatique plus avancée, tandis que la relation entre les mutations de *HFE* et la fibrose hépatique est controversée [108,110]. Les résultats contradictoires peuvent être expliqués par différents paramètres : faible nombre de patients inclus, critères d'inclusions différents, peu d'estimations de la relation entre les données génétiques et l'expression de la surcharge en fer, absence de définition claire des génotypes *HFE* à risque de surcharge en fer.

7 - QUANTIFICATION DU FER HEPATIQUE

La concentration en fer de l'organisme est d'environ 40 mg Fe/Kg de masse corporelle chez l'homme et de 50 mg Fe/Kg chez la femme [111]. L'augmentation de fer libre, va induire une accumulation de fer dans les organes pourvus de récepteur à la transferrine, en particulier le foie, le cœur, la thyroïde, les gonades, l'hypophyse, la peau et le pancréas. L'évolution se fait alors vers la fibrose et l'altération fonctionnelle de ces organes [112, 113].

Il semble que la rate et la moelle osseuse ne soient pas altérées par l'accumulation de fer.

La sévérité de l'atteinte parenchymateuse hépatique est directement corrélée à la concentration en fer intra parenchymateuse [111]. Des concentrations en fer intra hépatique élevés semble avoir une bonne valeur prédictive pronostique de l'atteinte cardiaque [114].

Une évaluation précise de la surcharge martiale va aussi permettre de décider quand le traitement chélateur doit être initié et d'optimiser le traitement.

7.1 : Paramètres sériques

Le coefficient de saturation de la transferrine est obtenu en divisant le taux de fer sérique par la capacité totale de fixation du fer. Tous les patients souffrant d'hémochromatose type 1 ont un coefficient de saturation de la transferrine supérieur à 45 % mais la spécificité de ce paramètre est inférieure à 50 % car il s'élève dans les hépatopathies chroniques et les surcharges martiales secondaires [115].

Le taux de ferritine augmente proportionnellement à la charge en fer mais aussi de manière non spécifique dans les processus inflammatoires, la nécrose hépatocellulaire et les néoplasies. Son taux doit donc être interprété avec celui du coefficient de saturation de la transferrine [112].

En effet, la ferritine est une protéine capable de stocker du fer en son sein (jusqu'à 4500 atomes de fer par molécule de ferritine), en particulier au niveau du foie et du système macrophagique. Mais elle est également une protéine de la réaction inflammatoire et sa production augmente en situation d'activation macrophagique.

Ces deux fonctions, stockage tissulaire du fer et expression de l'inflammation situent les deux domaines physiopathologiques principaux auxquels peuvent être rapportés une hyperferritinémie.

Trois autres mécanismes peuvent expliquer une hyperferritinémie :

- une lyse cellulaire, hépatique ou musculaire,

- une induction de la synthèse de ferritine par l'alcool,
- une dérégulation de la synthèse de ferritine du fait de mutations dans le gène qui la code.

Du fait de l'étendue de la zone de normalité indiquée par les laboratoires d'analyse, avec des limites supérieures de la normale de l'ordre de 300-400 µg/L chez l'homme et 200-300 chez la femme, il ne faut pas sous estimer une hyperferritinémie réelle lorsque les chiffres avoisinent le versant haut de cette intervalle. Ainsi, chez la femme, la valeur normale est de l'ordre de 30µg/L avant la ménopause et monte graduellement vers 80 µg/L après la ménopause. C'est-à-dire qu'un taux à 200 µg/L peut correspondre chez la femme à une hyperferritinémie tout à fait significative.

Une fois le diagnostic d'hémochromatose posé, le dosage de la ferritine intervient dans le prise en charge comme précisé dans les recommandations de la Haute Autorité de Santé [116] : elle permet de quantifier l'excès en fer en absence de facteurs associés susceptibles d'interférer dans cette augmentation tels qu'un alcoolisme et/ou un syndrome métabolique. Le chiffre de 1000 correspond à un seul critique en terme de toxicité viscérale. La ferritinémie a aussi une valeur décisionnelle puisque c'est à partir du stade II de la classification de l'expression phénotypique de l'homozygotie hémochromatosique qu'est posée l'indication de la mise en route du traitement déplétif. Enfin, la ferritinémie a une valeur en tant que paramètre d'efficacité du traitement puisque l'objectif global est l'obtention puis le maintien d'un taux < 50 µg/L.

Enfin, il existe des hyperferritinémie sans surcharge en fer, de causes exceptionnelles :

- Hyperferritinémie acquise : maladie de Gaucher, dysthyroïdie, cancer...
- Hyperferritinémie génétique : mutation du gène de la L ferritine.

Le syndrome hyperferritinémie cataracte [73], de transmission autosomique dominante, est lié à la mutation dans la boucle IRE de l'ARNm de la L ferritine. Il se traduit par une hyperferritinémie parfois majeure à saturation normale de la transferrine et par une cataracte en règle précoce mais qui peut manquer au moment du diagnostic. D'autres mutations de ce même gène, situés hors de la boucle IRE de l'ARNm, sont à l'origine d'hyperferritinémies familiales sans atteinte ophtalmique.

7.2 : Quantification du fer intra hépatique

La méthode de référence pour évaluer la surcharge martiale de l'organisme est de quantifier la concentration intra hépatique du fer qui doit être inférieur à 36 µmol/g [112, 115]. Un taux

supérieur à 71 $\mu\text{mole/g}$ est fortement évocateur d'hémochromatose [112, 117]. De même, l'index de fer hépatique, obtenu en divisant la concentration intra hépatique du fer par l'âge du patient, est suspect quand il est supérieur à 1,9. La concentration en fer intra hépatique est le paramètre le mieux corrélé avec l'altération structurelle du foie puisqu'un taux supérieur à 400 $\mu\text{mole/g}$ est associé à une cirrhose hépatique ou une fibrose à minima [118].

La méthode de référence pour mesurer la surcharge en fer hépatique est la biopsie hépatique : la coloration de Perls (qui marque l'ion ferreux Fe^{++}) permet une évaluation semi quantitative.

Localization	Iron deposition in cirrhosis lesions		
	Perinodular	Centronodular	
Hepatocytes			
Absent	0	0	
Moderate	3	3	
Non-confluent granules	6	6	
Confluent granules	9	9	
Sinusoidal cells			
Absent	0	0	
Moderate	1	1	
Non-confluent granules	2	2	
Confluent granules	3	3	
Fibrosis	Absent	Focal	Diffuse
Macrophages	0	1	3
Biliary cells	0	1	3
Endothelial cells	0	1	3

Tableau 4 : Score semi quantitatif de la charge hépatique en fer selon Y.Deugnier [91]

Le dosage du fer hépatique par absorption atomique quantifie avec précision la surcharge [119, 115, 120].

Cependant cette technique va aussi permettre de visualiser la localisation des dépôts de fer : dans les hépatocytes, les espaces sinusoidaux, les macrophages et les cellules endothéliales.

- La surcharge peut être ainsi parenchymateuse : un excès d'absorption intestinal va générer des dépôts de fer dans le lobule via le système porte selon un gradient qui décroît des régions péri portales aux régions centro-lobulaires.
- La surcharge peut être mésenchymateuse : ce sont les macrophages et les cellules de Küpffer qui sont atteintes,
- Enfin, la surcharge peut être mixte.

Cependant la biopsie hépatique est une technique invasive avec des complications propres, d'autre part, il existe une variation importante dans la quantification obtenue par la biopsie évaluée à 19 % dans le foie sain et à 40 % dans le foie cirrhotique [118, 121].

Des techniques non invasives se sont donc développées.

7.3 : Quantification non invasive de la concentration en fer intra hépatique

La tomodynamométrie aux rayons X peut détecter l'augmentation de la densité des rayons X lié à la densité des électrons du fer qui est supérieure à celle du tissu hépatique normal. Cependant, cette technique est peu utilisée car il existe de grandes variations liées à la présence de graisse hépatique, la fibrose et est peu sensible quand la surcharge martiale est faible [122, 118].

Le SQUID (Superconducting Quantum Interference Device) développé par Bauman et Harris en 1967 est la méthode la plus fiable de mesure non invasive du fer hépatique. Cet appareil utilise des champs magnétiques puissants appliqués par une membrane spéciale au dessus du foie. Il existe une très bonne corrélation avec la méthode biochimique mais le coût et la piètre disponibilité (seulement 4 machines dans le monde) restreignent son utilisation [111, 118].

7.4 : Quantification par IRM de la concentration en fer intra hépatique

L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) est une méthode quantitative non invasive pour estimer les concentrations parenchymateuses en fer. En principe, l'IRM peut s'utiliser pour quantifier les réserves en fer où qu'elles se trouvent dans l'organisme. En pratique, l'emploi de l'IRM a été étudié dans l'évaluation des réserves en fer du foie, du cœur et de l'antéhypophyse.

Comment l'IRM mesure les réserves de fer ?

L'IRM permet de mesurer indirectement la concentration en fer intra hépatique en détectant les effets paramagnétiques du fer stocké (ferritine et hémosidérine) sur la résonance magnétique protonique de l'eau tissulaire [118]. Les dépôts de fer augmentent l'hétérogénéité des champs magnétiques, ce qui induit une diminution du temps de relaxation T2 et donc un hypo signal proportionnel à l'importance de la concentration en fer intra hépatique [122, 117, 118]. Il est donc aisé de diagnostiquer une surcharge en fer en observant la réduction de

l'intensité du signal du foie dans les séquences T2 [123, 124]. Dans le cas de la mutation du gène de la ferroportine, l'accumulation de fer est surtout réticulo-endothéliale et donc l'hyposignal est aussi visualisé au niveau de la rate [113, 116, 123]. La coexistence d'une fibrose, cirrhose ou d'une hépatite n'interfèrent pas avec les résultats de l'IRM.

Beaucoup de travaux ont démontrés une corrélation entre la concentration intra hépatique histologique du fer et les mesures par IRM [122, 117, 118]. La facilité d'accès de cette technique en font une méthode de choix pour la quantification non invasive de la concentration intra hépatique du fer.

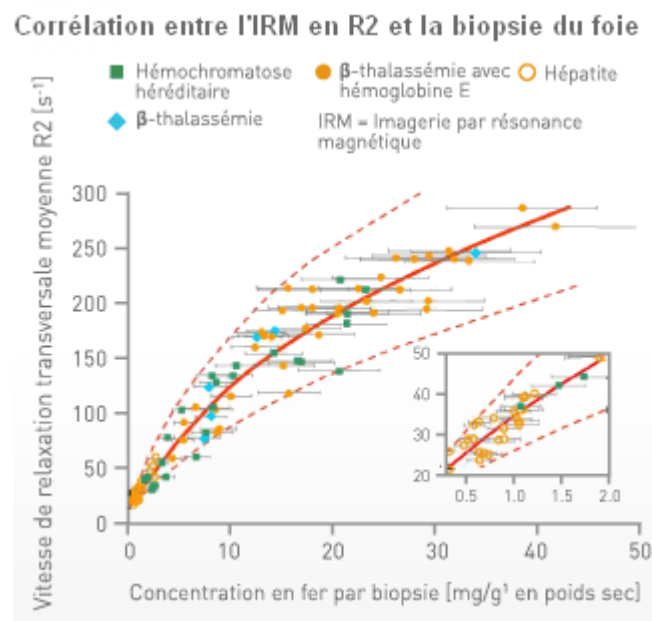


Figure 14 : Corrélation entre la concentration en fer hépatique obtenue par IRM et détermination biochimique après biopsie du foie [121]

La courbe en trait plein représente l'étalonnage établi par ajustement aux données. Les barres d'erreur représentent l'incertitude de $\pm 19\%$ de la mesure par biopsie des CHF moyennes (foie sans fibrose). Les courbes en pointillés indiquent les limites d'accord à 95 % entre les CHF obtenues par R2 et par biopsie. La sensibilité de R2 par rapport à la biopsie diminue aux CHF plus élevées, en partie à cause de l'augmentation de l'erreur d'échantillonnage de la biopsie à ces concentrations [121].

Il existe deux méthodes différentes : le calcul des temps de relaxation et le calcul du ratio des intensités du signal. Le calcul du ratio des intensités du signal entre le tissu hépatique et d'autres signaux de référence sont les plus simples à utilisés [118]. Les tissus de référence sont les muscles para vertébraux.

Cependant, la corrélation entre les concentrations en fer entre ces deux tissus n'est pas complètement linéaire. C'est pourquoi, Gandon *et al*, de l'université de Rennes, ont proposé

un protocole avec 5 séquences en GE, un TR fixe, un TE variable, flip angle variable [121, 125]. Sur leur site web (<http://www.radio.univ-rennes1.fr>), ils proposent un algorithme qui quantifie la concentration intra hépatique du fer. Pour cela, il suffit de rentrer les valeurs SI du foie et des muscles para vertébraux. Les résultats sont très bien corrélés à ceux de la biopsie pour des valeurs comprises entre 60 μ mol de fer par gramme de foie sec et 375 μ mol/g. Cet intervalle où la mesure reste fiable est le plus intéressant en pratique clinique.

Cette algorithme a une bonne sensibilité et une bonne spécificité (respectivement 89 et 80 %) pour déterminer la charge hépatique en fer, et ce quelque soit la pathologie hépatique sous jacente, le degré de fibrose et la présence d'une cirrhose.

L'IRM offre donc une alternative non invasive à la biopsie hépatique et peut en fait s'avérer plus précise que celle-ci chez les patients présentant des dépôts de fer hépatiques hétérogènes (comme en cas de cirrhose), car elle mesure le fer dans la totalité de l'organe. De plus, l'IRM permet aussi d'évaluer l'état pathologique du foie.

CHAPITRE 3



La surcharge en fer est un facteur de risque démontré de carcinome hépatocellulaire (CHC). Ainsi, les surcharges martiales génétiquement déterminées des hémochromatoses héréditaires, liées au gène *HFE*, sont associées à un risque accru de CHC. Les mutations du gène *SLC40A1*, codant pour la ferroportine, dont la transmission est dominante, conduisent à des surcharges martiales qui s'expriment par deux formes cliniques différentes. Récemment, des cas isolés de sujets atteints de maladie ferroportine et de CHC ont été rapportés [82, 89, 129].

La filiation ferroportine – CHC peut être expliquée par plusieurs facteurs :

- D'une part, la surcharge hépatique martiale massive induite par la maladie joue un rôle direct dans la carcinogenèse hépatique par le biais de l'activation de la prolifération cellulaire, des dommages à l'ADN, des mutations induites de p53, et un rôle indirect par la libération de radicaux libres, de peroxydation lipidique et d'inflammation. Tout ceci concourt à la précipitation du processus de fibrose hépatique et de cirrhose.
- D'autre part, le fer est directement carcinogène (in vitro) par augmentation de la synthèse d'ADN et de la Cycline D1, ce qui va accélérer le cycle cellulaire et la ploïdisation des hépatocytes.

1 - BUT DU PROJET

Rechercher des mutations du gène *SLC40A1* codant pour la ferroportine chez des malades ayant un CHC et une surcharge en fer hépatique conséquente et non étiquetée, afin de déterminer si les mutations de ce gène constituent un facteur de risque du cancer primitif du foie.

2 - CRITERES D'INCLUSION

Nous avons inclus tous les patients souffrant d'un carcinome hépatocellulaire, qui ont été pris en charge au sein du Pôle Digestif de l'Hôpital Saint Eloi du Centre Hospitalo-Universitaire de Montpellier entre janvier 2009 et septembre 2010.

Le diagnostic de CHC a été retenu soit sur l'examen anatomopathologique de la lésion tumorale soit, à défaut, sur les critères de Barcelone [130].

Critères non invasifs de CHC chez un patient porteur d'une cirrhose certaine:

- Critères radiologiques : lésion focale > 2 cm avec une hyper vascularisation artérielle visible sur deux examens d'imagerie différents,
- Critères combinés : lésion focale > 2 cm avec une hyper vascularisation artérielle visible sur un examen d'imagerie et concentration d'AFP > 400 ng/mL.

Les malades étaient inclus, si outre le CHC, ils avaient :

Des marqueurs sériques de surcharge en fer :

- une hyperferritinémie (ferritine sérique >300 ng/ml chez l'homme et 200 ng/ml chez la femme),
- et/ou une élévation du CST (>50 % chez l'homme ; >45 % chez la femme),

Et

Une surcharge en fer hépatique :

- Concentration Hépatique en Fer ≥ 100 $\mu\text{mol/g}$ de foie sec mesurée :
 - soit par IRM selon l'algorithme de Gandon *et al.* (ratio des intensités du signal entre le parenchyme hépatique et les muscles para vertébraux qui servent de référence),
 - soit par absorption atomique sur un prélèvement histologique (en foie non tumoral).

Les patients ont donnés leur consentement écrit pour la participation à cette étude et à l'analyse génétique (fiche d'information et consentement en ANNEXE 1).

Les co-facteurs de risque de CHC ont été recherchés et listés: consommation alcoolique excessive (définie par une consommation supérieure ou égale à 80 g par jour [143]), infection chronique virale B, infection chronique virale C, syndrome métabolique (IMC, hypertension artérielle, diabète, glycémie, HbA1C, bilan lipidique selon les critères définis par l'OMS dans l'ANNEXE 3).

3 - CRITERES D'EXCLUSION

Nous avons exclus les patients atteints de tumeurs malignes hépatiques primitives ou secondaires ne correspondant pas à un CHC (cholangiocarcinome, métastases...) et les malades homozygotes C282Y pour le gène *HFE*.

4 - DETAILS DES INFORMATIONS RECUEILLIES

En dehors des critères d'inclusions, d'autres paramètres biologiques, cliniques et radiologiques ont été relevés (voir la fiche de recueil de données en ANNEXE 2).

5 - METHODES

5.1 : *Prélèvements (sur les patients inclus)*

Le sang périphérique du patient était prélevé sur tube EDTA. L'ADN était extrait à partir des leucocytes selon les procédures standard pour génotypage *HFE* dans le cadre du diagnostic étiologique.

Si le génotype *HFE* homozygote C282Y était absent, un séquençage du gène de la ferroportine était alors effectué.

5.2 : *Analyses moléculaires*

Pour les malades ayant une CHF > 100 µmol/g , était réalisé un séquençage direct des 8 exons, des jonctions introns exons ainsi que de la région 5'UTR du gène *SLC40A1* par la méthode SCA (Single Condition Amplification) [129]. Cette technique de séquençage direct est une version simplifiée de la méthode SCAIP [129]. Les primers utilisés pour amplifier les régions d'intérêt ont été validés dans le laboratoire d'hématologie.

Les données du séquençage sont ensuite comparées à la séquence connue du gène *SLC40A1* dans GenBank, et aux polymorphismes déjà décrits dans SMP database.

La séquence issue de Genbank_(NC_000002.11 :190,133,561-190,153,858) est détaillée en ANNEXE 4.

Dans le cas d'une mutation identifiée :

- soit la mutation est connue et son caractère pathogène déjà établi : il n'est pas fait d'analyse supplémentaire,
- soit la mutation est inconnue : il est alors nécessaire de prouver le rôle pathogène de la mutation (ségrégation familiale, comparaison avec 100 chromosomes déjà analysés, étude *in silico* et/ou *in vitro*...).

6 - AVIS DU COMITE D'ETHIQUE

Le projet a obtenu un avis favorable auprès du CCPPRB (Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale) du CHU de Nîmes.

CHAPITRE 4

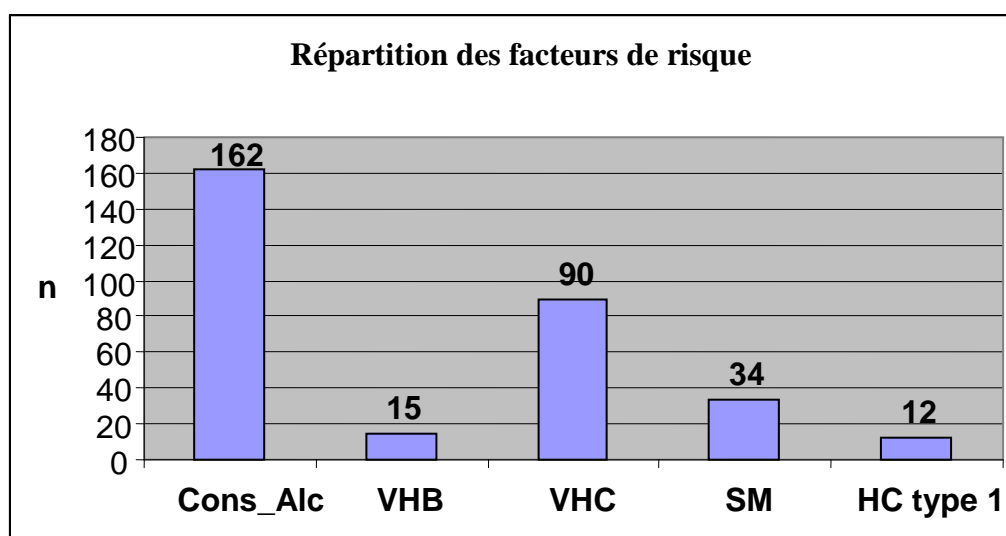
RESULTATS

1 – CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION INCLUSE

Deux cent trente quatre malades ayant un CHC ont été inclus (212 hommes, 22 femmes). L'âge moyen au moment du diagnostic était de 61,2 ans, la médiane était de 61 ans avec un minimum de 38 ans et un maximum de 83 ans. Deux cent six malades (88 %) avaient une cirrhose prouvée histologiquement. Vingt huit patients (12 %) avaient un foie fibrotique sans cirrhose. Une patiente présentait une cirrhose biliaire secondaire sur syndrome de Caroli. Douze malades (5 %), homozygotes C282Y, ont été exclus.

1.1 : Répartition des facteurs de risque dans la population étudiée

Parmi les 234 malades, 162 (69 %) consommaient de manière excessive de l'alcool (Cons_Alc), 105 (45 %) avaient une infection chronique Virale B (VHB) ou C (VHC), et 34 (14,5 %) présentaient un Syndrome Métabolique (SM).



n= nombre de patients avec le facteur de risque cité

Figure 15 : Nombre de patients pour chaque facteur de risque dans la population étudiée

Le facteur de risque le plus fréquemment retrouvé dans cette population restait la consommation alcoolique excessive suivie par l'hépatite chronique C.

