

## HEMOCHROMATOSE LIEE AU GENE HFE-1

### DEFINITION

L'hémochromatose génétique liée au gène HFE-1, décrite initialement sous le nom de «cirrhose bronzée», est une maladie génétique de transmission autosomique récessive. Cette affection est caractérisée par une absorption excessive de fer qui conduit progressivement à une surcharge généralisée de l'organisme en fer. En 1975, il fut démontré que cette maladie était transmise selon un mode autosomique récessif lié au système HLA, suggérant que le gène candidat se situait dans une région proche du locus HLA de classe I (chromosome 6, en 6p21.3). Le gène candidat dénommé HFE-1 (baptisé initialement HLA-H) fut cloné en 1996 et son étude révéla que plus de 90 % des sujets atteints d'hémochromatose portaient la mutation C282Y à l'état homozygote.

**Synonymes :** Hémochromatose génétique ; diabète bronzé ; hémochromatose familiale ; hémochromatose Idiopathique ; HFE ; HFE-1.

### LE GENE

Le gène HFE-1 est constitué de 7 exons se situant en position télomérique sur le bras court du chromosome 6 (6p21.3). Ce gène code une protéine possédant une forte similitude structurale avec les chaînes lourdes des molécules HLA de classe I. La structure tridimensionnelle déduite de l'ADNc, puis confirmée par des études cristallographiques, est celle d'une chaîne lourde HLA de classe I, constituée dans sa partie N-terminale de trois domaines extracellulaires  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ , d'un domaine transmembranaire et d'une courte extrémité C-terminale intra-cytoplasmique. Les

domaines  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  forment des boucles stabilisées par des ponts disulfures (Figure 1).

De façon similaire aux chaînes lourdes des molécules HLA de classe I, la molécule HFE est exprimée à la surface des cellules en association avec la  $\beta 2$ -microglobuline ; cette association met en jeu des liaisons non covalentes contractées avec le domaine  $\alpha 3$  de la molécule HFE. A l'heure actuelle, plus de 20 mutations et/ou polymorphismes ont été identifiés au sein du gène HFE-1. Deux mutations ponctuelles, situées respectivement au niveau des exons 2 et 4, ont été initialement décrites :

– **Une mutation majeure** correspondant à la transition d'une guanine en adénine (845G > A), responsable de la substitution au niveau du codon 282 d'une cystéine par une tyrosine (mutation **C282Y**). Cette mutation est retrouvée à l'état homozygote chez plus de 90 % des sujets atteints d'hémochromatose.

– **Une mutation mineure** correspondant à la transversion d'une cytosine en guanine (187C > G) responsable de la substitution au niveau du codon 63 d'une histidine par un acide aspartique (mutation **H63D**). La signification clinique de cette mutation reste encore discutée. Il pourrait s'agir d'une mutation ayant un effet favorisant la surcharge en fer (forme modérée d'hémochromatose) dont l'effet serait modulé par son association à la mutation C282Y (sujet hétérozygote composite) ou d'autres facteurs génétiques encore non identifiés.

La mutation C282Y, présente au niveau de la protéine HFE, abolit la formation d'un pont disulfure intra-chaîne au niveau du domaine  $\alpha 3$ , compromettant le repliement correct du domaine  $\alpha 3$  et son interaction avec la  $\beta 2$ -microglobuline. Cette mutation est responsable d'une anomalie dans le routage de la protéine HFE vers la membrane cellulaire (rétention au sein du Golgi et du réticulum endoplasmique). La protéine HFE retenue dans le compartiment réticulo-endoplasmique est dégradée, aboutissant à une absence d'expression de HFE à la surface des cellules.

