



HAL
open science

Étude d'association par séquençage de l'exome clinique pour l'évaluation des variants génétiques rares et polymorphes potentiellement associés aux hyperferritinémies inexplicées : analyse d'une cohorte d'un centre référent tertiaire

Jonas Callet

► **To cite this version:**

Jonas Callet. Étude d'association par séquençage de l'exome clinique pour l'évaluation des variants génétiques rares et polymorphes potentiellement associés aux hyperferritinémies inexplicées : analyse d'une cohorte d'un centre référent tertiaire. Médecine humaine et pathologie. 2022. hal-04042648

HAL Id: hal-04042648

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-04042648>

Submitted on 23 Mar 2023

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.



**UNIVERSITÉ
DE LORRAINE**

**BIBLIOTHÈQUES
UNIVERSITAIRES**

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact bibliothèque : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr
(Cette adresse ne permet pas de contacter les auteurs)

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Université de Lorraine

FACULTE DE MEDECINE DE NANCY

2022

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

Par

Jonas CALLET

le 4 avril 2022

**Étude d'Association par Séquençage de l'Exome Clinique
pour l'Évaluation des Variants Génétiques Rares et
Polymorphes Potentiellement Associés aux
Hyperferritinémies Inexpliquées : Analyse d'une Cohorte
d'un Centre Référent Tertiaire.**

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Jean-Louis GUÉANT

Président

Monsieur le Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

Juge

Monsieur le Professeur François FEILLET

Juge

Monsieur le Professeur Bernard NAMOUR

Juge

Monsieur le Professeur Abderrahim OUSSALAH

Juge et Directeur

Président de l'Université de Lorraine :
Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen de la Faculté de Médecine
Professeur Marc BRAUN

Vice-doyenne
 Pr Louise TYVAERT

Assesseurs :

- *Premier cycle* : Dr Nicolas GAMBIER, Dr Thomas SCHWITZER
- *Deuxième cycle* : Pr Antoine KIMMOUN
- *Troisième cycle hors MG* : Pr Marie-Reine LOSSER
- *Troisième cycle MG* : Pr Paolo DI PATRIZIO
- *Vie hospitalo-universitaire* : Pr Stéphane ZUILY
- *Interface avec la Grande Région* : Pr Thomas FUCHS-BUDER
- *Relations Internationales* : Pr Jacques HUBERT
- *Valorisation* : Pr Pascal ESCHWEGE
- *Interface avec les métiers de la santé* : Pr Céline HUSELSTEIN
- *Docimologie* : Dr Jacques JONAS
- *ECOS* : Drs Eva FEIGERLOVA et Patrice GALLET
- *Service sanitaire* : Pr Nelly AGRINIER
- *Lecture critique d'articles* : Drs Jonathan EPSTEIN et Aurélie BANNAY
- *Interface HVL & Réseau Nasce* : Pr Pablo MAUREIRA, Drs Nicla SETTEMBRE et Fabienne LIGIER
- *Etudiant* : Mehdi BELKHITER

Chargés de mission

Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER
PASS : Pr Mathias POUSSEL

=====

DOYENS HONORAIRES

Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER - Professeur Henry COUDANE

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Etienne ALIOT - Jean-Marie ANDRE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY –
 Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL – Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE -
 Jean-Louis BOUTROY - Laurent BRESLER - Serge BRIANÇON - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel
 BURNEL - Jean-François CHASSAGNE - François CHERRIER - Henry COUDANE - Jean-Pierre CRANCE -
 Jean-Pierre DESCHAMPS - Gilbert FAURE - Gérard FIEVE - Bernard FOLIGUET - Jean FLOQUET - Robert
 FRISCH -

Pierre GAUCHER - Jean-Luc GEORGE - Alain GERARD - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ -
 Simone GILGENKRANTZ - Gilles GROSDIDIER - Philippe HARTEMANN - Gérard HUBERT - Claude HURIET –
 Jean-Pierre KAHN - Gilles KARCHER - Michèle KESSLER - François KOHLER - Pierre LANDES - Pierre
 LASCOMBES -

Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Alain LE FAOU - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN - Bernard
 LEGRAS - Bruno LEHEUP - Jean-Pierre MALLIÉ - Philippe MANGIN - François MARCHAL - Jean-Claude
 MARCHAL – Yves MARTINET - Pierre MATHIEU - Thierry MAY - Michel MERLE - Daniel MOLÉ - Pierre MONIN -
 Pierre NABET - Patrick NETTER –

Jean-Pierre NICOLAS - Francis PENIN - Claude PERRIN - François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques
 POUREL –

Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Jacques ROLAND - Daniel SCHMITT - Michel
 SCHMITT –

Jean-Luc SCHMUTZ - Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON - Jean-François STOLTZ
 –

Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Paul VERT - Hervé VESPIGNANI - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET
 –

Jean-Pierre VILLEMOT - Denis ZMIROU - Faïez ZANNAD

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Etienne ALIOT - Laurent BRESLER - Serge BRIANÇON - Henry COUDANE - Jean-Pierre CRANCE - Gilbert FAURE -

Jean-Pierre KAHN - Michèle KESSLER - Alain LE FAOU - Bruno LEHEUP - Thierry MAY - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Jean-Luc SCHMUTZ - Paul VERT - Faïez ZANNAD

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^e Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{re} sous-section : *Anatomie*

Professeur Marc BRAUN - Professeure Manuela PEREZ

2^e sous-section : *Histologie, embryologie et cytogénétique*

Professeur Christo CHRISTOV

3^e sous-section : *Anatomie et cytologie pathologiques*

Professeur Guillaume GAUCHOTTE – Professeur Hervé SARTELET

43^e Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{re} sous-section : *Biophysique et médecine nucléaire*

Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER - Professeur Antoine VERGER

2^e sous-section : *Radiologie et imagerie médicale*

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeur Serge BRACARD - Professeure Valérie CROISÉ - Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur Benjamin GORY - Professeur Damien MANDRY - Professeur Pedro GONDIM TEIXEIRA

44^e Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{re} sous-section : *Biochimie et biologie moléculaire*

Professeur Jean-Louis GUEANT - Professeur David MEYRE - Professeur Bernard NAMOUR - Professeur Jean-Luc OLIVIER - Professeur Abderrahim OUSSALAH

2^e sous-section : *Physiologie*

Professeur Christian BEYAERT - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur Mathias POUSSEL

3^e sous-section : *Biologie cellulaire*

Professeure Véronique DECOT-MAILLERET

4^e sous-section : *Nutrition*

Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT - Professeur Olivier ZIEGLER

45^e Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : *Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière*

Professeur Alain LOZNIÉWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

2^e sous-section : *Parasitologie et Mycologie*

Professeure Marie MACHOUART

3^e sous-section : *Maladies infectieuses ; maladies tropicales*

Professeure Céline PULCINI - Professeur Christian RABAUD

46^e Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : *Épidémiologie, économie de la santé et prévention*

Professeure Nelly AGRINIER - Professeur Francis GUILLEMIN

4^e sous-section : *Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*

Professeure Eliane ALBUISSON - Professeur Nicolas JAY

47^e Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : *Hématologie ; transfusion*

Professeur Pierre FEUGIER – Professeur Thomas LECOMPTE

2^e sous-section : *Cancérologie ; radiothérapie*

Professeur Thierry CONROY - Professeur Frédéric MARCHAL - Professeur Didier PEIFFERT

3^e sous-section : *Immunologie*

Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT - Professeure Marie-Thérèse RUBIO

4° sous-section : Génétique
 Professeur Philippe JONVEAUX

48° Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{re} sous-section : Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
 Professeur Gérard AUDIBERT - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Thomas FUCHS-BUDER
 Professeure Marie-Reine LOSSER - Professeur Claude MEISTELMAN

2° sous-section : Médecine intensive-réanimation
 Professeur Sébastien GIBOT - Professeur Bruno LÉVY - Professeur Antoine KIMMOUN

3° sous-section : Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
 Professeur Pierre GILLET - Professeur Jean-Yves JOUZEAU

4° sous-section : Thérapeutique-médecine de la douleur ; addictologie
 Professeur Nicolas GIRERD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

5° sous-section : Médecine d'urgence
 Professeur Tahar CHOUIHED

49° Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1^{re} sous-section : Neurologie
 Professeur Marc DEBOUVERIE - Professeur Louis MAILLARD - Professeur Sébastien RICHARD - Professeur Luc TAILLANDIER Professeure Louise TYVAERT

2° sous-section : Neurochirurgie
 Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS - Professeur Olivier KLEIN

3° sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie
 Professeur Vincent LAPREVOTE - Professeur Raymund SCHWAN

4° sous-section : Pédiopsychiatrie ; addictologie
 Professeur Bernard KABUTH

5° sous-section : Médecine physique et de réadaptation
 Professeur Jean PAYSANT

50° Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{re} sous-section : Rhumatologie
 Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE - Professeur Damien LOEUILLE

2° sous-section : Chirurgie orthopédique et traumatologique
 Professeur Laurent GALOIS - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX

3° sous-section : Dermato-vénéréologie
 Professeure Anne-Claire BURSZTEJN

4° sous-section : Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
 Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51° Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1^{re} sous-section : Pneumologie ; addictologie
 Professeur Jean-François CHABOT - Professeur Ari CHAOUAT

2° sous-section : Cardiologie
 Professeur Edoardo CAMENZIND - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET – Professeur Olivier HUTTIN
 Professeur Batric POPOVIC - Professeur Nicolas SADOUL

3° sous-section : Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
 Professeur Juan-Pablo MAUREIRA - Professeur Stéphane RENAUD

4° sous-section : Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
 Professeur Sergueï MALIKOV - Professeur Denis WAHL – Professeur Stéphane ZUILY

52° Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{re} sous-section : Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
 Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI - Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

2° sous-section : Chirurgie viscérale et digestive
 Professeur Ahmet AYAV - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeure Adeline GERMAIN

3° sous-section : Néphrologie
 Professeur Luc FRIMAT - Professeure Dominique HESTIN

4° sous-section : Urologie

Professeur Pascal ESCHWEGE - Professeur Jacques HUBERT

53° Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET MÉDECINE GÉNÉRALE**1° sous-section : Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie**

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeure Gisèle KANNY
Professeure Christine PERRET-GUILLAUME – Professeur Roland JAUSSAUD – Professeure Laure JOLY

3° sous-section : Médecine générale

Professeur Jean-Marc BOIVIN - Professeur Paolo DI PATRIZIO

54° Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**1° sous-section : Pédiatrie**

Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET - Professeur Jean-Michel HASCOET -
Professeur Cyril SCHWEITZER

2° sous-section : Chirurgie infantile

Professeur Pierre JOURNEAU - Professeur Jean-Louis LEMELLE

3° sous-section : Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Olivier MOREL

4° sous-section : Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale

Professeur Bruno GUERCI - Professeur Marc KLEIN - Professeur Georges WERYHA

55° Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU**1° sous-section : Oto-rhino-laryngologie**

Professeur Roger JANKOWSKI - Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER - Professeure Cécile RUMEAU

2° sous-section : Ophtalmologie

Professeure Karine ANGIOI - Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Jean-Baptiste CONART

3° sous-section : Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

Professeure Muriel BRIX

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS**61° Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL**

Professeur Walter BLONDEL

64° Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER - Professeur Pascal REBOUL

65° Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Professeure Céline HUSELSTEIN

66° Section : PHYSIOLOGIE

Professeur Nguyen TRAN

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE**53° Section, 3° sous-section : Médecine générale**

Professeure associée Sophie SIEGRIST

Professeur associé Olivier BOUCHY

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**42° Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE****1° sous-section : Anatomie**

Docteur Bruno GRIGNON

44° Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**1° sous-section : Biochimie et biologie moléculaire**

Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA - Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle GASTIN –

Docteure Catherine MALAPLATE - Docteur Marc MERTEN

2° sous-section : Physiologie

Docteure Iulia-Cristina IOAN (stagiaire) - Docteur Jacques JONAS

45° Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière

Docteure Corentine ALAUZET - Docteure Hélène JEULIN - Docteure Véronique VENARD

2^e sous-section : Parasitologie et mycologie

Docteure Anne DEBOURGOGNE

46° Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : Epidémiologie, économie de la santé et prévention

Docteur Cédric BAUMANN - Docteure Frédérique CLAUDOT - Docteur Arnaud FLORENTIN - Docteur Jonathan EPSTEIN – Docteur Abdou OMOROU (stagiaire)

2^e sous-section Médecine et Santé au Travail

Docteure Isabelle THAON

47° Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : Hématologie ; transfusion

Docteur Julien BROSEUS – Docteure Maud D'AVENI

2^e sous-section : Cancérologie ; radiothérapie

Docteure Lina BOLOTINE

3^e sous-section : Immunologie

Docteure Alice AARNINK

4^e sous-section : Génétique

Docteure Céline BONNET - Docteure Mathilde RENAUD

48° Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{re} sous-section : Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire

Docteur Philippe GUERCI

3^e sous-section : Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie

Docteur Nicolas GAMBIER - Docteure Françoise LAPICQUE - Docteur Julien SCALA-BERTOLA

49° Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

2^e sous-section : Neurochirurgie

Docteur Fabien RECH

3^e sous-section : Psychiatrie d'adultes ; addictologie

Docteur Thomas SCHWITZER

4^e sous-section : Pédiopsychiatrie ; addictologie

Docteur Fabienne ROUYER-LIGIER

50° Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

4^e sous-section : Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51° Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3^e sous-section : Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire

Docteur Fabrice VANHUYSE

4^e sous-section : Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire

Docteure Nicla SETTEMBRE

52° Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{re} sous-section : Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie

Docteur Anthony LOPEZ

54° Section : DEVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{re} sous-section : Pédiatrie

Docteure Cécile POCHON – Docteur Amandine DIVARET-CHAUVEAU (stagiaire)

3^e sous-section : Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale

Docteur Charline BERTHOLD (stagiaire)

4° sous-section : Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; Gynécologie médicale

Docteure Eva FEIGERLOVA

5° sous-section : Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale

Docteur Mikaël AGOPIANTZ

55° Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1° sous-section : Oto-Rhino-Laryngologie

Docteur Patrice GALLET

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5° Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

7° Section : SCIENCES DU LANGAGE : LINGUISTIQUE ET PHONETIQUE GENERALES

Madame Christine DA SILVA-GENEST

19° Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

63° Section : GÉNIE ÉLECTRIQUE, ÉLECTRONIQUE, PHOTONIQUE ET SYSTÈMES

Madame Pauline SOULET LEFEBVRE

64° Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS - Monsieur Nick RAMALANJAONA

65° Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Madame Nathalie AUCHET – Madame Rümeyza BASCETIN (stagiaire) - Madame Natalia DE ISLA-MARTINEZ –
Monsieur Christophe NEMOS – Monsieur Simon TOUPANCE (stagiaire)

69° Section : NEUROSCIENCES

Madame Sylvie MULTON=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

53° Section, 3° sous-section : (Médecine générale)

Docteur Cédric BERBE – Docteur Antoine CANTON - Docteur Jean-Charles VAUTHIER

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)

Brown University, Providence (U.S.A)

Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)

Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)

Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)

Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)

*Research Institute for Mathematical Sciences
de Kyoto (JAPON)*

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)

Université d'Helsinki (FINLANDE)

Professeur Duong Quang TRUNG (1997)

Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)

Professeur Daniel G. BICHET (2001)

Université de Montréal (Canada)

Professeur Marc LEVENSTON (2005)

Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL

(2007)

*Université de Dundee (Royaume-
Uni)*

Professeur Yunfeng ZHOU (2009)

Université de Wuhan (CHINE)

Professeur David ALPERS (2011)

Université de Washington (U.S.A)

Professeur Martin EXNER (2012)

Université de Bonn

(ALLEMAGNE)

REMERCIEMENTS

À notre Maître et Président de thèse,

Monsieur le Professeur Jean-Louis Guéant,

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier,

Professeur de Biochimie et Biologie Moléculaire,

Chef du service de Biochimie-Biologie Moléculaire-Nutrition,

Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse et de juger notre travail.

Vous nous avez permis d'accéder tout au long de notre cursus à un très haut niveau de formation dans les domaines passionnants que sont la Biochimie et la Biologie Moléculaire. Vous avez été à l'écoute et avez mis à notre disposition une quantité précieuse de ressources qui nous ont permis de développer nos compétences et de nous investir dans le cadre de vos activités de recherche.

Veillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect et de notre sincère reconnaissance.

À notre Maître et Juge,

Monsieur le Professeur Jean-Pierre Bronowicki,

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier,

Professeur d'Hépatogastro-entérologie,

Chef du service d'Hépatogastro-entérologie,

Vous nous faites l'honneur de participer à ce jury de thèse et de juger notre travail.

Nous vous remercions de nous permettre via vos activités cliniques d'apprendre et de nous former quotidiennement au diagnostic moléculaire dans vos domaines que sont l'Hépatologie et la Gastro-Entérologie. Nous vous remercions également de nous avoir donné la possibilité de participer à plusieurs protocoles de recherche clinique en lien avec vos activités de service.

Veillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect et de notre sincère reconnaissance.

À notre Maître et Juge,

Monsieur le Professeur François Feillet,

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier,

Professeur de Pédiatrie,

Chef du service de Pédiatrie,

Vous nous faites l'honneur de participer à ce jury de thèse et de juger notre travail.

Nous vous remercions de nous avoir permis via vos activités cliniques d'apprendre et de nous former à la Biochimie Métabolique et au diagnostic moléculaire, dans le cadre de votre riche et vaste domaine qu'est la Pédiatrie.

Veillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect et de notre sincère reconnaissance.

À notre Maître et Juge,

Monsieur le Professeur Bernard Namour,

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier,

Professeur de Biochimie et Biologie Moléculaire,

Vous nous faites l'honneur de participer à ce jury de thèse et de juger notre travail.

Nous vous remercions de nous avoir fait profiter tout au long de notre parcours d'une grande expérience dans les domaines de la Biochimie Analytique et de la Biologie Moléculaire.

Veillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect et de notre sincère reconnaissance.

À notre Maître et Directeur de Thèse,

Monsieur le Professeur Abderrahim Oussalah,

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier,

Professeur de Biochimie et Biologie Moléculaire,

Vous nous faites l'honneur participer à ce jury de thèse et de juger notre travail après l'avoir dirigé.

Nous vous remercions pour votre investissement majeur dans la formation des médecins de demain. Vous nous avez permis d'acquérir des compétences dans les domaines passionnants que sont la Biochimie et la Biologie Moléculaire. Vous nous avez fait bénéficier de vos immenses connaissances et de vos grandes qualités pédagogiques, nous poussant toujours à l'excellence. Vous nous avez permis de développer un goût pour la recherche. Vous avez été constamment disponible et à l'écoute tant sur le terrain que pendant la rédaction de ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de notre plus profond respect et de notre très sincère reconnaissance.

À mes parents, qui m'ont supporté tout au long de ce très (trop) long cursus, et qui m'ont permis de devenir la personne que je suis aujourd'hui. Je ne pourrai jamais assez vous remercier, mais j'essaierai.

À mes frères et sœurs qui sont les meilleurs qu'on puisse imaginer. Victoria, nous fêterons bientôt ta propre thèse, tu deviendras ainsi le troisième Docteur de la famille ! J'ai l'intention de sillonner encore et encore la campagne en compagnie de nos chiens. Antoine, peut-être bientôt mon collègue, les saisons de foot vont s'enchaîner, et tu vas devoir t'accrocher très fort pour rester au niveau ! Anna, je compte rejouer de la musique et remanger l'intégrale de Kaamelott avec toi, j'admire beaucoup ton talent et ta personne, et je suis convaincu que tu vas tous nous éblouir ! Elena, toi qui ondule si bien, je ne serais pas du tout étonné du tout que tu deviennes médecin à ton tour, avec une très grande classe ! Samuel, monsieur Joumoussu, numéro 9 et imbattable fortnighteur, nous n'avons pas fini d'enchaîner les longues après-midi à jouer ! Monsieur Paul nounours, duelliste aguerri et gardien fou, j'aurai ma revanche sur Yugi-oh et je vais adorer te voir grandir et devenir le meilleur petit frère ! Monsieur Louis, qui tire plus vite que son ombre, je suis ton plus grand fan et je suivrai ta saga de très près, toi aussi tu vas tous nous éblouir, moi le premier !!

À mes grands-parents, merci de faire partie de ma vie, et de contribuer à la rendre belle. A Mamie partie trop tôt, repose en paix.

À mes cousins, Walid, David, Benjamin, Johanna, Sarah, Rebecca, pour ces fous-rires, ces matchs de foot sous le soleil et ces longues après-midi avachis dans le canapé à jouer à Fifa !