Cependant, les facteurs de risques sont souvent associés entre eux chez un même patient :

Facteurs de risques	Nombre de patients
Cons_Alc	90
Cons_Alc et VHC	42
Cons_Alc et SM	18
Cons_Alc et VHB	4
Cons_Alc et VHC et SM	2
Cons_Alc et SM et VHB	1
Cryptogénique	7
VHC	40
SM	6
VHB	6
VHC et VHB	2
VHC et SM	2
VHB et SM	2
Hémochromatose type 1	12
TOTAL	234

Tableau 5 : Distribution des 234 patients en fonction de l'étiologie de l'hépatopathie

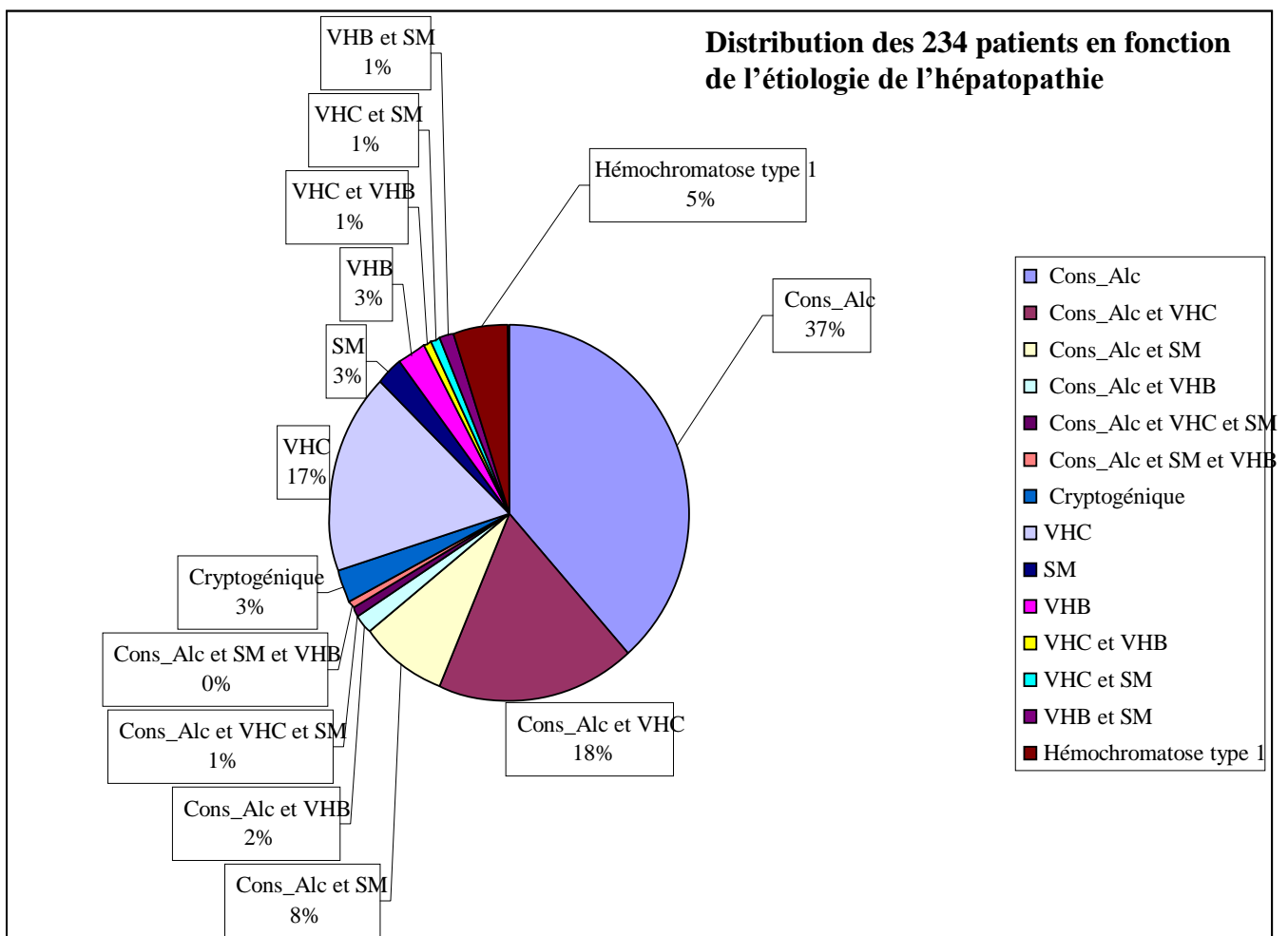


Figure 16 : Proportion des étiologies de l'hépatopathie et du CHC chez les 234 patients

En considérant l'existence de facteurs de risques cumulés chez un même patient, on observait que les malades dont le CHC était lié uniquement à la consommation alcoolique excessive se réduisait à 37 %, à 17 % pour la seule infection chronique virale C, 18 % des malades cumulaient la consommation alcoolique en excès et l'hépatite chronique virale C. L'hémochromatose de type 1 se classait en cinquième position dans cette population en terme de cause de cirrhose et/ou de CHC, avant l'hépatite B chronique.

1.2 : Gravité de la cirrhose

Le diagnostic de CHC a été posé au stade Child-Pugh A (cf. ANNEXE 3) de la cirrhose ou fibrose sans cirrhose chez 79 % des patients (n=185), au stade Child-Pugh B chez 17 % des patients (n=40) et au stade Child-Pugh C chez 4 % des patients (n=9) (Figure 17).

32 % des malades (n=77) ayant un CHC avaient un score de Meld à 6 (cf. ANNEXE 3) (Figure 18). Le score de Meld moyen chez les 234 patients était de 9,3, avec une médiane à 9 et une déviation standard à 4,6.

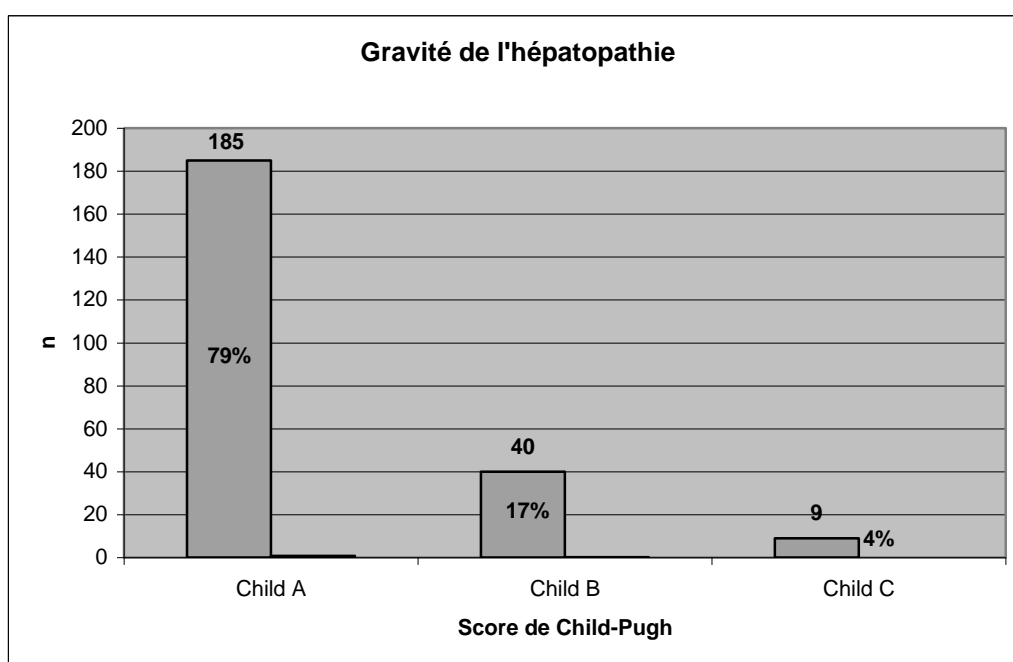


Figure 17 : Evaluation du score de Child-Pugh dans la population étudiée

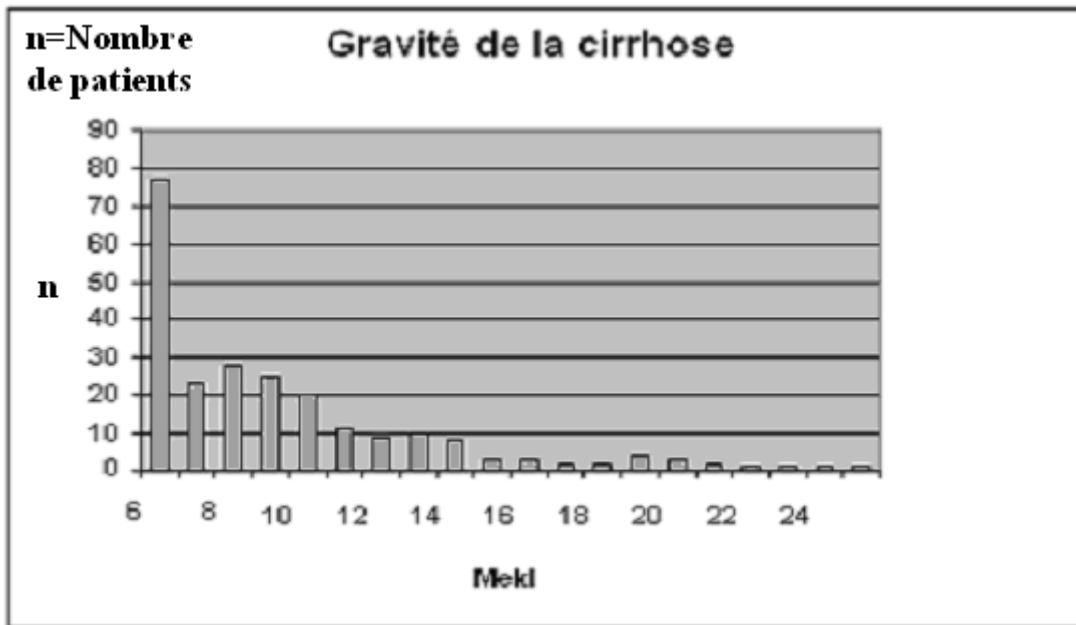


Figure 18 : Evaluation du score de Meld dans la population étudiée

1.3 : Stadification tumorale et classifications pronostiques des patients

En utilisant les critères de Milan selon lesquels un « petit CHC » est défini par la présence de 2 ou 3 nodules dont le diamètre du plus volumineux est de maximum 3 cm ou un nodule unique de taille maximum 5 cm, on observait 143 malades (61 %) avec des petits CHC et 78 (33 %) avec un gros CHC (Figure 19). Treize patients ont eu une évaluation radiologique hors CHU pour laquelle les résultats n’ont pu être obtenus.

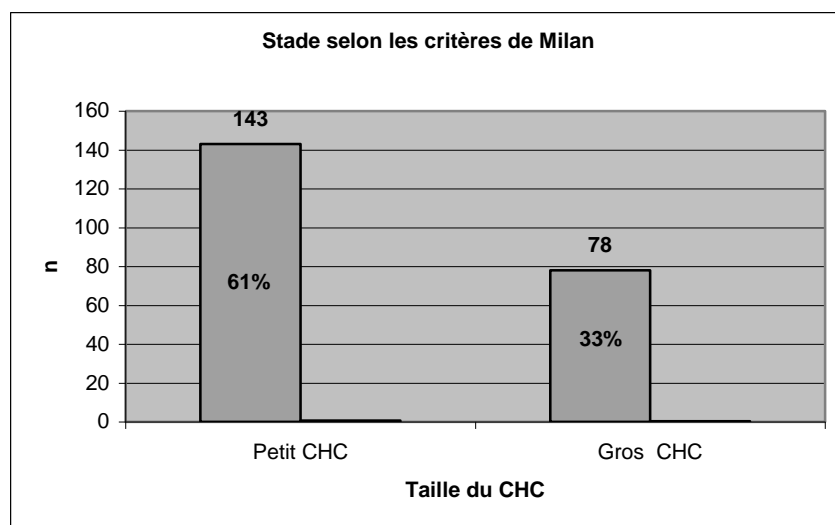


Figure 19 : Evaluation de la masse tumorale dans la population totale

Concernant la stadification BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) (cf. ANNEXE 3) qui présente l'avantage de proposer un algorithme de traitement, là encore on observe que le diagnostic de CHC était posé à un stade précoce, avec 135 (58 %) patients au stade A (CHC précoce), 54 (23 %) au stade B (CHC intermédiaire), 21 (9 %) au stade C (CHC évolué) et 13 (5 %) au stade D (CHC terminal).

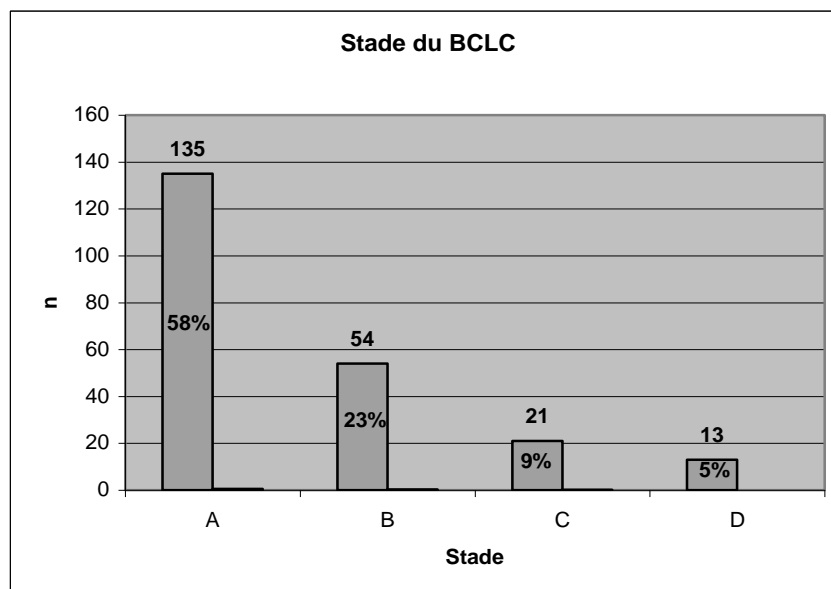


Figure 20 : Stadification BCLC de la population totale

1.4 : Perturbations des paramètres sériques martiaux

La moyenne de la ferritinémie était de 308,7 ng/mL avec une DS (Déviation Standard) de 519,5 pour les femmes (n = 22) et de 450,9 ng/mL avec une DS de 449,9 pour les hommes (n=212).

Le coefficient de saturation moyen était de 29,7 %, avec une DS de 19,5 pour les femmes et de 38,2 % pour les hommes avec une DS de 25,4.

Cent neuf malades (49 %) avaient des perturbations du bilan martial sérique, hors hémochromatose de type 1,

- avec une hyperferritinémie (ferritine sérique > 300 ng/mL chez l'homme et 200 ng/mL chez la femme)
- et/ou une élévation du CST (> 50 % chez l'homme ; > 45 % chez la femme).

Parmi ces 109 patients avec des perturbations du bilan martial, 100 ont eu à ce jour une évaluation de la charge hépatique en fer par IRM ou méthode biochimique.

Ce groupe de 109 patients était constitué de 6 femmes et 103 hommes, l'âge moyen était de 60 ans, avec une médiane à 61 ans et une déviation standard à 9,4 années. L'âge moyen était inférieur d'une année à celui de la population totale.

Les 109 patients avec une perturbation du bilan martial avaient un score de Meld moyen à 9,93 (médiane = 9 ; DS= 4) alors que dans la population totale le score de Meld était à 9,3. Un score de Child A était retrouvé chez 75 % des 109 patients.

La moyenne de la ferritinémie était de 378,5 ng/mL (DS=11,9) pour les femmes (n = 6) et de 741 ng/mL (DS=681) pour les hommes (n=103). Le coefficient de saturation moyen était de 35,2 % (DS=11,9) pour les femmes et de 48,4 % pour les hommes (DS=23,2).

1.5 : Fréquences alléliques C282Y et H63D de HFE

On calcule la fréquence alléliques à partir des fréquences génotypiques grâce à la formule suivante :

$$P = f(mm) + 0,5 * f(Nm)$$

f(mm) : fréquence du génotype homozygote muté

f(Nm) : fréquence du génotype hétérozygote

Nous n'avons pas de population contrôle, c'est-à-dire sans CHC, car ce n'était pas le but de l'étude, nous allons donc comparer les fréquences alléliques de notre population de CHC génotypés avec celles répertoriée dans la région du Languedoc Roussillon [142] : la fréquence allélique de H63D est de 16,9 % ± 1,5 % et celle de C282Y de 3 % ± 0,7 %.

Génotype <i>HFE</i>	n=patients avec CHC
wt/wt-wt/wt	31
C282Y/wt-wt/wt	3
C282Y/C282Y-wt/wt	12
C282Y/wt-H63D/wt	3
Wt/wt-H63D/H63D	3
Wt/wt-H63D/wt	18
Total	70

wt : wild type *HFE*

		CHC (n=70)	%	Fréquence allélique Dans CHC	Fréquence allélique Dans Languedoc Roussillon
C282Y	-/-	52	74.3	0.214	0.030
	-/+	6	8.6		
	+/+	12	17.1		
H63D	-/-	46	65.7	0.185	0.169
	-/+	21	30		
	+/+	3	4.3		

- : wild type

+ : allèle muté

Tableau 6 : Prévalence des mutations C282Y et H63D chez les patients ayant un CHC avec génotypage *HFE*

La fréquence allélique de H63D n'était donc que très modérément augmentée dans la population avec un CHC, ce qui n'est pas le cas de C282Y.

2 – EVALUATION DE LA CHARGE EN FER HEPATIQUE

Les CHF ≥ 100 $\mu\text{mol/g}$ sont considérées comme majeures, celles entre 40 et 100 $\mu\text{mol/g}$ comme moyenne et normales si inférieures à 40 $\mu\text{mol/g}$.

Les patients avec une charge martiale hépatique moyenne ou majeure (sur 100 évaluations IRM ou par méthode biochimique) sont au nombre de 41 : 13 patients avaient une surcharge considérée comme majeure et 28 une surcharge moyenne. Ces malades représentaient 41 % des patients avec une perturbation du bilan sérique martiale et 18 % de la population étudiée non homozygote pour C282Y de *HFE*. La valeur moyenne de CHF était de 50,6 $\mu\text{mol/g}$ et la médiane de 35 $\mu\text{mol/g}$ avec un minimum de 0 et un maximum de 350 $\mu\text{mol/g}$. L'écart type était de 59,8, ce qui nous montre des valeurs de CHF largement distribuées autour de la moyenne.

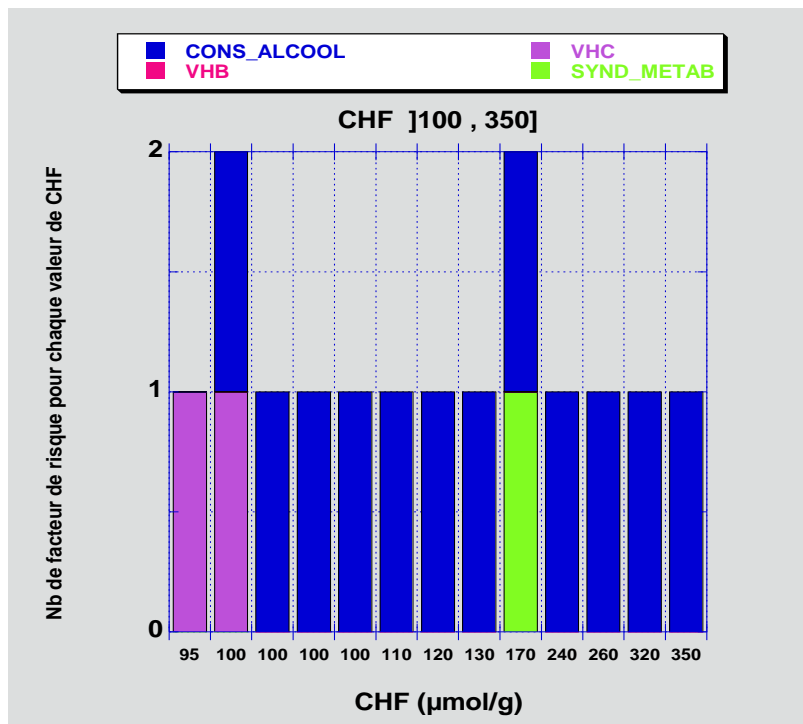


Figure 21a : facteurs de risque chez les patients avec une CHF ≥ 100 µmol/g

La figure 21a montre la présence des facteurs de risque (alcool, VHC, syndrome métabolique) pour chaque valeur de CHF majeure attribuée à un patient donné. Ainsi, le facteur « consommation alcoolique excessive » apparaît 12 fois, le facteur « VHC » 2 fois et le facteur « syndrome métabolique » une fois. Le facteur « consommation alcoolique excessive » est donc surreprésenté. Les patients avec pour seul facteur de risque acquis l'alcool étaient au nombre de 10, soit 77 % des surcharges martiales majeures.

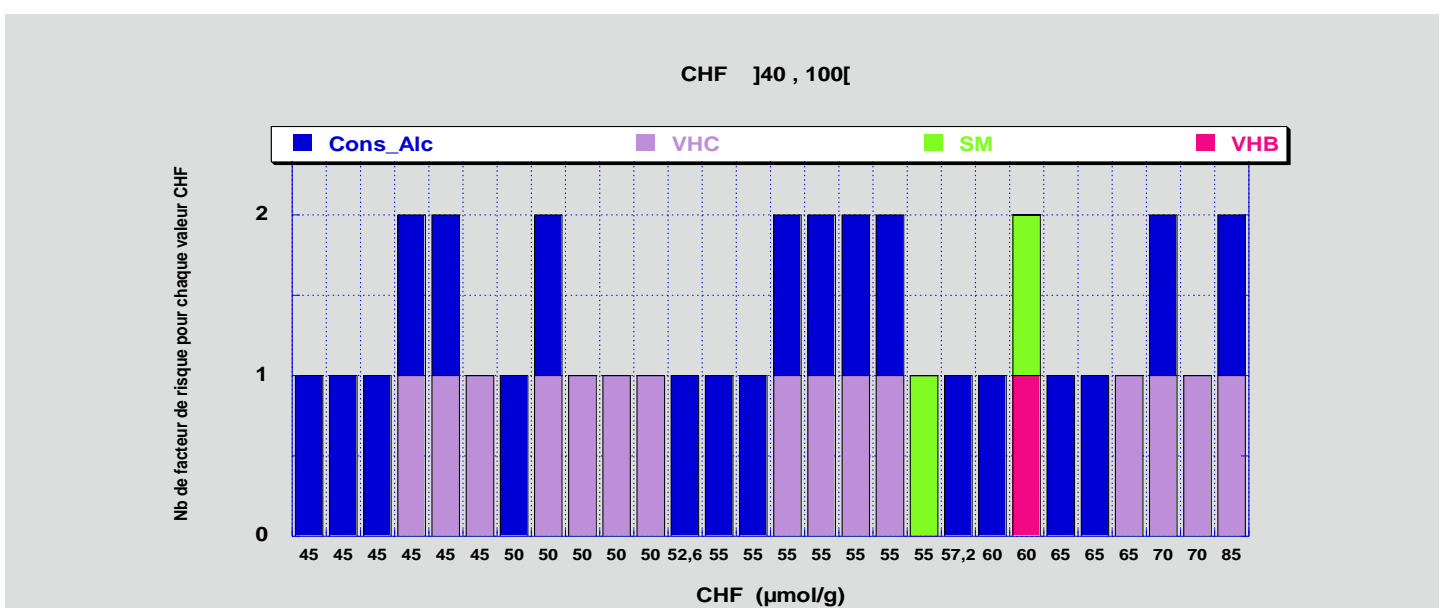


Figure 21 b : facteurs de risque chez les patients avec une CHF comprise entre] 40-100[µmol/g

Cette figure (21b) indique que les patients avec consommation alcoolique excessive sont au nombre de 11 (39 %) dans cet intervalle de CHF, 9 (32 %) pour les VHC et consommateurs excessifs d'alcool, 6 (21 %) pour les VHC seuls.