biomnis – biomnis

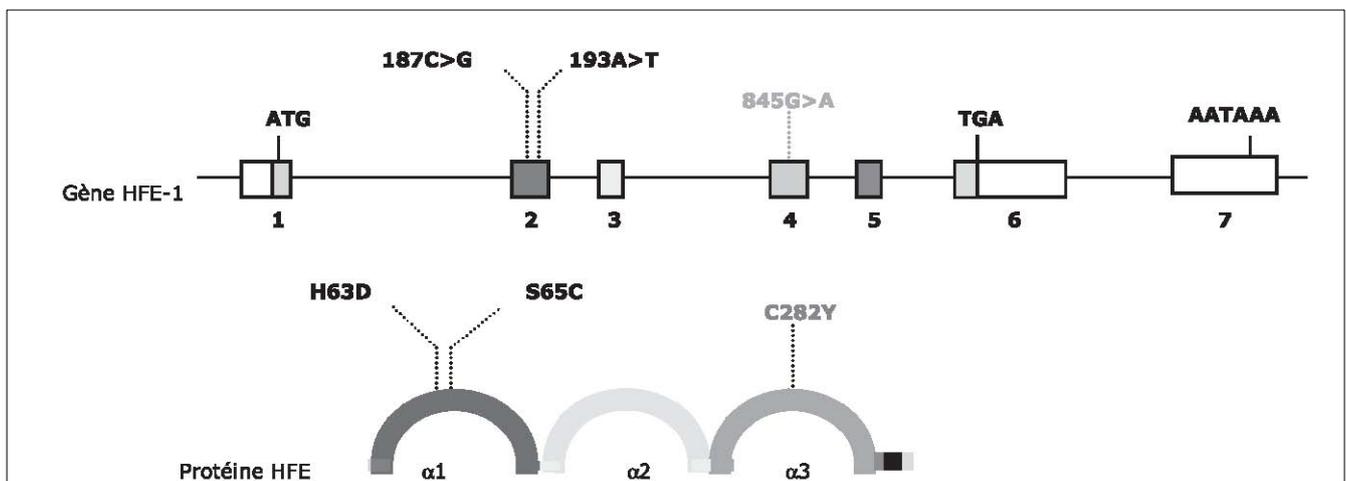


Figure 1 : Représentation du gène HFE-1 et localisation des mutations C282Y et H63D (Chr6p21.3).

## RÔLE PHYSIOLOGIQUE

Le gène HFE-1 code une protéine (protéine HFE) qui présente une forte homologie de structure avec les molécules HLA de classe I. La protéine HFE est principalement exprimée par les entérocytes cryptiques du duodénum (pôle basolatéral) et, à un plus faible niveau, par les macrophages, les cellules de Küpffer et les cellules endothéliales. Le rôle de la protéine HFE est de renseigner les entérocytes de la crypte des villosités duodénales sur l'état de charge en fer de l'organisme via une interaction avec le récepteur 1 de la transferrine (TfR1). En fonction des signaux reçus sur l'état de charge en fer, les entérocytes de la crypte se différencient en entérocytes du sommet des villosités duodénales qui vont faciliter ou diminuer l'absorption de fer alimentaire. L'absence d'expression de la protéine HFE chez les sujets homozygotes C282Y conduit les entérocytes de la crypte à se comporter comme des cellules déficientes en fer. Des signaux qui restent à identifier vont induire l'expression de protéines favorisant l'absorption de fer alimentaire contenu dans la lumière duodénale par les entérocytes du sommet des villosités, quels que soient les besoins ou l'état de charge en fer de l'organisme.

## ÉPIDÉMIOLOGIE

Parmi les surcharges héréditaires en fer, l'hémochromatose liée au gène HFE-1 est la maladie génétique la plus fréquemment rencontrée dans les populations d'Europe du Nord. Un sujet sur 300 à 500 selon les régions est atteint et 1 sujet sur 8 est porteur de la mutation C282Y à l'état hétérozygote.

Il existe une disparité des sujets homozygotes C282Y dans la population européenne, la prévalence de l'homozygotie C282Y s'établissant selon un gradient Nord-Ouest/Sud-Est (Irlande 1/100 atteint, en Bretagne 1/200 atteint). L'apparition de la mutation C282Y responsable de l'hémochromatose dans nos régions remonte à 2000 ans. Initialement supposée d'origine celte, son origine est aujourd'hui attribuée aux invasions «Vikings».

## CLINIQUE

La symptomatologie clinique d'une hémochromatose liée au gène HFE-1 s'exprime habituellement chez l'homme entre 30 et 40 ans et plus tardivement chez la femme en raison d'une relative protection du fait des pertes menstruelles et des grossesses. Les signes précoces de l'hémochromatose associent une asthénie chronique, des arthralgies (poignets, genoux, phalanges). Au fur et à mesure de l'installation de la surcharge en fer apparaissent les signes tardifs associant une mélanodermie (aspect bronzé), une atteinte hépatique (hépatomégalie), un diabète insulino-dépendant, une hypogonadisme (baisse de la libido),

une atteinte cardiaque (cardiomyopathie, troubles du rythme). L'observation des signes tardifs est aujourd'hui très rare car le diagnostic est généralement posé à un stade précoce (figure 2).