À ma famille libanaise, merci pour ces nombreuses vacances à vos côtés, ces belles journées d'été passées à découvrir votre beau pays, à nous régaler de cette cuisine traditionnelle si savoureuse (les fameux Man'ouché !), et pour toutes ces soirées à refaire le monde.

À mes copains de fac, Gaétan, Rafaël, Simon, Basile, Laurent et Julien, Iannis, Matthieu, Nora, Dean, et mes copains de lycée, Lucas, Axel, Quentin, Hugo, Constance, que je vais m'acharner à voir plus

souvent. Ça a été génial de tous vous côtoyer toutes ces années pendant ces études exigeantes et trop souvent ingrates. L'avenir nous rapprochera à nouveau, sans aucun doute !

À mes co-internes qui avez fait de ces 4 années un souvenir formidable ! Richard (et Fidou !), Benoît (merci encore pour cette armoire !!), Matthieu (et sa petite famille, plein de bonheur !!), Julien (la classe, ou rien), Laura, Caroline, Marine, Hatime (spéciale dédicace à *la rage de dents*), Tom et Stéphanie (les concours de tucs !), Safa (je reprends ta garde !), Clara (ange parti trop vite !), Emmacarena, Guillaume (Prince F2), Sarygolplu (véritable icône du pôle laboratoire), Gaétan, Yasmina, Lorraine, Karine, Raghda, Marc-Antoine (la cravate), Stan (alias *Pamela*), Alizée Foufou, Alexia, Maël (de l'Académie française), Margot, Anne-Sophie, Samy, Lisa.

Je veux également rendre un respectueux hommage à notre collègue Jean-Philippe, qui s'était perdu en chemin et nous a quitté de manière soudaine, ainsi qu'à sa famille. Ton départ nous a bouleversés, nous ne t'oublions pas.

Merci à l'ensemble du personnel du CHRU de Nancy, et spécialement au pôle laboratoire qui se bat chaque jour avec courage dans des conditions difficiles pour la meilleure prise en charge du patient.

Merci en particulier au Pr. Oussalah pour votre encadrement qui a été exceptionnel, sur le terrain comme pendant la rédaction de ce travail.

Merci au Pr. Chary-Valckenaere, au Pr. Loeuille, au Dr. Élodie Bauer et à toute l'équipe de rhumatologie nancéenne, à mes anciens co-internes Manon, Marie, Pierre, Gaëlle, Stéphane, Alexandra et Julien, qui m'ont chacun aidé à surmonter des moments très difficiles.

Merci aux médecins et à tous les agents du centre de rééducation Florentin, un véritable *El Dorado* au milieu de la jungle.

Plus que tout merci à toi, Inès, pour ton amour, tes encouragements, et ta compagnie qui rend le quotidien si magnifique. J'ai hâte de faire ma vie avec toi. Je t'aime.

SERMENT

« **A**u moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque ».

TABLE DES MATIERES

1.	INTRODUCTION	21
2.	BIOLOGIE DE LA FERRITINE.....	23
2.1.	Structure et fonctions de la ferritine.....	23
2.2.	Rôle de la ferritine dans le métabolisme martial.....	26
3.	LES HYPERFERRITINÉMIES	31
3.1.	Hyperferritinémies réactionnelles	31
3.2.	Hyperferritinémies génétiques	35
3.2.1.	Hyperferritinémies génétiques avec surcharge martiale.....	35
3.2.2.	Hyperferritinémies constitutionnelles sans surcharge martiale.....	37
3.3.	Hyperferritinémies inexplicées	38
4.	RESULTATS DE LA PARTIE EXPERIMENTALE DE LA THÈSE.....	39
4.1.	Synthèse globale des résultats	39
4.2.	Article rédigé en vue d'une soumission à une revue à comité de lecture.....	40
5.	DISCUSSION	89
5.1.	Discussion générale des résultats observés.....	89
5.2.	Implication du gène MUC13 comme potentiel nouvel acteur du métabolisme martial	90
5.3.	Aspects translationnels entre les résultats observés chez l'homme et le modèle animal sur le locus <i>MUC13</i> / <i>Muc13</i>	94
6.	CONCLUSION	95
7.	BIBLIOGRAPHIE.....	97

1. INTRODUCTION

Le dosage de la ferritinémie est une analyse biochimique réalisée en pratique clinique de routine, notamment dans le cadre de l'exploration du bilan martial (1). L'hyperferritinémie est une perturbation biochimique fréquente le plus souvent réactionnelle. Elle est plus rarement la manifestation d'une maladie constitutionnelle au premier rang desquelles l'hémochromatose héréditaire. Dans une étude anglaise en soins primaires sur 4170 patients consécutifs, une ferritinémie > 300 µg/L était observée chez 17 % des hommes âgés de plus de 30 ans et chez 8 % des femmes âgées de plus de 70 ans. Les patients présentant une ferritine > 1000 µg/L ne représentaient que 1,4 % des patients étudiés (59/4170) (2).

Il existe de nombreuses étiologies plus ou moins fréquentes d'hyperferritinémie qui seront développées dans la suite de l'exposé. Une démarche clinicobiologique systématique et les algorithmes décisionnels incluant divers marqueurs biochimiques permettent d'expliquer une part importante des situations d'hyperferritinémie rencontrées en pratique quotidienne. Cependant, après une analyse exhaustive de la situation clinicobiologique, il persiste une proportion de patients pour lesquels l'hyperferritinémie ne trouve pas d'explication, notamment dans le cas d'hyperferritinémies intermédiaires (\approx 300-800 µg/L) avec un coefficient de saturation de la transferrine fluctuant autour de la limite décisionnelle de 45 %. Dans ce contexte, l'hypothèse d'une cause génétique sous-jacente ne peut être exclue et à notre connaissance, aucun travail n'a été rapporté dans la littérature pour répondre à cette problématique.

L'objectif du présent mémoire est de rapporter les résultats de mon travail de thèse qui a porté sur la recherche des variants génétiques rares et fréquents potentiellement associés à la concentration en ferritine plasmatique chez des patients pour lesquels les causes d'hyperferritinémie réactionnelles et constitutionnelles connues ont été exclues. Dans un premier temps nous passerons en revue les notions fondamentales en lien avec la biologie de la ferritine et sa place dans le métabolisme martial pour développer les différentes étiologies des hyperferritinémies. La deuxième partie est consacrée à la présentation des résultats de

l'analyse d'association exome qui a été réalisée afin de rechercher les variants génétiques associées à la ferritinémie. La troisième partie mettra en perspective nos résultats à la lumière des données de la littérature.

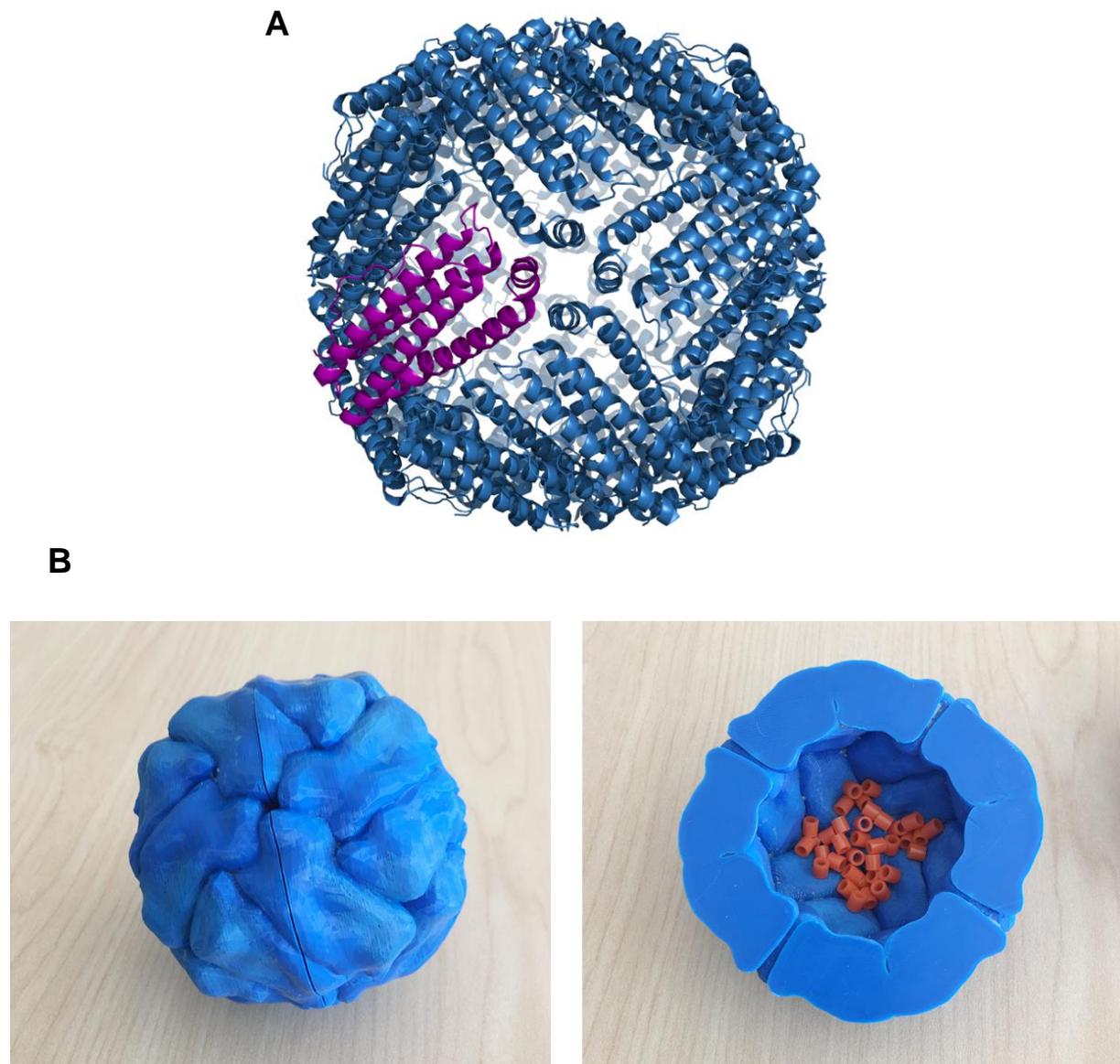


Figure 1. (A) Structure tridimensionnelle de la ferritine. La ferritine est constituée de 24 sous-unités. Chaque sous-unité est constituée de 4 hélices α reliées par des coudes. L'une des sous-unités est matérialisée par une coloration violette. (B) Modélisation par impression 3D en matière plastique d'une molécule de ferritine avec une schématisation des atomes de fer au centre de la molécule. Sources : (A) <https://fr.wikipedia.org/wiki/Ferritine> ; (B) Protein data Bank (PDB) <https://pdb101.rcsb.org/learn/3d-printing/3d-print-ferritin> Berman HM, et al. Nucleic Acids Research, 28: 235-242.

2. BIOLOGIE DE LA FERRITINE

2.1. Structure et fonctions de la ferritine

La ferritine est une protéine cytosolique de 450 kDa présente dans l'ensemble des cellules de l'organisme. Il s'agit de la principale protéine de stockage du fer intracellulaire (3), elle peut contenir jusqu'à 4500 atomes de fer (**Figure 1**) (4). Le fer alimentaire d'origine héminique Fe^{2+} ainsi que le fer végétal trivalent Fe^{3+} sont internalisés puis oxydés pour être finalement stockés à l'état Fe^{3+} par des voies métaboliques que nous détailleront. La ferritinémie est étroitement régulée, avec des concentrations à l'état de base comprises entre 20 et 300 $\mu g/L$ chez l'homme, et entre 15 et 200 $\mu g/L$ chez la femme. Ces concentrations sont stables et non influencées par le nyctémère (5). Une étude de grande échelle menée en Amérique du Nord sur 99.711 participants a confirmé les seuils de 300 $\mu g/L$ et de 200 $\mu g/L$ pour retenir le diagnostic d'hyperferritinémie chez l'homme et la femme respectivement (6). La ferritine est composée de deux sous-unités : une chaîne légère codée par le gène *FTL* (*Ferritin Light Chain*) situé sur le chromosome 19 et une chaîne lourde codée par le gène *FTH1* (*Ferritin Heavy Chain 1*) situé sur le chromosome 11 (**Tableau 1**). Ces 2 sous-unités s'assemblent en hétéropolymères de 24 sous-unités dont la composition varie selon les tissus (7) (**Figure 2**). La chaîne lourde procure l'activité ferroxidase, la chaîne légère est dédiée à la fonction de conservation du fer ferrique (8). Certaines pathologies modifient le rapport chaîne lourde/chaîne légère de manière par exemple à protéger la cellule face à un stress oxydatif, comme c'est le cas dans le syndrome métabolique par exemple (9). Il existe une isoforme de ferritine mitochondriale codée par le gène *FTMT* (*Ferritin Mitochondrial*) situé sur le chromosome 5, dont la structure est fortement similaire à la chaîne lourde de la ferritine cytosolique, disposant d'une activité ferroxidase, et dont la fonction est également le stockage intracellulaire du fer (10). Cette ferritine mitochondriale est fortement exprimée au sein des cellules riches en mitochondries et consommant de grandes quantités de fer (spermatozoïdes, érythroblastes, cellules rétinienne profondes, cellules musculaires lisses, etc.) (11). Il existe d'autre part une isoforme à part de la ferritine produite par le gène *FTHL17* (*Ferritin Heavy Chain Like 17*) situé sur le chromosome

X (12), qui est exprimé uniquement au niveau des cellules germinales masculines. Il s'agit d'une protéine nucléaire fortement similaire à la chaîne lourde de la ferritine cytosolique mais ne possède pas d'activité ferroxidase, les connaissances actuelles suggèrent que sa fonction ne serait pas liée au stockage du fer mais qu'elle pourrait jouer un rôle dans la gamétogénèse en agissant comme un régulateur de l'expression de certains gènes (12, 13).

Tableau 1. Description des différents types de ferritine. Adapté de Levi S, *et al.* (11)

	Chaîne lourde (gène <i>FTH1</i>)	Chaîne légère (gène <i>FTL</i>)	Ferritine mitochondriale (gène <i>FTMT</i>)
Chromosome	Chr 11	Chr 19	Chr 5
Taille de la protéine (Acides aminés)	175 AA	183 AA	242 AA
Implication dans la structure de la ferritine	Hétéropolymère H/L	Hétéropolymère H/L	Homopolymère
Activité ferroxidase	Oui	Non	Oui
Régulation par le fer	Régulation par les Iron-Responsive- Elements (IRE)	Régulation par les Iron-Responsive- Elements (IRE)	Absence de régulation
Régulation transcriptionnelle	<i>Antioxidant Response Element</i>	<i>Antioxidant Response Element</i>	<i>Hypoxia Response Element</i>
Expression tissulaire	Ubiquitaire	Ubiquitaire	Spécifique



Figure 2 (gauche). Expression de la chaîne légère de la ferritine dans l'organisme, d'après Protein Atlas <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000087086-FTL/tissue>

Figure 2 (droite). Expression chaîne lourde de la ferritine dans l'organisme, d'après protein Atlas <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000167996-FTH1/tissue>

La mesure de la ferritine plasmatique peut être effectuée sur un tube hépariné à température ambiante. Le dosage doit être standardisé et interprété en fonction des conditions pré-analytiques définies par le laboratoire. Comme nous l'avons vu, la ferritine est la principale protéine de stockage intracellulaire du fer (essentiellement dans l'hépatocyte). Le fer est un élément minéral essentiel à la production d'hémoglobine, au transport de l'oxygène et joue un

rôle majeur dans le métabolisme de l'ADN, notamment comme cofacteur de plusieurs enzymes de réparation de l'ADN. Le fer fait partie des constituants de nombreuses protéines de l'organisme telles que l'hémoglobine, la myoglobine, les peroxydases (14). Le fer de l'organisme est fourni principalement par relargage à partir des macrophages spléniques du fer issu des hématies sénescents, à raison de 25 mg/jour, tandis que la quantité absorbée par voie digestive représente en moyenne 1-2 mg/jour sur le total du fer ingéré qui représente environ 10-20 mg/jour (15). L'organisme contient au total 4 g de fer chez l'homme et 3,5 g chez la femme (16).

2.2. Rôle de la ferritine dans le métabolisme martial

Le fer absorbé est stocké sous forme oxydée dans la ferritine, essentiellement au niveau des hépatocytes (**Figure 3**). Après absorption au niveau de l'entérocyte le fer est oxydé par l'héphaestine membranaire et la céruléoplasmine circulante pour être pris en charge par la transferrine qui est le principal transporteur extracellulaire du fer. La transferrine peut transporter jusqu'à deux atomes de fer ferrique trivalent Fe^{3+} . La transferrine achemine le fer jusqu'au précurseur érythroïde au niveau médullaire d'une part, et jusqu'à l'hépatocyte d'autre part. Elle se lie à son récepteurs TFRC (alias, TFR1) pour procéder à l'internalisation du Fer qui sera pris en charge par la ferritine comme nous l'avons décrit. Le fer absorbé quotidiennement au niveau intestinal ne représente que 1 à 2 mg par jour, la majorité du fer circulant (environ 25 mg/j) provient du relargage par les macrophages spléniques des résidus d'érythrocytes sénescents (**Figure 4**). Le fer sécrété de cette manière est pris en charge de façon identique par la transferrine.

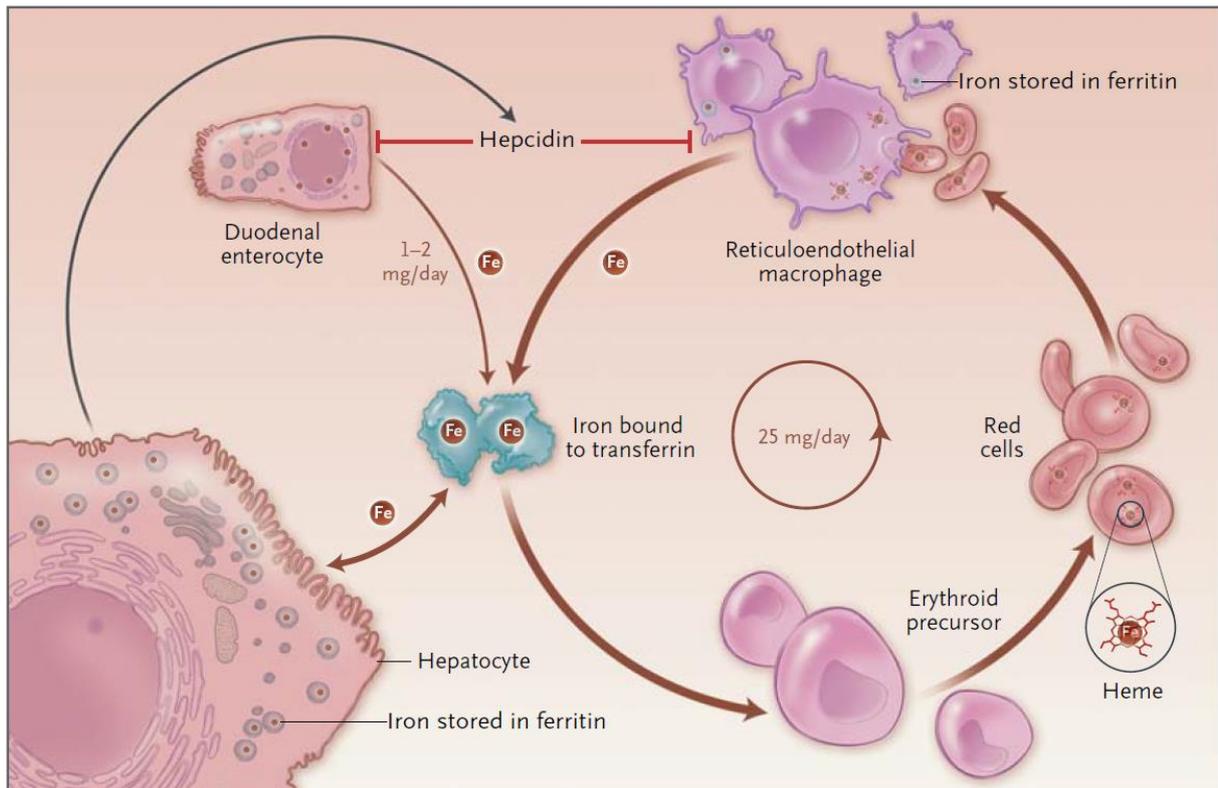


Figure 3. Schéma général sur l'absorption et métabolisme du fer. Le fer est absorbé par voie digestive, principalement dans le duodénum. Sur la quantité de fer ingérée dans le bol alimentaire, 1-2 mg de fer sont effectivement absorbés chaque jour en moyenne. Le fer est par la suite transporté dans le sang par la transferrine (diferritransferrine) pour les tissus effecteurs (ex. précurseurs érythroïdes) ou vers le principal site de stockage représenté par l'hépatocyte. Les précurseurs érythroïdes donnent naissance aux érythrocytes contenant l'hémoglobine. Le recyclage des érythrocytes sénescents par les macrophages du système réticulo-endothélial permet de libérer chaque jour une quantité moyenne de 25 mg de fer dans la circulation. Les aspects mécanistiques liés à l'absorption et à la régulation du métabolisme martial sont développés dans les figures suivantes. D'après Fleming & Ponka (17).