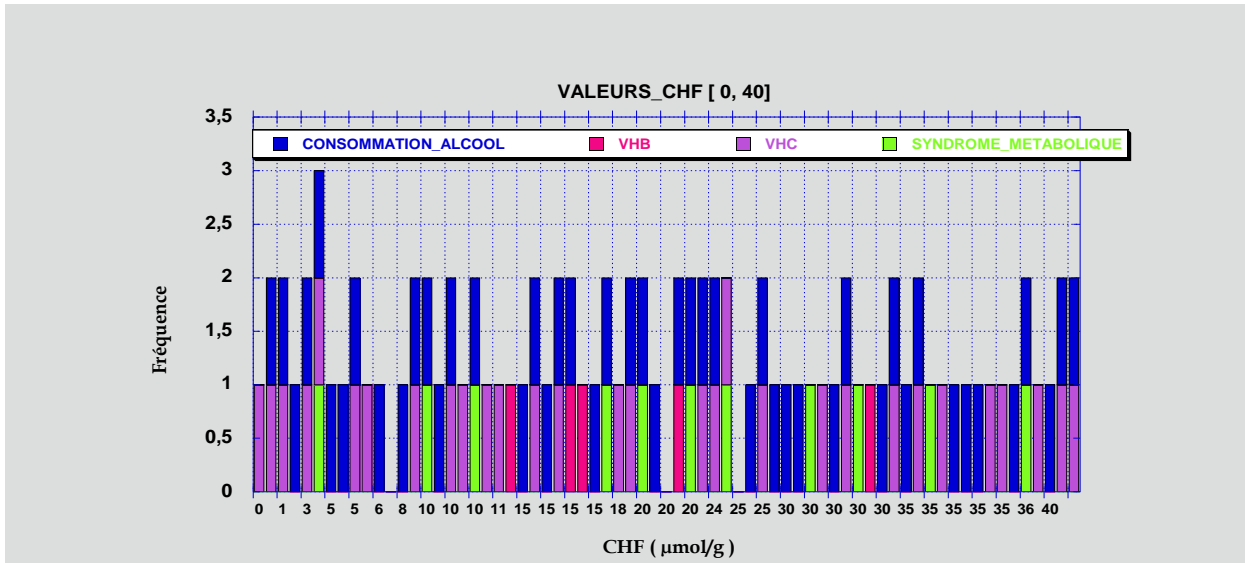


Figure 21 c : facteurs de risque chez les patients avec une CHF $\leq 40 \mu\text{mol/g}$

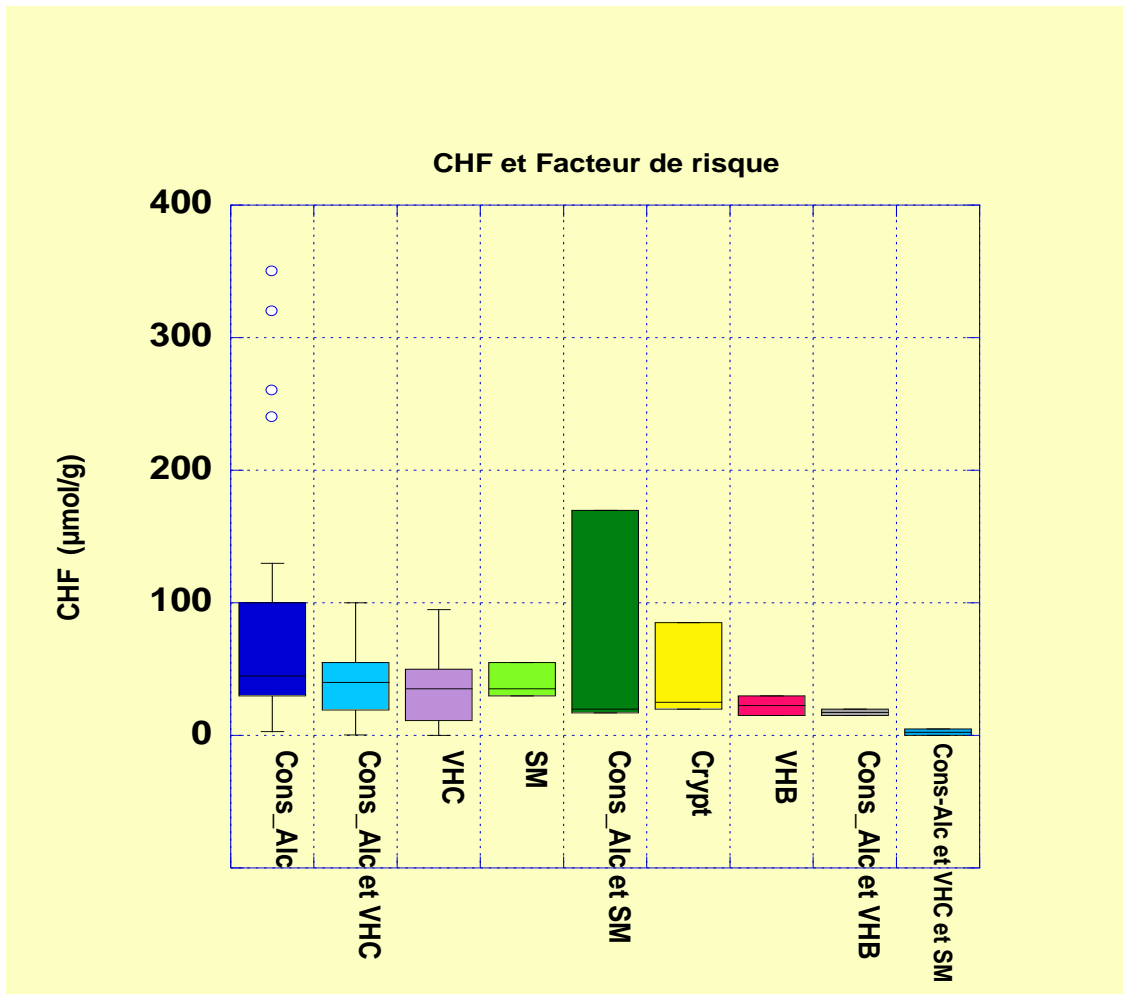


Figure 22 : box plot de la CHF en fonction des facteurs de risque combinés ou non

La droite horizontale au centre des box plot indique la médiane (percentile 50). Le haut et le bas de la boîte indiquent respectivement les percentiles 25 et 75. Le haut et le bas des « moustaches » indiquent les valeurs maximale et minimale sauf pour les valeurs extrêmes qui elles sont situées en dehors des moustaches.

Les patients (n=37) ayant une perturbation du bilan martial et pour seul facteur de risque la consommation alcoolique excessive avaient une CHF moyenne de 75 $\mu\text{mol/g}$, une médiane de 45 $\mu\text{mol/g}$ avec un écart type de 112 $\mu\text{mol/g}$, DS à 84.

Les patients avec une hépatite C chronique et des anomalies martiales sans consommation d'alcool (n=17), avaient une CHF moyenne de 36,2 $\mu\text{mol/g}$, une médiane de 35 $\mu\text{mol/g}$ avec un écart type de 44 $\mu\text{mol/g}$, DS à 25,9.

Enfin, les malades consommateurs d'alcool et porteurs d'une hépatite C chronique , avec des perturbations du bilan martial (n=25) avaient une CHF moyenne de 37,8 $\mu\text{mol/g}$, une médiane de 40 $\mu\text{mol/g}$ avec un écart type de 45 $\mu\text{mol/g}$, DS à 25.

Chez les patients avec une consommation excessive d'alcool et une perturbation du bilan martial sérique, on observe une surcharge martiale hépatique d'intensité moyenne si on considère la CHF moyenne.

Les patients ayant une hépatite C chronique et une perturbation du bilan du fer sérique n'avaient pas nonplus, en moyenne ou selon la médiane, de surcharge hépatique martiale.

Ceux qui cumulent la consommation alcoolique et l'hépatite C n'ont pas non plus de surcharge martiale hépatique en moyenne ou selon la médiane.

	Sexe	age du diag	IMC	alcoolisme	HTA	Diabete	glycémie	HbA1C	chol total	triglyceride	Child	Meld	VHB chronique	VHC chronique
1	m	67,0	25,3	oui	oui	oui	7,3	4,5	0,97	0,66	B	20	non	non
2	m	69,0	27,9	oui	oui	non	5		1,73	0,87	B	14	non	non
3	m	69,0	20	oui	non	oui	6,2	4,5			A	13	non	non
4	m	56,0	26	oui	oui	oui	5,2	6,7	1,97	1,36	A	6	non	non
5	m	54,0	24	oui	non	non	5	3,6	1,93	0,62	B	12	non	oui
6	m	52,0	25,7	oui	non	non	4	5	1,59	0,76	C	22	non	non
7	m	62,0	19	oui	non	non	4,4	4,9	1,09	0,46	A	6	non	non
8	m	62,0	24	non	non	non	10,9	6,1	1,8	1,55	A	7	non	oui
9	f	56,0	26,4	oui	oui	non	4,9	7,6	2,04	1,73	A	6	non	non
10	m	56,0	23	oui	non	non	4,7	4,4	3,61	2,09	B	8	non	non
11	m	67,0	31,7	oui	oui	non	6,5	3,7	1,49	0,46	C	24	non	non
12	m	66,0	33	oui	oui	non	4	4,9	1,98	0,77	A	9	non	non
13	m	54,0	29,7	oui	non	oui	8,6	6	0,79	1,55	B	10	non	non

	Hb	VGM	TP	INR	GB	Plaquettes	albumine	creatinine	ALAT (xN)	ASAT (xN)	gGT (xN)	PAL (xN)	Bil T	Bil C	aFP
1	10,7	110	42	1,7	6	84	39	71	1,2	1,9	2,5	1,9	117	50	4,5
2	13,9	101	76	1,20	7,4	126	46,4	92	1,5	2,3	4,3	1	74	37	2,6
3	9,6	117	71	1,26	2,6	41	43	91	1	1	6	1	44	16	1117
4	14,5	97	80	1,1	5,7	124	47,1	67	1	1	2,4	1	7	3	11,1
5	14	96	61	1,43	5,7	183	30	63	2	3,5	1,5	1,8	41	19	827
6	10,8	104	36	2,19	4	60	18	73	1	1,8	1	1	117	57	1,4
7	11,1	107	100	0,96	8,3	82	28	81	1	1,4	4,6	1,1	4	2	3,7
8	13,6	101	100	0,96	4,4	50	35	65	1,8	2	4,6	1,2	21	11	15
9	12,2	94	100	0,96	7,8	302	41	107	1	1	1	1	7	3	3,8
10	13,4	106	79	1,16	7,9	120	29	55	1	1	5,2	2	52	23	5
11	11,3	101	30	2,54	16,8	78	26	85	1,1	1,9	1	1,3	122	47	3,4
12	15,4	99	72	1,25	6,4	95	47,2	66	1,1	1,2	2	1	33	13	19,6
13	10,1	807	64	1,38	3,3	45	25	62	1	1	1	1	45	16	5,3

	CST	Ferritine	CHF	genotype HFE
1	90,1	1348	120	NN/Nm
2	53	630	260	NN/Nm
3	85,2	2124	350	NN/Nm
4	40,7	531	100	NN/Nm
5	28,7	403	100	NN/Nm
6	62	1215	110	NN/NN
7	22,8	828	240	NN/NN
8	50,7	2441	95	NN/Nm
9	19,5	823	100	NN/Nm
10	88,1	699	130	NN/NN
11	90,5	605	170	NN/Nm
12	64,9	444	320	Nm/Nm
13	86,9	807	100	NN/NN

	masse tumorale (milan)	stade Barcelone
1	petit CHC	A
2	petit CHC	A
3	petit CHC	A
4	petit CHC	A
5	petit CHC	A
6	petit CHC	D
7	gros CHC	A
8	gros CHC	B
9	gros CHC	B
10	petit CHC	A
11	petit CHC	D
12	petit CHC	A
13	petit CHC	A

Tableau 7 : Caractéristiques clinico-biologiques des 13 patients avec une CHF majeure

Le groupe de patients avec une surcharge martiale hépatique considérée comme majeure était constitué par 12 hommes et une femme. L'âge moyen était de 60,8 années avec une médiane de 62 ans, un minimum de 54 ans et un maximum de 69 ans. Concernant le bilan martial, la ferritine moyenne était de 992,2 ng/mL, médiane à 807, minimum à 444 et maximum 2441 ; le CST était en moyenne à 60,2 %, médiane à 62 %, minimum à 22,8, maximum à 90,5.

Dans ce groupe, la CHF moyenne était de 168,8 μ mol/g, médiane 120. Quatre patients n'avaient aucune mutation du gène *HFE*, un sujet était double hétérozygote et huit étaient hétérozygotes pour la mutation H63D. Un patient avait une hépatite C chronique sans consommation alcoolique, un malade cumulait les deux (consommation alcoolique excessive et infection chronique virale C) et les autres avaient tous une consommation alcoolique excessive. Un patient présentait un syndrome métabolique.

La gravité de la cirrhose était évaluée avec le score de Child-Pugh : 46 % de A, 39 % de B, 15 % de C. Le score de Meld moyen était de 12.

Selon les critères de Milan, 77 % des patients avaient un petit CHC.

Si on compare avec la population étudiée initiale, la proportion d'hépatopathie Child-pugh A est inférieure dans le groupe avec une surcharge martiale majeure (46 % contre 79 % dans la population initiale).

Gravité de la cirrhose et CHF :

Chez les patients sans surcharge martiale hépatique ($CHF \leq 40 \mu\text{mol/g}$) la proportion de cirrhose Child-Pugh A (78 %) était équivalente à celle des patients avec surcharge martiale modérée (78 %). Par contre, les patients avec un $CHF > 100 \mu\text{mol/g}$ avaient une proportion de stade Child-Pugh A bien moindre (46 %).

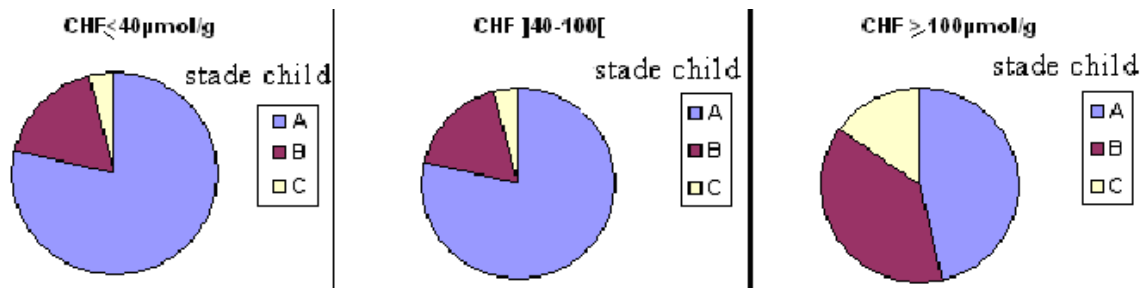


Figure 24 : Gravité de la cirrhose en fonction de la charge hépatique en fer

3 – SEQUENCAGE DU GENE *SLC40A1*

Treize des 109 malades avaient une surcharge hépatique en fer majeure, estimée à plus de $100 \mu\text{mol/g}$ de foie sec. Aucune altération de séquence du gène *SLC40A1* n'a été observée à l'exception de polymorphismes connus non pathogènes.

Les polymorphismes retrouvés étaient les suivants :

Patient	SLC40A1 - CHC																				
	c.-98G>C (5'UTR)			c.-8C>G (5'UTR)			c.43+68A>C (IVS1)			c.44-24G>C (IVS1)			c.663T>C ou p.V221V (exon6)			c.1402+62G>T (IVS7)			c.1402+117C>T (IVS7)		
	gg	gc	cc	cc	cg	gg	aa	ac	cc	gg	gc	cc	tt	tc	cc	gg	gt	tt	cc	ct	tt
1		X			X			X				X		X		X			X		
2	X						X					X		X		X				X	
3		X						X			X		X			X			X		
4	X						X					X			X	X			X		
5	X						X					X			X	X			X		
6		X						X				X	X			X				X	
7		X						X				X		X		X			X		
8	X						X					X			X	X			X		
9		X			X			X				X		X		X			X		
10		X			X		X				X			X		X			X		
11	X			X				X			X				X	X			X		
12	X			X					X			X			X	X			X		
13		X			X			X				X		X		X			X		

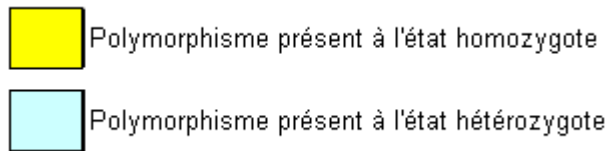


Tableau 8 : Polymorphismes de *SLC40A1* chez les 13 patients inclus

On remarque que le polymorphisme **c.44-24 G>C (IVS1)** est retrouvé à l'état homozygote (CC) chez 10 patients sur 13 avec une surcharge hépatique majeure et à l'état hétérozygote chez les trois patients restants.

4 – RECAPITULATIF DES PRINCIPAUX RESULTATS

Deux cent trente quatre malades (212 hommes, 22 femmes, âge moyen 61 ans) ayant un CHC ont été inclus. Deux cent six malades (88 %) avaient une cirrhose, 162 (69 %) une consommation excessive d'alcool, 105 (45 %) une infection chronique virale B ou C, 34 (14,5 %) un syndrome métabolique. Douze (5 %) malades, homozygotes C282Y, ont été exclus. Cent neuf (49 %) malades avaient des perturbations du bilan martial sérique telles que définies dans le paragraphe "matériel et méthodes". Treize de ces 109 malades avaient une surcharge hépatique en fer majeure, estimée à plus de 100 µmol/g de foie sec. Le séquençage du gène *SLC40A1* a été réalisé chez tous ces patients ; aucune mutation pathogène n'a été mise en évidence. Parmi les polymorphismes décrits dans la littérature, **663 T->C** est retrouvée chez 11 patients et surtout, le polymorphisme **c.44-24 G>C (IVS1)** est présent chez tous les patients.

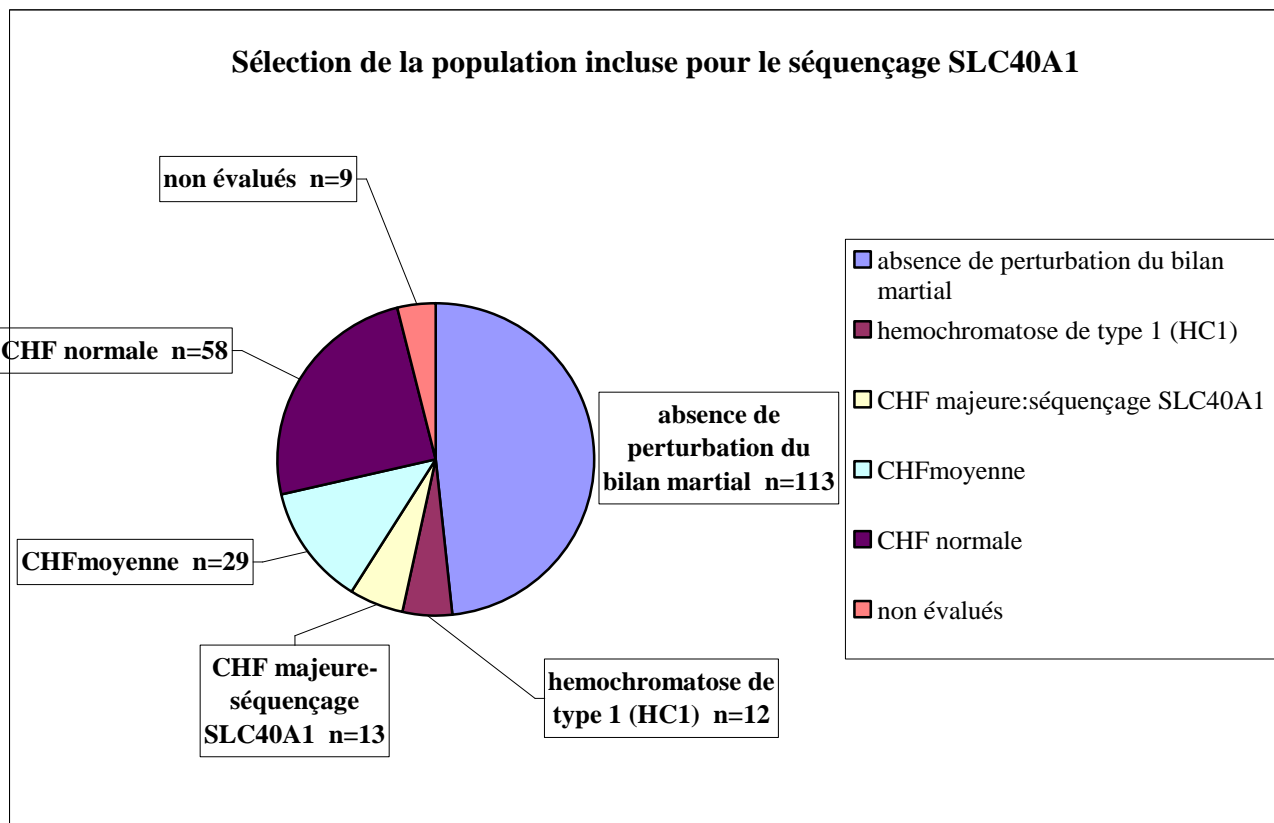


Figure 25 : Sélection du groupe de malades avec une surcharge martiale hépatique majeure ayant conduit au séquençage du gène de la ferroportine

CHAPITRE 5



DISCUSSION

Au total, 234 patients posant le problème d'un CHC ont été inclus de manière prospective dans cette étude. Douze patients, porteurs d'un CHC et homozygotes pour la mutation C282Y du gène *HFE* ont été exclus. Deux cent vingt-deux malades ont donc été pris en compte et étudiés. Cent neuf malades, présentaient une élévation de l'un ou de l'autre des paramètres sériques martiaux sans diagnostic connu d'hémochromatose de type 1. Cent de ces patients ont bénéficié d'une évaluation de la charge en fer hépatique soit par IRM, soit par méthode biochimique. Treize d'entre eux avaient une surcharge martiale hépatique majeure estimée à plus de 100 $\mu\text{mol/g}$ de foie sec. Le séquençage du gène *SLC40A1* n'a identifié aucune mutation décrite comme pathogène. Cependant, le polymorphisme **c.44-24 G>C (IVS1)** est retrouvé chez tous ces patients et à l'état homozygote chez dix d'entre eux.

A ce stade de l'étude, les trois points suivants semblent devoir être discutés ou argumentés:

- Tout d'abord, le choix des critères d'inclusion et d'exclusion a-t-il permis de sélectionner de manière exhaustive la population la plus à même d'avoir la maladie ferroportine ? Tous les diagnostics différentiels ont-ils bien été éliminés ?
- Que penser des polymorphismes du gène *SLC40A1* ? Peuvent-ils néanmoins influencer le métabolisme du fer ?
- Enfin, peut-on écarter une étiologie génétique à la surcharge hépatique majeure de ces 13 patients et l'attribuer uniquement aux facteurs acquis (consommation alcoolique excessive, hépatite C chronique...) ? Si la surcharge martiale est acquise, est-elle la cause ou la conséquence de la gravité de l'hépatopathie sous jacente ? Un traitement déplétif aurait-il un intérêt ?