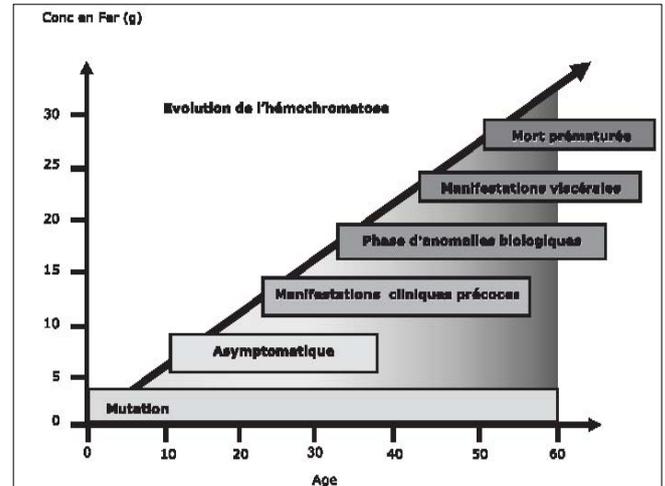


Figure 2 : Expression et évolution clinique de l'hémochromatose liée au gène HFE-1.

## STRATÉGIE DIAGNOSTIQUE DEVANT UNE SUSPICION CLINIQUE DE SURCHARGE EN FER

L'évaluation initiale comporte un interrogatoire, un examen clinique et un bilan martial incluant ferritine et coefficient de saturation de la transferrine (CS) : si le CS est > 45 %, *a fortiori* si la ferritine est élevée (mais elle reste normale assez longtemps au cours de l'évolution de la maladie), un génotypage HFE-1 est indiqué.

## INDICATION DE LA RECHERCHE DE MUTATIONS DU GÈNE HFE-1

- Suspicion clinique et biologique d'une hémochromatose devant l'augmentation du coefficient de saturation de la transferrine (> 45 %).

- Dépistage familial (apparentés d'un cas index homozygote C282Y).

Si le patient est diagnostiqué homozygote pour la mutation C282Y, le diagnostic d'hémochromatose HFE-1 est posé. Si tel n'est pas le cas, sont déclenchées les recherches des mutations dites mineures (H63D puis S65C) ; l'interprétation est détaillée ci-dessous.

## RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

### ■ PRELEVEMENT - CONSERVATION - TRANSPORT

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

### ■ OBLIGATIONS LEGALES

En France, l'attestation de consultation génétique accompagnée de l'ordonnance du médecin prescripteur

(ou à défaut l'ordonnance du médecin prescripteur et le consentement éclairé du patient) sont indispensables pour réaliser le prélèvement et permettre la réalisation de l'analyse (décret n° 2008-321 du 4 avril 2008). Le résultat et, selon l'analyse, un compte-rendu, sont adressés uniquement au médecin prescripteur (article R. 1131-19).

#### ■ BON DE DEMANDE

Renseigné sur l'indication de l'examen génétique, à savoir les informations cliniques et biologiques faisant suspecter une hémochromatose et l'arbre généalogique, si le cas index est identifié.

#### METHODES DE DIAGNOSTIC

De nombreuses méthodes ont été développées pour la détection de la mutation p.Cys282Tyr (C282Y) et des mutations mineures (p.His63Asp ou H63D et p.Ser65Cys ou S65C). Les méthodes sont fondées sur l'amplification par PCR (*Polymerase chain reaction*) de la région du gène HFE comportant l'anomalie moléculaire. La mise en évidence de la mutation à partir du produit de l'amplification par PCR peut se faire par différents procédés. Les laboratoires ont la possibilité d'utiliser soit une technique de PCR « maison », soit des troupes commercialisées. On peut citer :

- PCR en temps réel: PCR automatisée permettant l'analyse simultanée d'ADN de plusieurs échantillons par détection de fluorescence (sondes d'hydrolyse, sondes en tandem, balises moléculaires, sondes scorpions, amorces fluorescentes).

- PCR-RFLP (*PCR-Restriction fragment length polymorphism*): digestion des produits d'amplification par une enzyme de restriction appropriée et révélation des fragments de digestion sous UV après une étape de migration sur gel.