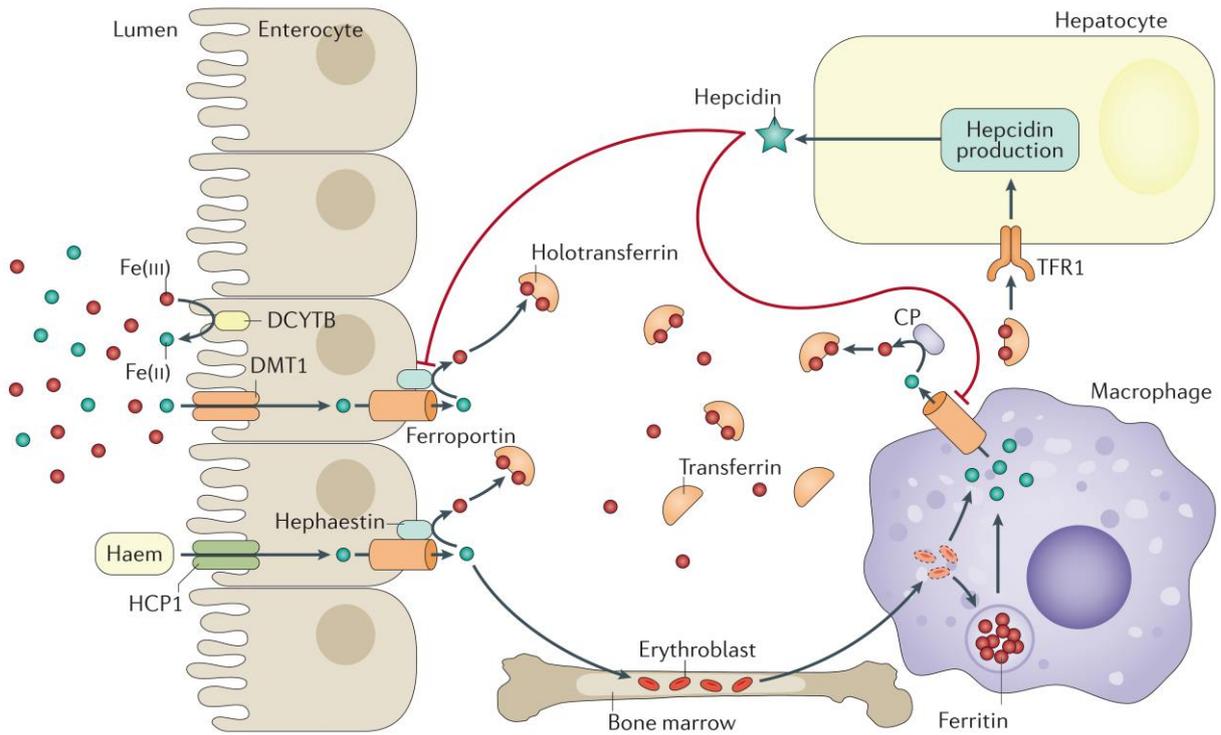


Figure 4. Absorption et métabolisme du fer. DCYTB : Cytochrome B duodéal ; DMT1 : *Divalent metal transporter 1* ; TFR1 : Récepteur de la transferrine de type 1 ; CP : Céruléoplasmine. Le fer ferrique (III = Fe^{3+}) est réduit par le cytochrome B duodéal. Le fer ferreux (II = Fe^{2+}) est internalisé via le transporteur DMT1 situé à la membrane luminale de l'entérocyte. Le fer ferreux est ensuite exporté vers le compartiment sanguin via la ferroportine. Il est oxydé par l'hephaestine entérocytaire. Le fer ferrique obtenu est pris en charge par la transferrine (2 atomes de fer ferriques par transferrine). Le fer ferrique est acheminé via la transferrine jusqu'à la moelle osseuse afin d'être utilisé dans la production de l'hème. Les hématies sénescentes sont phagocytées par les macrophages spléniques, les atomes de fer ferriques obtenus sont stockés dans la ferritine. Chaque jour, 20-25 mg de fer ferreux sont exportés du cytoplasme des macrophages spléniques via la ferroportine. Ces atomes de fer ferreux sont oxydés par la céruléoplasmine, pris en charge par la transferrine, puis acheminés jusqu'à l'hépatocyte. La transferrine se lie à son récepteur TFR1, le fer ferrique est internalisé puis stocké dans la ferritine. En réaction à différents signaux, l'hépatocyte produit l'hepcidine qui bloque la ferroportine des macrophages et des entérocytes afin de diminuer la concentration de fer ferrique circulant lié à la transferrine. D'après Brissot, et al. (18).

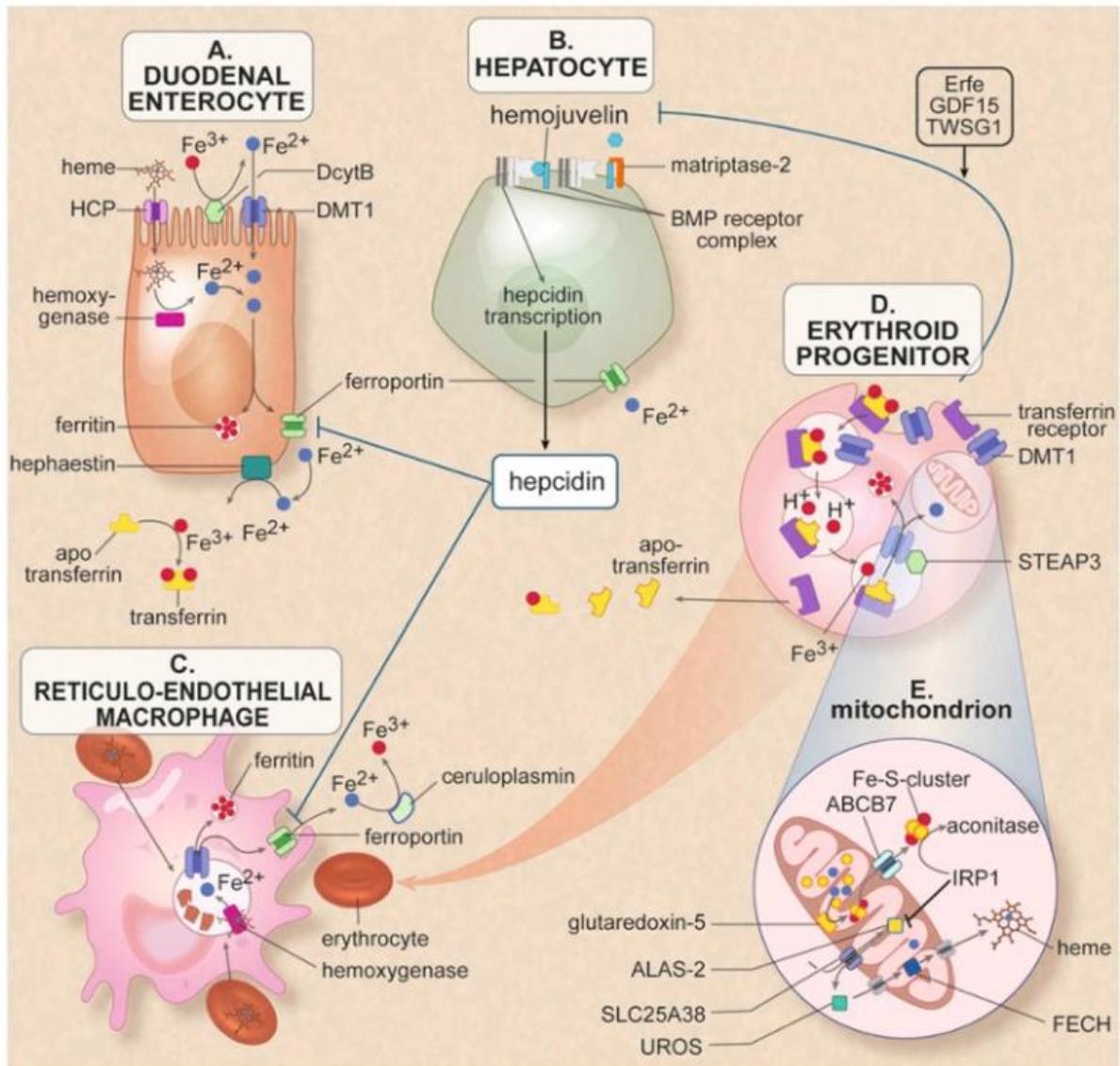


Figure 5. Cellules et protéines impliquées dans l'homéostasie du fer et la synthèse de l'hème. A : Entérocyte ; B : Hépatocyte ; C : Macrophage ; D : Progéniteur érythroïde ; E : Mitochondrie ; BMP : *Bone morphogenic protein* ; CP : Céruléoplasmine ; DCytB : CBYRD1 Cytochrome B réductase 1 ; DMT1 : *Divalent metal transporter 1* ; FECH : Ferrochélatase ; HCP : *Heme carrier protein 1* ; HJV : Hemojuvéline ; TFR1 = TFRC : Récepteur de la transferrine de type 1 ; UROS : Uroporphyrinogène III synthase. L'absorption du fer ferrique (Fe^{3+}) nécessite sa réduction par la protéine DCytB en Fer ferreux (Fe^{2+}) ce qui permet son passage intracellulaire dans l'entérocyte. Le fer est soit stocké sous forme oxydé dans la ferritine, soit transporté au travers la membrane basolatérale par la ferroportine. Le fer ainsi libéré par l'entérocyte est oxydé à nouveau en Fer ferrique (Fe^{3+}) par la protéine hephaestine pour être pris en charge par la protéine de transport dans le sang : la transferrine. Une

proportion importante du fer circulant est prise en charge par les précurseurs érythroïdes qui internalisent le fer par le récepteur de la transferrine par voie endosomale. Dans l'endosome, le fer ferrique est réduit par la protéine STEAP3 puis libéré dans le cytosol sous forme réduite (Fe^{2+}) pour être incorporé dans l'hémoglobine. D'après *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences (19) et Donker AE, et al. (20).

L'axe hepcidine-ferroportine est une voie majeure de l'absorption et de la régulation du fer circulant (21). L'hepcidine est une hormone hépatique peptidique de 25 acides aminés codée par le gène *HAMP* (*Hepcidin Antimicrobial Peptide*) situé sur le chromosome 19. La ferroportine est un récepteur membranaire présent à la surface des entérocytes, macrophages spléniques et cellules placentaires. Elle est codée par le gène *SLC40A1* (*Solute Carrier Family 40 Member 1*) situé sur le chromosome 2. Il s'agit du seul exporteur intracellulaire de fer connu. L'hepcidine a une action hyposidérémiant : elle agit par liaison à la ferroportine et provoque sa dégradation, d'une part au niveau de la paroi entérocytaire de manière à diminuer l'absorption globale de fer, et d'autre part au niveau des macrophages spléniques de manière à diminuer le relargage de fer dans la circulation générale (**Figure 5**) (22).

Il existe plusieurs niveaux de régulation du métabolisme martial. Les *Iron Responsive Protein* de type 1 et 2 (= IRP1, IRP2), sont des protéines cytosoliques dont la fonction est de réguler l'expression de différents gènes au niveau traductionnel, notamment l'importeur entérocytaire du fer *DMT1* (*Divalent Metal Transporter 1*), le récepteur de la transferrine *TFRC*, la ferroportine *SLC40A1*, la ferritine H *FTH1* et L *FTL* (23). Dans un environnement riche en fer, IRP1 et IRP2 se lient à des séquences nucléotidiques spécifiques présentes dans les régions non traduites (5'UTR et 3'UTR) des ARNm appelées *Iron Responsive Elements* (IRE). Dans un environnement riche en fer, les protéines IRP1 et IRP2 sont dégradées. D'autre part l'absorption et le relargage du fer sont largement régulées via l'axe hepcidine-ferroportine : au niveau hépatocytaire la liaison de la transferrine chargée en fer trivalent à son récepteur TFR2 (Récepteur de la transferrine de type 2) provoque une cascade médiée par la protéine HFE

(*High Fer*) et la voie BMP6/SMAD et HJV (hémoujuvéline) qui aboutit à une augmentation de la production d'hépcidine (24) et ainsi un rétrocontrôle sur le taux de fer circulant. L'hépcidine est également régulée positivement par le syndrome inflammatoire et infectieux via l'action de la cytokine IL-6 (25), dans le but de diminuer les stocks de fer circulants disponibles et ainsi limiter la prolifération des microorganismes. En outre, elle est régulée négativement par l'anémie et l'hypoxie (26).

3. LES HYPERFERRITINÉMIES

L'hyperferritinémie est une anomalie biochimique fréquemment observée. Les causes les plus fréquentes d'hyperferritinémie sont l'augmentation de la synthèse de ferritine en rapport avec une pathologie génétique ou acquise, avec ou sans surcharge martiale (**Tableau 2**) (27). Un tableau assez fréquent et typique est celui d'un patient présentant une hyperferritinémie < 1000 µg/L avec un coefficient de saturation de la transferrine normal dans un contexte de consommation d'alcool ou d'obésité. Dans ce même sous-groupe biologique (hyperferritinémie < 1000 µg/L et CST non augmenté) on retrouve les états inflammatoires chroniques (27). On distingue deux grandes classes d'hyperferritinémies : les hyperferritinémies réactionnelles et les hyperferritinémies génétiques avec ou sans surcharge martiale.

3.1. Hyperferritinémies réactionnelles

La principale étiologie d'hyperferritinémie réactionnelle est le syndrome inflammatoire, avec des valeurs pouvant s'élever jusqu'à 50 fois la normale (28). Le CST est normal dans cette situation, le fer sérique est abaissé. Le syndrome inflammatoire même modéré peut provoquer une augmentation conséquente de la ferritinémie. La cytolyse hépatique ou musculaire est également une cause d'hyperferritinémie réactionnelle (28). Les valeurs de ferritine peuvent s'élever de façon importante mais reviennent rapidement dans des valeurs normales après résolution de l'épisode cytolitique. Il existe une surcharge martiale associée avec un CST élevé (**Figure 6**).

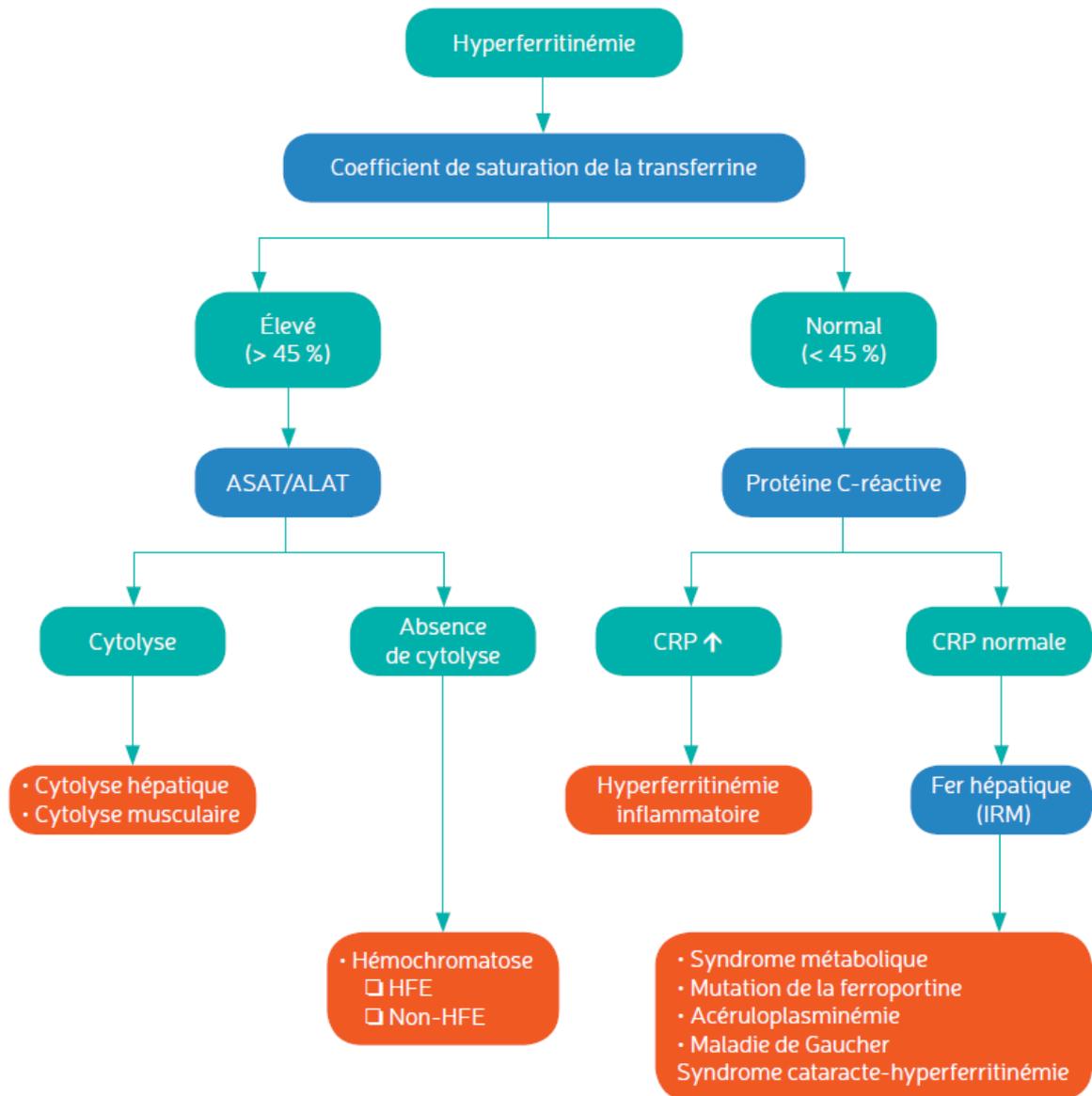


Figure 6. Algorithme diagnostique devant une hyperferritinémie. Devant une hyperferritinémie, si le coefficient de saturation est normal, il convient d'éliminer un syndrome inflammatoire, une NASH, et plus rarement, la maladie de la ferroportine (hémochromatose de type 4), l'acéruéoplasminémie, la maladie de Gaucher, le syndrome Hyperferritinémie-cataracte. Devant un coefficient de saturation de la transferrine élevé traduisant une surcharge martiale, il convient d'éliminer en premier lieu une cytololyse hépatique ou musculaire, puis une hémochromatose de type 1, 2 et 3. D'après Brissot et al. (29)

L'éthylisme représente une cause importante et fréquente d'hyperferritinémie en dehors du cadre d'une hépatopathie chronique. La ferritine se normalise au bout de quelques semaines d'abstinence (27). Il est important de ne pas méconnaître cette étiologie chez un patient ne présentant ni cytolysse hépatique ni épisodes inflammatoires. Toute maladie auto-immune est susceptible de provoquer une élévation de la ferritinémie (30). Cette élévation est corrélée à l'activité inflammatoire et peut le plus souvent être mise en relation avec l'élévation de la CRP. L'hyperthyroïdie peut provoquer des élévations importantes de la ferritinémie jusqu'à 1000 µg/L. Cette élévation est le plus souvent régressive après traitement spécifique (31). Il est possible également que la cytolysse induite par l'hyperthyroïdie provoque une élévation concomitante et confondante de la ferritinémie.

Tableau 2. Mécanismes des principales causes d'hyperferritinémies, d'après Adams PC, *et al.* (27)

Augmentation de la libération de la ferritine par les cellules lésées

- Nécrose hépatique massive dans le cadre du sepsis ;
- Hépatite aiguë, hépatite toxique ;
- Hépatite virale chronique ;
- Infections aiguës ou chroniques ;
- Désordres dysimmunitaires et auto-immuns ;
- Infarctus du myocarde ; infarctus splénique ;
- Stéatose hépatique.