1 – SELECTION DE LA POPULATION ETUDIEE

Les critères d'inclusions biologiques (ferritine sérique >300 ng/ml chez l'homme et 200 ng/ml chez la femme et/ou une élévation du CST >50 % chez l'homme ; >45 % chez la femme) ont bien pris en compte les deux types de phénotypes de la maladie ferroportine, aussi bien le type A qui se caractérise par une hyperferritinémie et un CST normal ou bas, que le type B ou l'hyperferritinémie est associée à un CST élevé.

Le fait d'avoir évalué la concentration hépatique en fer a permis d'éliminer deux diagnostics différentiels d'hyperferritinémie à CST normal : l'hyperferritinémie dysmétabolique où la CHF est normale ou modérément élevée et le syndrome Cataracte hyperferritinémie, pathologie héréditaire très rare, où il n'y pas de surcharge martiale.

Certains diagnostics étiologiques des surcharges hépatiques majeures et donc certains diagnostics différentiels potentiels de la maladie ferroportine n'ont pas fait l'objet d'une recherche spécifique :

- L'acéruoplasminémie héréditaire qui se caractérise par une hyperferritinémie à CST normal ou bas et une surcharge en fer viscérale diffuse. Le tableau clinique de cette surcharge en fer héréditaire très rare peut néanmoins évoquer le diagnostic devant l'importance des signes neurologiques (signes extra-pyramidaux, ataxie cérébelleuse, démence), ce qui n'était pas le cas chez les 13 patients inclus.
- **L'hémochromatose de type 2**, dite juvénile s'accompagne elle aussi d'une hyperferritinémie d'un CST élevé et d'une CHF élevée, qu'elle soit de type 2A (gène HVJ) ou 2B (gène HAMP). L'âge des patients inclus n'est toutefois pas compatible avec ce diagnostic, bien que celui-ci ne puisse être écarté formellement car il existe des formes d'expression tardive ou incomplète. Les mutations du gène *HAMP* devront être recherchées, en particuliers chez les patients hétérozygotes pour la mutation *HFE* C282Y chez qui ces mutations, si elles sont retrouvées peuvent conférer un phénotype atteint.
- **L'hémochromatose de type 3**, liée des mutations du récepteur 2 de la transferrine (TFR2) est également un diagnostic envisageable : le tableau clinique se rapproche du phénotype B de la maladie ferroportine avec l'hyperferritinémie, le CST élevé et le CHF élevé. La recherche de mutations de ce gène devra donc être réalisée chez ces 13 patients.

D'autres mutations de *HFE* sont elles possibles ?

C'est certainement le premier diagnostic à envisager, en particulier chez les patients hétérozygotes C282Y. Un séquençage complet du gène *HFE* pourrait être réalisé (Séquençage des 6 exons et jonctions introns-exons) chez les patients hétérozygotes C282Y. En effet, il a été décrit que l'hétérozygotie C282Y/S65C pourrait contribuer au développement d'une surcharge en fer. Les autres mutations faux sens, non sens, d'épissage ou délétionelles du gène *HFE*, si elles sont rares, peuvent s'exprimer quand elles sont associées à une hétérozygotie C282Y (dans la majorité des cas) ou H63D. Parmi les 13 patients avec la surcharge hépatique en fer majeure, 4 n'ont aucune mutation du gène *HFE*, un sujet est double hétérozygote et huit sont hétérozygotes pour la mutation H63D. Il faudrait donc rechercher les autres mutations du gène *HFE* chez ces sujets double hétérozygotes et hétérozygotes pour la mutation H63D.

Une autre remarque sur les critères d'inclusion peut être faite : si les paramètres sériques martiaux sont bien compatibles avec les deux phénotypes de l'hémochromatose de type 4, il n'en est pas de même pour les critères radiologiques et histochimiques. La surcharge martiale macrophagique de la rate n'a pas été évaluée et elle survient dans les stades précoces du phénotype 2A. Cependant, l'axe centrale de notre étude était le CHC et non le diagnostic précoce de la maladie ferroportine.

2 – QUE PENSER DES POLYMORPHISMES RETROUVES ?

La maladie ferroportine est génétiquement hétérogène avec 36 mutations décrites, 9 polymorphismes dans les régions exoniques dont 3 d'entre eux sont associés à une élévation de la ferritinémie dans différentes populations [86].

D'autres polymorphismes sont connus dans les régions introniques flanquantes les exons et l'extrémité 5'UTR.

L'étude des huit exons et des jonctions intron/exon et de l'extrémité 5'UTR chez des patients ayant une surcharge martiale hépatique majeure pouvant correspondre à la maladie ferroportine n'a pas permis la mise en évidence de mutations délétères. Cependant, plusieurs polymorphismes ont été identifiés de manière récurrente chez les patients étudiés.

La mutation ponctuelle située dans l'exon 6, **663 T->C**, où la thymidine est remplacée par une cytosine, correspond à une mutation neutre du codon 221(V221V). Cette mutation est silencieuse car remplacer la troisième base T de GTT par un C aboutit au même acide aminé. Le polymorphisme **663 T->C** est présent à l'état homozygote ou hétérozygote chez 11 patients. Ce polymorphisme a été décrit par Beutler et al. [135].

L'étude de l'exon 1 et de ces régions voisines a permis de mettre en évidence deux polymorphismes situés dans la région 5' non traduite (5'UTR) en position -8 et -98 par rapport au codon initiateur ATG (**5'UTR-8 (C->G)** et **5'UTR-98 (G->C)**). Ils sont présents à l'état hétérozygote chez 7 patients pour le premier et les 7 mêmes patients pour le second (en effet ces polymorphismes sont en déséquilibre de liaison, c'est-à-dire transmis simultanément). Ils n'affectent pas l'initiation de la transcription et n'influent pas la ferritinémie [135].

Le polymorphisme **IVS1 nt 68 (A->C)**, est situé dans l'intron 1. Ce polymorphisme est présent à l'état hétérozygote chez 6 patients et à l'état homozygote chez 5 patients. Il s'agit *a priori* d'un polymorphisme car cette mutation intervient dans un intron, à distance de la jonction intron/exon et le risque d'affecter la production est faible mais possible s'il y a

atteinte d'un site d'épissage. Cette mutation n'a pas été répertoriée dans la littérature mais est connue du laboratoire d'hématologie du CHU de Saint Eloi.

Un autre polymorphisme intronique est retrouvé chez deux patients à l'état hétérozygote, **IVS7 nt 117 (C->T)**. Il n'est pas non plus répertorié dans la littérature mais a déjà été mis en évidence chez un patient du laboratoire d'hématologie de Montpellier sans répercussions phénotypiques.

Le polymorphisme **IVS1 nt-24 (G->C)** est quant à lui retrouvé à l'état homozygote chez 10 patients et à l'état hétérozygote chez 3 malades. Ce polymorphisme a déjà été décrit dans la littérature [136] : le génotype **IVS1 nt-24 C/C** est observé chez 3 % des caucasiens mais a une prévalence supérieure chez les africains d'origine sub-saharienne chez qui il est associé à une surcharge martiale [138]. Certains articles décrivent un phénotype pathologique. L'article de L. Valenti, publié en 2009 [137] dans *Digestive and Liver Disease* rapporte une récurrence précoce d'hépatosidérose sévère sur un greffon. Le patient avait été greffé pour cirrhose post infection chronique virale C. Après la transplantation est apparue progressivement une hépatosidérose d'abord Kùpfferienne puis parenchymateuse avec des signes histologique d'activité virale C faibles. Il n'y avait pas de mutations HFE pour C282Y, H63D, S65C, ni pour le gène du récepteur 2 de la transferrine, de l'hémojuvéline ou de l'hepcidine. Le criblage du gène de la ferroportine retrouvait le polymorphisme **IVS1 nt-24 (G->C)** à l'état homozygote associé à des variations micro satellitaire au niveau du promoteur (CGG)_n 8/9 (un allèle avec répétition de 8 (CGG) et l'autre allèle avec 9 répétitions). Ce dernier polymorphisme est associé à des surcharges martiales inexplicables chez les caucasiens chez lesquels il est rarement retrouvé. L'intérêt de cet article réside dans le fait que les auteurs ont complété le criblage du gène de la ferroportine avec une analyse de l'expression de cette protéine dans les monocytes hépatiques et ont mis en évidence une diminution de 50 % de son expression dans ces cellules par rapport à l'expression dans les monocytes hépatique de patients contrôles sains. Dans la mesure où la baisse de l'expression de la ferroportine induit une rétention de fer dans les macrophages [139], les auteurs concluent que cette baisse d'expression de la ferroportine dans les monocytes hépatiques est la cause de sa surcharge martiale hépatique majeure. Cependant, on ne peut certifier l'origine de la modification du profil d'expression de la ferroportine. Est elle liée aux polymorphismes retrouvés, à d'autres facteurs génétiques, ou à l'association avec des facteurs acquis ?

Le même auteur a recherché une association entre **IVS1 nt-24 C/C** et la présence d'hyperferritinémie ou d'hépatosidérose chez 274 patients italiens avec fibrose hépatique non alcoolique [140]. L'analyse statistique montrait une association entre les dépôts de fer

parenchymateux hépatique et l'hétérozygotie C282Y, l'homozygotie H63D et le trait β thalassémique mais pas avec **IVS1 nt-24 C/C**.

Enfin, Altes et al. [141] mettent en évidence une relation entre **IVS1 nt-24 C/C** et l'agressivité clinique de l'hémochromatose de type 1 chez 83 patients portant ce polymorphisme. Dans leur groupe de patients, ce polymorphisme est un facteur prédictif indépendant de la sévérité de la surcharge martiale et de l'atteinte hépatique en analyse uni et multivariée.

Nous avons effectué une analyse *in silico* par le site Human Splicing Finder mais **IVS1 nt-24 C/C** ne semble pas altérer de sites d'épissage, de motifs enhancer ou silencer.

D'autres études devraient donc être réalisées et notamment celles des profils d'expression de la ferroportine.

Il aurait été intéressant de rechercher ce polymorphisme chez les 12 malades exclus initialement pour hémochromatose de type 1, pour évaluer son influence sur l'expression phénotypique.

3 – SURCHARGES MARTIALES ACQUISES ET CHC

Dans l'ensemble de la population étudiée, 109 malades (49 %) avaient des perturbations des paramètres sériques martiaux dont 41 % avaient une surcharge hépatique en fer moyenne ou majeure soit 18 % de la population totale non homozygote pour C282Y de *HFE*. La CHF moyenne était plus élevée chez les patients ayant pour seul facteur de risque la consommation alcoolique excessive (CHF_{moy}= 75 μ mol/g, pour un nombre de malades n = 37), suivie des patients consommateurs alcooliques excessifs avec un syndrome métabolique (CHF_{moy}= 56,7 μ mol/g, pour n = 4). L'hépatite C chronique n'était pas associée en moyenne à une surcharge martiale hépatique quand elle est le seul facteur de risque (CHF_{moy}= 36,2 μ mol/g, pour n = 17) ni quand elle s'associe à la consommation alcoolique (CHF_{moy}= 37,8 μ mol/g, pour n = 25). La cirrhose était plus grave en cas de surcharge hépatique majeure mais pas en cas de surcharge moyenne.

La sévérité de l'atteinte hépatique n'est pas toujours corrélée à l'intensité de la consommation alcoolique. La surcharge martiale hépatique est un de ces facteurs qui pourrait contribuer à la toxicité de l'alcool. L'alcool induit-il directement des anomalies du métabolisme du fer ou certains consommateurs d'alcool sont ils plus susceptibles de présenter une surcharge martiale d'origine génétique ? Les deux possibilités sont admises, avec d'une part une action directe du métabolisme de l'alcool sur le métabolisme du fer par augmentation du nombre de récepteurs

à la transferrine dans les hépatocytes; et d'autre part, l'existence de certaines anomalies génétiques du métabolisme du fer qui seraient non exprimées en absence d'alcool.

De moindres degrés d'accumulations sont retrouvés dans les autres causes d'hépatopathies chroniques en particulier dans l'hépatite C chronique et la cirrhose NASH.

Au total, la surcharge martiale hépatique semble être, par les effets du stress oxydatif et des dommages tissulaires induits, un cofacteur impliqué dans la progression de l'histoire naturelle des malades ayant une cirrhose et exposés au risque de CHC. Les facteurs influençant cette surcharge et le risque de survenue du CHC étant communs, cela rend l'analyse de ces facteurs plus délicates. Il conviendrait de réaliser des analyses multivariées complexes au sein de cohorte de grande ampleur, homogènes pour l'âge, le sexe, la sévérité de l'atteinte hépatique. Par ailleurs, les causes et les conséquences de la surcharge martiale hépatique sont aussi dépendantes de la cause de l'hépatopathie sous jacente, la cirrhose et le CHC représentant des stades évolutifs communs à des maladies de causes différentes.

Mais la surcharge en fer du foie dépend non seulement de l'hépatopathie sous jacente mais aussi d'un ensemble complexe de facteurs épidémiologiques et génétiques encore peu systématisés.

Cependant, en pratique clinique, la CHF devrait être déterminée pour mieux identifier les patients les plus à risque de CHC et qui pourraient bénéficier de mesures préventives déplétives. Les phlébotomies ont montré leur efficacité dans les hémochromatose de type 1 (elles diminuent le nombre de complications et augmentent la survie). Des études randomisées devraient être réalisées pour évaluer les potentiels effets bénéfiques d'une déplétion sur le pronostic ou la prévention du CHC chez ces patients cirrhotiques consommateurs excessifs d'alcool ou avec une hépatosidérose métabolique au stade de cirrhose.

CONCLUSION

Le carcinome hépatocellulaire est la première cause de mortalité chez le patient cirrhotique. La recherche de facteurs de risques biologiques ou génétiques pourrait nous aider à sélectionner les patients chez qui les mesures de surveillance d'apparition du CHC doivent être intensifiées. De plus, l'identification de facteurs prédictifs nous conduirait à une meilleure compréhension de la carcinogenèse hépatique. Parmi ces facteurs, l'influence de la surcharge hépatique en fer et des mutations du gène HFE est reconnue. La relation hémochromatose-CHC n'est rapportée que de manière occasionnelle pour les autres gènes du métabolisme du fer et en particulier pour le gène de la ferroportine pour lequel seulement trois cas de CHC ont été décrits dans la littérature. Le support scientifique de cette relation est basé sur des études *in vitro* et *in vivo* qui montrent un effet accélérateur du fer sur la fibrose hépatique par le biais de la peroxydation lipidique, de la libération de radicaux libre, de l'altération de l'ADN avec notamment des mutations de p53, mais aussi un effet direct carcinologique par l'augmentation de la synthèse d'ADN et de cycline D1.

La maladie de la ferroportine est une cause rare de surcharge génétique en fer, de transmission autosomique dominante, liée à des mutations du gène *SLC40A1*. Ce gène code pour la ferroportine, principale protéine intervenant dans l'export du fer cellulaire. Deux formes phénotypiques sont proposées selon que la mutation entraîne une perte de fonction de la protéine (type A) ou un gain de fonction du fait de la résistance à l'hepcidine (type B). Dans les deux tableaux cliniques, à des stades évolués, la surcharge martiale hépatique est majeure. Deux cent trente quatre malades (212 hommes, 22 femmes) ayant un CHC ont été étudiés prospectivement. Deux cent six malades (88 %) avaient une cirrhose, 162 (69 %) une consommation excessive d'alcool, 105 (45 %) une infection chronique virale B ou C, 34 (14,5 %) un syndrome métabolique. Douze (5 %) malades, homozygotes C282Y, ont été répertoriés. Cent neuf (49 %) malades avaient des perturbations du bilan martial sérique telles que définies dans le paragraphe "matériel et méthodes". Dans la population étudiée, la CHF moyenne était plus élevée chez les patients ayant pour seul facteur de risque la consommation alcoolique excessive, l'hépatite C chronique n'était pas associée en moyenne à une surcharge martiale hépatique quand elle est le seul facteur de risque mais c'était le cas quand elle s'associe à la consommation alcoolique. Néanmoins, l'étude de l'effet des facteurs étiologiques environnementaux sur la surcharge martiale est limité d'une part par le fait que ces facteurs sont aussi la cause de l'hépatopathie sous jacente dont le degré de sévérité influe sur la surcharge martiale, et que d'autre part, le rôle joué par les facteurs génétiques restent à préciser.

Treize de ces 109 malades avaient une surcharge hépatique en fer majeure, estimée à plus de 100 $\mu\text{mol/g}$ de foie sec. Le séquençage du gène *SLC40A1* a été réalisé chez tous ces patients ; aucune mutation pathogène n'a été mise en évidence.

Il semble donc qu'il n'existe pas de relation entre les mutations du gène *SLC40A1* et le CHC ou que plutôt la fréquence des mutations est très faible et qu'il n'y a donc qu'un intérêt limité à proposer ce test dans le cadre du diagnostic étiologique. Les mutations du gène *SLC40A1*, par le biais d'une surcharge martiale, ne sont qu'une cause très marginale de CHC.

La présence du polymorphisme **IVS1 nt-24 (G->C)** chez les 13 malades inclus est troublante, d'autant plus que le génotype **IVS1 nt-24 C/C** n'est observé que chez 3 % des caucasiens (alors qu'il est présent avec une prévalence de 77 % dans le groupe des patients avec une surcharge en fer majeure) et que les données de la littérature semblent contradictoires sur un rôle potentiel dans la charge hépatique en fer. D'autres études devraient donc être réalisées spécifié son rôle et notamment des profils d'expression de la ferroportine dans les hépatocytes de ces patients.

Cependant, la recherche d'autres facteurs de risque génétique de la surcharge en fer et donc du CHC doivent être recherchés chez ces 13 patients comme les autres mutations du gène *HFE* chez les sujets double hétérozygotes et hétérozygotes pour la mutation H63D, les mutations du gène codant pour le récepteur 2 de la transferrine et du gène *HAMP*.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y., Romero MF, Boron WF, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388:482-8.
- [2] Shayeghi M, Latunde-Dada GO, Oakhill JS, Lafflah AH, Takeuchi K, Halliday N, et al. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 2000;122:789-801.
- [3] Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000;403:776-81.
- [4] McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D, et al. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000;5:299-309.
- [5] Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, Cowley L, Askwith C, Libina N, et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet* 1999;21:195-9.
- [6] Cherukuri S, Potla R, Sarkar J, Nurko S, Harris ZL, Fox PL. Unexpected role of ceruloplasmin in intestinal iron absorption. *Cell Metab* 2005;2:309-19.
- [7] Ponka P, Beaumont C, Richardson DR. Function and regulation of transferrin. *Semin Hematol* 1998;35:35-54.
- [8] Levy JE, Jin O, Fujiwara Y, Kuo F, Andrews NC. Transferrin receptor is necessary for development of erythrocytes and nervous system. *Nat Genet* 1999;21:396-9.
- [9] Otterbein LE, Soares MP, Yamashita K, Bach FH. Heme oxygenase-1: unleashing the protective properties of heme. *Trends Immunol* 2003;24:449-55.
- [10] Ganz T. Heparin-a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;18:171-82.
- [11] Frazer DM, Inglis HR, Wilkins SJ, Millard KN, Steele TM, McLaren GD, et al. Delayed hepcidin response explains the lag period in iron absorption following a stimulus to increase erythropoiesis. *Gut* 2004;53:1509-15.
- [12] Merryweather-Clarke AT, Cadet E, Bomford A, Capron D, Viprakasit V, Miller A, et al. Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE results in different types of haemochromatosis. *Hum Mol Genet* 2003;12:2241-7.
- [13] Chenoufi N, Loreal O, Drenou B, Cariou S, Hubert N, Leroyer P, et al. Iron may induce both DNA synthesis and repair in rat hepatocytes stimulated by EGF/pyruvate. *J Hepatol* 1997;26:650-8.
- [14] Hann HW, Stahlhut MW, Hann CL. Effect of iron and desferoxamine on cell growth and in vitro ferritin synthesis in human hepatoma cell lines. *Hepatology* 1990;11:566-9.
- [15] Kew MC, Popper H. The relationship between hepatocellular carcinoma and cirrhosis. *Semin. Liver Dis* 1984;4:136-146.
- [16] Asare GA, Paterson AC, Kew MC, Khan S, Mossanda KS. Iron-free neoplastic nodules and hepatocellular carcinoma without cirrhosis in Wistar rats fed a diet high in iron. *J Pathol* 2006;208:82-90.
- [17] Deugnier YM, Charembaloux P, LeQuilleuc D, Turlin B, Searle J, Brissot P, et al. Preneoplastic significance of hepatic iron-free foci in genetic hemochromatosis: a study of 85 patients. *Hepatology* 1993;18:1363-1369.

- [18] Taternatsu M, Tsuda H, Shirai T, Matsui T, Ito N. Placental glutathione S transferase as a new marker for hepatocarcinogenesis :in vivo short-term screening for hepatocarcinogenesis. *Toxicol Pathol.* 1986;15:60-68.
- [19] Libbrecht L, Desmet V, Roskams T. Preneoplastic lesions in human hepatocarcinogenesis. *Liver Int* 2005;25:16-27.
- [20] Asare GA, Mossanda KS, Kew MC, Paterson AC, Kahler-Venter CP, Siziba K. Hepatocellular carcinoma caused by iron overload :a possible mechanism of direct hepatocarcinogenicity. *Toxicology* 2006;219:41-52.
- [21] Meneghini R. Iron homeostasis, oxidative stress and DNA damage. *Free Radic Biol Med* 1997;23:783-792.
- [22] Loeb LA, James EA, Waltersdorph AM, Klebanofrf SJ. Mutagenesis by the autoxidation of iron with isolated DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:3918-3932.
- [23] Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11:81-128.
- [24] Esterbauer H. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *Am J Clin Nutr* 1993;57suppl:779-860.
- [25] Benhar M, Engelberg D, Levitzki A. Reactive oxygen stress-activated kinases and stress signalling in cancer. *EMBO Rep* 2002;3:420-425.
- [26] Cheng KC, Cahill DS, Kasai H, et al. 8-Hydroxyl guanine an abundant form of oxidative DNA damage causes G-T and A-C substitutions. *J Biol Chem* 1992;267:166-172.
- [27] Kuchino Y, Mori F, Kasai H, Inoue H, Iwai S, Miura K. Misreading of DNA templates containing 8-hydroxydeoxyguanosine at the modifies base and at adjacent residues. *Nature* 1989;327:77-79.
- [28] Vautier G, Bomford AB Portmann BC, Metivier E, Williams R. P53 mutations in british patients withy hepatocellular carcinoma:clustering in genetic hemochromatosis. *Gastroenerology* 1999;117:154-160.
- [29] Hussain SP, Raja K, Amstad PA, Sawyer M, Trudel TJ, Wogan GN, et al. Increased p53 mutation load in non-tumerous human liver of Wilson disease and haemochromatosis:oxyradical overload disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 200;97:12770-12775.
- [30] Vadrot N, Legrand A, Nello E, Bringuier AF, Guillot R, Feldman G. Inducible nitric oxide synthase could be responsible for resistance or sensitivity to IFN-gamma-induced apoptosis in several human hepatoma cell lines. *J Interferon Cytokine Res* 2006;26:901-913.
- [31] Kim YM, Chung HT, Simmons RL, Billar TR. Cellular non-heme iron content is a determinant of nitric oxide-mediated apoptosis necrosis and caspase inhibition. *J Biol Chem* 2000;275:10954-10961.
- [32] Green R, Esparza I, Schreiber R. Iron inhibits the non-specific tumoricidal activity of macrophages. A possible contributory mechanism for neoplasia hemochromatosis. *Ann NY Acad Sci* 1988;526:301-309.
- [33] EASL International consensus conference on haemochromatosis. Part III. Jury document. *J Hepatol* 2000;33:496-504.