- PCR-SSO/ASO (*PCR-sequence specific oligonucleotide/-allele specific oligonucleotide*): PCR et révélation des produits amplifiés par hybridation de sondes marquées spécifiques de la forme allélique sauvage et mutée.

- PCR spécifique d'allèle (PCR-SSP: *PCR-sequence specific primer*), PCR-ARMS (*PCR-amplification refractory mutation system*): amplification par PCR de la forme allélique sauvage et mutée à l'aide d'amorces spécifiques ou modifiées et révélation des produits amplifiés sur gel d'agarose ou en électrophorèse capillaire.

- PCR-DHPLC (*PCR-denaturing high-performance liquid chromatography*): révélation des produits amplifiés par passage sur une colonne de chromatographie en conditions dénaturantes.

- Séquençage des produits d'amplification par PCR.

#### INTERPRETATION DE LA RECHERCHE DES MUTATIONS DU GÈNE HFE-1

- **Chez un sujet symptomatique**, la recherche de la mutation C282Y a un intérêt diagnostique. Quatre cas sont à distinguer :

Le sujet est homozygote pour la mutation C282Y (génotype YY) : l'état homozygote pour la mutation C282Y permet d'affirmer le diagnostic d'hémochromatose liée au gène HFE-1. Un tel sujet doit être traité et faire l'objet d'une surveillance (mesure de la ferritinémie et du coefficient de saturation de la transferrine). Un dépistage des apparentés (parents, frères, soeurs et enfants) devra être envisagé afin de rechercher d'éventuels sujets homozygotes C282Y.

Le sujet est hétérozygote pour la mutation C282Y et H63D (génotype CY/HD) : les sujets hétérozygotes composites (C282Y/H63D) présentent un génotype favorisant une surcharge modérée en fer, toujours moins importante que celle observée chez les homozygotes C282Y. D'autres facteurs responsables de surcharges en fer ne sont pas à exclure et doivent être recherchés (l'alcoolisme, la porphyrie cutanée, l'hépatosidérose dysmétabolique, l'apport oral ou parentéral excessif en fer). On peut éventuellement proposer un dépistage des enfants si le conjoint présente des signes biologiques de surcharge en fer associés à un statut génotypique d'hétérozygotie C282Y.

Les autres génotypes (C282Y hétérozygote, H63D homo ou hétérozygote, hétérozygote composite C282Y/S65C) : il n'a pas été prouvé une relation de causalité entre ces génotypes et une surcharge en fer. Ces génotypes favorisent la surcharge en fer qui se constitue à la faveur d'une étiologie secondaire ou d'un facteur génétique venant se surajouter.

La recherche de la mutation C282Y est négative : on peut écarter le diagnostic d'hémochromatose liée au gène HFE-1. Devant un tableau clinique évocateur d'une surcharge en fer, il faut envisager la recherche de facteurs génétiques d'hémochromatose autres que HFE-1 (*voir diagnostic différentiel*).

- **Chez un sujet asymptomatique** : la recherche de la mutation C282Y a un intérêt pronostique aidant à prédire le risque de survenue des symptômes cliniques de la maladie; les sujets C282Y homozygotes ont un risque très important de développer la maladie.

Cependant, la pénétrance du génotype C282Y/C282Y est incomplète : certains patients homozygotes C282Y ne développeront jamais la maladie. Une grande prudence est donc nécessaire pour ne pas alerter ou rassurer à tort les sujets testés. Devant la découverte d'une homozygotie C282Y chez un sujet asymptomatique, une surveillance biologique annuelle est indiquée. Dès qu'une évolution anormale du CS et/ou de la ferritinémie est détectée, une prise en charge spécifique est à envisager.

■ **Le dépistage familial** : le dépistage génétique au sein d'une famille est indiqué si le génotype du cas index est C282Y homozygote (figure 3).

Dans ce cas, le risque *a priori* d'être homozygote dans la fratrie est de 1/4. Ce dépistage est conseillé chez les apparentés au premier degré du cas index (parents, frères et sœurs et enfants majeurs). Chez les parents du cas index, le dépistage génétique ne se justifie pas d'emblée. Il faut d'abord réaliser un dépistage phénotypique (CS et ferritine). Si le dépistage phénotypique est perturbé, un dépistage génétique est conseillé. Chez les frères et sœurs et les enfants majeurs, un dépistage phénotypique et génétique est indiqué. Le dépistage génétique est fortement recommandé, notamment chez les sujets de sexe féminin (sœurs du cas index) qui peuvent être homozygotes C282Y et ne pas exprimer d'anomalies biologiques du fait d'une relative protection liée aux menstruations et grossesses.