Augmentation de la synthèse ou de la sécrétion de l'apoferritine (ou L-ferritine)

- Ethylisme chronique ;
- Cancer (histiocytose maligne, cancer bronchique, cancer du sein, cancer de l'ovaire, cancer du rein, lymphome, liposarcome) ;
- Histiocytose réactionnelle ;
- Maladie de Gaucher ;
- Syndrome cataracte hyperferritinémie.

Augmentation de la synthèse de la ferritine en lien avec une surcharge martiale

- Hémochromatose HFE, autres types d'hémochromatose ;
- Anémies héréditaires ou acquises avec érythropoïèse inefficace ;
- Augmentation de l'absorption du fer à partir de suppléments alimentaires ou l'ingestion de bière traditionnelle (notamment dans les régions d'Afrique subsaharienne) ;
- Surcharge martiale liée aux transfusions itératives ;
- Surcharge martiale iatrogène par supplémentation intraveineuse ;
- Acéculéoplasminémie héréditaire.

L'hémolyse chronique est également une cause d'hyperferritinémie avec le plus souvent les manifestations de surcharge martiale prolongée associées selon l'étiologie (32). Bien souvent s'y associent une surcharge hépatique en fer et les complications associées. Les causes iatrogènes d'hyperferritinémie sont à évoquer chez un patient polytransfusé, avec des chiffres de ferritine pouvant s'élever de manière spectaculaire et prolongée, parfois supérieure à 10 000 µg/L (33, 34). Ce phénomène est historiquement dénommé « hémochromatose secondaire ». Il est fréquent dans le cadre de pathologies hémolytiques constitutionnelles telles que la drépanocytose ou les thalassémies (35). Un chélateur du fer est dans ce cas habituellement prescrit pour limiter les effets indésirables de la surcharge martiale. Les mêmes conséquences peuvent être observées après administration répétée de fer par voie parentérale. Il convient de surveiller le bilan martial à distance afin de suivre la bonne tolérance du traitement.

Les conséquences de l'hyperferritinémie avec surcharge martiale prolongée sont systémiques. On observe l'apparition de complications hépatiques avec une cytolyse et cholestase chronique, puis à terme une surcharge martiale visible en imagerie (36), aboutissant à la cirrhose. Les complications cardiaques (cardiomyopathie hypertrophique) sont également classiques et redoutables. La surcharge martiale provoque également des complications endocriniennes (insuffisance pancréatique, hypogonadisme), cutanées (mélanodermie), neurologiques. Il a également été mis en évidence des liens entre la ferritinémie et le développement d'un syndrome métabolique (37), ainsi que l'apparition d'une NASH.

3.2. Hyperferritinémies génétiques

3.2.1. Hyperferritinémies génétiques avec surcharge martiale

3.2.1.1. Hémochromatose de type 1 (Hémochromatose HFE)

L'hémochromatose de type 1 appelée plus couramment « hémochromatose héréditaire » est de loin la cause la plus fréquente d'hyperferritinémie avec surcharge martiale (29). C'est également la pathologie génétique la plus fréquente dans la population occidentale avec une prévalence estimée dans la population générale autour de 1/300 naissances.

Du point de vue physiopathologique, l'hémochromatose HFE correspond à une maladie de surcharge en fer systémique d'origine génétique causée par un déficit de signalisation de l'hepcidine. Le signal de régulation des stocks martiaux hépatiques induit par HFE ne fonctionne plus, ce qui entraîne une diminution de la production d'hepcidine. Il en résulte une dérégulation de l'axe hepcidine-ferroportine, ce qui aboutit à une surcharge martiale systémique (18). La physiopathologie moléculaire de cette maladie est très bien documentée : le gène responsable est *HFE*, situé sur le chromosome 6. Le principal variant génétique responsable est *HFE:c.845G>A* (p.Cys282Tyr), dont la fréquence de l'allèle alternatif varie selon les populations (Européens non finnois (NFE) 5,7% ; Européens finnois (FIN) 3,5% ; Africains (AFR) 1,1% ; Asiatiques de l'est (EAS) 0,01% ; Asiatiques du sud (SAS)

0,2%) (38). Le second variant le plus fréquemment observé dans le gène *HFE* comme responsable de la maladie est le *HFE:c.187C>G*, soit p.His63Asp (H63D), sa prévalence à l'état hétérozygote est très élevée aux alentours de 24%. Le troisième variant le plus fréquemment observé est *HFE:c.193A>T*, soit p.Ser65Cys (S65C), il est responsable de formes modérées (39). Sa fréquence est moindre, aux alentours de 1,5 %. Le génotype le plus fréquent des patients atteints d'hémochromatose de type 1 est le C282Y pour 80% des patients (40), 15% sont homozygotes H63D, 5% environ sont hétérozygotes composites C282Y/H63D. Les formes hétérozygotes composites C282Y/H63D, C282Y/S65C et H63D/S65C peuvent s'avérer responsable de phénotypes modérés d'hémochromatose héréditaire avec hyperferritinémie (34, 35). Comme dans toutes les maladies avec surcharge martiale prolongée, on observe l'apparition de dépôts au niveau hépatique (41), pancréatique (42), splénique, cutanés, etc. responsables de manifestations systémiques avec l'apparition d'une cirrhose, d'une insuffisance pancréatique, hypophysaire, etc.

3.2.1.2. Autres hémochromatoses génétiques (Hémochromatoses non *HFE*)

Les autres types d'hémochromatose héréditaires sont des maladies sont rares avec une prévalence rapportée < 1/1 000 000 (**Tableau 3**). L'hémochromatose de type 2A est causée par des mutations du gène *HJV* codant l'hémojuvéline (43), l'hémochromatose de type 2B par des mutations du gène *HAMP* codant l'hepcidine, le phénotype est sévère avec sur le plan clinique des manifestations systémiques précoces et sur le plan biologique une ferritine souvent > 2 000 µg/L et une surcharge martiale majeure avec un CST > 90 %. L'hémochromatose de type 3 est causée par une mutation sur le gène du récepteur de la transferrine *TFR2*. Enfin l'hémochromatose de type 4 autrement dénommée « maladie de la ferroportine » est causée par des mutations sur le gène *SLC40A1* codant pour la ferroportine.

Tableau 3. Caractéristiques des principales anomalies constitutionnelles responsables d'une hyperferritinémie. D'après Fleming & Ponka (17)

	Gene et transmission	Age d'apparition des symptômes	Symptômes neurologiques	Anémie	Coefficient de Saturation de la transferrine
Dysfonction de l'axe hepcidine-ferroportine					
Hémochromatose de type 1	<i>HFE</i> , AR	Adulte	Non	Non	Élevé
Hémochromatose de type 2A	<i>HJV</i> , AR	Enfant/Adulte jeune	Non	Non	Élevé
Hémochromatose de type 2B	<i>HAMP</i> , AR	Enfant/Adulte jeune	Non	Non	Élevé
Hémochromatose de type 3	<i>TFR2</i> , AR	Adulte jeune	Non	Non	Élevé
Hémochromatose de type 4	<i>FPN1</i> , AD	Adulte	Non	Variable	Élevé
Défaut de transport du fer					
Acéroléoplasminémie	<i>CP</i> , AR	Adulte	Oui	Oui	Bas
Mutation DMT1	<i>DMT1</i> , AR	Enfant	Non	Oui	Élevé
Hypotransferrinémie	<i>TF</i> , AR	Variable	Non	Oui	Élevé

AR : Autosomique récessif ; AD : Autosomique dominant. *HFE* : *High Fer* ; *HJV* : Hémoujuvéline ; *HAMP* : *Hepcidin Antimicrobial Peptide* ; *TFR2* : Récepteur de la transferrine de type 2 ; *FPN1* : Ferroportine ; *CP* : Céruléoplasmine ; *DMT1* : *Divalent Metal Transporter 1* ; *TF* : Transferrine.

3.2.2. Hyperferritinémies constitutionnelles sans surcharge martiale

Il existe des causes constitutionnelles d'hyperferritinémie sans surcharge martiale. La maladie de Gaucher ou déficit en β -glucocérébrosidase est une maladie lysosomale de transmission autosomique récessive (44) qui se traduit cliniquement par une splénomégalie associée à une hyperferritinémie. La majorité des patients atteints présentent une ferritinémie supérieure à 300 $\mu\text{g/L}$ (45). Cette perturbation est spécifique de cette maladie dans le sens où elle n'est pas le fruit de facteurs confondants, en particulier l'inflammation chronique. Cette hyperferritinémie ne s'accompagne pas d'une surcharge martiale, le fer sérique ainsi que le CST sont toujours dans les normes. Elle constitue un critère de sévérité de la maladie. Le gène responsable est *GBA* situé sur le bras long du chromosome 1 et codant pour la protéine β -glucocérébrosidase, plus de 300 mutations ont été décrites à ce jour (46). L'hyperferritinémie

est expliquée en partie par une augmentation de production d'hepcidine conduisant d'une part à une diminution d'absorption entérique du fer, ce qui explique l'absence de surcharge martiale, et d'autre part à une rétention par les macrophages spléniques (47).

Le syndrome « Hyperferritinémie - cataracte congénitale » représente autre étiologie notable d'hyperferritinémie majeure (> 1000 µg/L) sans surcharge martiale. La mutation en cause est située sur le gène *FTL*. Cette maladie est de transmission autosomique dominante ce qui constitue une exception dans le spectre des maladies du métabolisme martial.

3.3. Hyperferritinémies inexplicées

Après avoir passé en revue les différentes étiologies d'hyperferritinémie réactionnelles et constitutionnelles il persiste une proportion de patients présentant une hyperferritinémie plus ou moins importante. Ce problème est largement connu en hépato-gastro-entérologie avec ou sans traduction clinique. Les variants moléculaires référencés dans les bases de données restent souvent insuffisants pour expliquer ce phénotype. Nous avons réalisé une étude via un design d'*exome-wide association study* sur une cohorte de patients suivis au CHRU de Nancy et ayant bénéficié d'un diagnostic moléculaire par séquençage haut débit au sein du département de Médecine Moléculaire du Laboratoire de Biochimie-Biologie Moléculaire-Nutrition. L'objectif de la thèse était de réaliser une étude d'association de l'exome afin d'évaluer les prédictors génétiques rares et fréquents potentiellement associés à la ferritinémie chez des patients pour lesquels les causes d'hyperferritinémie réactionnelles et génétiques connues ont été exclues.

4. RESULTATS DE LA PARTIE EXPERIMENTALE DE LA THÈSE

La présente partie rapporte les données originales du travail de thèse. Elle correspond aux parties : Matériel et Méthodes, Résultats, Tableaux, Figures, Abstract graphique et Documents annexes. Une synthèse globale des résultats est présentée en première partie.

4.1. Synthèse globale des résultats

Nous avons utilisé une approche originale d'étude d'association génomique avec des données sériées. Dans un 1^{er} temps, nous avons réalisé une analyse par gène en utilisant une approche par test de charge génomique en utilisant un modèle statistique combinant l'effet des variants fréquents et rares en lien avec la concentration de la ferritine plasmatique. Dans un second temps, nous avons réalisé une étude d'association à l'échelle du variant génétique en ciblant les *loci* ayant maintenu leur significativité après ajustement aux tests multiples (Bonferroni). Dans un 3^e temps, nous avons testé la robustesse de l'association statistique observée en méthode fréquentiste par l'emploi d'une approche bayésienne, notamment pour la prise en compte des observations multiples en données sériées. L'analyse a mis en évidence 11 variants génétiques potentiellement associés à la concentration en ferritine dont un variant associé à un phénotype de surcharge martiale sur le gène *MUC13* codant pour la mucine 13. En utilisant un modèle murin knock-out *Muc13*^{-/-} nous avons confirmé l'association entre le locus *Muc13* et les paramètres du bilan martial. Les résultats détaillés de ces travaux sont disponibles dans le manuscrit ci-dessous.

4.2. Article rédigé en vue d'une soumission à une revue à comité de lecture

(Parties rapportées : *Patients and Methods, Results, Tables, Figures, Supplementary Appendix.*)

Exome-Wide Association Study Identifies Novel Loci Associated With Plasma Ferritin Levels and Highlights the Role of Mucin-Mobilferrin-Integrin Pathway (*MUC13*) in Iron Metabolism.

Jonas Callet, MD¹; Yong H Sheng, PhD²; Céline Chéry, PhD^{1,3,4}; Thomas Josse, MSc¹; Laurence Aoura¹; Françoise Barbé, PharmD, PhD¹; Ramia Safar, PhD³; Mouni Bensenane, MD⁵; Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, MD, PhD^{1,3,4}; Fares Namour, MD, PhD^{1,3,4}; Guillaume Gauchotte, MD, PhD^{3,6}; Hana Manceaux, MD, PhD^{7,8}; Thibaud Lefebvre, PharmD, PhD^{7,9}; Hervé Puy, MD, PhD^{7,9}; Jean-Pierre Bronowicki, MD, PhD^{3,5}; Michael A McGuckin, MD, PhD^{2,10}; Jean-Louis Guéant, MD, DSc, AGAF^{1,3,4}; and Abderrahim Oussalah, MD, PhD^{1,3,4}

¹ Department of Molecular Medicine, Division of Biochemistry, Molecular Biology, Nutrition, and Metabolism, University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France.

² Inflammatory Disease Biology and Therapeutics Group, Mater Research Institute - The University of Queensland, Translational Research Institute, Woolloongabba, QLD, Australia.

³ University of Lorraine, INSERM UMR_S 1256, Nutrition, Genetics, and Environmental Risk Exposure (NGERE), Faculty of Medicine of Nancy, F-54000 Nancy, France.

⁴ Reference Center for Inborn Errors of Metabolism (ORPHA67872), University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France.

⁵ Department of Gastroenterology and Liver Diseases, University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France.

⁶ Department of Pathology, University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France.

⁷ Centre de Recherches sur l'Inflammation, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U1149, 75018 Paris, France; Université Paris Diderot, 75018 Paris, France;

⁸ Laboratoire de Biochimie, Hôpital Beaujon, Hôpitaux Universitaires Paris Nord Val-de-Seine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, DHU Unity, 92110 Clichy, France.

⁹ Centre Français des Porphyries, Hôpital Louis Mourier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, 178 rue des Renouillers, 92701 Colombes, France.

¹⁰ Faculty of Medicine Dentistry and Health Sciences, The University of Melbourne, Parkville, VIC, Australia.

Corresponding Author:

Prof. Abderrahim Oussalah, MD, PhD

Department of Molecular Medicine, Division of Biochemistry, Molecular Biology, and Nutrition, University Hospital of Nancy, and INSERM UMR_S 1256, Nutrition, Genetics, and Environmental Risk Exposure (NGERE), Faculty of Medicine of Nancy, 9 Avenue de la Forêt de Haye, F-54000, Nancy, France.

Telephone: +33 3 83 15 36 29

E-mail address: abderrahim.oussalah@univ-lorraine.fr

2. PATIENTS AND METHODS

2.1. Study aims and outcomes.

The primary aim of the study was to look for common and rare genetic variants potentially associated with plasma ferritin levels in patients in whom hyperferritinemia with an explainable cause has been ruled out (i.e., secondary hyperferritinemia with or without iron overload and monogenic disorders associated with hyperferritinemia with or without iron overload). The secondary aim was to assess the association between the top significant genetic variants associated with plasma ferritin levels and the remaining biochemical parameters of iron metabolism (i.e., plasma iron, transferrin, and transferrin saturation). The primary outcome was the plasma ferritin level expressed as a continuous variable. The secondary outcomes were the plasma levels of iron, transferrin, and transferrin saturation expressed as continuous variables.

2.2. Study design, setting, and patients' selection criteria.

We carried out a retrospective observational study on consecutive patients who underwent CES at the Department of Molecular Medicine at the University Hospital of Nancy (Nancy, France) as a first-tier genetic test to investigate a Mendelian phenotype. In France, in the setting of the diagnosis of genetic disorders, the CES is 100% covered by the French health care system [1]. Genetic testing was performed after formal written consent. The inclusion criteria were: i) CES prescription between January 2017 and June 2020; ii) biochemical assay of at least one iron metabolism parameter. The exclusion criteria were: i) cytotoxicity (ASAT > 200 U/L and/or ALAT > 200 UI/L); ii) biological inflammatory syndrome (C-reactive protein > 10 mg/L); iii) history of chronic kidney disease; iv) history of blood transfusion; v) history of oral or intravenous iron or erythropoietin therapy; vi) history of blood removal in the setting of iron overload; vii) no available data on plasma ferritin level; viii) previously known genetic diagnosis related to iron overload; ix) history of chronic inflammatory disease; and x) age < 18 years. The study was observational, meaning that all clinical and biochemical investigations were performed at the discretion of the treating physicians. The institutional review board of the University Hospital of Nancy approved the study.

2.3. Data collected for the study.

The following CES-related administrative and clinical data were retrieved through electronic chart review using DxCare® software (Dedalus France, Le Plessis Robinson, France) for patients followed at the University Hospital of Nancy or medical prescriptions for patients outside the University Hospital of Nancy: **Demographics:** age at CES prescription, gender; **Clinical findings:** weight (kg), height (m), history of chronic kidney disease, history of blood transfusion, previously known genetic diagnosis related to iron overload, and history of severe chronic inflammatory disease; **Biological findings:** ferritin ($\mu\text{g/L}$), iron (mg/L), transferrin (g/L), transferrin saturation (%), aspartate aminotransferases (ASAT) (U/L), alanine aminotransferases (ALAT) (U/L), γ -glutamyltransferase (U/L), alkaline phosphatase (U/L); For patients with multiple encounters, serial biochemical measurements were considered; **Iron-related therapies:** history of oral or intravenous iron therapy, erythropoietin therapy, history of blood removal in the setting of iron overload.

2.4. Next-generation sequencing.

We performed CES using the TruSight One panel on an Illumina MiSeq platform (Illumina, Evry, France) or TruSight One expanded panel on an Illumina NextSeq 550 platform, in compliance with the French Accreditation Committee requirements, at the University Hospital of Nancy and the Functional Genomics Facility of the INSERM unit UMR_S 1256 (NGERE), as previously described [1-3]. At the Department of Molecular Medicine at the University Hospital of Nancy and the National Reference Center for Inborn Errors of Metabolism, we opted for a strategy based on Illumina TruSight captures that cover a large number of disease-associated genes instead of choosing a full-exome-based approach. The TruSight One Sequencing Panel provides comprehensive coverage of >4800 disease-associated genes, while the TruSight One Expanded Sequencing Panel targets ~1900 additional genes with recent disease associations in the scientific literature (**Supplemental Table 1**). We used Nextera and Nextera Flex enrichment solutions with the TruSight One and TruSight One Expanded captures, respectively. The TruSight One Expanded and TruSight One panels cover 100% and 82% (145/176) of the 176 mitochondrial nuclear genes reported in **Supplemental Table 1**. Bioinformatics analysis was performed as previously described [1, 3-5]. The Burrows-Wheeler Aligner (BWA) software package was used

to map all reads to GRCh37/hg19 annotation using the BWA-MEM algorithm. PCR duplicates were removed from alignments using the Picard (MarkDuplicates) tool (<http://broadinstitute.github.io/picard>). Indels were realigned using the Genome Analysis Toolkit (GATK) [6]. SNVs and short indels were called using the GATK HaplotypeCaller software [6]. Large structural variations were not assessed.