- [34] Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399-408.
- [35] Cadet E. Epidémiologie et épidémiogénétique de l'hémochromatose HFE 1. Stratégies de dépistage, facteurs modificateurs et pénétrance du génotype C282Y homozygote [thèse] Amiens : Université de Picardie Jules Vernes ; 2003.
- [36] Niederau C, Fisher R, Purschel A, Stremmel W, Haussinger D, Strohmeyer . Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996;110:1107-19.
- [37] Merryweather-Clarke A, Pointon J, Shearman J, Robson K. Global prevalence of putative haemochromatosis mutations. *J Med Genet* 1997;34:275-8.
- [38] Merryweather-Clarke A, Pointon J, Jouanolle A, Rochette J, Robson K. Geography of HFE C282Y and H63D mutations. *Genet Test* 2000;4:183-98.
- [39] Roth MP, Giraldo P, Hariti G, Poloni ES, Sanchez-Mazas A, Franco De Stefano G, et al. Absence of the hemochromatosis gene Cys282Tyr mutation in three ethnic groups from Algeria (Mزاب), Ethiopia and Senegal. *Immunogenetics* 1997;46:222-5.
- [40] Cullen LM, Gao X, Eastaugh S, Jazwinska EC. The hemochromatosis 845G=>A and 187C=>G mutations: prevalence in non-caucasien populations. *Am J hum Genet* 1998;62:1403-7.
- [41] Hanson EH, Impetore G, Burke W. HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2001;154:193-206.
- [42] Moiran R, Jouanolle A, Brissot P, Le Gall J, David V, Deugnier Y. Phenotypic expression of the HFE mutations : a French study of 1110 unrelated iron-overloaded and relatives. *Gastroenterology* 1999;116:372-7.
- [43] Gochee PA, Powell LW, Cullen DJ, Du Sart D, Rossi E, Olynyk JK. A population-based study of the biochemical and clinical expression of the H63D hemochromatosis mutation. *Gastroenterology* 2002;112:646-51.
- [44] Mura C, Ragueneau O, Ferec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands : evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis. *Blood* 1999;93:2502-5.
- [45] Beutler E, Felitti V, Gelbart T, Ho N. The effect of HFE genotypes on measurements of iron overload in patients attending a health appraisal clinic. *Ann Intern Med* 2000;133:329-37.
- [46] Wallace DF, Walker AP, Pietrangelo A, Clare M, Bomford AB, Dixon JL, et al. Frequency of the S65C mutation of HFE and iron overload in 309 subjects heterozygous for C282Y. *J Hepatol* 2002;36:474-9.
- [47] Weiss G. Genetic mechanisms and modifying factors in hereditary hemochromatosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010;7:50-8.
- [48] Deugnier Y, Brissot P, Loreal O. Iron and the liver: update 2008;48(St1):S113-23.
- [49] Haute Autorité de santé. Prise en charge de l'hémochromatose liée au gene HFE (hémochromatose de type 1) 2005. [www.has-sante.fr/portail/jcms/c_432802/prise-en-charge-de-l-hémochromatose-liée-au-gene-HFE-hémochromatose-de-type-1].

- [50] Aguilar-Martinez P, Bismuth M, Blanc P, et al. The Southern French registry of genetic hemochromatosis: a tool for determination of clinical prevalence of the disorder and genotype penetrance. *Haematologica* 2010;95:551-6.
- [51] Loreal O, Ropert M, Mosser A, et al. Physiopathologie et génétique de l'hémochromatose HFE de type 1. *Presse Med* 2007 ;36 :1271-7.
- [52] Blumberg RS, Chopra S, Ibrahim R, Crawford J, Farraye FA, Zedis JB, et al. Primary hepatocellular carcinoma in idiopathic hemochromatosis after reversal fibrosis. *Gastroenterology* 1988;95:1399-402.
- [53] Thompson NP, Stansby G, Jarmulowicz M, Hobbs KE, McIntyre N. Hepatocellular carcinoma arising in non-cirrhotic haemochromatosis. *HPB Surgery* 1995;8:163-6.
- [54] Lamon JM, Marynick SP, Rosenblatt R, Donnelly S. Idiopathic hemochromatosis in a young female. A case study and review of the syndrome in young people. *Gastroenterology* 1978;76:178-83.
- [55] Cazzola M, Ascari E, Barosi G, Claudiani G, Dacco M, Kaltwasser JP, et al. Juvenile idiopathic haemochromatosis: a life-threatening disorder presenting as hypogonadotropic hypogonadism. *Hum Genet* 1983;65:149-54.
- [56] Camaschella C, Roetto A, Cicilano M, Pasquero P, Bosio S, Gubetta L, et al. Juvenile and adult haemochromatosis are distinct genetic disorders. *Eur Hum Genet* 1997;5:371-5.
- [57] Papanikolaou G, Politou M, Terpos E, Fourlemadis S, Sakellaropoulos N, Loukopoulos D. Hereditary hemochromatosis: HFE mutations analysis in Greeks reveals genetic heterogeneity. *Blood Cells Mol Dis* 2000;26:163-8.
- [58] Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald MLE, Franchini PL, Dube MP, et al. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004;36:77-82.
- [59] Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003;33:21-2.
- [60] Roetto A, Dario F, Porporato P, Caruso R, Cox TM, Cazzola M, et al. Screening hepcidin for mutations in juvenile hemochromatosis: identification of a new mutation (C70R). *Blood* 2004;103:2407-9.
- [61] Camaschella C, Roetto A, Cali A, DeGobbi M, Garozzo G, Carella M, et al. The gene encoding transferrin receptor 2 is mutated in a new type of hemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet* 2000;25:14-5.
- [62] Mattman A, Huntsman D, Lockitch G, Langlois S, Buskard N, Ralston D, et al. Transferrin receptor 2 (TfR2) and HFE mutational analysis in non-C282Y iron overload: identification of a novel TfR2 mutation. *Blood* 2002;100:1075-7.
- [63] Murray KF, Kowdley KV. Neonatal hemochromatosis. *Pediatrics* 2001;108:960-92.
- [64] Kelly AL, Lunt PW, Rodrigues F, Berry PJ, Flynn DM, McKiernan PJ, et al. Classification and genetic features of neonatal haemochromatosis: a study of 27 affected pedigrees and molecular analysis of genes implicated in iron metabolism. *J Med Genet* 2001;38:599-610.
- [65] Camaschella C, Roetto A, DeGobbi M. Juvenile hemochromatosis. *Semin Hematol* 2002;39(4):242-8.

- [66] Gordeuk VR. Hereditary and nutritional iron overload. *Baillieres Clin Haematol* 1992;5:169-86.
- [67] Gordeuk VR, Caleffi A, Corradini E, Ferrara F, Jones RA, Castro O, et al. Iron overload in Africans and African-Americans and a common mutation in the SCL40A1(ferroportin 1) gene. *Blood Cells Mol Dis* 2003;31:299-304.
- [68] Gordeuk VR, Mukiibi J, Hasstedt SJ. Iron overload in Africa:interaction between a gene and dietary iron content. *N Engl J Med* 1992;326:95-100.
- [69] Moyo VM, Mandishona E, Hasstedt SJ, Gangaidzo IT, Gomo ZA, Khumalo H, et al. Evidence of genetic transmission in African iron overload. *Blood* 1998;91:1076-82.
- [70] Bottomley S. Second iron overload disorders. *Semin Hematol* 1998;35:77-86.
- [71] Logan J, Harveyson K, Wisdom G, Hughes A, Archbold G. Hereditary caeruloplasmin deficiency, dementia and diabetes mellitus. *Q J Med* 1994;87:663-70.
- [72] Yoshida K, Furihata K, Takeda S, Nakamura A, Yamamoto K, Morita H, et al. A mutation in the ceruloplasmin gene is associated with systemic hemosiderosis in human. *Nat Genet* 1995;9:267-72.
- [73] Girelli D, Corrocher R, Bisceglia L, et al. Molecular basis for the recently described hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome:a mutation in the iron-responsive element of ferritin L-subunit gene(the "Verona mutation). *Blood* 1995;86:4050-3.
- [74] De Domenico I, Nemeth E, Nelson JM, Phillips JD, Ajioka RS, Kay MS, et al. The hepcidin-binding site on ferroportin is evolutionarily conserved. *Cell Metabol* 2008;8:146-156.
- [75] Fernandes A, Preza GC, Phung Y, De Domenico I, Kaplan J, Ganz T, et al. The molecular basis of hepcidin-resistant hereditary hemochromatosis. *Blood* 2009 ;114 :437-443.
- [76] Finch SC, Finch CA. Idiopathic hemochromatosis, an iron storage disease. Iron metabolism in hemochromatosis. *Medecine(Baltimore)* 1995;34:381-430.
- [77] Cadet E, Perez AS, Capron D, Rochette J. Bases moléculaires des hémochromatoses génétiques. *La revue de medecine interne* 2005 ;26 :393-402.
- [78] Zhou XY, Tomatsu S, Fleming RE, Parkkila S, Waheed A, Jiang J, et al. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:2492-7.
- [79] Roetto A, Merryweather-Clarke AT, Dario F, Livesey K, Pointon JJ, Barbabietola G, et al. A valine deletion of ferroportin 1:a common mutation in hemochromatosis type 4? *Blood* 2002;100:733-4.
- [80] Wallace DF, PedersenP, Dixon JL, Stephenson P, Searle JW, Powell LW, et al. Novel mutation in ferroportin 1 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Blood* 2002;100:692-4.
- [81] Edwards CQ, Griffen LM, Goldgar D, Drummond C, Skolnick MH, Kushner JP. Prevalence of hemochromatosis among 11,065 presumably healthy blood donors. *N Engl J Med* 1988;318:1355-62.
- [82] Rosmorduc O, Wendum D, Arrive L, ElNaggar A, Ennibi K, Hannoun L, Charlotte F, Grange JD, Poupon R. Phenotypic expression of ferroportin disease in a family with the N144H mutation. *Gastroenterology Clinique et Biologie* 2008;32:321-327.

- [83] Montosi G, Donovan A, Totaro A, Garuti C, Pignatti E, Cassanelli S, et al. Autosomal dominant hemochromatosis with a mutation in the ferroportin(SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001;108:619-23.
- [84] Devalia V, Carter K, Walker AP, Perkins SJ, Worwood M, et al. Autosomal dominant reticuloendothelial iron overload associated with a 3-base pair deletion in the ferroportin 1 gene(SLC11A3). *Blood*;100:695-7.
- [85] Arden KE, Wallace DF, Dixon JL, Summerville L, Searle JW, Anderson GJ, et al. A novel mutation in ferroportin 1 is associated with haemochromatosis in a Solomon Islands patient. *Gut* 2003;52:1215-7.
- [86] Mayr R, Janecke AR, Schranz M, Griffiths WJH, Vogel W, Pietrangelo A, Zoller H. Ferroportin disease: A systematic meta-analysis of clinical and molecular findings. *Journal of Hepatology* 2010;3374:
- [87] Andersen RV, Tybjaerg-Hansen A, Appleyard M, Birgens H, Nordestgaard BG. Hemochromatosis mutations in the general population: iron overload progression rate. *Blood* 2004;103:2914-19.
- [88] Allen KJ, Gurrin LC, Constantine CC, Osborne NJ, Delatycki MB, Nicoll AJ, et al. Iron-overload-related disease in HFE hereditary hemochromatosis. *N Engl J Med* 2008;358:221-230.
- [89] Corradini E, Ferrera F, Pollicino T, Vegetti A, Abbati GL, Losi L, et al. Disease progression and liver cancer in the ferroportin disease. *Gut* 2007 ;56 :1030-2.
- [90] Pietrangelo A, Corradini E, Ferrera F, Vegetti A, De Jong G, Abbati GL, Arcuri PP, Martinelli S, Cerofolini E. Magnetic resonance imaging to identify classic and nonclassic forms of ferroportin disease. *Blood Cells Mol and Diseases* 2006;37:192-196.
- [91] Nahon P, Ganne-Carrie N, Trinchet JC, Beaugrand M. Surcharge hépatique en fer et risque de carcinome hépatocellulaire sur cirrhose. *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2010 ;34 :1-7.
- [92] Suzuki Y, Suzuki H, Hosoki M, Sakura Y, Fujimoto Y, Kohgo Y. Up-regulation of transferrin receptor expression in hepatocytes by habitual alcohol drinking is implicated in hepatic iron overload in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2002;26:268-315.
- [93] Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004;113:1271-6.
- [94] Pascoe A, Kerlin P, Jones D. Spur cell anemia explains the iron overload in advanced cirrhosis(C282Y negative). *Hepatology* 2000;32:159.
- [95] Ioannou GN, Dominitz JA, Weiss NS, Heagerty PJ, Kowdley KV. The effect of alcohol consumption on the prevalence of iron overload, iron deficiency, and iron deficiency anemia. *Gastroenterology* 2004;126:1293-301.
- [96] Raynard B, Balian A, Fallik D, Capron F, Bedossa P, Chaput JC, et al. Risk factors of fibrosis in alcohol-induced liver disease. *Hepatology* 2002;35:635-8.
- [97] Martinelli AL, Filho AB, Franco RF, Tavella MH, Ramalho LN, Zucoloto S, et al. Liver iron deposits in hepatitis B patients: association with severity of liver disease but not with hemochromatosis gene mutations. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:1036-41.

- [98] Bonkocsky HL, Naishadham D, Lambrecht RW, Chung RT, Hoefs JC, Nash SR, et al. Roles of iron and HFE mutations on severity and response to therapy during retreatment of advanced hepatitis C. *Gastroenterology* 2006;131:1440-51.
- [99] Pietrangelo A. Hemochromatosis gene modifies course of hepatitis C viral infection. *Gastroenterology* 2003;124:1509-23.
- [100] Sebastian G, Vario A, Ferrari A, Pistis R, Noventa F, Alberti A. Hepatic iron, liver steatosis and viral genotypes in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2006;13:199-205.
- [101] Sanba M, Nakamura T, Itakura H. Statistical analysis of relationship between iron accumulation and hepatitis B surface antigen. *Am J Clin Pathol* 1985;84:340-2.
- [102] Fargion S, Mattioli M, Fracanzani AL, Sampietro M, Tavazzi D, Fociani P, et al. Hyperferritinemia, iron overload, and multiple metabolic alterations identify patients at risk for non-alcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2001;96:2448-55.
- [103] Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, Liddle C. Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1998;27:128-33.
- [104] Ruddell RG, Hoang-Le D, Barwood JM, et al. Ferritin functions as a proinflammatory cytokine via iron-independent protein kinase C /nuclear factor B-regulated signalling in rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2009;49:887-900.
- [105] Bugianesi E, Manzini P, D'Antico S, Vanni E, Longo F, Leone N, et al. Relative contribution of iron burden, HFE mutations, and insulin resistance to fibrosis in non-alcoholic fatty liver. *Hepatology* 2004;39:179-87.
- [106] Dongiovanni P, Valenti L, Fracanzani AL, et al. Iron depletion by deferoxamine up-regulates glucose uptake and insulin signaling in hepatoma cells and in rat liver. *Am J Pathol* 2008;172:738-747.
- [107] Younossi ZM, Gramlich T, Bacon BR, Matteoni CA, Boparai N, O'Neill R, et al. Hepatic iron and non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 1999;30:847-50.
- [108] Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, LeClair P, Cobb J, Lambrecht RW, et al. Nonalcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 1999;31:421-9.
- [109] Facchini FS, Saylor KL. Effect of iron depletion on cardiovascular risk factors: studies in carbohydrate-intolerant patients. *Ann N Y Sci* 2002;967:342-51.
- [110] Luca V, Fracanzani AL, Bugianesi E, Dongiovanni P, Galmozzi E, Vanni E, Canavesi E, Lattuada E, Roviato G, Marchesini G, Fargion S. HFE genotype, parenchymal iron accumulation and liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2010;138:905-912.
- [111] Brittenham GM, Badman DG. Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood* 2003;101(1):15-9.
- [112] O'Neill J, Powell L. Clinical aspects of hemochromatosis. *Rev Semin Liver Dis* 2005;25(4):381-91.
- [113] Sherlock S, Dooley J. Diseases of the liver and biliary system. Blackwell Scientific Publications;2002;11:399-411.
- [114] Porter JB. Liver iron measurement by MRI. *Blood* 2005;105(2):437.

- [115] Tavill AS. Diagnosis and management of hemochromatosis. *Hepatology* 2001;33(5):1321-8.
- [116] Brissot P, LeLan C, Troadec MB, Guillygomarc'H A, Lorho R, Jouanolle AM, Guyader D, Moirand R, Loreal O, Deugnier Y. Recommandations pour la prise en charge de l'hémochromatose HFE. *HAS* 2005 ;:135-139.
- [117] Bonkovsky HL, Rubin RB, Cable EE, et al. Hepatic iron concentration :noninvasive estimation by means of MR imaging techniques. *Radiology* 1999;212(1):227-34.
- [118] Jensen, P.D. «Evaluation of iron overload» [Évaluation de la surcharge en fer]. *British Journal of Haematology*, 2004, 124 (6), 697-711
- [119] Deugnier Y, Turlin B. Pathology of hepatic iron overload. *World J Gastroenterol* 2007;13:4755-60.
- [120] Powell LW, Dixon JL, Ramm GA, et al. Scening for hemochromatosis in asymptomatic subjets with or without a family history. *Arch Med* 2006;166:269-34.
- [121] St Pierre TG, Clark PR, Chua-anusom W, et al. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood* 2005;105(2):855-61.
- [122] Gandon Y, Olivié D, Guyader D, et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *The Lancet* 2004;363(9406):357-62.
- [123] Siegelman ES, Mitchell DG. Abdominal iron deposition:metabolism, MR finding,and clinical importance. *Radiology* 1996;199(1):13-22.
- [124] EASL Internationl Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000;33(3):485-504.
- [125] Westwood MA, Anderson LJ, et al. Interscanner reproducibility of cardiovascular magnetic resonance T2* measurement of tissue iron in thalassemia. *JMagn Resonan Imag* 2003;18:616-20.
- [126] Chalès G, Guggenbuhl P, Jouanolle A-M, Loréal O. Les gènes des Hemochromatoses. *Revue du rhumatisme monographies* 2010. Article in press
- [127] Goncalves A, Beaumont C. La ferroportine, une nouvelle molécule pour la régulation du métabolisme du fer. *Hématologie* 2005 ;6 :453-63.
- [128] Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology*. 2010 Aug;139(2):393-408, 408.e1-2. Epub 2010 Jun 11. Review
- [129] Cunat S, Giansily-Blaizot M, Bismuth M, Blanc F, Dereure O, Larrey D, Quellec AL, Poudroux P, Rose C, Raingeard I, Renard E, Schved JF. & Aguilar-Martinez P. Global sequencing approach for characterizing the molecular background of hereditary iron disorders. *Clin Chem* 2007;53 :2060-2069.
- [130] Bruix J, Sherman M, Llovet J, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs A, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodés J. Clinical Management of Hepatocellular Carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference *Journal of Hepatology*, Volume 35, Issue 3, September 2001, Pages 421-430
- [131] Trinder D, Oates PS, Thomas C, Sadleir J, Morgan EH. Localisation of divalent metal transporter 1 (DMT) to microvillus membrane of rat duodenal entérocytes in iron deficiency, but to hepatocytes in iron overload. *Gut* 2000;46:270-6.

- [132] Zoller H, Koch RO, Theurl I, Obrist P, Pietrangelo A, Montosi G, Haile DJ, Vogel W, Weiss G. Expression of duodenal iron transporters divalent-metal transporter 1 and ferroportin 1 in iron deficiency and iron overload. *Gastroenterology* 2001;120(6):1412-9
- [133] Gitlin JD. Aceruoplasminemia. *Pediatric Res.* 1998;44:271-6
- [134] Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *New England Journal of Medicine* 1999 ;341(26) :1986-95
- [135] Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G-A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002; 359:211-218
- [136] Beutler E, Barton JC, Felitti VJ, Gelbart T, West C, Lee PL, et al. Ferroportin1 (SLC40A1) variant associated with iron overload in african americans. *Blood cells Mol Dis* 2003; 31:305-309
- [137] Valenti L, Guido M, Dongiovanni P, Cremonesi L, Fracanzani A.L , Fargion S .Ferroportin-1 in the recurrence of hepatic iron overload after liver transplantation. *Digestive and Liver Disease* 2009; 41:17-20
- [138] Zaahl MG, Merryweather –Clarke AT, Kotze MJ, Van der Merwe S, Warnich L, Robson KJ. Analysis of genes implicated in iron regulation in individuals presenting with primary iron overload. *Hum Genet* 2004;115(5):409-17
- [139] Galli A, Bergamaschi G, Recald H, Biaziotto G, Santambrogio P, Boggi S, Levi S, Arozio P, Cazzola M. Ferroportin gene silencing induces iron retention and enhances ferritin synthesis in human macrophages. *Br J Haematol* 2004;127 (5):598-603
- [140] Valenti L, Canavesi E, Galmozzi E, Dongiovanni P, RamettaR, Maggioni P, Maggioni M, Fracanzani AL, Fargion S. Beta-globin mutations are associated with parenchymal siderosis and fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease *Journal of Hepatology* 2010;53:927–933
- [141] Altès A, Bach V, Ruiz A, Esteve A, Remacha AF, Sardà P, Felez J, Baiget M. Does the SLC40A1 gene modify HFE-related haemochromatosis phenotypes?. *Ann Hematol* 2009; 88:341–345
- [142] Aguilar-Martinez P, Picot MC, Becker F, Boulot P, Montoya F, Mares P, Bachelard B, Henry Y, Delarbre JL, Sarda P, Schved JF. Prevalence of HFE mutations in people from North Africa living in southern France. *British Journal of Haematology.* 2001;114:914–916
- [143] Nahon P, Sutton A, Rufat P, Zioli M, Thabut G, Schischmanoff PO, Vidaud D, Charnaux N, Couvert P, Ganne N, Trinchet JC, Gattegno L, Beaugrand M. Liver iron, HFE gene mutation, and hepatocellular carcinoma occurrence in patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2008 ;134 :102-110.