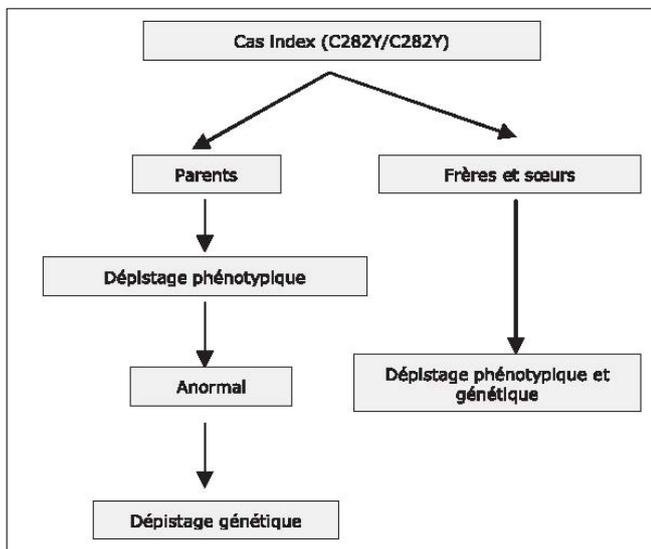


Figure 3: Stratégie du dépistage génétique familiale de l'hémochromatose.

## LE DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

D'autres anomalies génétiques sont responsables dans les populations européennes d'un phénotype d'hémochromatose. Devant un sujet présentant un tableau clinique d'hémochromatose sans autre cause de surcharge et chez lequel l'investigation moléculaire du gène HFE-1 n'a pas été contributive, il faut évoquer la possibilité d'une hémochromatose de type 2, de type 3 ou de type 4 (tableau 1).

Maladie	Locus	Sujet	Protéine	Transmission
Hémochromatose HFE-1	6p21.3	Adulte	HFE	Autosomale récessive
Hémochromatose Juvenile HFE-2a	1q21	Jeune	Hemojuveline	Autosomale récessive
Hémochromatose Juvenile HFE-2b	19q13	Jeune	Hepcidine	Autosomale récessive
Hémochromatose HFE-3	7q22	Adulte	Récepteur Transferrine-2	Autosomale récessive
Hémochromatose HFE-4	2q32	Adulte	Ferroportine	Autosomale dominante
Hémochromatose HFE-5	11q13		Ferritine (Chaînes H)	Autosomale dominante

Tableau 1: Classification des différentes formes d'hémochromatoses génétiques.

## LE TRAITEMENT

Le traitement de l'hémochromatose vise à une déplétion de la surcharge en fer. Ce traitement est instauré dès lors que la ferritine est > 300 µg/l chez un homme et > 200 µg/l chez une femme. Il repose sur des recommandations diététiques (limiter la consommation d'alcool, interdire toute supplémentation en fer) et des saignées : une phase d'attaque (jusqu'à 7 ml/kg sans dépasser 550 ml, 1 fois/semaine ; poursuivre jusqu'à ce que la ferritine soit < 50 µg/l) et une phase d'entretien par saignée tous les 2, 3 ou 4 mois (en fonction des patients) pour maintenir la ferritine < 50 µg/l. Suspendre les saignées si l'hémoglobine est < 11 g/dl.

biomnis – biomnis

## POUR EN SAVOIR PLUS

- Andrews N.C., *Iron homeostasis: insights from genetics and animal models*, Nature Review Genetics, 2000; 1: 208-17.
- Brissot P., Guyader D., Pigeon C., Lainé F., Loréal O., *Médecine thérapeutique*, 2001; 7: 350-5.
- Bomford A. 2002. *Genetics of haemochromatosis*. Lancet, 360: 1673-81.
- Fergelot P., Le Gall J. Y, Mosser J., *Hémochromatoses et surcharges primitives en fer*, Revue Française des Laboratoires, 2002; 339: 39-43.
- Pietrangelo A., *Hereditary hemochromatosis-a new look at an old disease*, The New England Journal of Medicine, 2004; 350: 2383-97.
- www.has-sante.fr. *Prise en charge de l'hémochromatose liée au gène HFE (hémochromatose de type 1)*, Juillet 2005.