2.5. Quality controls on genetic data and variant filtration.

We performed ancestry inference using principal-component analysis (PCA) on the samples merged with 1092 subjects from the 1kG phase 1 super populations as reference populations (Africans (AFR), $n = 246$; Americans (AMR), $n = 181$; Asians (ASN), $n = 286$; and Europeans (EUR), $n = 379$) (data were retrieved at: <http://www.internationalgenome.org/data/>). PCA analysis was performed under the additive model to find up to 10 components (Eigenvalues). Duplicated samples and those showing cryptic relatedness were assessed by calculating identity by descent (IBD). By estimating the probability of sharing zero, one, or two alleles for any two individuals as $P(Z=0)$, $P(Z=1)$, and $P(Z=2)$, respectively, a proportion of IBD was calculated using the following formula: $PI-HAT = PI = P(Z=1)/2 + P(Z=2)$. A PI-HAT threshold >0.2 was used to suggest cryptic relatedness. We used the following strategy for variants and samples selection: Step #1: Import all retrieved genetic variants; Step #2: retain genetic variants located on genomic regions that overlap between the TruSight One and TruSight One expanded captures; Step #3: Exclude synonymous variants using the RefSeq Genes 105v2, NCBI gene source annotation; Step #4: exclude variants with a mean GQ score ($GQ\bar{x}$) <85 ; Step #5: exclude variants with a GQ score variance ($GQ\sigma^2$) > 800 ; and Step #6: exclude monomorphic variants. All the genetic variants of interest were checked for their compliance with validated quality metrics (read depth [RD] >20 , alt-read ratio [ARR] >0.2 , genotype quality score [GQ] of 99). All the genetic variants retained in the bioinformatics analysis were confirmed by visual inspection of the read-level data of BAM files. Functional variant annotation was performed using the following tools: MutationTaster [7], Functional Analysis through Hidden Markov Models (FATHMM) [8], MetaSVM / MetaLR scores[9], Sorting Tolerant From Intolerant (SIFT) [10], Protein Variation Effect Analyzer (Provean) [11], and deleterious annotation of genetic variants using neural networks (DANN) [12]. Variant pathogenicity was reported according to the ACMG criteria [13]. All retained

and top-prioritized variants were systematically assessed for their ClinVar annotation [14]. All bioinformatics analyses were performed using the SNP & Variation Suite (v8.9.0; Golden Helix, Inc., Bozeman, MT, USA).

2.6. Statistical Analysis.

2.6.1. Overview of the statistical design.

We used the following sequential approach to perform the exome-wide association study with a repeated measure design: **Step#1:** we performed gene-based tests to select the Bonferroni-significant genes that were associated with plasma ferritin level; **Step #2:** we performed linear regression to assess the association between the variants located in top loci and plasma ferritin level; **Step #3:** we used Bayesian analysis of variance (ANOVA) inference to assess the effect estimate and Bayes factor (BF[m]) of the top significant variants in association with plasma ferritin level; **Step #4:** we used Bayesian ANOVA to assess the association between the final set of validated genetic variants and the remaining biochemical parameters of iron metabolism (iron, transferrin saturation, and transferrin).

2.6.2. Gene-based analysis, genotypic linear regression, and Bayesian analysis of variance (ANOVA).

We performed gene-based tests to investigate the influence of rare and low-frequency variants on plasma ferritin levels. Gene-based tests offer an alternative to single-variant tests, often underpowered to detect association with rare variants [15, 16]. Accordingly, exome-wide data were analyzed using the combined multivariate and collapsing (CMC) method with regression analysis as described by Li and Leal [15]. The CMC approach uses regions such as genes. The CMC method uses the variant bins to perform a multivariate test collapsed over specified regions. For this test, those regions will be gene regions. This method uses the combined effect of multiple variants in a gene to determine the association with the phenotype. CMC first bins variants within each region according to a criterion such as alternative allele frequency (AAF), collapses the variants within each bin, and finally performs multivariate testing on the counts across the various bins [15]. We collapsed variants using the threshold of AAF < 0.01 using the gnomAD Exomes Variant Frequencies 2.0.1 v2, BROAD. We performed CMC linear regression using the following covariates: age, gender, ASAT,

ALAT, C-reactive protein, history of chronic liver disease, and the top 5 principal components from the ancestry inference analysis. We used Bonferroni correction to define the top significant loci (Bonf- $P < 0.05$). In order to increase the study power, we used a repeated measure design, as previously reported [17-19].

We used linear regression under an additive model to assess the association between genetic variants located in Bonferroni-significant loci and plasma ferritin levels. We selected variants with a minor allele frequency $> 1\%$ and used the same covariates as those for gene-based analysis (CMC regression). For each variant, we reported the full versus reduced model P -value and its corresponding Bonferroni corrected P -value, the regression beta coefficient, and the standard error (SE).

We used Bayesian ANOVA to assess further the validity of the association between Bonferroni-significant variants and plasma ferritin level and account for multiple observation times [20, 21]. We used genotypes (AA, AB, BB) as fixed factors and the plasma ferritin level as an outcome variable. For each variant, we reported the mean and 95% credibility interval (95% Cred. I) per genotype subgroup and the Bayes factor [BF(m)], which represents the change from the prior odds to the posterior odds for the model [22]. As a Bayesian inference metric, BF (m) constitutes a natural ratio to compare the marginal likelihoods between a null and an alternative hypothesis. We used the following evidence categories for the Bayes Factor BF(m) according to Jeffreys: BF(m) between 3-10 (moderate evidence), BF(m) between 10-30 (strong evidence), BF(m) between 30-100 (very strong evidence), and BF(m) > 100 (extreme evidence) [23]. Categorical variables were summarized as frequency counts and percentages with the 95% confidence interval (95% CI). Quantitative variables were expressed as means and standard deviation (SD) or medians and interquartile range (IQR, 25th and 75th percentiles), as appropriate. In animal experiments, the comparisons of iron biochemical parameters between subgroups were carried out using the Student's t -test or the Mann-Whitney U test according to the parametric or nonparametric distribution of the variables, respectively. All bioinformatics analyses were conducted using SVS (v8.8.1; Golden Helix, Inc., Bozeman, MT, USA), MedCalc (v20.014; MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium), and JASP software (v0.14.1) [24].

2.7. *Muc13* knockout mice model.

Muc13^{+/+} (wild type) and *Muc13*^{-/-} littermates mice on a C57BL/6 background were bred at Mater Research Institute – The University of Queensland, Translational Research Institute, Queensland 4102, Australia. *Muc13*^{-/-} mice generation was described previously (**Supplemental Figure S1**) [25]. The experiments involving mice were conducted in accordance with the Australian Code for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes 8th edition (2013) and were approved by the University of Queensland Animal Experimentation Ethics Committee. Mice were sex- and age-matched within experiments (12-13 weeks of age; *Muc13*^{-/-}, n = 6; *Muc13*^{+/+}, n = 7). All animal experimentation was approved by the University of Queensland animal experimentation ethics committee.

2.8. Biochemical assays on *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{+/+} mice.

We measured plasma iron and transferrin levels on Atellica immunoassay (IM) and clinical chemistry (CH) multiparametric analyzers (Siemens Healthcare SAS, France), respectively. We measured plasma ferritin level on BECKMAN COULTER AU 480 (Beckman Coulter France S.A.S, Villepinte, France). We measured plasma hepcidin level using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry as previously described [26]. Liver mice tissues were collected and weighted. Water was added (100 µL of water per 10 mg of tissue) and samples were homogenized using a tissue homogenizer (Precellys® 24, Bertin Instruments, Montigny-le-Bretonneux, France) with 2 mL tubes pre-filled with 1.4 mm ceramic beads (Precellys lysing kit, Soft tissue homogenizing CK14, Bertin Instruments, Montigny-le-Bretonneux, France). The homogenization program consisted of three homogenization steps of 60 seconds at 6500 rpm speed and 30 seconds pause between steps. Supernatants were used to determine the liver iron concentration (µmol/L) on an Atellica CH multiparametric analyzer (Siemens Healthcare SAS, France).

2.9. Histopathology of liver biopsies from *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{+/+} mice.

Liver tissues were fixed in neutral buffered 4% formalin, embedded in paraffin, sectioned at 5 µm, and subsequently stained with hematoxylin-eosin, saffron (HES), and Sirius red staining to evaluate the inflammation and fibrosis, and Perls Prussian

blue staining to evaluate iron deposition. Sections were studied under a light microscope.

3. RESULTS

3.1. Study population and variant filtration for genomic analyses.

Three hundred and ninety-two patients met the inclusion criteria and corresponded to 1306 encounters. On the 1306 encounters, 823 were excluded according to exclusion criteria (**Supplemental Figure S2**), leaving 483 encounters for the exome-wide association study on plasma ferritin level. The description of the biological findings of the population is reported in **Supplemental Table S1**. The whole genomic dataset included 316,811 variants, with 265,339 variants shared between TS one and TS expanded captures. According to the RefSeq annotation, 37,029 variants were synonymous and were excluded from the analysis. Of the 194,310 remaining variants, 91,301 exhibited optimal quality metrics, and 45,713 were non-monomorphic.

3.2. Gene-based and variant-based analyses.

We performed gene-burden testing using CMC regression analysis with covariate adjustment (age, gender, ASAT, ALAT, C-reactive protein, history of chronic liver disease, and the top 5 principal components from the ancestry inference analysis [**Supplemental Figure S3**]) to assess the association with plasma ferritin levels. On the 4056 genes, 107 were significantly associated with plasma ferritin levels after Bonferroni correction (**Supplemental Table 2**). The 107 top significant genes included 193 variants with a minor allele frequency > 1% that were assessed in linear regression for their association with plasma ferritin levels and using the same covariates. In linear regression, 31 variants were significantly associated with plasma ferritin level after Bonferroni correction (**Table 1 and Supplemental Table S3**).

3.3. Variant cross-validation using Bayesian ANOVA.

We used Bayesian ANOVA to assess the validity of our results. On the 31 Bonferroni significant genetic variants, 11 were validated for their association with plasma ferritin levels with four variants exhibiting extreme evidence (*MUC13*, *ZNF644*, *TBL1XR1*, *TRIM37*), three variants exhibiting strong or very strong evidence (*NEXN*, *ABHD5*, and *ZNF224*), and four variants exhibiting moderate evidence (*SLC6A4*, *KNG1*, *MIP*, and

LPA) (**Table 2** and **Figure 1**). The missense variant on *MUC13* (NM_033049.4:c.1506A>C; NP_149038.3:p.Arg502Ser) had the strongest effect on plasma ferritin level: BF(m) = 5.26×10^{19} ; AA_{mean}, 185 µg/L (95% Cred. I, 156–213), AB_{mean}, 203 µg/L (95% Cred. I, 166–240), and BB_{mean}, 782 µg/L (95% Cred. I, 513–1051) (**Table 2** and **Figure 2**). On the 11 variants associated with plasma ferritin level, the missense variant on *MUC13* exhibited extreme evidence for its association with both plasma iron (BF[m] = 4000; AA_{mean}, 0.98 mg/L (95% Cred. I, 0.92–1.03), AB_{mean}, 0.91 mg/L (95% Cred. I, 0.84–0.99), and BB_{mean}, 1.36 mg/L (95% Cred. I, 1.18–1.55) (**Table 3** and **Figure 2**) and transferrin saturation (BF(m) = 376; AA_{mean}, 27% (95% Cred. I, 26–29), AB_{mean}, 27% (95% Cred. I, 24–29), and BB_{mean}, 39% (95% Cred. I, 32–45) (**Table 4** and **Figure 2**). The ten remaining variants associated with ferritin exhibited no Bayesian evidence for an association with plasma iron or transferrin saturation (**Supplemental Tables S3 and S4**, and **Supplemental Figures S4 and S5**). All the 11 variants had no Bayesian evidence for an association with plasma transferrin concentration (**Supplemental Table S5** and **Supplemental Figure S6**). All the 11 variants had no Bayesian evidence for an association with the body-mass index (**Supplemental Table S6**), alanine aminotransferase level (**Supplemental Table S7**), or C-reactive protein level (**Supplemental Table S8**), suggesting no indirect effect of the genetic variants on ferritin through metabolic syndrome, liver cytolysis, or inflammatory status, respectively.

3.4. Assessment of iron metabolism markers and liver histopathology in *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{+/+} mice.

Plasma iron levels were significantly lower among *Muc13*^{-/-} mice (17.2 µmol/L; IQR, 4.2) when compared with *Muc13*^{+/+} mice (22.2 µmol/L; IQR, 4.0) ($P = 0.03$). Consistently, the transferrin saturation was significantly lower among *Muc13*^{-/-} mice (15.9%; SD, 2.9) when compared with *Muc13*^{+/+} mice (22.1 µmol/L; IQR, 2.6) ($P = 0.02$) (**Figure 3** and **Supplemental Table S9**). Plasma levels of transferrin and ferritin did not differ between *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{+/+} mice (**Figure 3** and **Supplemental Table S9**). The comparison of plasma hepcidin levels revealed a lower albeit non-significant median value of hepcidin among *Muc13*^{-/-} mice when compared to *Muc13*^{+/+} mice (11.9 [IQR, 2.9] vs. 15.8 [IQR, 32.9] ng/mL, respectively, $P = 0.77$) and higher variability of hepcidin levels among *Muc13*^{-/-} mice (**Supplemental Table S9** and **Supplemental**

Figure S7). Importantly, 50% (3/6) of *Muc13*^{-/-} mice exhibited a plasma hepcidin level \leq 4.5 ng/mL versus 0% (0/7) of *Muc13*^{+/+} mice ($P = 0.07$) (**Supplemental Table S9** and **Supplemental Figure S7**).

Liver histopathology confirmed the reduced expression of the Muc13 protein in liver samples from *Muc13*^{-/-} when compared to *Muc13*^{+/+}. Hepatic iron and Sirius red stainings did not differ between *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{-/-} liver sections. Consistently, the concentration of iron in liver tissues was similar between *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{+/+} mice (**Figure 4** and **Supplemental Table S9**).

REFERENCES

- [1] Mergnac JP, Wiedemann A, Chery C, Ravel JM, Namour F, Gueant JL, et al. Diagnostic yield of clinical exome sequencing as a first-tier genetic test for the diagnosis of genetic disorders in pediatric patients: results from a referral center study. *Hum Genet* 2021 DOI: 101007/s00439-021-02358-0 2021.
- [2] Oussalah A, Jeannesson-Thivisol E, Chery C, Perrin P, Rouyer P, Josse T, et al. Population and evolutionary genetics of the PAH locus to uncover overdominance and adaptive mechanisms in phenylketonuria: Results from a multiethnic study. *EBioMedicine* 2020;51:102623.
- [3] Wiedemann A, Chery C, Coelho D, Flayac J, Gueguen N, Desquiret-Dumas V, et al. Mutations in MTHFR and POLG impaired activity of the mitochondrial respiratory chain in 46-year-old twins with spastic paraparesis. *J Hum Genet* 2020;65:91-98.
- [4] Gueant JL, Chery C, Oussalah A, Nadaf J, Coelho D, Josse T, et al. APRDX1 mutant allele causes a MMACHC secondary epimutation in cblC patients. *Nat Commun* 2018;9:67.
- [5] Renard E, Chery C, Oussalah A, Josse T, Perrin P, Tramoy D, et al. Exome sequencing of cases with neural tube defects identifies candidate genes involved in one-carbon/vitamin B12 metabolisms and Sonic Hedgehog pathway. *Hum Genet* 2019;138:703-713.
- [6] Van der Auwera GA, Carneiro MO, Hartl C, Poplin R, Del Angel G, Levy-Moonshine A, et al. From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Curr Protoc Bioinformatics* 2013;43:11 10 11-11 10 33.
- [7] Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods* 2014;11:361-362.
- [8] Shihab HA, Gough J, Cooper DN, Stenson PD, Barker GL, Edwards KJ, et al. Predicting the functional, molecular, and phenotypic consequences of amino acid substitutions using hidden Markov models. *Hum Mutat* 2013;34:57-65.
- [9] Dong C, Wei P, Jian X, Gibbs R, Boerwinkle E, Wang K, et al. Comparison and integration of deleteriousness prediction methods for nonsynonymous SNVs in whole exome sequencing studies. *Hum Mol Genet* 2015;24:2125-2137.
- [10] Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc* 2009;4:1073-1081.
- [11] Choi Y, Chan AP. PROVEAN web server: a tool to predict the functional effect of amino acid substitutions and indels. *Bioinformatics* 2015;31:2745-2747.
- [12] Quang D, Chen Y, Xie X. DANN: a deep learning approach for annotating the pathogenicity of genetic variants. *Bioinformatics* 2015;31:761-763.

- [13] Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405-424.
- [14] Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown GR, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res* 2018;46:D1062-D1067.
- [15] Li B, Leal SM. Methods for detecting associations with rare variants for common diseases: application to analysis of sequence data. *American journal of human genetics* 2008;83:311-321.
- [16] Huyghe JR, Jackson AU, Fogarty MP, Buchkovich ML, Stancakova A, Stringham HM, et al. Exome array analysis identifies new loci and low-frequency variants influencing insulin processing and secretion. *Nature genetics* 2013;45:197-201.
- [17] Lee Y, Park S, Moon S, Lee J, Elston RC, Lee W, et al. On the analysis of a repeated measure design in genome-wide association analysis. *Int J Environ Res Public Health* 2014;11:12283-12303.
- [18] Ware EB, Mukherjee B, Sun YV, Diez-Roux AV, Kardia SL, Smith JA. Comparative genome-wide association studies of a depressive symptom phenotype in a repeated measures setting by race/ethnicity in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *BMC Genet* 2015;16:118.
- [19] Ronnegard L, McFarlane SE, Husby A, Kawakami T, Ellegren H, Qvarnstrom A. Increasing the power of genome wide association studies in natural populations using repeated measures - evaluation and implementation. *Methods Ecol Evol* 2016;7:792-799.
- [20] Stephens M, Balding DJ. Bayesian statistical methods for genetic association studies. *Nat Rev Genet* 2009;10:681-690.
- [21] Xu X, Pennell ML, Lu B, Murray DM. Efficient Bayesian joint models for group randomized trials with multiple observation times and multiple outcomes. *Stat Med* 2012;31:2858-2871.
- [22] van den Bergh D, Van Doorn J, Marsman M, Draws T, Van Kesteren E-J, Derks K, et al. A tutorial on conducting and interpreting a Bayesian ANOVA in JASP. *L'Année psychologique* 2020;120:73-96.
- [23] Dittrich D, Leenders RTA, Mulder J. Network autocorrelation modeling: A Bayes factor approach for testing (multiple) precise and interval hypotheses. *Sociological Methods & Research* 2019;48:642-676.

- [24] Love J, Selker R, Marsman M, Jamil T, Dropmann D, Verhagen J, et al. JASP: Graphical statistical software for common statistical designs. *Journal of Statistical Software* 2019;88:1-17.
- [25] Sheng YH, Lourie R, Linden SK, Jeffery PL, Roche D, Tran TV, et al. The MUC13 cell-surface mucin protects against intestinal inflammation by inhibiting epithelial cell apoptosis. *Gut* 2011;60:1661-1670.
- [26] Lefebvre T, Dessendier N, Houamel D, Ialy-Radio N, Kannengiesser C, Manceau H, et al. LC-MS/MS method for hepcidin-25 measurement in human and mouse serum: clinical and research implications in iron disorders. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:1557-1567.

Conflict of Interest statement

The authors who have taken part in this study declare that they do not have anything to disclose regarding conflicts of interest concerning this manuscript.

Funding

INSERM UMR_S 1256, Nutrition, Genetics, and Environmental Risk Exposure.

Data availability statement

Anonymized patient data are available for use in collaborative studies to researchers upon reasonable request (abderrahim.oussalah@univ-lorraine.fr). Data will be provided following the review and approval of a research proposal (including a statistical analysis plan) and the completion of a data-sharing agreement. Responses to the request for the raw data will be judged by the IRB of the INSERM UMR_S 1256 and the University Hospital of Nancy.

Authors' contributions (according to CRediT statement):

J.C.: Investigation; Writing – original draft preparation; Writing – review and editing; Visualization; **Y.C.:** Investigation; Resources; Writing – original draft preparation; Writing – review and editing; Visualization; **C.C.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **T.J.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **L.A.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **F.B.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **R.S.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **M.B.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **R-M.G-R.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **F.N.:** Investigation; Writing – review and editing; **G.G.:** Investigation; Resources; Writing – original draft preparation; Writing – review and editing; Visualization; **H.M.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **T.L.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **H.P.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **J-P.B.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; **M.M.:** Investigation; Resources; Writing – review and editing; Visualization; **J-L.G.:** Investigation; Resources; Writing – original draft preparation; Writing – review and editing; Funding acquisition. **A.O.:** Conceptualization; Methodology; Software; Validation; Formal analysis; Investigation;

Resources; Writing – original draft preparation; Writing – review and editing; Visualization; Supervision; Project administration; Funding acquisition.

TABLES

Table 1. Results of the linear regression reporting the 31 Bonferroni significant variants in association with plasma ferritin levels.