ANNEXES

ANNEXE 1 : Lettre d'information au patient et feuille de consentement

ANNEXE 2 : Fiche de recueil des données

ANNEXE 3 : Scores de gravité de la cirrhose hépatique, et score pronostique du carcinome hépatocellulaire

ANNEXE 4 : Séquence Genbank du gène *SLC40A1* (NC_000002.11 :190,133,561-190,153,858)

ANNEXE 5: Polymorphismes connus du gène *SLC40A1*

ANNEXE 6: Abstract soumis aux Journées Francophones d'Hépatogastroentérologie et d'Oncologie Digestive 2011

ANNEXE 1 : LETTRE D'INFORMATION AU PATIENT ET FEUILLE DE CONSENTEMENT

**Lettre d'information concernant l'étude intitulée:
" Recherche de mutations du gène de la ferroportine comme facteur de risque
de surcharges en fer héréditaires dans les maladies oncologiques du foie "**

Monsieur, Madame,

Les anomalies du métabolisme du fer dont vous êtes porteur peuvent être liées à des facteurs génétiques. Plusieurs de ces gènes sont maintenant connus Il est possible d'analyser la séquence de ces gènes afin de rechercher des anomalies qui peuvent permettre de poser un diagnostic.

Une étude, actuellement en cours, au CHU de Montpellier (responsable, Pr Pierre Blanc et Dr Patricia Aguilar-Martinez a pour objectif de rechercher des anomalies du gène de la ferroportine, une protéine responsable de la sortie du fer de nos cellules. Lorsque ce gène est altéré, le fer peut s'accumuler de manière excessive dans le foie et entraîner des pathologies.

L'analyse sera effectuée sur les prélèvements sanguins déjà réalisés chez vous.
Bénéfices:

Cette étude permettra une meilleure connaissance du mécanisme d'action de la surcharge en fer liée à des mutations de ce gène. Elle pourra contribuer en particulier à mieux cibler les indications de diagnostic d'anomalie génétique de ce gène. Par ailleurs la confirmation du diagnostic d'hémochromatose ou d'hyperferritinémie héréditaire liée à une anomalie moléculaire de ce gène est indispensable à la prise en charge optimale du patient.

Les données de santé à caractère personnel, recueillies dans le cadre de ce projet de recherche, sont strictement confidentielles : elles ne pourront être consultées que par des personnes collaborant à ce projet de recherche et soumises au Secret Professionnel. Vous pourrez cependant exercer votre droit de retrait de consentement à tout moment par l'intermédiaire du médecin responsable de l'étude (Pr Pierre Blanc / ou Dr Aguilar Martinez).

Si vous l'acceptez vous pouvez être inclus dans cette étude. Les résultats de cette analyse vous seront communiqués dès qu'ils seront disponibles par l'intermédiaire du médecin qui a prescrit l'analyse.

Pour pouvoir être inclus dans cette étude, il est indispensable que vous donniez votre autorisation écrite en signant le consentement

**CONSENTEMENT DE PRELEVEMENT DANS UN BUT
D'ETUDE GENETIQUE
ET/OU DE CONSERVATION DANS LA BANQUE D'ADN
pour une personne majeure**

Titre de l'étude:

" Recherche de mutations du gène de la ferroportine comme facteur de risque de surcharges en fer héréditaires dans les maladies oncologiques du foie "

Je soussigné(e) :

Nom. :

Prénom.....

Adresse.....

....

Date de naissance :

demeurant

à :.....

.....
autorise

le Docteur

à effectuer ou faire effectuer les études génétiques qui peuvent aider au diagnostic ou à la prévention de la maladie dont je suis atteint ou que présente un membre de notre famille.

Le médecin consulté m'a expliqué la nature des études qui seront effectuées notamment le fait qu'elles font appel aux techniques de biologie moléculaire.

Les données de santé à caractère personnel qui me concernent sont strictement confidentielles. Je n'autorise leur consultation que par les personnes qui collaborent à ce projet de recherche, désignées par l'investigateur coordonnateur. En application de la Loi "Informatique et Liberté" n°78-17 du 6 janvier 1978 modifiée par les lois n°94-548 du 1^{er} juillet 1994, n°2002-303 du 4 mars 2002 et 2004-801 du 06 août 2004, j'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette étude puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte. J'ai bien noté que le droit d'accès et de rectification (articles 38 et suivants), que m'ouvrent les textes susvisés, pourra s'exercer à tout moment auprès du Dr Patricia Martinez, laboratoire d'Hématologie, Hopital Saint Eloi, CHU de Montpellier, et que les données me concernant pourront m'être communiquées directement ou par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix.

Je peux également sortir de cette étude à tout moment sur simple demande.

J'ai reçu un exemplaire de la note d'information au patient et du consentement. Selon les dispositions de la loi du 4 mars 2002, je serai informé(e) des résultats globaux de l'étude par le médecin investigateur.

Fait à, le

Signature du patient :

Signature du médecin investigateur:

ANNEXE 2 : FICHE DE RECUEIL DES DONNEES

Titre " Recherche de mutations du gène de la ferroportine comme facteur de risque de surcharges en fer héréditaires dans le carcinome hépatocellulaire"

Investigateurs: Pr Pierre BLANC, Dr Patricia AGUILAR-MARTINEZ

PATIENT : N° |__|__|

Nom : __ __ __	Date inclusion:
Prénom : __ __	__ __ __ __ 2 0 0 __
Nom de jeune fille : __ __ __	
Date de naissance : __ __ __ __ __ __ __ __	
Sexe : M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>	

Médecin :.....
Service et/ou adresse :.....
n° de
tél :.....

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

AGE au diagnostic (clinique et/ou biologique).....date : |__| |__| |__|__|__|

TAILLE : |__|__|__| I.M.C. : |__|__, |__|__|

POIDS : |__|__|__|, |__| Périumètre Ombilical : |__|__|__|, |__|

Consommation Alcoolique : |__|__| g/l Durée :.....

Tension artérielle : |__| |__|

SIGNES CLINIQUES (en rapport avec la surcharge en fer)

- Asthénie : Non Oui
- Diabète : Non Oui Insulino-traité : Non Oui
Date du diagnostic |__| |__| |__|__|__|

- Atteinte hypophysaire : Non Oui
- Atteinte articulaire : Non Oui
- Atteinte cutanée : Non Oui
 - Mélanodermie Non Oui
 - Porphyrie cutanée tardive Non Oui

- Atteinte hépatique préalable : Non Oui
 - Hépatopathie chronique Non Oui
 - Cirrhose Non Oui

- Atteinte cardiaque : Non Oui
- Autre : Non Oui
 - nature.....

- Signes neurologiques: Non Oui
 - nature.....
- cataracte: Non Oui
- âge au diagnostic:.....

ANTECEDENTS FAMILIAUX (relatifs au 1^{er} degré)

•Hémochromatose Non Oui certaine ...possible

Lien de parenté du/des membre(s) de la famille concerné(s) :

1^{er} relatif.....

2^{ème} relatif.....

Type de transmission : autosomique récessif autosomique dominant autres

.....

(joindre arbre généalogique)

BILAN INITIAL

• **Biologie : (avant toute saignée) : date** |__|_|_|_|_|_|_|_|_|

Coefficient de saturation à jeun (%)		Ferritinémie plasmatique (ng/ml)	
Hémoglobine (g/dl)		Volume globulaire moyen (fl)	
T.P. (%)		I.N.R.	
Globules Blancs (G/l)		Plaquettes (G/l)	
I.N.R.			

Albumine (g/l)		Créatinine (µmol/l)	
----------------	--	---------------------	--

TGP (ALAT) (x N)		Phosphatase Alcaline (x N)	
TGO (ASAT) (x N)		Bilirubine Totale (µmol/l)	
γGT (x N)		Bilirubine conjuguée (µmol/l)	
Alpha foeto protéine		LDH (x N)	

Score de Child Pugh		Score de MELD	
---------------------	--	---------------	--

Antigène HbS		Anticorps HbS	
Anticorps Hbc		Sérologie VHC	

Cholestérol Total (g/l)		HDL Cholestérol (g/l)	
LDL Cholestérol (g/l)		Triglycérides (g/l)	
Glycémie (g/l)		Hb glyquée (%)	

• **Caractérisation tumorale**

Données Echographiques <input type="checkbox"/>	Scannographiques <input type="checkbox"/>	I.R.M. <input type="checkbox"/>
Nombre de nodules __ _		Diamètre du plus gros nodule (cm) __ _
Critères de "Milan"		
Evaluation de la masse tumorale	Petite <input type="checkbox"/>	Moyenne <input type="checkbox"/> Forte <input type="checkbox"/>
Stade BCLC :		

• **P.B.F. :** Non Oui

• **Si oui, P.B.F.:** Foie tumoral Foie non tumoral

Différenciation CHC (selon les critères OMS)		indifférencié <input type="checkbox"/> peu différencié <input type="checkbox"/> moyennement différencié <input type="checkbox"/> différencié <input type="checkbox"/>			
Fibrose :	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>	cirrhose	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>

Critères de Barcelone: Non Oui

IRM : Non Oui

CHF : Concentration en fer intra-hépatocytaire (/µg de foie sec):
Index biochimique CHF/âge :
Résultats obtenus par P.B.F. <input type="checkbox"/>	I.R.M. <input type="checkbox"/>

• **GENOTYPE HFE**

	Homozygote <input type="checkbox"/>	Hétérozygote <input type="checkbox"/>	Normal <input type="checkbox"/>
C282Y			
H63D	Homozygote <input type="checkbox"/>	Hétérozygote <input type="checkbox"/>	Normal <input type="checkbox"/>

Traitement de la surcharge en fer: ___ Non Oui

• **Saignées** Non Oui Si oui, préciser :

-la date de la première saignée |_|_| |_|_| |_|_|

-rythme initial: tous les Pendant.....

-niveau moyen de l'Hb ou de l'Ht pendant la période initiale de saignées:
Hb.....Ht.....

-le nombre total de saignées :durée totale.....

-le volume moyen :ml

• **Desferral** Non Oui

Autre :

TRAITEMENT DU CHC

TRANSPLANTATION	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>
RESECTION	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>
RADIOFREQUENCE	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>
ALCOOLISATION	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>
CHIMIOEMBOLISATION	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>
NEXAVAR	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>
AUTRES	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>
PAS DE TRAITEMENT SPECIFIQUE	Non <input type="checkbox"/>	Oui <input type="checkbox"/>

ANNEXE 3 : SCORES DE GRAVITE DE LA CIRRHOSE HEPATIQUE, SCORE PRONOSTIQUE DU CHC, ET CRITERES DU SYNDROME METABOLIQUE

1 - Score de Child Pugh :

Calcul du score de Child Pugh			
	1 point	2 points	3 points
Encéphalopathie (grade)	Absente	Grade I et II	Grade III et IV
Ascite	Absente	Minime	Modérée
Bilirubine totale (µmol/l)	< 35	35 à 50	> 50
Albumine (g/l)	> 35	28 à 35	< 28
Taux de prothrombine (%)	> 50	40 à 50	< 40

La gravité est croissante avec la valeur du score :

Entre 5 et 6 points : classe A

Entre 7 et 9 points : classe B

Entre 10 et 15 points : classe C

- **Référence :**

« Critères diagnostiques et bilan initial de la cirrhose compliquée »

Haute Autorité de Santé-2006

2 - Score de Meld

MELD (Model for end-stage liver disease) *Modèle pour hépatite avancée*

$$\text{MELD} = (3,8 \times \ln [\text{bilirubine mg/dL}]) + (11,2 \times \ln [\text{INR}]) \\ + (9,6 \times \ln [\text{créatinine mg/dL}]) + (6,4 \times \text{étiologie}^*)$$

*[0 si cholestatique ou alcoolique, 1 dans le cas contraire]

- **Référence :**

- Kamath PS et al. *Hepatology* 2001 ; 33(2) : 464.

- Wiesner RH et al. *Liver Transpl.* 2001 ; 7 (7) : 567.

3 - Classification du BCLC : Barcelona Clinic Liver Cancer

Stade	PST	Tumeur	Stade d'Okuda	Fonction hépatique
A : CHC précoce A1	0	unique	I	Bb normale sans HTP
A2	0	unique	I	Bb normale avec HTP
A3	0	unique	I	Bb élevée avec HTP
A4	0	3 tumeurs < 3cm	I-II	Child-Pugh A-B
B : CHC intermédiaire	0	Etendue multinodulaire	I-II	Child-Pugh A-B
C : CHC évolué	1-2	Invasion vasculaire ou métastases	I-II	Child-Pugh A-B
D : CHC terminal	3-4	Tous types	III	Child-Pugh C

PST : Performance Status Test ; stade 0 à 4 (échelle comparable à l'indice de performance ECOG)

Stades A et B : tous les critères doivent être remplis

Stade C : au moins un des critères suivants : PST 1-2/envahissement vasculaire/dissémination extra-capsulaire

Stade D : au moins un des critères suivants : PST 3-4/ Okuda III/Child-Pugh C

• Référence :

Dilou N, Patouillard B, Audigier JC. Les classifications de prédiction de survie du carcinome hépatocellulaire. Gastroenterol Clin Biol 2004;28:359-66.

4 - Critères du Syndrome Métabolique

OMS modifiée :

- Glycémie à jeun \geq 6,1 mmol/L et deux des critères suivant :
- $IMC \geq 30$ Kg/m²
- HDL cholestérol < 0,9 mmol/L pour les hommes
- HDL cholestérol < 1 mmol/L pour les femmes
- Ou triglycérides > 1,5 g/L
- Tension artérielle \geq 14/9 ou traitement antihypertenseur
- Hyperglycémie orale provoquée avec 75g de glucose, seuil de glycémie à 2h à 7,8 mmol/L

ANNEXE 4 : SEQUENCE GENBANK DU GENE *SLC40A1*

(NC_000002.11 :190,133,561-190,153,858)

SLC40A1

ENSG00000138449

??Gcbx -428
GGGACGCCC GGGCGG CCCTGAAGGGGAC GGGCGG CCCCAGTCGGAGGTTCGCAGGGAGCTCCGCCCC
-361

CGACT CCG TATAA GAGCTGGGCC CCG CCCA CCG CCG CCG CCG CCG CCGA G GAGAGCTGGCTCAGGGCGTC
-289

CGCTAGGCTCGGACGACCTGCTGAGCCTCCCAAACCGCTTCCATAAG CTTTGCTTTTCCAACCTTCAGCTAC -217

IRE loop

c.-188A>G
AGTGT TAGCTAAGTTTGAAAG AAGGAA A AAAGAAAATCCCTGGGCCCTTTTCTTTTGTCTTTGCCAAAG -
145 5'UTR IRE

-141 rs13008848:c.-98G>C
TCG TCGTTGTAGTCTTTTTGCCCCAAGGCTGTTGTGTTTTTAGAGGT GCTATCTCCAGTTCCTTGCACTCCTG
-73

-59 -45 rs11568351:c.-8C>G
TTAACAAGCACCT CAGCGAGAGCAGCAG CAGCGATAGCAGCCGAGAAGAGCCAGCGGGTTCGC C TAGTGTC
-1 del

M T R A G D H N R Q R G C C
14
ATG ACC AGG GCG GGA GAT CAC AAC CGC CAG AGA GGA TGC TGT G gtgagtgtcgttga
57 ex 1
+1 43

rs#11568352:
c.43+17_43+18insG
cgaagcatatggtgaaaccaggtggggctttggagacaagcaactctac agagttctggaggaatgt
129 rs4287798:c.43+68A>C

rs# 35208693:
c.43+18delA del
ggctctgctgtgaaccatagctttgtaaaaagatcctttgactcataatggtggacgtaaggaagaaagg
201

aaattcagggtgtggaaaaggggtttgcacacaggcagcgatggagtagattgggcagtttgattgcctt
273

rs#34121060:
c.43+247_43+250delAAAC
gtgtaaaaaagaaca aac aaac caaccaacccaaaaagaatgctgaaacaagagtttcttactg
345 rs#5837154: c.43+255_43+258delAAAC

tatgtgaaatgtgaagttgggcagttattgactaggtcaataactgaatttagtgaatggtattaagtgaac
417

rs#13431938: c.44-136A>G
gaaatacatcggtcataggttaacttg a taaaatgtacgtggtttgtcctgcaaagtagttttaataatca
489

rs1439816:c.44-24G>C
tgttctaatagatcaaatggataagcattctgcctcagctcattaagtgactaccatcgctttttgtcac
561

G S L A D Y L T S A K F L

27
cccgcctgtgtcctttgcagGA TCC TTG GCC GAC TAC CTG ACC TCT GCA AAA TTC CTT
618

44

L Y L G H S L S T W

37
CTC TAC CTT GGT CAT TCT CTC TCT ACT TGG gtaagtgagaatgcatagtcttacaacacag
679

111

ttgcgcaatTTTTTATTTCTTTTCTGTTCTAGCCAGTTGTATTAAGCCAACCTTCAGTTTTGTCAAGCAGTTA
751

aagaaataaatcatccaagtacacatgctttaatgaaaacgTTaTTTACATCGAAGATCTTTCCCATGAGT
823

rs#1123109: c.111+147A>G

gtagttaaTGCAACTTAATTATCAGATCATCGTAGTTTATGTAGATAGACAACCTATCCAGACAAGATTATC
895

aaggaaaggaatATTTGCCTTGTTTTAAATTTTATGTTGCATTAGTAGCTTTGGTAAATAGACATATCTGC
967

tacaaaagatggatggatgtctcatataccttctctcttcacatTTTAAATATTTGTTTTCTTTTTTGT
1039

tTAAATTTAGTTCAGCGTGCAGCACCATGAGAATACAATAGAATGGTAGAGTGACTGACTTAAGCTAATA
1111

ataacattctaagattaattgaaacataaatgacccccagaaacaaatatctgagtgacaaaaattctggctt
1183

tTAAAAATGTTATCTATAGTTAGATAAAGTTTGGGGCAGTGGAGGCTATCTTAAATTAATCATCCAATGAA
1255

tatcagcaatggatttacagTTTTCCCTCTGACTTTCTAGTTGTCTCTGGAAAAGACCTAGTGTCTCTGTAG
1327

atctgggctcctaaaactctctccgaaaaataataaactagaagggtgctagatatatgttcagtgatgatt
1399

agaatcttTAAACATTAACAATTATTGTTTAAAGCAATAAATCTGGCTATATTCTGTCCATGGCTCATATG
1471

tATTTAAAAAGAAATGGAAAGAATTTTGAGAGTAAATTTTTGAATGTTATTTTCTTTTAAATTGGAAACTT
1543

atattggatcatccttaagacatggatggaaaccactggaaggaaatctatacccaatacctttgagaaa
1615

ttgttaagctacattattggttctctaagaaatagcagtttatagatgacatTTTAGAAAAGCAAGCTCCTA
1687

tcttaccagaggcttacacaggggtgactctgcaaatacatgtaaacaaagtggaattggtgtgagtttggt
1759

ttaattccaacagctgatgatgctaagtagaaacctagtgaacaaaccttaataaataaaaaagcaatagtt
1831

tgttccccagtttaattcagtaaatattaagtattaataacatgtgatgggaatagtatctgaaattctca
1903

gcctgtggtctggccttgctcttagaggaagaagatgcctctcttccaagttctgattatggtttatgtgac
1975

ctttggttaataggttaggaggtcagatttgccagaaaaccagtgggcaccgtggttggtccaggaggatatt
2047

ttgtcatgttcattaaaagtcccacaagaagggtgacacatgcttatcccaactttacagtaagtcaagcaa
2119

aggaagttctcatgagaaagttggattaaacaacagcagcaactacaatcatataagggtttagtggat
2191

tactcctttccgctgcaaaggagtgcaaaagaggaatgtctctaactaggttaattatgctttttatg
2263

tttctcttggtggcactctgctgattttgttacaacaaaacatttatggttctgtattatgtgtgtgt
2335

atatgtattatataatataatgcattttccgtcccaccctgccaagtcattgatttcttatgcaactgaacgtagg
2407

ggcattagagtagaaggttgccctcaggttagttttgtgtggggtgaatgccttttatttctgacttcatt
2479

ctatctgccaatggatcaatgcattttactctatattatcaaaatacaatatagtgtaagaagtgatcctg
2551

gctaggtgcagtggtcatgcctgtaatcctagcactttgggaggcaggaggattccttgagcccaggagtc
2623

tgagaccagcctgggcaacatagggagactctgtctctgcaaaaaaaaaatttaaaattagccaggtgtcat
2695

gagacacacctgtagtcccagctactgagaggctgaggtggaagaattgcttgaaccaggagtttgaagct
2767

gcagtgagctgtgatcacaccactacactccagcctggacaacagaataagaccctgtctcaaaaaaaaa
2839

aaaaaagtgatactattgtcaaggagcttataatacaatttagtatgggctttaaaaaagatatctaata
2911

caaaaagatgacagtgtaagacagtgaaaaagaggggcccagttgcttatatctgataacatgatcttcaaaa
2983

ctctctccatttaaacccaatagctctgcatttctccagccctcgtttccagaggctcactttgctcatg
3055

gaggcctttggtgccaccagctccatcctactttatatttctcatagcagcagtgccctgtgctagatt
3127

gcttttggctctgtgctcactggaatgtgagctgcatgaaaaccttttgtgctgctgaagctctagtgtt
3199

gcaaatgtcgggtacatagtagccacttagtaagtattaagtggattgaggaccatgatcattcattgacag
3271

ttattaggtttgccttcagctctcagctcccggtgggggtacatggacacataaatagggtcatccaagtttagt
3343

gagaattggtgggaaggcaagaaatggaaataaggaaggatgggcacttgggtcaatatttacatagacttta
3415

cccaaatattgggctttttgtaaacatagaatctgttgcttcttaagcctaagcccgttgaaattgggg
3487

aatgtgagcaatttctttctttccatcaaagaggtggatggcatgcaagaaaaagcaagattcaaaaactt
3559

aatagcatttgccttgatgtcttgcttttagaggactctaagacaattaaaaatacaataagagtaagaaaa
3631

aaagaaagaacaacagtattagaaaagtgtttcttaacctgtatgtaagaaagagaaaactctctgacag
3703

aggcaacctatcatttgggacatgtgtgtgtttttgtcttttccttgggagctattcagaggaatggagatt
3775

agaataaagtatctcccctctccctatcccattttatcctaatacaaatctaaatttgcttttcaggttaaag
3847

attaagtaacagctccacccccttgctgttgtgacaactcaaaattactccaggcattgccaaatgatcccc
3919

ggggagggtgggggtggggtaggagaagcaaagtcactcttagttgagaactactggcttacaggaagttttt
3991

ttgtaaatgattgctaacatgcatcaatttaagttttgaatgtataaaattattatcttggcttcattaat
4063

ttttaaattatttgacataccaggatagtagtttgccttctaatacatggattttttcatgaagatgttaaca
4135

gactttgggaagaactaggagtagaagtagtttctgtagggtcaaatctatgaggcctggaatttggtttcct
4207

atagggattcccagagataagttatgatggaacatggttgcctccttaatgtaatttcagaagtcagggga
4279

tggagcctaaaatctcataataaggtccactgtagattttttaagacattaatttgcctaattcacttaaaa
4351

gtttctgttaaatcacatttcaaggtaatgaactccaaaattccctatatctccggagtttgtgtgaagaa
4423

ataagtagctttttcccctttcaaaactcatctgtattaaaatgttaacgtaactacttacttaggcattt
4495

aagtttatttctgacatcactgtttatgcagtgccagaatttgcgttactactcctctttccaatcgctct
4567

gctgttttatgactttcgaattatgactttatgaaatctcataggttttaggatattagacatgaaagaaaa
4639

cttggagatcatatggtccattcccatcattttacaaattggaaaactggctttttcttgatgctcaaggta
4711

tactaatgtttgtgaactgtactgtaattgatttctggttcaatagcaaaactactttatgcctctgcaatca
4783

agataggcaaattccaggccccaggagaaacctgacacacaggagaaacacgttttgtctcaaaaagccatc
4855

ttgggtctggaaactgcattttgtttctagaatgaaaaagagaatgtgcggttcattaatatcatgcctttt
4927

caagtttacttaataattgggcaagaatattttccattgtgctgggatgaacgttttaacatctgagcagta
4999

ttcaatctaagagtaattactgactttgaaagtctcataatgtagccaggaagtgccttttgataaggaag
5071

38

caacttctgagtacaatagactagaaacgaaaaatattccatcaaacattttctcttttcatttaagGGA
5143

G

D R M W H F A V S V F L V E L Y G N
56
GAT CGG ATG TGG CAC TTT GCG GTG TCT GTG TTT CTG GTA GAG CTC TAT GGA AAC
5197

S L L L T A V Y G L V V A G S V L V
74
AGC CTC CTT TTG ACA GCA GTC TAC GGG CTG GTG GTG GCA GGG TCT GTT CTG GTC
5251

L G A I I G D W V D K N A R L K
90
CTG GGA GCC ATC ATC GGT GAC TGG GTG GAC AAG AAT GCT AGA CTT AAA G gtgagt
5306

271

gttggtatataattaagcccttttattcatgggaccaatgcctgagctacctctgtagcaaaggaaacaaca
5378

aactaggagagaaacaaccagggaatgtctgcatgccacacttgagggaggaggccttagatggcaccacct
5450

ctggatggagggtcccatggctcccacacaaagttgggatgcctggacattgacctaatagatttttttgta
5522

tctttggctgttcataaatttcatatgttaatgattaaccttgtagcacttctctgagaacctgttaaaca
5594

ttaaaagtttgcttaactcaggcttcttaactgtatcttgtactggagtccttttagtgtgatgttctctgag
5666

acagctttaacatctgttctttggttactatgtttcatgtaagagtatgtataaggaattgaaaactaaga
5738

atagcttcaaggcagaatagttgagcctggatcacaagagctgaattataaattttgtagggaaaaagaag
5810

aaataataatcttgatatttatttctaagcattagtagtactgaaatcatgtcattttatacaggaaagaagt
5882

aattgatcaattaaattttccagtatataagggaaatatggatgatcattcagggtaaattttcttgaattg
5954

ctcagttgataatgccaagacctgacctgcctgacttagatggtggcaaaagactgagtttcttctttc
6026

agtgcgagatgactgcttctggacacagagcaacaggcttatcaaattctaggacttgatgctactaggaaa
6098

atgggtcaagggtgaacatatttctggttttagaatgagtagaccagaacacatatagagaaaagttctgtaat
6170

ctagaaaaaatttacttctttgcatcattatacataggaacataggaatattatacatagaaacttttaat
6242

ctaattgattgttgagcactgcaatcatagattaggaagaatattgaattggatgaagaaaagtggtgtagg
6314

ataacaatttccacttatcctatataatcaactcatacattactctttatgaaaaatgtttcctgataacct
6386

ctgggctgaatttaccatttcttctctgtgttcccatgaggctttgttaccacctctgctcttacacagat
6458

ataatgatctgttcacatatcttttcttcttctgtgtgtaggggtcccaaaagctaagaaccttatttagtt
6530

gacatctgatccttatccagtgaaatgaatgcatgagtgaaatgaatgaatgatgttgggattttatcagact
 6602

gctttcagtaagcagcttattttttcttgcaagacctccaagcaaggatgaactatattatccttgaagac
 6674

aagagctgtaattatcccttacatatagaacttcatgttttccaaactgctttcgttaagtgttttatttgag
 6746

catcattatgaccctataaagtaaggaagacaggtattaccattctcaccttctagacgcaggcgtaagaga
 6818

tgttaggtatcctgccttagatcatctgcctactgagtgccagagaaaaggctaccaggtgtctttatctgt
 6890

ccttactccagtgctttatctatatggggcgctcataagagaattgccatctgtgatggaaggggtagctta
 6962

gaatttcgtagcaatggcaaatagcattagtagtgcgaagaaatacactgctgctttattcttggcaaat
 7034

tgtgtgtcttttctatttaggtaaaccatattatcagattcagcctgccatgtaggaggtgttagatttcat
 7106

aacttctctttaacctacatggtattgttttaccttaagcaacaaagagctgaaatgtggatcatgtc
 7178

tatatcactacagctccatttatgttaaactttcaagaagataaactaaatgaaaatgtagtcattatga
 7250

tagacttcagtgaaacagagaaaacttgggtacttcatcattttgtttgcatatttactggctgtgtgatc
 7322

ctctgggttgattgagagtagttgaggcaggactgacttcagaaagggttttctttttatctggtaataatt
 7394

aggtctgtgtattaatgtattatagtagaacaattatgtgtggataagaacagtctcactgagacatttga
 7466

100 V A Q T S L V V Q N

tgtaatgtacactttctctcttctctgcacag**TG** GCC CAG ACC TCG CTG GTG GTA CAG AAT
 7528

272

V S V I L C G I I L M M V F L H K H
 118

GTT TCA GTC ATC CTG TGT GGA ATC ATC CTG ATG ATG GTT TTC TTA CAT AAA CAT
 7582 **ex 4**

E L L T M Y H G W V L
 129

GAG CTT CTG ACC ATG TAC CAT GGA TGG GTT **CTC** gtaagttctcaatgagattcttgatgg
 7642

387

cagaaaattgaatatctggtagtggttaaaggatgaaaatgctttgaaagctatttttttttttggccagtggtg
 7714

accttttaaatattgatttctgtgtctactgtaatatcccctatagtttgtttggttgttttggccacaa
 7786

caggcactcattaagtattgtttgaatttaaatgttgcctattggtttctaagcatttctaagagtta
 7858

ctatagaattcagttgtttgttttcagcttttttagtgacctatactttgtttgtgctatttaataaatgta
 7930

tccatatctatattagtcagtcataattgcggttcctccaataataattggttacttctgtttggaatgtcaa
8002

ccagataacttttcatgttgatttcataagagcttgatggaaaagaggagaggatgggggtgtggtataa
8074

accatgcatctggtgtcatattgaatcttcttgtgtatatgtggattgatattatagagttgcaaagccagg
8146

taggactttagaaatctttgagcctattcccttcattttattgaaaaattaagacaaagtgaacgttagtt
8218

gattgccattgtcatgcaactagaagggtgcagaactctgacttaaatacaggtgttttcaattccccttc
8290

aacattcttttcaaaggcaatatttgtgggagaaatgttcaaaaccaccactgtgttaacattttataactg
8362

tattcacctgactattataatttttgtattatgtgtactacagatgatctagatgatacaggttaggacatt
8434

atgccattgactactggtattcattcagtttcataatctataacgtaaaatgatttcttataaatgaaatta
8506

aaatacttttttatcattccaccaagactattttaaactgccttgtttagtgacatatgtacagtgtggt
8578

137 T S C Y I L I I

aaactgacattataactcattttttcttgtcattcttttagACT TCC TGC TAT ATC CTG ATC ATC
8643

388

T I A N I A N L A S T A T A I T I Q
155

ACT ATT GCA AAT ATT GCA AAT TTG GCC AGT ACT GCT ACT GCA ATC ACA ATC CAA
8697 ex 5

R D W I V V V A G E D R S K L A
171

AGG GAT TGG ATT GTT GTT GTT GCA GGA GAA GAC AGA AGC AAA CTA GCA A gtaatt
8752

514

tggctttctcttttaataatgaaatgagcatggttaggattcactttaaatcggtggtgataaatgaggctgtaag
8824

ccttgtatttttgttctgggtattttttaagaatgataaattgaaagcatacttttttcttaccttattgt
8896

cagtttttagtgctgatttatctcactgttacgaagttaacttataggatagctaacttctcttttatcctac
8968

acaaacttgcaaatggaataacttttcttctcttttttttttaaaaaaaattcaatcaactttcta
9040

aatgtttataacttagaacagtgcaaatctgacatgagattttactggtcatacctatgaatgttattactgg
9112

tgcttatcaatcatatggatgttatttttctctaaatcaaatggaaacaattgtaggagagactctagaagt
9184

taatttcttccatcttaagttataatctataattttattacattatgtacaatgtaataaattgctgtta
9256

caaataccaagaaatagaggacagaatatagtttttaagaagcttaccatcttagttgttcattgggaata
9328

taaacaagtggcacaagaacatctgaagaatgcttacaaggcaacatgtcctattctgtcaatattacttag
9400

gctcagaataacctccctcactcattattgcctgccgtcccctcatatgacacacagacacaatttgattg
9472

acacaaattggaattacaattcccctgtgtaaggaggaagggtacacctccctacctgtcagatcagctgag
9544

tcaactctgctgatcactgagataatgggtataacaaacacattgcccaactgtcctgacagacaagtaaac
9616

cattcttgatgacttaaatggcatatcccaggatacagaaggcaagattatgtgctgggggttagcaagcagc
9688

tttgtttggaccatttggttaaaaaaaaaagttagaaaggaggggtgagtgaaggagaacaaagtctgtggaa
9760

ggctctagaagaagaatttgctgaatcatcactttgtggtgcagattattattgagttagaaattccaca
9832

gtgattgatttaaaggatgggtgtgtatgtaagatgaatttagcatgtgtgaatctgtatcacaggaaattct
9904

ctctggagctaaaatcatgattctcatttacttttcttctgtgatcatttataatgaggaataatttcatg
9976

tctttttgtcacattgaaactagatgataaggctttgtctttttgtttactttctctttttaacaaacta
10048

cttaaagcatgtaaaatataatccatgttttaaaattcaaagggtaaaaaggatataattttgacaatagatc
10120

acacatatatttgttgaatataacttagagaagaaagttgacttttacaatgattattctgtgatttgtgca
10192

gcagctatagataaaaatgaaaataaaattattttctttcacttaactgattttaactaactcatttgactct
10264

gcaaagtctgaaatatgaaaagaaagtttagccagaatctttaacttgccttaagatatataacacaca
10336

cacatatatacacatatataacacacacacatatataatagatgtgtatatataacatacacatatata
10408

gggtgtgtatatataacacacacatatataataggtgtgtatatataacacacatatataataggtgtgtata
10480

tatatacacatatataacacacacacatatataaataactgcaaacatgccacataactctgggattttt
10552

ctatgaagtgatgtccaagaataacaacaaaaatagactggctgcttctcagctgtctgtctttatattat
10624

gaattattgcagagtggaagaatctaggctattcagctttttctaaactttctgatgtttttcaagtaggaa
10696

aggaagtgagatgtttgttgaactcttgtccactctacattagcttttagtaagtggtgctctttcacatcc
10768

agccagcagtggtggctggactagtgaggaaaactttctgcatgtttcaaacaggaacagaaactt
10840

ctttagttctgaaggtcagaaagtatctaattgtggattttttgtgccatttctgctattgcagagttaaag
10912

gagaacagagaaaaaggaggaggataaaaggaaaaatgggacaaagaagggggaaagtacatctagaagggac
10984

tccacctgctgccttgggttcctatgaggttgtgtctcttatacacagaccacactactccaggcaggaagg
11056

at ttgtgtttatgcaggctgatttttgaggttgtggcaaagaaaccaggtagggcctaggccaggaaggc
11128

ttcacctgtttgtgatatgttttagagggtgaaaggggaggggtatgcccatgaaaagtaaaagt tttgagct
11200

ggatgctgattgctcccatttcctcatcacagtgtttcttaatttttagagattgttttaaaactagaagctg
11272

tatcactgagggtaaaagaaaaggaggaattttccctgcccaaggttaaaaagttttagaatttcagtggcat
11344

caggccaaaatacagcagtcattatccagtttgaaagttccagaaaaggtgttttatttttctcatgaata
11416

ctgctaaccagttaactaatttaggtactttctaggtgcttgatttagtacagtgttttatgataacattct
11488

cttgtgccacgtttgaatcttacttccctttccaggcttttaactccatctattgcttttttccctcctc
11560

catttcttttgaggatcactctttattagatcttctgagatttttcttgcccatcatgctaaaaataatc
11632

tgccagttagcttgatcaagtatggcagataaattttgtgttcgtgtggtattgattaaaaatcgatttcat
11704

atatgaagtagacaaaactgctaggaaatttaaaagaatttttcttctatggatgtaataataccattataa
11776

tagaagtagttatttaatgtcatgttctgtgccacagctgtagctgagaacagttaaattggaatcaaatca
11848

acacatatttgtgtgcttatgtaagactaaatataaattggtaaagagcgtatatttgcataattcataagac
11920

tgattcttttctagcctgctaccagtaagatgattaagtcttttttttttttgagacggagtctcgctttgt
11992

caccaggtggagtgagtgacagtggtcactcactgcaagctccgcctcctgggttcagccattctc
12064

ctgcctcagcctcctgagtagctgtgactacagggcccgccaccatgcccggctaattttttgtattttt
12136

agtagagacaggtttcactgtgttagccaggattgtcttgatctcctgacctcgatccaccgcctcgg
12208

cctcccaaagtgtgggattacagggctgggccaactgcaccggcctaagtcttttttttttttttaatt
12280

atccattctgcatcagaaaaataaaagctgttttttaatacaacatttctactgacacctacatattattaa
12352

ctttctaagtataataaaaagatggaaattggtagacattgggaagctccgtgagctcttaaaaactgaagt
12424

agtgaaagggtaagaaataattttaactaaataatttgtgtgtcattctgggactttaagattcaata
12496

tatgttttcttttagttacttgctttttggattccaattattgagttatttggataaattccacacttctctg
12568

ttggcatatgagttgaaacttatttagttagtgaggagcagatggtagtgaaacctctgcggtggcagtcaa
12640

gtgtaagatcaatgaaggctgcctttgcctctcaagtgaaaggtaaatatgtcaaagttctcctgttatca
12712

tatatgcaatatatactcatagggctaattggaaagcaattgaggaccaggaagaattacagaaggaataaa
12784

ggcaatcttctgttaatgtacttcttcgtcacgtattgttttctgttaaggtgacccaaatgattgcttaa
12856

gacttgtctcactaattttcactctgttctgtgagacaggaagtgaaaaagtagatcactttctcactttc
12928

tttttgcctaaaacttttggttttattttattttaattaatttttatactgacacataattgtgcttatt
13000

atggagtacatagtcattgtgtgatgagatgagatggagatacatctccatcatctcaacatgtatcattt
13072

ctttgtgttgacatttttttaacttctcttttattgattttgtcctgcactctgactcaggaatacattcc
13144

cgtagtcaaactctagactttgttatcaccactaaattctctcctcccataatctcagtcttaggcatccat
13216

attttgagaaatcaccttctgtctttccaccaacttctcactaccacagcctcaacaatccatgtggttgg
13288

cacctacaaaccattcattccacggccttttactgtccatgatctctctcttctctctttcttaccagct
13360

taaaattcaaggccagtcatttatgatcatctcttggcatataccctcagctcagttggccccctctc
13432

gttttgtcacttttgtttggtaagactttgggttaaatccaactttccacagtagagcatggctggaaaaaa
13504

tgcacgaacttgctcagcattctcacttgagggttcagggccacagagttggctctttcatgcttccagataa
13576

tcacactatcttctgattctttccttctccactttcctagaggaccattcacagttgtttctcctctctc
13648

atcacatgttcaagtcctcctccccatcctcactttcgtcaatgacctggctttgtattttctgagaaaa
13720

tggaataaatgagaagaaagcttccatgtgattccaccatcatgtctctcttctacctgtacctgaagcca
13792

tatatgtggtctctactcttgttactattgatgaattgtgttctctgtctaagagcaactcctcagttatgc
13864

ggtagattcagattacatcccttatctactgtatcattccaggcagcacataatcctgctctaattttgctc
13936

ctcttaaaaaatccctatcttttagcacacttcttctctgctactctatcttttgttcttctttttgtcaaa
14008

acatatccaaaagacttgcttattttccaattccattttttgggcagtagcttcttccataaggccatggg
14080

aagcattcacattgtgctccagggtatgactcactgaaaatacaaatgggtgtcccctgggggttggcaccagt
14152

ctcttaaatacagctttattcaggcattgcccttatcgttctccttttttgagggtctccagaatctctcttg
 14224
 tgaccaagctagtgtttcttttcagtgcttctcggtgctgtgatgctcttttttcagtgagtcctctgacc
 14296
 tcgccttatttagaacattcccctgggcactctctgcccttttgcttcattacttttcacatagatatttaa
 14368
 taaacatctgacatatgcagtgtttgtgtgtgtatacacacacacacacacgcacacacacacacacatatg 14440
 cttggtgatttattgtcttttctttcctgtgagaataaaactctgtgaagacaggaagaatgttactttt
 14512
 cttctttatagtgtaagaattggtgagaataatgactagcttataataggcatttaagatataattgttga
 14584
 aaaaaatgaatgtagagtcactgctgtattcattttaaaagctattagactgatttatgcaattccaaggg
 14656
 gattatcattggtgaggcaaatttagtgggacttgacccaaacaacaatatattttccaacaaaatgtcttt
 14728
 cttacaaatgtacttttagaaaaccacatttttaggaatctatactcttggtttacagctttgtattgtgtaa
 14800
 N M N
 174
 atgggcagtcctctctttgatggggttgacacttacctgcctctttcacctgcctctcttagAT ATG AAT
 14869
 515
 A T I R R I D Q L T N I L A P M A V
 192
 GCC ACA ATA CGA AGG ATT GAC CAG TTA ACC AAC ATC TTA GCC CCC ATG GCT GTT
 14923
 G Q I M T F G S P V I G C G F I S G
 210
 GGC CAG ATT ATG ACA TTT GGC TCC CCA GTC ATC GGC TGT GGC TTT ATT TCG GGA
 14977
 W N L V S M C V E Y V L L W K V Y Q
 228
 TGG AAC TTG GTA TCC ATG TGC GTG GAG TAC GTT CTG CTC TGG AAG GTT TAC CAG 15031
ex 6
 K T P A L A V K A G L K E E E T E L
 246
 AAA ACC CCA GCT CTA GCT GTG AAA GCT GGT CTT AAA GAA GAG GAA ACT GAA TTG
 15085
 K Q L N L H K
 253
 AAA CAG CTG AAT TTA CAC AAA G gtaaactgaacacaatgatctctccttttgttctcatgttca
 15149
 760
 gaccttaaatagttggtgaagatcaaaactatatttgaatttgatcagggtttattaccagtgggggccagat
 15221
 gaggttaaataatcgcctttggttagacgaggcaagagcaggcttttgaggatctagggaaaaactccggggt
 15293
 gaatctggtggggttagaatgggtcccctagccctcttcttgatgtgagcagtagttatagaggttcaatt
 15365

ttacttgagagatagctgggcaaagctaagtcataggactgggaaaaatgtggggaaaaaaagagaatgag
15437

agaatcccttggactctgtgaggagggagttatgtagtcatttgtaggacagtgaagggagtgaggacaca
15509

aagatgggtatttcactggagaagaggacgctgggcttctgggtaaacagaatcttttatccagctctgcag
15581

ggaccagaaaataatatgctgggtgttttttgttttttggagacagagtctcgctctgtcgcccaggctgg
15653

agtgcagtggcgcgatcttggctcactgcaagctctgcctcctgggttcacgccattctcctgcctcagcct
15725

cccaagtagctgggattgcaggcatccaccaccaccccggctaattttttgtatttttagtagagacgggg
15797

tttcaccatgtagccaggatgggtcttgatctcctgacctcgtgatctgcccgcctcggcctcccaaagtgc
15869

tgggattacaggtgtgagccaccgtgcctggccaatacgtgtgttttttagacaattttaatattttatc
15941

tggtgagttttcctgctgtttactttgggtgggagtataatttctaagagcaagagagagagagaaaaaaag
16013

agggatagatcaatagtagttttgtttatttaataaaaaatgacacttgatgattattccttggctggaattct
16085

tagattattagtaaaagaaaatacatattacaatgtctaaccaagggtagccattgggaaggggaatagaag
16157

gaaaaaaagtactactaataattggctttttatttctacatgtcctcccccaaaaaataatgggtatcttttct
16229

D T E P K P L E G T H L M G V K D
270

taacagAT ACT GAG CCA AAA CCC CTG GAG GGA ACT CAT CTA ATG GGT GTG AAA GAC
16285

761

S N I H E L E H E Q E P T C A S Q M
288

TCT AAC ATC CAT GAG CTT GAA CAT GAG CAA GAG CCT ACT TGT GCC TCC CAG ATG
16339

A E P F R T F R D G W V S Y Y N Q P
306

GCT GAG CCC TTC CGT ACC TTC CGA GAT GGA TGG GTC TCC TAC TAC AAC CAG CCT
16393

V F L A G M G L A F L Y M T V L G F
324

GTG TTT CTG GCT GGC ATG GGT CTT GCT TTC CTT TAT ATG ACT GTC CTG GGC TTT
16447

D C I T T G Y A Y T Q G L S G S I L
342

GAC TGC ATC ACC ACA GGG TAC GCC TAC ACT CAG GGA CTG AGT GGT TCC ATC CTC
16501

S I L M G A S A I T G I M G T V A F
360

AGT ATT TTG ATG GGA GCA TCA GCT ATA ACT GGA ATA ATG GGA ACT GTA GCT TTT
16555

T W L R R K C G L V R T G L I S G L
378
ACT TGG CTA CGT CGA AAA TGT GGT TTG GTT CGG ACA GGT CTG ATC TCA GGA TTG
16609

A Q L S C L I L C V I S V F M P G S
396
GCA CAG CTT TCC TGT TTG ATC TTG TGT GTG ATC TCT GTA TTC ATG CCT GGA AGC
16663 **ex 7**