Variant	Chr	Position	Ref/Alt	Gene	Sequence Ontology	HGVS c. HGVS p.	FvR Model P-Value	Bonf. P-value	Beta	Beta SE
2:190925077-SNV	2	190925077	T/C	<i>MSTN</i>	missense_variant	NM_005259.3:c.458A>G NP_005250.1:p.Lys153Arg	6.71E-12	1.30E-09	312.9	43.4
13:28239999-SNV	13	28239999	A/G	<i>POLR1D</i>	missense_variant	NM_152705.3:c.278A>G NP_689918.1:p.His93Arg	2.68E-10	5.17E-08	513.2	78.0
19:44605324-SNV	19	44605324	A/G	<i>ZNF224</i>	missense_variant	NM_013398.5:c.181A>G NP_037530.2:p.Arg61Gly	4.60E-10	8.88E-08	265.4	40.9
3:43743914-SNV	3	43743914	G/T	<i>ABHD5</i>	missense_variant	NM_016006.6:c.341G>T NP_057090.2:p.Arg114Leu	5.63E-10	1.09E-07	270.6	41.9
1:91404256-SNV	1	91404256	C/A	<i>ZNF644</i>	missense_variant	NM_201269.3:c.2655G>T NP_958357.1:p.Glu885Asp	3.61E-09	6.97E-07	188.1	30.7
1:78392446-SNV	1	78392446	G/A	<i>NEXN</i>	missense_variant	NM_144573.4:c.733G>A NP_653174.3:p.Gly245Arg	7.07E-09	1.36E-06	116.0	19.3
6:116446576-SNV	6	116446576	A/G	<i>COL10A1</i>	missense_variant	NM_000493.4:c.80T>C, NP_000484.2:p.Met27Thr,	3.40E-08	6.56E-06	-89.1	15.6
2:109367977-SNV	2	109367977	A/G	<i>RANBP2</i>	splice_region_variant	NM_006267.5:c.1456-7A>G NA	4.85E-08	9.36E-06	-124.4	22.1
19:49671507-SNV	19	49671507	G/A	<i>TRPM4</i>	intron_variant	NM_017636.4:c.449-10G>A NA	7.82E-08	1.51E-05	300.5	54.3
14:35871217-SNV	14	35871217	G/A	<i>NFKBIA</i>	3_prime_UTR_variant	NM_020529.3:c.*2C>T NA	2.96E-07	5.71E-05	-82.1	15.6
X:100662901-SNV	X	100662901	G/A	<i>GLA</i>	5_prime_UTR_variant	NM_000169.3:c.-10C>T NA	9.31E-07	1.80E-04	173.7	34.5
1:197150257-Del	1	197150257	A/-	<i>ZBTB41</i>	intron_variant	NM_194314.3:c.1547-10delT NA	1.11E-06	2.14E-04	241.6	48.4
1:35250457-SNV	1	35250457	C/T	<i>GJB3</i>	missense_variant	NM_024009.3:c.94C>T NP_076872.1:p.Arg32Trp	1.13E-06	2.18E-04	270.7	54.2
X:41383298-Ins	X	41383298	-/A	<i>CASK</i>	intron_variant	NM_001367721.1:c.2521-11dupT NA	1.90E-06	3.67E-04	108.6	22.3
17:28548810-SNV	17	28548810	C/G	<i>SLC6A4</i>	missense_variant	NM_001045.6:c.167G>C NP_001036.1:p.Gly56Ala	1.92E-06	3.71E-04	251.7	51.6
6:161006105-SNV	6	161006105	C/T	<i>LPA</i>	missense_variant	NM_005577.4:c.4262G>A NP_005568.2:p.Arg1421Gln	2.03E-06	3.92E-04	257.8	53.0
12:56848079-SNV	12	56848079	C/T	<i>MIP</i>	missense_variant	NM_012064.4:c.319G>A NP_036196.1:p.Val107Ile	2.09E-06	4.03E-04	295.2	60.8
2:120005312-SNV	2	120005312	G/A	<i>STEAP3</i>	missense_variant	NM_182915.3:c.580G>A	1.74E-05	3.36E-03	-172.0	39.3

						NP_878919.2:p.Ala194Thr				
5:149212430-SNV	5	149212430	G/A	<i>PPARGC1B</i>	missense_variant	NM_133263.4:c.794G>A NP_573570.3:p.Arg265Gln	1.84E-05	3.55E-03	235.5	53.9
3:186443018-SNV	3	186443018	T/C	<i>KNG1</i>	missense_variant	NM_001102416.3:c.533T>C NP_001095886.1:p.Met178Thr	2.62E-05	5.06E-03	-56.0	13.1
3:176765269-SNV	3	176765269	T/C	<i>TBL1XR1</i>	splice_region_variant	NM_024665.7:c.766+5A>G NA	4.82E-05	9.30E-03	81.2	19.6
16:3293880-SNV	16	3293880	A/G	<i>MEFV</i>	missense_variant	NM_000243.3:c.1772T>C NP_000234.1:p.Ile591Thr	6.74E-05	1.30E-02	-145.5	35.9
16:3294246-SNV	16	3294246	G/A	<i>MEFV</i>	splice_region_variant	NM_000243.3:c.1759+8C>T NA	7.54E-05	1.46E-02	-450.9	112.0
3:46399208-SNV	3	46399208	G/A	<i>CCR2</i>	missense_variant	NM_001123396.4:c.190G>A NP_001116868.1:p.Val64Ile	9.43E-05	1.82E-02	-107.4	27.1
17:57141769-Del	17	57141769	A/-	<i>TRIM37</i>	splice_region_variant	NM_015294.6:c.810-3delT NA	1.00E-04	1.93E-02	106.5	26.9
3:124627024-SNV	3	124627024	T/G	<i>MUC13</i>	missense_variant	NM_033049.4:c.1506A>C NP_149038.3:p.Arg502Ser	1.17E-04	2.26E-02	79.2	20.2
17:80789468-SNV	17	80789468	G/A	<i>ZNF750</i>	missense_variant	NM_024702.3:c.863C>T NP_078978.2:p.Pro288Leu	1.41E-04	2.72E-02	-109.7	28.4
17:1673276-SNV	17	1673276	C/T	<i>SERPINF1</i>	5_prime_UTR_premature_ start_codon_gain_variant	NM_002615.7:c.215C>T NP_002606.3:p.Thr72Met	1.68E-04	3.24E-02	-58.6	15.3
1:197168625-SNV	1	197168625	C/A	<i>ZBTB41</i>	missense_variant	NM_194314.3:c.979G>T NP_919290.2:p.Asp327Tyr	1.74E-04	3.36E-02	337.8	88.6
6:116441646-SNV	6	116441646	C/G	<i>COL10A1</i>	missense_variant	NM_000493.4:c.1633G>C NP_000484.2:p.Gly545Arg	1.84E-04	3.55E-02	-95.9	25.3
2:202122995-SNV	2	202122995	A/G	<i>CASP8</i>	missense_variant	NM_001228.4:c.-26-8189A>G NA	1.92E-04	3.71E-02	-56.3	14.9

Note. Chr: chromosome; Ref: reference allele; Alt: alternative allele; HGVS: Human Genome Variation Society; FvR: full versus reduced; Bonf: Bonferroni; SE: standard error.

* Genomic positions are reported according to GRCh37.

Table 2. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the 11 cross-validated genetic variants for their association with plasma ferritin levels among the 31 Bonferroni significant variants from the genotype association study that used linear regression.

Variant	Chr	Position	Ref/Alt	dbSNP ID	Gene	AAF	ACMG	BF(m)	Ref-Ref (AA)		Ref-Alt (AB)		Alt-Alt (BB)	
									N	Mean, Ferritin (µg/L) (95% Cred. I)	N	Mean, Ferritin (µg/L) (95% Cred. I)	N	Mean, Ferritin (µg/L) (95% Cred. I)
3:124627024-SNV	3	124627024	T/G	rs1127233	<i>MUC13</i>	0.239	B	5.26×10 ¹⁹	276	185 (156–213)	169	203 (166–240)	38	782 (513–1051)
1:91404256-SNV	1	91404256	C/A	rs41286761	<i>ZNF644</i>	0.022	B	75370	410	202 (169–235)	73	440 (345–535)	—	—
3:176765269-SNV	3	176765269	T/C	rs3749234	<i>TBL1XR1</i>	0.211	B	48180	307	182 (157–207)	155	305 (248–363)	21	566 (70–1061)
17:57141769-Del	17	57141769	A/-	rs367700401	<i>TRIM37</i>	0.254	VUS	137	346	199 (163–235)	137	338 (271–404)	—	—
1:78392446-SNV	1	78392446	G/A	rs1166698	<i>NEXN</i>	0.182	B	51	307	197 (168–227)	159	289 (213–365)	17	498 (284–713)
3:43743914-SNV	3	43743914	G/T	rs148743497	<i>ABHD5</i>	7.77×10 ⁻³	B	23	456	225 (192–258)	27	455 (310–601)	—	—
19:44605324-SNV	19	44605324	A/G	rs118149610	<i>ZNF224</i>	0.014	B	10	460	227 (195–260)	23	451 (273–629)	—	—
17:28548810-SNV	17	28548810	C/G	rs6355	<i>SLC6A4</i>	0.012	B	5	466	230 (197–262)	17	462 (255–668)	—	—
3:186443018-SNV	3	186443018	T/C	rs1656922	<i>KNG1</i>	0.537	B	4	164	292 (238–346)	180	252 (184–319)	139	156 (130–184)
12:56848079-SNV	12	56848079	C/T	rs74641138	<i>MIP</i>	0.024	B	4	465	230 (197–262)	18	451 (225–677)	—	—
6:161006105-SNV	6	161006105	C/T	rs41272112	<i>LPA</i>	9.53×10 ⁻³	B	3	458	229 (196–262)	25	412 (259–564)	—	—

Note. Chr: chromosome; ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; B: benign; VUS: variant of unknown significance; BF(m): Bayes factor; Ref: reference allele; Alt: alternative allele; N: number of observations; 95% Cred. I: 95% credibility interval.

* Genomic positions are reported according to GRCh37.

MUC13: Mucin 13, Cell Surface Associated; *ZNF644*: Zinc Finger Protein 644; *TBL1XR1*: Transducin Beta Like 1 X-Linked Receptor 1; *TRIM37*: Tripartite Motif Containing 37; *NEXN*: Nexilin F-Actin Binding Protein; *ABHD5*: Abhydrolase Domain Containing 5, Lysophosphatidic Acid Acyltransferase; *ZNF224*: Zinc Finger Protein 224; *SLC6A4*: Solute Carrier Family 6 Member 4; *KNG1*: Kininogen 1; *MIP*: Major Intrinsic Protein Of Lens Fiber; *LPA*: Lipoprotein(A).

FIGURES LEGEND

Figure 1. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and plasma ferritin concentration ($\mu\text{g/L}$). At the top of each panel, the Bonferroni-corrected P -value, the Bayes factor (BF[m]), and the HGNC approved gene symbol are reported. For each variant, we reported the mean and 95% credibility interval (95% Cred. I) per genotype subgroup. The Bayes factor [BF(m)], as a metrics of Bayesian inference, constitutes a natural ratio to compare the marginal likelihoods between a null and an alternative hypothesis. AA: homozygous genotype for the reference allele; AB: heterozygous genotype; BB: homozygous genotype for the alternative allele.

Figure 2. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the *MUC13* variant (3:124627024-SNV; NM_033049.4:c.1506A>C; NP_149038.3:p.Arg502Ser) and the plasma levels of ferritin ($\mu\text{g/L}$), iron (mg/L), transferrin (g/L), and transferrin saturation (%). At the top of each panel, the Bonferroni-corrected P -value, the Bayes factor (BF[m]), and the HGNC approved gene symbol are reported. For each variant, we reported the mean and 95% credibility interval (95% Cred. I) per genotype subgroup. The Bayes factor [BF(m)], as a metrics of Bayesian inference, constitutes a natural ratio to compare the marginal likelihoods between a null and an alternative hypothesis. AA: homozygous genotype for the reference allele; AB: heterozygous genotype; BB: homozygous genotype for the alternative allele.

Figure 3. Assessment of iron metabolism markers in *Muc13*^{-/-} and *Muc13* wild type mice. Density distributions are reported using violin plots and boxplots. Plasma iron levels and transferrin saturation were significantly lower among *Muc13*^{-/-} mice when compared with *Muc13*^{+/+} mice. Plasma levels of transferrin and ferritin did not differ between *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{+/+} mice.

Figure 4. Assessment of liver histopathology in *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{+/+} mice. Liver histopathology confirmed the reduced expression of *Muc13* in *Muc13*^{-/-} liver samples (A, B). Hematoxylin-eosin, saffron (HES) staining (C, D). Perls Prussian blue (E, F) and Sirius red (G, H) staining did not highlight a significant difference between *Muc13*^{-/-}

^{-/-} and *Muc13*^{-/-} liver sections suggesting the lack of iron deposition or significant liver fibrosis among *Muc13*^{-/-} mice.

FIGURES

Graphical Abstract.

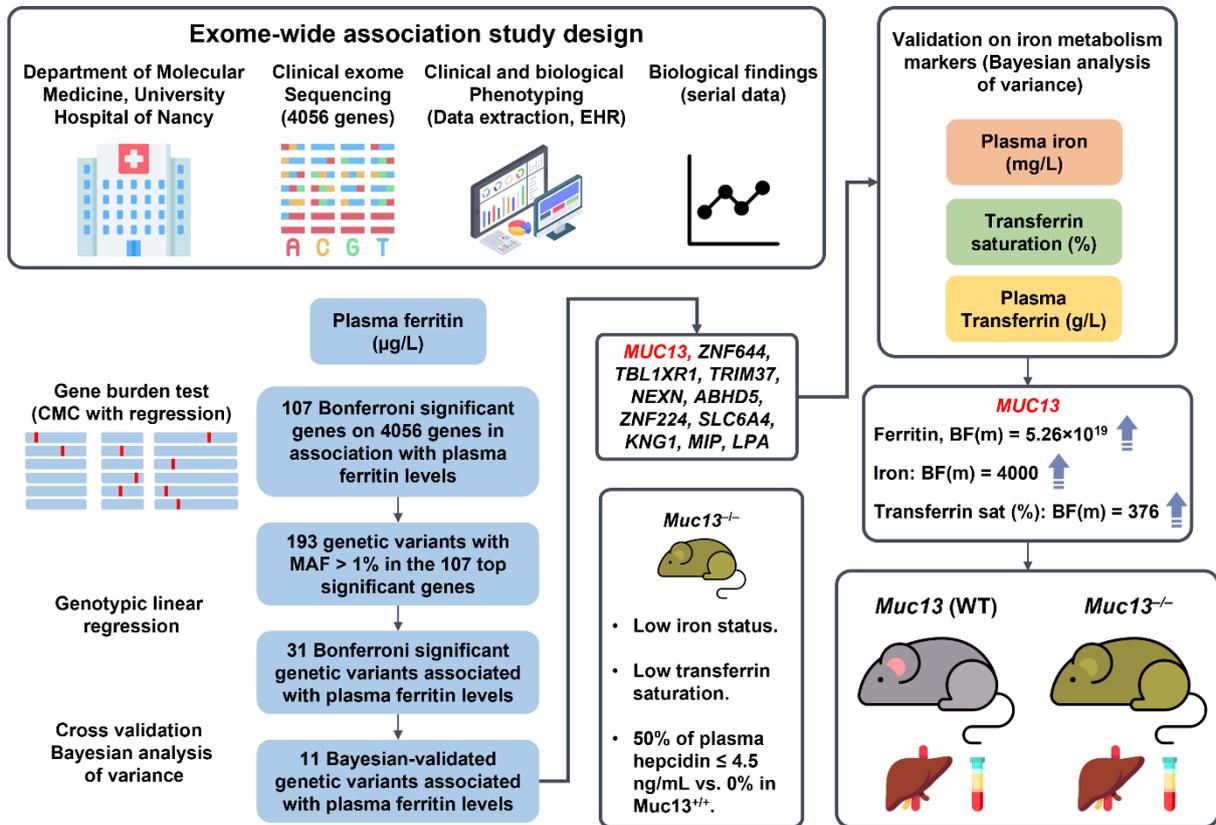


Figure 1.

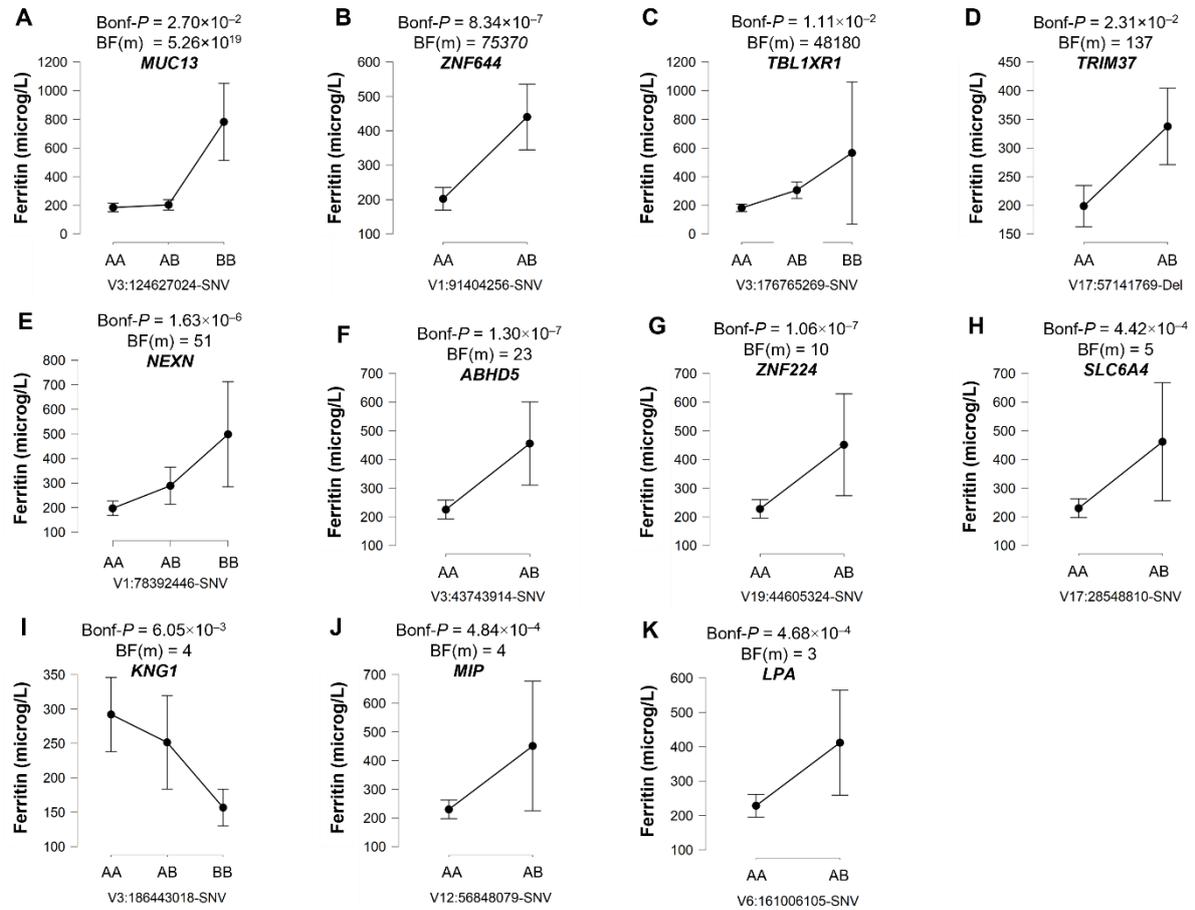


Figure 2.

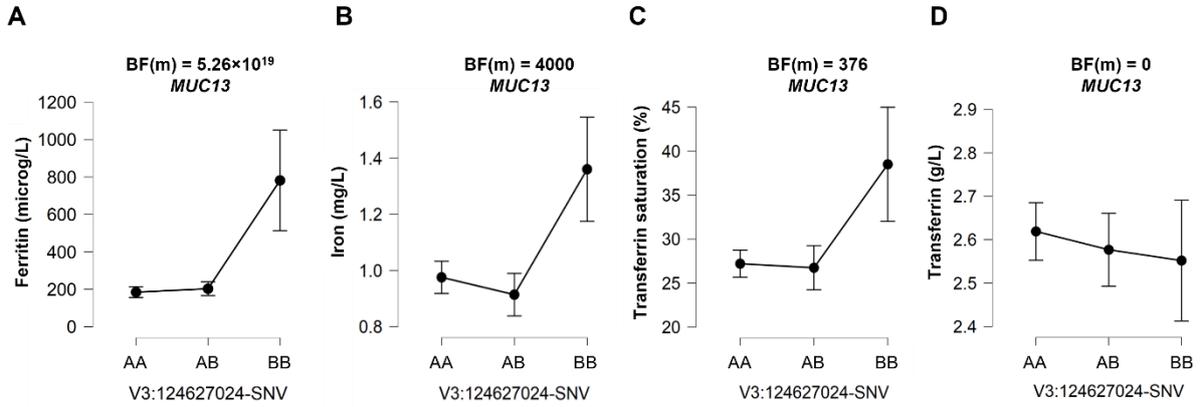


Figure 3.