P L D L S V S P F E D I R S R F I Q
414
CCC CTG GAC TTG TCC GTT TCT CCT TTT GAA GAT ATC CGA TCA AGG TTC ATT CAA
16717

G E S I T P T K I P E I T T E I Y M
432
GGA GAG TCA ATT ACA CCT ACC AAG ATA CCT GAA ATT ACA ACT GAA ATA TAC ATG
16771

S N G S N S A N I V P E T S P E S V
450
TCT AAT GGG TCT AAT TCT GCT AAT ATT GTC CCG GAG ACA AGT CCT GAA TCT GTG
16825

P I I S V S L L F A G V I A A R I
467
CCC ATA ATC TCT GTC AGT CTG CTG TTT GCA GGC GTC ATT GCT GCT AGA ATC G
16877

1402

rs73980217: +62G>T
gtaagaaatctctttttatataattaatgaactaaagtgtctttttgtaatgtagggttcagaaatccattaa
16949

rs#7596205: c.1402+117C>T
taaagtatctgaaatgtccctaaatgtaatttaagcaaaatcactccttacgaaatttttattttacata
17021

tttatactttatatttattgtgtttttttatattatagtttgaaaacctgtattttgtttactttattatatac
17093

atatacttaaaacatggttcaggcttgaaaataattttttctaaatgaatatcttaaatattacttggttttt
17165

ttttttgtttttttttttttgagatcagggtcttgctctgttaccaggctggagtgcagtggtgcagtcac
17237

agctcactgcagcctcgacctcctgggatcaagcagtcctcctgcctcagtcaccaagtagctgggactac
17309

agccatgtgccaccataccttgctaatttttgatgtttttgtagagatgggggttttgccatgttgccgaagg
17381

tggtcttgaattactgagctcaagtgattactttttaaatgaatttaatttataaaaagatattagctatat
17453

taattatactgccatctagtagagctttgatattgcaataaccttaacaaaaaaactgtagtttagaaaata
17525

ttcccataggacaacactaaaaaggtaatgttttttgctttaaagaagatgtgaaagtataaaaaaatc
17597

cttcaaaggctcttctctagcaaatatgtattttattatagtttgccacacaaatggattttatagccctgg
17669

aaggaaacataaagacttcttacaagcaaaaatthaagtaataattaatagagtactgatgaattatctctg
17741

aattcagtccttgaaatgaaactgtttttatcttgatgatacaaacagttcattagtttattgaagatattaa
17813

tttccaggcaagacagctttattggtttgggctttagaactctagcagtaataataacaatggtttaaagtttc
17885

cttacactttaaccataaccattttatttaggtcatttgaaacttaaaaaatactagtacttatactataatag
17957

gatttattatgtctctgatttcaaagttttgtttttgtagtatgaataatcacagaaaaacagaactaagaa
18029

gtttgtagattagacttctttttgtctgatgactgtaaaaaatcatttattgaggccactaataacccaatat
18101

ttatttatgaaaaataattcttaaggcaaggctatggatatattaaggtgacttaagacagtcaggctaaa
18173

atgtatattttgcatatgtcaacagatttttatctgtgatttgaaatgtatgcctgtaaacataaatcta
18245

479 G L W S F D L T V T Q L
ctttaaaaaatattttattatagGT CTT TGG TCC TTT GAT TTA ACT GTG ACA CAG TTG
18304

1403

497 L Q E N V I E S E R G I I N G V Q N
CTG CAA GAA AAT GTA ATT GAA TCT GAA AGA GGC ATT ATA AAT GGT GTA CAG AAC
18358

515 S M N Y L L D L L H F I M V I L A P
TCC ATG AAC TAT CTT CTT GAT CTT CTG CAT TTC ATC ATG GTC ATC CTG GCT CCA
18412 **ex 8**

533 N P E A F G L L V L I S V S F V A M
AAT CCT GAA GCT TTT GGC TTG CTC GTA TTG ATT TCA GTC TCC TTT GTG GCA ATG
18466

551 G H I M Y F R F A Q N T L G N K L F
GGC CAC ATT ATG TAT TTC CGA TTT GCC CAA AAT ACT CTG GGA AAC AAG CTC TTT
18520

569 A C G P D A K E V R K E N Q A N T S
GCT TGC GGT CCT GAT GCA AAA GAA GTT AGG AAG GAA AAT CAA GCA AAT ACA TCT
18574

572 V V *
GTT GTT TGA gacagtttaactggttgctatcctgttactagattatatagagcacatgtgcttattttg
18642

1716

tactgcagaattccaataaatggctgggtggtttgtctgtttttaccacagctgtgccttgagaactaaaa
18714

gctgttttaggaaacctaagtcagcagaaattaactgattaatcccttatgttgaggcatggaaaaaaat
18786

tggaaaagaaaaactcagtttaaatacggagactataatgataaacactgaattcccctatttctcatgagta
 18858
 gatacaatcttacgtaaaagagtgggttagtcacgtgaattcagttatcatttgacagattcttatctgtact
 18930
 agaattcagatatgtcagttttctgcaaaaactcactcttgttcaagactagctaattttatTTTTTgcactc
 19002
 tagttatTTTTTaaaaacaaattcttcaagtatgaagactaaaattttgataactaatattatccttattgatc
 19074
 ctattgatcttaaggtatttacatgtatgtggaaaaacaaacacttaactagaattctctaataaggTTTA
 19146
 tggTTTtagcttaaagagcacctttgtatTTTTtattatcagatggggcaacatattgtatgaagcatatgtag
 19218
 cacttcacagcatggttatcatgtaagctgcaggtagaagcaaagctgtaaagtagatttatcacacaatga
 19290
 ctgcatacagacttcaaatatgtcaatagtttggTcatagaacctagaagccaaaagccacacagaagggca
 19362
 agaatccaatttaactcatgttatcatcattagtgatctgtgTTgtagaacatgaggggtgtaagccttcag
 19434
 cctggcaagttacatgtagaaagcccacacttgTgaaggttttgttttacaatcacttgatttaacacact
 19506
 caggtagaatatttttatttttactgTTTTtatacccagaagttatttctacattgttctacagcaagaatat
 19578
 tcataaaagtatccctttcaaatgcctttgagaagaatagaagaaaaaagtttGTatatatTTTTaaaaaat
 19650
 tgTTTTaaaagtcagtttgcaacatgtctgtaccaagatggTactttgccttaaccgTTtatatgcactttc
 19722
 atggagactgcaatacgttgctatgagcactttctttatcctTggagTTtaacTctttgcttcatctttcta
 19794
 cagtatgacataatgatttgctatgTTgtaaaatctttgtaaaaaatttctatataaaaaatattttgaaaat
 19866
 cttaa
 19871

LOCUS NC_000002 20298 bp DNA linear CON 30-AUG-2006
 DEFINITION Homo sapiens chromosome 2, reference assembly, complete sequence.
 ACCESSION NC_000002 REGION: complement(190133561..190153858)
 VERSION NC_000002.10 GI:89161199
 PROJECT GenomeProject:168
 KEYWORDS HTG.
 SOURCE Homo sapiens (human)
 gene 1..20298
 /gene="SIC40A1"
 /note="Derived by automated computational analysis using
 gene prediction method: BestRefseq. Supporting evidence
 includes similarity to: 1 mRNA"
 /db_xref="GeneID:30061"
 /db_xref="HGNC:10909"
 mRNA
 1..470, 1008..1075, 5568..5727, 7927..8042, 9047..9173, 15289..15534, 16663..17304, 18697..20298
 CDS
 428..470, 1008..1075, 5568..5727, 7927..8042, 9047..9173, 15289..15534, 16663..17304, 18697..19010

ANNEXE 5: POLYMORPHISMES CONNUS DU GENE *SLC40A1*

SLC40A1 (NC_000002.10; NM_014585.3)												
Position	nature de la variation	cDNA	ss# sur dbSNP	rs# sur dbSNP	HGYS nomenclature genomic	HGYS nomenclature transcript	codon change	variation protéique	AA change	Mutation / Polymorphisme	Ez Restrict site	Référence bibliographique
4	5'UTR substitution	G>C		rs#13008848		c.-88G>C	NA	NA	NA	polymorphisme	Aval	Lee P et al. BCMJ 2001; 27:783 Douabin-Gioquel et al. Hum. Genet oct 2001; 109:393
7	5'UTR substitution	C>G		rs#1568351		c.-8C>G	NA	NA	NA	polymorphisme	EIal	Lee P et al. BCMJ 2001; 27:783 Douabin-Gioquel et al. Hum. Genet oct 2001; 109:393
10	IVS1 substitution	A>C		rs#4287798		c.43+68A>C	NA	NA	NA	polymorphisme	Aval	Asi.trouve.dans.littérature.180297 Lee P et al. BCMJ 2001; 27:783
14	IVS1 substitution	G>C		rs#433816		c.44-24G>C	NA	NA	NA	polymorphisme	Tsp45I	Althes et al. AnnHematol 2008; Pointon et al. BCMJ 2009; 43: 194
54	exon 6 substitution	"V220" ? T>C ou ? C>T		rs#2304704		c.663T>C	NA	p.V221V	Val>Val	polymorphisme	none	Lee P et al. BCMJ 2001; 27:783 Pointon et al. BCMJ 2009; 43: 194
80	IVS7 substitution	G>T	ss118015765	rs73980217	g.22290G>T	c.1402+62G>T	NA	NA	NA	polymorphisme	TIIl	Montpellier, cas HG2394 MAD VI, HG4995 PIC Hub <i>Asi.trouve.dans.littérature.180297</i>
81	IVS7 substitution		ss11504907	rs#7596205	g.22345C>T	c.1402+117C>T	NA	NA	NA	polymorphisme		Montpellier, cas HG4995 PIC Hub UCSC, SMP

ANNEXE 6: ABSTRACT SOUMIS AUX J FHOD 2011

Mutations du gène *SLC40A1* codant pour la ferroportine et carcinome hépatocellulaire

I. Chaze, P. Martinez, N. Funakoshi, M. Giansily, S. Cunat, B. Gallix, JC. Valats, M. Bismuth, JF. Schved, P. Blanc

La surcharge en fer est un facteur de risque démontré de carcinome hépatocellulaire (CHC). Ainsi, les surcharges martiales des hémochromatoses héréditaires, liées au gène *HFE*, sont associées à un risque accru de CHC. Les mutations du gène *SLC40A1*, codant pour la ferroportine (FPN), dont la transmission est dominante, conduisent à des surcharges martiales majeures (1). Récemment, des cas isolés de sujets atteints de maladie ferroportine et de CHC ont été rapportés (2-4).

But:

Préciser la fréquence des mutations du gène *SLC40A* chez les malades ayant une surcharge en fer hépatique et un CHC.

Matériel et méthodes

Tous les malades ayant un CHC, pris en charge consécutivement entre janvier 2009 et septembre 2010, ont été inclus dans cette étude prospective. Le diagnostic de CHC reposait soit sur des critères anatomopathologiques, soit sur des critères d'imagerie (critères de Barcelone). Tous les malades, dont la ferritinémie était > 300 ng/ml pour les hommes et 200 ng/ml pour les femmes ou dont le coefficient de saturation de la transferrine était > 50 % pour les hommes et > 45% chez les femmes, ont eu une détermination de la concentration hépatique en fer (CHF), soit par IRM soit par absorption atomique sur prélèvement hépatique. Les malades ayant un génotype *HFE* C282Y homozygote ont été exclus. Les co-facteurs de risque de CHC ont été recensés: consommation excessive d'alcool, infection chronique virale B ou C, syndrome dysmétabolique.

Les malades ayant une CHF > 100 µmol/g ont eu, après signature d'un consentement éclairé, un séquençage direct des 8 exons et des jonctions introns-exons ainsi que de la région 5'UTR du gène *SLC40A1* par la méthode SCA (Single Condition Amplification) (2).

Résultats

Deux cent trente quatre malades (212 hommes, 22 femmes, âge moyen 61 ans) ayant un CHC ont été inclus. Deux cent six malades (88%) avaient une cirrhose, 162 (69%) une consommation excessive d'alcool, 105 (45%) une infection chronique virale B ou C, 34 (14,5%) un syndrome métabolique. Douze (5%) malades, homozygotes C282Y, ont été exclus. Cent neuf (49%) malades avaient des perturbations du bilan martial sérique telles que définies dans le paragraphe "matériel et méthodes". Treize de ces 109 malades avaient une surcharge hépatique en fer majeure, estimée à plus de 100 µmol/g de foie sec. Ces 13 malades ont consentis au séquençage du gène *SLC40A1*; aucune altération de séquence à l'exception de polymorphismes connus non pathogènes n'a été observée.

Conclusion

Parmi les 234 malades atteints de CHC inclus dans cette étude, aucun de ceux ayant une surcharge hépatique en fer majeure n'avait de mutations pathogènes du gène codant pour la ferroportine. Il apparaît donc que les mutations du gène *SLC40A1*, par le biais d'une surcharge martiale, ne sont qu'une cause très marginale de CHC.

[1] Pietrangelo A. et al. *Blood Cells Mol Dis* 2004;**32**:131–138.

[2] Cunat S. et al. *Clin Chem* 2007;**53**:2060-2069.

[3] Corradini E et al. *Gut* 2007;**56**:1030-1032.

[4] Rosmorduc O. et al. *Gastroenterol Clin Biol* 2008; **32**: 321-327.

SERMENT

- *En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.*
- *Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.*
- *Admis (e) dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*
- *Respectueux (se) et reconnaissant (e) envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert (e) d'opprobre et méprisé (e) de mes confrères si j'y manque.*



Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΟΡΚΙΣΘΑΙ ΕΤΟΙΜΟΝ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΤΟΝ ΙΑΤΡΟ ΚΑΙ ΕΤΟΙΜΟΝ ΑΣΚΛΗΠΙΟ ΚΑΙ ΕΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΚΑΙ ΕΤΗΝ ΠΑΝΑΚΕΙΑ ΚΑΙ Ε' ΟΛΟΥΣ ΤΟΥΣ ΘΕΟΥΣ ΕΠΙΚΑΛΟΥΜΕΝΟΥΣ ΤΗΝ ΜΑΡΤΥΡΙΑ ΤΟΥΣ, ΝΑ ΤΗΡΗΣΩ ΠΙΣΤΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΚΑΙ ΤΟ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ. ΝΑ ΘΕΩΡΩ ΑΥΤΟΝ ΠΟΥ ΜΟΥ ΔΙΔΑΣΚΕ ΑΥΤΗ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΚΑΙ ΜΕ ΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ ΚΑΙ ΝΑ ΜΟΙΡΑΖΕΤΩ ΜΑΖ ΤΟΥΣ ΤΑ ΥΠΑΡΧΟΝΤΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΑ ΧΗΜΑΤΑ ΜΟΥ ΑΝ ΕΧΕΙ ΑΝΑΡΧΗ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ. ΝΑ ΘΕΩΡΩ ΤΟΥΣ ΑΠΟΓΟΝΟΥΣ ΤΟΥΣ ΚΑΙ ΤΑ ΑΔΕΛΦΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΝΑ ΤΟΥΣ ΔΙΔΑΣΩ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΑΥΤΗ ΑΝ ΘΕΛΟΥΝ ΝΑ ΤΗ ΜΑΘΟΥΝ, ΧΩΡΙΣ ΔΑΜΟΙΒΗ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΛΑΙΟ ΚΑΙ ΝΑ ΜΕΤΑΔΩΣΩ ΜΕ ΓΑΡΑΓΓΕΛΙΚΕΣ, ΟΔΗΓΕΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΕΣ ΟΛΗ ΤΗΝ ΥΠΟΛΟΙΠΗ ΓΜΩΣΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΜΟΥ ΚΑΙ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ ΕΚΕΙΝΟΥ ΠΟΥ ΜΕ ΔΙΔΑΣΚΕ ΚΑΙ ΕΤΟΥΣ ΑΛΛΟΥΣ ΜΑΘΗΤΕΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΚΑΝΕΙ ΤΡΑΠΗΤΗ ΣΥΜΦΩΝΙΑ ΜΑΖΙ ΜΟΥ ΚΑΙ Ε' ΑΥΤΟΥΣ ΠΟΥ ΕΧΟΥΝ ΟΡΚΙΣΘΕΙ ΕΤΟΙΜΟΝ ΙΑΤΡΙΚΟ ΝΟΜΟ ΚΑΙ ΕΞ ΚΑΝΟΝΑΝ ΑΛΛΟ ΚΑΙ ΝΑ ΘΕΡΑΠΕΥΩ ΤΟΥΣ ΠΑΘΧΟΝΤΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΥΝΑΜΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΚΡΙΣΗ ΜΟΥ ΧΩΡΙΣ ΠΟΤΕ, ΕΚΟΥΣΙΩΣ, ΝΑ ΤΟΥΣ ΒΛΑΨΩ Ή ΝΑ ΤΟΥΣ ΑΔΙΚΗΣΩ. ΚΑΙ ΝΑ ΜΗ ΔΩΣΩ ΠΟΤΕ ΕΞ ΚΑΝΕΝΑ, ΕΣΤΩ ΚΙ ΑΝ ΜΟΥ ΤΟ ΖΗΤΗΣΕΙ, ΘΑΝΑΤΗΦΟΡΟ ΦΑΡΜΑΚΟ, ΟΥΤΕ ΝΑ ΔΩΣΩ ΠΟΤΕ ΤΕΤΟΙΑ ΣΥΜΒΟΥΛΗ. ΟΜΟΙΩΣ, ΝΑ ΜΗ ΔΩΣΩ ΠΟΤΕ ΕΞ ΓΥΝΑΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΟ ΓΙΑ ΝΑ ΑΠΟΒΑΛΕΙ. ΝΑ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΔΕ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ ΚΑΘΑΡΗ ΚΑΙ ΑΓΝΗ. ΚΑΙ ΝΑ ΜΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΗΣΩ ΠΑΘΧΟΝΤΕΣ ΑΠΟ ΝΙΘΟΥΣ ΑΛΛΑ ΝΑ ΑΦΗΣΩ ΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΑΥΤΗ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΕΔΙΚΟΥΣ. ΚΑΙ Ε' ΟΠΟΙΑ ΣΠΕΤΙΑ ΚΙ ΑΝ ΜΠΩ, ΝΑ ΜΠΩ ΓΙΑ ΤΗΝ ΩΦΕΛΕΙΑ ΤΩΝ ΠΑΘΧΟΝΤΩΝ ΑΠΟΦΥΓΟΝΤΑΣ ΚΑΘΕ ΕΚΟΥΣΙΑ ΑΔΙΚΙΑ ΚΑ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΚΑΘΕ ΓΕΝΕΤΗΣΙΑ ΠΡΑΞΗ ΚΑΙ ΜΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΚΑΙ ΜΕ ΑΝΔΡΕΣ, ΕΛΕΥΘΕΡΟΥΣ ΚΑΙ ΔΟΥΛΟΥΣ. ΚΑΙ ΟΤΙ ΔΩ Ή ΑΚΟΥΣΩ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΔΕΚΗΝ ΤΟΥ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΟΣ ΜΟΥ, Ή ΚΙ ΕΚΤΟΣ, ΓΙΑ ΤΗ ΖΩΗ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΡΕΠΕΙ ΠΟΤΕ ΝΑ ΚΟΙΝΟΠΟΙΗΘΕΙ, ΝΑ ΣΙΩΠΗΣΩ ΚΑΙ ΝΑ ΤΟ ΤΗΡΗΣΩ ΜΥΣΤΙΚΟ. ΑΝ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΑΥΤΟ ΤΗΡΗΣΩ ΠΙΣΤΑ ΚΑΙ ΔΕΝ ΤΟΝ ΑΦΕΤΗΣΩ, ΕΙΘΕ ΝΑ ΑΠΟΛΔΥΣΩ ΓΙΑ ΠΑΝΤΑ ΤΗΝ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΖΩΗ ΜΟΥ ΚΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗ ΜΟΥ, ΑΝ ΟΜΩΣ ΠΑΡΑΒΩ ΚΑΙ ΑΦΕΤΗΣΩ ΤΟΝ ΟΡΚΟ ΜΟΥ ΝΑ ΥΠΟΣΤΩΤΑ ΑΝΤΙΘΕΤΑ ΑΠΟ ΑΥΤΑ.

PERMIS D'IMPRIMER

=====

Je soussigné, Professeur

certifie, en ma qualité de Président du Jury de Thèse de :

M

avoir lu la thèse ayant pour titre :

et le résumé correspondant.

Les opinions et les principes émis n'étant contraires ni à l'ordre public ni à la déontologie médicale, je donne un avis favorable à l'imprimatur de la thèse.

Montpellier, le

Le Professeur,

Carcinome hépatocellulaire et maladie ferroportine :

RESUME

La surcharge en fer est un facteur de risque démontré de carcinome hépatocellulaire (CHC). Les mutations du gène *SLC40A1*, codant pour la ferroportine (FPN), conduisent à des surcharges martiales majeures. Des cas isolés de sujets atteints de maladie ferroportine et de CHC ont été rapportés. Le but de cette étude est de préciser la fréquence des mutations du gène *SLC40A1* chez les malades ayant une surcharge en fer hépatique majeure et un CHC. Tous les malades ayant un CHC, pris en charge consécutivement entre janvier 2009 et septembre 2010 (234 malades) ont été étudiés dans ce travail prospectif. Douze malades ayant un génotype *HFE* C282Y homozygote ont été exclus. 109 malades avaient des perturbations du bilan martial sérique (élévation de la ferritinémie ou du coefficient de saturation de la transferrine). Ces patients ont eu une détermination de la concentration hépatique en fer (CHF) par IRM ou méthode biochimique. Chez les 13 malades ayant une CHF > 100 µmol/g un séquençage a été réalisé des 8 exons, des leurs jonctions et de la région 5'UTR du gène *SLC40A1* par la méthode Single Condition Amplification. Aucune altération de séquence majeure n'a été observée. Le polymorphisme c.44-24 G>C (IVS1) dont l'effet pathogène est controversé, est retrouvé chez tous ces patients à l'état homozygote ou hétérozygote. Il apparaît que les mutations du gène *SLC40A1*, ne sont qu'une cause marginale de CHC mais le rôle du polymorphisme c.44-24 G>C (IVS1) reste à préciser.

Mots clefs : carcinome hépatocellulaire, ferroportine, surcharge en fer hépatique, polymorphisme du gène *SLC40A1*

ABSTRACT

Iron overload is a proven contributing factor for hepatocellular carcinoma (HCC). Mutations in the *SLC40A1* gene encoding ferroportin (FPN), lead to major iron overload. Isolated cases of patients with ferroportin disease and HCC were reported. The purpose of this study is to clarify the frequency of mutations in the *SLC40A1* gene in patients with major liver iron overload and HCC.

All patients followed in the hospital for HCC between January 2009 and September 2010 (234 patients) were studied in this prospective study. Twelve patients with C282Y homozygous *HFE* genotype were excluded. One hundred and nine patients had disturbances of serum iron tests (elevated ferritinemia or transferrin saturation). These patients had a determination of liver iron concentration (LIC) by MRI or biochemical method. Thirteen patients had a LIC > 100 µmol/g. In these patients, sequencing was carried out for the 8 exons, their joints and the 5'UTR of *SLC40A1* by the Single Condition Amplification method. No major sequence alteration was observed. Nevertheless, all these 13 patients carried the c.44-24 G> C (IVS1) polymorphism, whose pathogenicity is controversial.

It appears that mutations in the *SLC40A1* gene are a marginal cause of HCC but the role of polymorphism c.44-24 G> C (IVS1) remains to be clarified.

Key words: hepatocellular carcinoma, ferroportine, hepatic iron overload, *SLC40A1* polymorphism