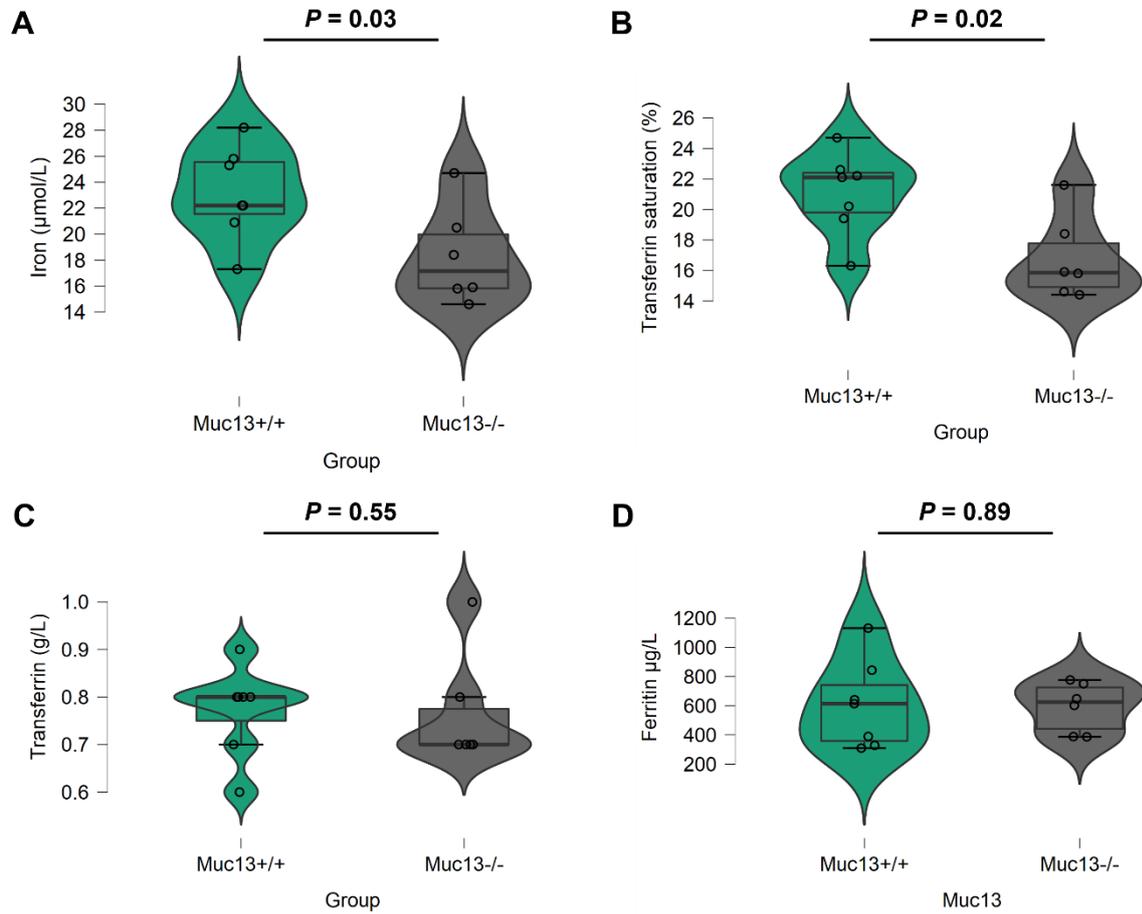
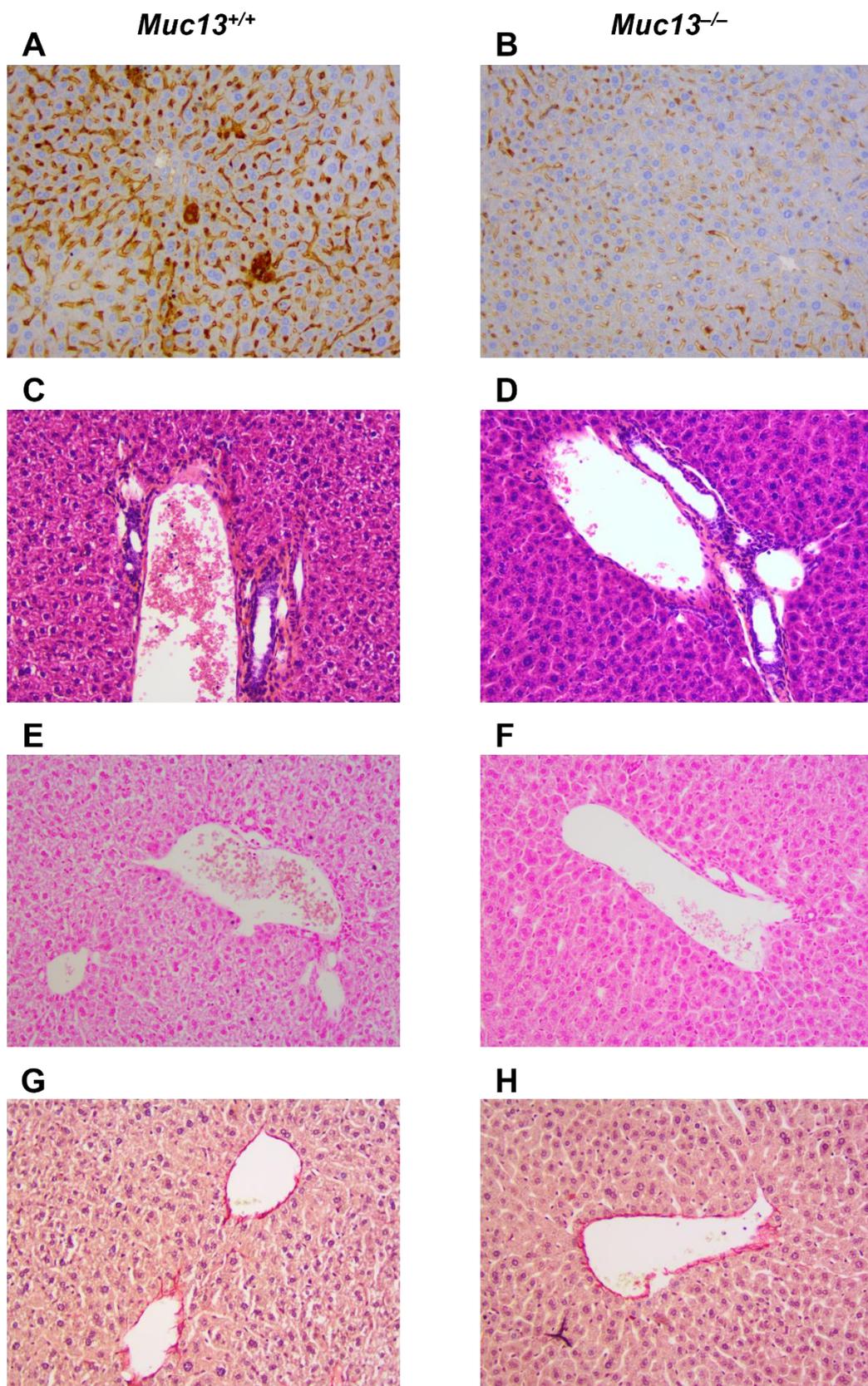


Figure 4.



SUPPLEMENTARY APPENDIX
SUPPLEMENTAL TABLES

Supplemental Table S1. Descriptive statistics of biological findings.

	Ferritin (microg/L)	Iron (mg/L)	Transferrin (g/L)	Transferrin saturation (%)	Alkaline phosphate (U/L)	ALAT (U/L)	ASAT (U/L)	GGT (U/L)	C-reactive protein (mg/L)
Median	120	0.91	2.56	26	74	33	29	44	2.3
25th percentile	43	0.70	2.28	19	58	21	20	23	0.9
75th percentile	270	1.22	2.89	34	99	54	38	81	4.0
Minimum	2	0.16	1.24	4	22	5	9	5	0.0
Maximum	4270	5.00	4.15	94	868	184	189	1239	9.9
Missing	0	46	94	95	128	95	95	149	202

Note. Ferritin ($\mu\text{g/L}$), iron (mg/L), iron-binding capacity saturation (%), transferrin (g/L), aspartate aminotransferases (ASAT) (U/L), alanine aminotransferases (ALAT) (U/L), γ -glutamyltransferase (U/L), alkaline phosphatase (U/L);

Supplementary Table S2. Results of the clinical exome-based association study reporting the top significant loci associated with plasma ferritin levels in CMC regression analysis.

Gene	Chr	Start*	Stop*	Strand	P-Value	Bonferroni P-value	# Markers Total	# in Bin=0	# in Bin=1	Bin 0 Beta	Bin 0 Beta SE	Bin 1 Beta	Bin 1 Beta SE
<i>SOGA3</i>	6	127759551	127840169	-	1.82E-23	7.39E-20	5	5	0	460.3	41.6		
<i>PRKAG3</i>	2	219687104	219696526	-	3.71E-15	1.50E-11	14	11	3	454.8	52.1	-13.7	20.8
<i>STAT5B</i>	17	40351195	40428409	-	5.21E-13	2.11E-09	4	4	0	531.5	69.8		
<i>POU4F3</i>	5	145718402	145721291	+	1.49E-12	6.03E-09	3	3	0	713.5	95.7		
<i>GBA</i>	1	155204243	155214418	-	2.55E-12	1.03E-08	11	10	1	-74.1	39.9	711.4	95.3
<i>PICALM</i>	11	85668218	85780902	-	2.91E-12	1.18E-08	8	8	0	433.0	59.0		
<i>SULT1E1</i>	4	70706930	70725863	-	8.69E-12	3.53E-08	2	1	1	418.1	56.5	-49.2	26.7
<i>NCR3</i>	6	31556672	31560783	-	1.41E-11	5.73E-08	7	4	3	714.3	97.5	-1.5	30.2
<i>KNG1</i>	3	186435148	186462199	+	4.27E-11	1.73E-07	12	6	6	478.3	66.6	-153.9	161.1
<i>MSTN</i>	2	190920426	190927455	-	5.91E-11	2.40E-07	6	5	1	18.1	60.7	313.4	43.5
<i>SLC46A1</i>	17	26721661	26733230	-	1.01E-10	4.08E-07	8	7	1	435.1	61.2	46.0	93.3
<i>AGK</i>	7	141251210	141355044	+	1.13E-10	4.59E-07	5	5	0	556.5	82.7		
<i>SAT1</i>	X	23801275	23804340	+	1.16E-10	4.72E-07	2	2	0	588.9	87.5		
<i>SPINT2</i>	19	38755213	38783255	+	1.21E-10	4.90E-07	8	7	1	329.2	47.8	-61.7	33.5
<i>ZBTB41</i>	1	197122812	197170423	-	1.25E-10	5.06E-07	4	1	3	44.1	92.8	246.0	34.8
<i>FGFBP1</i>	4	15937200	15940363	-	1.32E-10	5.37E-07	3	3	0	417.1	62.2		
<i>ZNF674</i>	X	46357160	46404856	-	1.76E-10	7.15E-07	3	3	0	387.6	58.2		
<i>ZNF224</i>	19	44598514	44613979	+	2.06E-10	8.37E-07	6	5	1	233.5	96.1	262.6	40.5
<i>PQBP1</i>	X	48755213	48760420	+	2.24E-10	9.09E-07	3	2	1	611.1	88.1	37.6	21.7
<i>GRIK2</i>	6	101841584	102517958	+	2.63E-10	1.06E-06	9	4	5	356.2	78.9	-134.3	34.0
<i>POLR1D</i>	13	28194880	28241548	+	2.68E-10	1.09E-06	1	0	1			513.2	78.0
<i>NDUFS2</i>	1	161167207	161184185	+	1.36E-09	5.50E-06	5	3	2	492.9	77.7	-25.3	21.9
<i>LPA</i>	6	160952514	161085307	-	1.52E-09	6.15E-06	22	15	7	182.8	28.3	-63.9	24.5
<i>AIP</i>	11	67250497	67258574	+	1.99E-09	8.08E-06	4	2	2	524.6	82.5	-93.8	51.8
<i>GSTM4</i>	1	110198721	110208119	+	2.41E-09	9.79E-06	4	4	0	383.1	61.9		

ABHD5	3	43732362	43775863	+	2.55E-09	1.03E-05	3	3	0	243.8	39.4		
DNAJC9-AS1	10	75007125	75036742	+	1.10E-08	4.46E-05	2	2	0	501.6	84.8		
MRPS16	10	75008607	75012402	-	1.10E-08	4.46E-05	2	2	0	501.6	84.8		
TNFRSF1A	12	6437937	6451242	-	1.52E-08	6.18E-05	9	6	3	359.3	62.0	-93.4	31.2
SARS2	19	39405906	39421403	-	2.35E-08	9.52E-05	13	11	2	262.6	44.9	21.1	20.9
ZNF644	1	91380861	91487592	-	2.82E-08	1.14E-04	11	10	1	5.8	49.8	188.2	30.8
CASP8	2	202098166	202152434	+	2.92E-08	1.18E-04	5	2	3	415.4	118.8	-128.8	24.8
PON1	7	94926988	94953844	-	3.31E-08	1.34E-04	8	6	2	-143.1	85.1	-199.3	34.9
PROCR	20	33759875	33765165	+	4.01E-08	1.63E-04	5	4	1	474.5	78.6	14.1	32.4
PDCD1	2	242792036	242801046	-	4.34E-08	1.76E-04	5	4	1	-282.9	65.6	758.2	183.1
RANBP2	2	109335938	109402265	+	4.71E-08	1.91E-04	26	23	3	-98.6	28.5	-107.4	22.0
IGHMBP2	11	68671359	68708069	+	6.82E-08	2.76E-04	15	8	7	362.4	65.1		
IGF1R	15	99191768	99507759	+	7.31E-08	2.97E-04	9	9	0	425.7	76.7		
EFTUD2	17	42927316	42976813	-	7.66E-08	3.11E-04	5	3	2	74.2	68.6	-184.0	31.2
PPT1	1	40537133	40562924	-	1.08E-07	4.40E-04	6	5	1	355.1	61.4	44.1	38.5
ITK	5	156607851	156682195	+	1.31E-07	5.32E-04	4	3	1	384.9	66.5	47.2	82.2
KIAA0100	17	26941458	26972177	-	1.42E-07	5.74E-04	19	17	2	194.5	34.0	6.5	21.9
MMP20	11	102447563	102496063	-	1.95E-07	7.92E-04	8	5	3	324.6	63.6	119.9	50.6
NT5DC1	6	116422016	116570660	+	2.01E-07	8.13E-04	6	4	2	10.9	116.5	-124.8	21.8
STEAP3	2	119981410	120023228	+	2.09E-07	8.48E-04	5	4	1	-199.0	61.8	-261.4	50.9
PIP5K1C	19	3630181	3700466	-	2.31E-07	9.38E-04	8	8	0	290.7	54.6		
ACP5	19	11685475	11689790	-	2.34E-07	9.48E-04	7	5	2	422.5	82.4	59.6	24.3
TRPM4	19	49661049	49715093	+	2.49E-07	1.01E-03	23	22	1	-41.1	32.3	294.7	54.4
CCDC170	6	151815152	151942328	+	2.62E-07	1.06E-03	13	7	6	22.0	75.1	-488.4	86.1
ANGPT2	8	6357153	6420766	-	2.92E-07	1.18E-03	3	2	1	498.1	118.8	211.9	52.5
PPARGC1B	5	149109873	149234585	+	3.53E-07	1.43E-03	19	13	6	295.1	58.8	36.8	22.0
DOC2A	16	30016835	30024917	-	3.70E-07	1.50E-03	8	7	1	267.1	51.3	20.8	22.1
SERPINF1	17	1665354	1680859	+	3.73E-07	1.51E-03	12	9	3	267.9	57.0	-64.8	23.3
KRAS	12	25358180	25403863	-	4.36E-07	1.77E-03	5	4	1	391.7	71.0	-43.6	55.5

WDPCP	2	63346694	63815611	-	4.38E-07	1.78E-03	15	13	2	-140.9	31.0	-84.1	22.2
JPH2	20	42735230	42815828	-	5.04E-07	2.04E-03	6	5	1	313.1	56.5	-10.8	23.7
SLC14A1	18	43304146	43332485	+	5.09E-07	2.06E-03	8	4	4	-23.6	105.9	-468.4	84.6
KCNJ10	1	160007257	160039950	-	5.26E-07	2.13E-03	5	3	2	437.8	79.2	0.5	37.6
LIPE	19	42905666	42931540	-	7.66E-07	3.11E-03	12	11	1	258.3	52.7	-235.8	100.2
SLC5A5	19	17982754	18005983	+	8.09E-07	3.28E-03	8	7	1	218.0	42.6	50.0	22.2
CASK	X	41374187	41782807	-	1.05E-06	4.27E-03	5	1	4	130.0	31.4	6.6	28.0
MEFV	16	3292027	3306633	-	1.14E-06	4.64E-03	26	19	7	-134.9	40.7	-136.9	30.5
SLC45A2	5	33944728	33984798	-	1.16E-06	4.70E-03	9	6	3	-331.7	61.7	295.8	62.2
GLCCI1	7	8008427	8128710	+	1.25E-06	5.06E-03	2	2	0	366.6	73.8		
CCRL2	3	46448750	46451014	+	1.42E-06	5.75E-03	11	4	7	-191.6	91.1	142.6	27.9
LOXL2	8	23154410	23261633	-	1.52E-06	6.18E-03	12	10	2	227.5	42.8	14.7	23.0
CBS	21	44473301	44496983	-	1.59E-06	6.43E-03	9	8	1	366.7	70.1	5.8	33.0
TBX6	16	30097114	30103245	-	1.63E-06	6.60E-03	5	4	1	306.9	57.9	19.7	44.9
ATP8A2	13	25946112	26599989	+	1.64E-06	6.67E-03	10	8	2	243.3	55.0	-65.5	23.1
EIF2B3	1	45316194	45452267	-	1.66E-06	6.73E-03	6	4	2	131.7	110.7	312.7	59.1
TMPRSS4	11	117947793	117992605	+	1.75E-06	7.10E-03	7	3	4	303.9	64.5	69.2	24.1
IL10RA	11	117857109	117872198	+	1.76E-06	7.12E-03	30	25	5	-114.8	29.5	-80.3	24.4
TGFB1	19	41836228	41859827	-	1.97E-06	8.01E-03	9	5	4	232.8	48.3	66.7	24.7
MIP	12	56843286	56848441	-	2.09E-06	8.50E-03	4	2	2			295.2	60.8
TBL1XR1	3	176737132	176915270	-	2.59E-06	1.05E-02	4	2	2	-142.9	166.8	122.6	23.6
CBR3-AS1	21	37504065	37528606	-	2.62E-06	1.06E-02	8	4	4	156.2	169.9	-368.9	72.2
CBR3	21	37507377	37518860	+	2.62E-06	1.06E-02	8	4	4	156.2	169.9	-368.9	72.2
IDH3B	20	2639041	2644862	-	2.63E-06	1.07E-02	8	6	2	-259.0	53.9	28.3	22.6
NFKBIA	14	35870719	35873955	-	2.77E-06	1.12E-02	4	3	1	-32.1	83.5	-110.6	21.5
NEXN	1	78354309	78409580	+	2.91E-06	1.18E-02	6	5	1	-111.0	119.8	116.6	23.4
CCR2	3	46395602	46402431	+	3.13E-06	1.27E-02	3	2	1	276.3	91.9	-146.6	30.0
CD2AP	6	47445525	47594999	+	3.78E-06	1.53E-02	8	8	0	234.0	49.5		
TBCD	17	80709941	80903790	+	4.13E-06	1.68E-02	8	7	1	-218.1	70.3	-133.1	31.5

<i>ZNF750</i>	17	80787310	80797898	-	4.13E-06	1.68E-02	8	7	1	-218.1	70.3	-133.1	31.5
<i>RPS6KA3</i>	X	20168029	20285027	-	5.15E-06	2.09E-02	1	1	0	-286.3	61.4		
<i>SULT1A1</i>	16	28616908	28634696	-	5.16E-06	2.09E-02	10	9	1	-243.2	63.1	-63.3	61.1
<i>OAZ1</i>	19	2269485	2273487	+	5.47E-06	2.22E-02	7	7	0	307.1	66.1		
<i>PCK1</i>	20	56136166	56143177	+	5.56E-06	2.26E-02	13	9	4	-191.9	47.8	-90.1	28.0
<i>NSDHL</i>	X	151999607	152038273	+	5.89E-06	2.39E-02	1	1	0	336.3	72.7		
<i>GLA</i>	X	100652791	100662913	-	6.91E-06	2.80E-02	2	1	1			211.4	46.0
<i>TBX3</i>	12	115108060	115121980	-	7.06E-06	2.86E-02	2	2	0	382.0	83.2		
<i>PREPL</i>	2	44544746	44589001	-	7.11E-06	2.88E-02	14	11	3	186.9	43.3	42.7	22.0
<i>GJB3</i>	1	35246815	35251965	+	7.32E-06	2.97E-02	4	3	1	-2.6	93.9	270.7	54.4
<i>ZNF202</i>	11	123594622	123612368	-	7.50E-06	3.04E-02	8	6	2	-35.4	56.9	203.0	40.8
<i>LCT</i>	2	136545420	136594754	-	7.73E-06	3.13E-02	11	8	3	230.2	50.7	53.5	23.3
<i>SCN8A</i>	12	51985017	52206648	+	8.61E-06	3.49E-02	7	6	1	-180.3	62.4	-276.3	67.3
<i>EPHA3</i>	3	89156771	89531284	+	8.97E-06	3.64E-02	6	4	2	380.9	77.5	-11.1	22.0
<i>GNAT2</i>	1	110145713	110162238	-	9.69E-06	3.93E-02	4	3	1	386.4	79.7	-57.1	64.6
<i>TRIM37</i>	17	57060010	57184241	-	9.77E-06	3.96E-02	14	11	3	59.7	66.1	110.5	22.5
<i>MUC13</i>	3	124624289	124653595	-	9.83E-06	3.99E-02	7	4	3	286.7	58.5	11.1	32.4
<i>DSPP</i>	4	88529681	88538025	+	1.04E-05	4.21E-02	9	7	2	246.6	55.0	66.9	26.4
<i>MPP4</i>	2	202509597	202563367	-	1.06E-05	4.29E-02	12	8	4	215.8	56.6	74.7	31.2
<i>TK2</i>	16	66541906	66584194	-	1.07E-05	4.36E-02	4	4	0	190.1	42.3		
<i>CHRNA7</i>	15	32322718	32465219	+	1.17E-05	4.73E-02	4	4	0	375.1	83.9		
<i>ATP2A1</i>	16	28889809	28915787	+	1.20E-05	4.87E-02	10	7	3	330.8	68.3	10.1	22.3
<i>SLC6A4</i>	17	28521337	28562715	-	1.21E-05	4.89E-02	3	2	1	22.1	167.2	251.8	51.7

Note. Chr: chromosome; SE: standard error.

* Genomic positions are reported according to GRCh37.

Supplemental Table S3. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and plasma iron concentration.

Variant	Chr	Position	Ref/Alt	dbSNP ID	Gene	AAF	ACMG	BF(m)	Ref-Ref (AA)		Ref-Alt (AB)		Alt-Alt (BB)	
									N	Mean, Iron (mg/L) (95% Cred. I)	N	Mean, Iron (mg/L) (95% Cred. I)	N	Mean, Iron (mg/L) (95% Cred. I)
3:124627024-SNV	3	124627024	T/G	rs1127233	<i>MUC13</i>	0.239	B	4000	249	0.98 (0.92–1.03)	151	0.91 (0.84–0.99)	37	1.36 (1.18–1.55)
1:91404256-SNV	1	91404256	C/A	rs41286761	<i>ZNF644</i>	0.022	B	0.54	367	0.97 (0.92–1.02)	70	1.08 (0.97–1.18)	—	—
3:176765269-SNV	3	176765269	T/C	rs3749234	<i>TBL1XR1</i>	0.211	B	0.05	280	0.98 (0.92–1.04)	137	1.00 (0.94–1.07)	20	1.00 (0.77–1.22)
17:57141769-Del	17	57141769	A/-	rs367700401	<i>TRIM37</i>	0.254	VUS	0.36	315	0.97 (0.92–1.01)	122	1.04 (0.93–1.16)	—	—
1:78392446-SNV	1	78392446	G/A	rs1166698	<i>NEXN</i>	0.182	B	0.51	280	1.02 (0.96–1.09)	140	0.91 (0.84–0.98)	17	1.01 (0.89–1.14)
3:43743914-SNV	3	43743914	G/T	rs148743497	<i>ABHD5</i>	7.77×10^{-3}	B	0.33	413	0.99 (0.95–1.04)	24	0.89 (0.72–1.07)	—	—
19:44605324-SNV	19	44605324	A/G	rs118149610	<i>ZNF224</i>	0.014	B	0.79	415	0.98 (0.93–1.03)	22	1.16 (0.98–1.33)	—	—
17:28548810-SNV	17	28548810	C/G	rs6355	<i>SLC6A4</i>	0.012	B	0.28	423	0.99 (0.94–1.03)	14	1.00 (0.87–1.13)	—	—
3:186443018-SNV	3	186443018	T/C	rs1656922	<i>KNG1</i>	0.537	B	0.56	146	1.06 (0.97–1.15)	164	0.99 (0.91–1.06)	127	0.91 (0.84–0.97)
12:56848079-SNV	12	56848079	C/T	rs74641138	<i>MIP</i>	0.024	B	0.29	421	0.94 (0.94–1.04)	16	0.93 (0.72–1.13)	—	—
6:161006105-SNV	6	161006105	C/T	rs41272112	<i>LPA</i>	9.53×10^{-3}	B	0.35	412	0.99 (0.95–1.04)	25	0.89 (0.73–1.05)	—	—

Note. Chr: chromosome; ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; B: benign; LB: likely benign; VUS: variant of unknown significance; BF(m): Bayes factor; Ref: reference allele; Alt: alternative allele; N: number of observations; 95% Cred. I: 95% credibility interval.

* Genomic positions are reported according to GRCh37.

Supplemental Table S4. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and iron-binding capacity saturation.

Variant	Chr	Position	Ref/Alt	dbSNP ID	Gene	AAF	ACMG	BF(m)	Ref-Ref (AA)		Ref-Alt (AB)		Alt-Alt (BB)	
									N	Mean, Transferrin saturation (%) (95% Cred. I)	N	Mean, Transferrin saturation (%) (95% Cred. I)	N	Mean, Transferrin saturation (%) (95% Cred. I)
3:124627024-SNV	3	124627024	T/G	rs1127233	<i>MUC13</i>	0.239	B	376	217	27 (26–29)	139	27 (24–29)	32	39 (32–45)
1:91404256-SNV	1	91404256	C/A	rs41286761	<i>ZNF644</i>	0.022	B	0.89	324	27 (26–29)	64	31 (28–34)	—	—
3:176765269-SNV	3	176765269	T/C	rs3749234	<i>TBL1XR1</i>	0.211	B	0.09	257	28 (26–29)	113	29 (27–31)	18	26 (21–32)
17:57141769-Del	17	57141769	A/-	rs367700401	<i>TRIM37</i>	0.254	VUS	0.14	286	28 (26–29)	102	29 (25–32)	—	—
1:78392446-SNV	1	78392446	G/A	rs1166698	<i>NEXN</i>	0.182	B	0.43	243	29 (27–31)	130	26 (24–28)	15	31 (26–36)
3:43743914-SNV	3	43743914	G/T	rs148743497	<i>ABHD5</i>	7.77×10^{-3}	B	0.39	368	28 (27–30)	20	25 (19–31)	—	—
19:44605324-SNV	19	44605324	A/G	rs118149610	<i>ZNF224</i>	0.014	B	0.55	368	28 (26–29)	20	32 (27–37)	—	—
17:28548810-SNV	17	28548810	C/G	rs6355	<i>SLC6A4</i>	0.012	B	0.28	374	28 (27–29)	14	29 (24–33)	—	—
3:186443018-SNV	3	186443018	T/C	rs1656922	<i>KNG1</i>	0.537	B	0.57	124	30 (27–32)	148	29 (26–31)	116	25 (23–27)
12:56848079-SNV	12	56848079	C/T	rs74641138	<i>MIP</i>	0.024	B	0.27	373	28 (27–29)	15	28 (21–34)	—	—
6:161006105-SNV	6	161006105	C/T	rs41272112	<i>LPA</i>	9.53×10^{-3}	B	0.31	363	28 (26–29)	25	30 (23–38)	—	—

Note. Chr: chromosome; ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; B: benign; LB: likely benign; VUS: variant of unknown significance; BF(m): Bayes factor; Ref: reference allele; Alt: alternative allele; N: number of observations; 95% Cred. I: 95% credibility interval.

* Genomic positions are reported according to GRCh37.

Supplemental Table S5. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and plasma transferrin concentration.

Variant	Chr	Position	Ref/Alt	dbSNP ID	Gene	AAF	ACMG	BF(m)	Ref-Ref (AA)		Ref-Alt (AB)		Alt-Alt (BB)	
									N	Mean, Transferrin (g/L) (95% Cred. I)	N	Mean, Transferrin (g/L) (95% Cred. I)	N	Mean, Transferrin (g/L) (95% Cred. I)
3:124627024-SNV	3	124627024	T/G	rs1127233	<i>MUC13</i>	0.239	B	0.06	217	2.62 (2.55–2.69)	140	2.58 (2.49–2.66)	32	2.55 (2.41–2.69)
1:91404256-SNV	1	91404256	C/A	rs41286761	<i>ZNF644</i>	0.022	B	0.15	325	2.60 (2.55–2.65)	64	2.60 (2.48–2.72)	—	—
3:176765269-SNV	3	176765269	T/C	rs3749234	<i>TBL1XR1</i>	0.211	B	0.08	257	2.61 (2.55–2.67)	114	2.56 (2.47–2.65)	18	2.65 (2.41–2.88)
17:57141769-Del	17	57141769	A/-	rs367700401	<i>TRIM37</i>	0.254	VUS	0.47	287	2.62 (2.57–2.68)	102	2.53 (2.42–2.64)	—	—
1:78392446-SNV	1	78392446	G/A	rs1166698	<i>NEXN</i>	0.182	B	0.11	243	2.59 (2.53–2.65)	131	2.63 (2.54–2.72)	15	2.45 (2.22–2.69)
3:43743914-SNV	3	43743914	G/T	rs148743497	<i>ABHD5</i>	7.77×10 ⁻³	B	0.31	368	2.59 (2.54–2.64)	21	2.68 (2.46–2.90)	—	—
19:44605324-SNV	19	44605324	A/G	rs118149610	<i>ZNF224</i>	0.014	B	0.24	369	2.60 (2.55–2.65)	20	2.58 (2.43–2.73)	—	—
17:28548810-SNV	17	28548810	C/G	rs6355	<i>SLC6A4</i>	0.012	B	0.30	375	2.60 (2.55–2.65)	14	2.54 (2.36–2.73)	—	—
3:186443018-SNV	3	186443018	T/C	rs1656922	<i>KNG1</i>	0.537	B	0.21	125	2.61 (2.51–2.70)	148	2.54 (2.46–2.62)	11 6	2.67 (2.58–2.75)
12:56848079-SNV	12	56848079	C/T	rs74641138	<i>MIP</i>	0.024	B	0.31	374	2.60 (2.55–2.65)	15	2.53 (2.35–2.70)	—	—
6:161006105-SNV	6	161006105	C/T	rs41272112	<i>LPA</i>	9.53×10 ⁻³	B	0.46	364	2.61 (2.56–2.66)	25	2.48 (2.30–2.65)	—	—

Note. Chr: chromosome; ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; B: benign; LB: likely benign; VUS: variant of unknown significance; BF(m): Bayes factor; Ref: reference allele; Alt: alternative allele; N: number of observations; 95% Cred. I: 95% credibility interval.

* Genomic positions are reported according to GRCh37.

Supplemental Table S6. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and BMI.

Variant	Chr	Position	Ref/Alt	dbSNP ID	Gene	AAF	ACMG	BF(m)	Ref-Ref (AA)			Ref-Alt (AB)			Alt-Alt (BB)		
									N	Mean, Body Mass Index (kg/m ²) (95% Cred. I)	N	Mean, Body Mass Index (kg/m ²) (95% Cred. I)	N	Mean, Body Mass Index (kg/m ²) (95% Cred. I)	N	Mean, Body Mass Index (kg/m ²) (95% Cred. I)	
3:124627024-SNV	3	124627024	T/G	rs1127233	<i>MUC13</i>	0.239	B	0.07	231	25.2 (24.5–25.8)	146	25.0 (24.1–26.0)	35	26.2 (24.8–27.7)			
1:91404256-SNV	1	91404256	C/A	rs41286761	<i>ZNF644</i>	0.022	B	1	357	25.0 (24.5–25.5)	55	26.6 (24.9–28.3)	—	—			
3:176765269-SNV	3	176765269	T/C	rs3749234	<i>TBL1XR1</i>	0.211	B	0.06	253	25.2 (24.6–25.9)	141	25.3 (24.6–26.0)	18	24.3 (21.0–27.6)			
17:57141769-DeI	17	57141769	A/-	rs367700401	<i>TRIM37</i>	0.254	VUS	0.15	297	25.1 (24.5–25.7)	115	25.5 (24.7–26.3)	—	—			
1:78392446-SNV	1	78392446	G/A	rs1166698	<i>NEXN</i>	0.182	B	1	269	25.7 (25.1–26.3)	127	24.3 (23.3–25.2)	16	24.9 (23.3–26.6)			
3:43743914-SNV	3	43743914	G/T	rs148743497	<i>ABHD5</i>	7.77×10 ⁻³	B	0.93	398	25.1 (24.6–25.6)	14	27.6 (26.0–29.1)	—	—			
19:44605324-SNV	19	44605324	A/G	rs118149610	<i>ZNF224</i>	0.014	B	0.24	392	25.2 (24.7–25.7)	20	24.9 (22.5–27.4)	—	—			
17:28548810-SNV	17	28548810	C/G	rs6355	<i>SLC6A4</i>	0.012	B	0.32	395	25.2 (24.7–25.7)	17	26.1 (25–27.2)	—	—			
3:186443018-SNV	3	186443018	T/C	rs1656922	<i>KNG1</i>	0.537	B	1	153	25.6 (24.8–26.4)	145	24.3 (23.5–25.1)	114	25.9 (24.9–27.0)			
12:56848079-SNV	12	56848079	C/T	rs74641138	<i>MIP</i>	0.024	B	0.29	398	25.2 (24.7–25.7)	14	25.7 (24.7–26.6)	—	—			
6:161006105-SNV	6	161006105	C/T	rs41272112	<i>LPA</i>	9.53×10 ⁻³	B	0.38	387	25.1 (24.6–25.7)	25	26.4 (25.0–27.7)	—	—			

Note. Chr: chromosome; ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; B: benign; LB: likely benign; VUS: variant of unknown significance; BF(m): Bayes factor; Ref: reference allele; Alt: alternative allele; N: number of observations; 95% Cred. I: 95% credibility interval.

* Genomic positions are reported according to GRCh37.

Supplemental Table S7. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and ALAT.

Variant	Chr	Position	Ref/Alt	dbSNP ID	Gene	AAF	ACMG	BF(m)	Ref-Ref (AA)			Ref-Alt (AB)			Alt-Alt (BB)		
									N	Mean, ALAT (UI/L) (95% Cred. I)	N	Mean, ALAT (UI/L) (95% Cred. I)	N	Mean, ALAT (UI/L) (95% Cred. I)	N	Mean, ALAT (UI/L) (95% Cred. I)	
3:124627024-SNV	3	124627024	T/G	rs1127233	<i>MUC13</i>	0.239	B	7	218	46 (41–50)	140	36 (31–40)	30	55 (37.6–71)			
1:91404256-SNV	1	91404256	C/A	rs41286761	<i>ZNF644</i>	0.022	B	5	324	41 (37–44)	64	53 (43–64)	—	—			
3:176765269-SNV	3	176765269	T/C	rs3749234	<i>TBL1XR1</i>	0.211	B	0.17	243	44 (40–49)	128	41 (35–47)	17	31 (23–39)			
17:57141769-Del	17	57141769	A/-	rs367700401	<i>TRIM37</i>	0.254	VUS	0.13	280	43 (39–47)	108	43 (36–49)	—	—			
1:78392446-SNV	1	78392446	G/A	rs1166698	<i>NEXN</i>	0.182	B	0.84	250	45 (41–50)	121	37 (31–42)	17	49 (35–63)			
3:43743914-SNV	3	43743914	G/T	rs148743497	<i>ABHD5</i>	7.77×10^{-3}	B	0.23	364	43 (39–46)	24	40 (31–49)	—	—			
19:44605324-SNV	19	44605324	A/G	rs118149610	<i>ZNF224</i>	0.014	B	0.23	365	43 (39–46)	23	43 (34–51)	—	—			
17:28548810-SNV	17	28548810	C/G	rs6355	<i>SLC6A4</i>	0.012	B	0.26	372	43 (39–46)	16	42 (30–53)	—	—			
3:186443018-SNV	3	186443018	T/C	rs1656922	<i>KNG1</i>	0.537	B	0.16	139	40 (35–46)	133	41 (35–46)	116	48 (41–55)			
12:56848079-SNV	12	56848079	C/T	rs74641138	<i>MIP</i>	0.024	B	0.26	372	43 (39–46)	16	44 (27–60)	—	—			
6:161006105-SNV	6	161006105	C/T	rs41272112	<i>LPA</i>	9.53×10^{-3}	B	4	367	42 (38–45)	21	61 (42–79)	—	—			

Note. Chr: chromosome; ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; B: benign; LB: likely benign; VUS: variant of unknown significance; BF(m): Bayes factor; Ref: reference allele; Alt: alternative allele; N: number of observations; 95% Cred. I: 95% credibility interval.

* Genomic positions are reported according to GRCh37.

Supplemental Table S8. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and CRP.

Variant	Chr	Position	Ref/Alt	dbSNP ID	Gene	AAF	ACMG	BF(m)	N	Ref-Ref (AA)	N	Ref-Alt (AB)	N	Alt-Alt (BB)
										Mean, CRP (mg/L) (95% Cred. I)		Mean, CRP (mg/L) (95% Cred. I)		Mean, CRP (mg/L) (95% Cred. I)
3:124627024-SNV	3	124627024	T/G	rs1127233	<i>MUC13</i>	0.239	B	0.09	163	2.8 (2.5–3.1)	105	2.8 (2.4–3.3)	13	3.4 (2.4–4.5)
1:91404256-SNV	1	91404256	C/A	rs41286761	<i>ZNF644</i>	0.022	B	0.27	247	2.9 (2.6–3.2)	34	2.5 (1.7–3.4)	—	—
3:176765269-SNV	3	176765269	T/C	rs3749234	<i>TBL1XR1</i>	0.211	B	3	176	3.1 (2.8–3.5)	94	2.3 (1.9–2.7)	11	2.7 (1.4–4)
17:57141769-Del	17	57141769	A/-	rs367700401	<i>TRIM37</i>	0.254	VUS	0.23	211	2.9 (2.6–3.2)	70	2.6 (2.2–3.1)	—	—
1:78392446-SNV	1	78392446	G/A	rs1166698	<i>NEXN</i>	0.182	B	0.08	183	2.8 (2.5–3.1)	88	2.9 (2.3–3.4)	10	3.1 (1.3–4.9)
3:43743914-SNV	3	43743914	G/T	rs148743497	<i>ABHD5</i>	7.77×10^{-3}	B	35	263	3.0 (2.7–3.2)	18	1.2 (0.5–1.8)	—	—
19:44605324-SNV	19	44605324	A/G	rs118149610	<i>ZNF224</i>	0.014	B	4	262	2.9 (2.7–3.2)	19	1.6 (0.6–2.7)	—	—
17:28548810-SNV	17	28548810	C/G	rs6355	<i>SLC6A4</i>	0.012	B	0.33	268	2.9 (2.6–3.1)	13	2.5 (1.6–3.4)	—	—
3:186443018-SNV	3	186443018	T/C	rs1656922	<i>KNG1</i>	0.537	B	0.05	95	2.8 (2.3–3.2)	97	2.8 (2.3–3.2)	89	3.0 (2.5–3.5)
12:56848079-SNV	12	56848079	C/T	rs74641138	<i>MIP</i>	0.024	B	0.42	273	2.9 (2.6–3.1)	8	2.3 (1.0–3.6)	—	—
6:161006105-SNV	6	161006105	C/T	rs41272112	<i>LPA</i>	9.53×10^{-3}	B	0.30	269	2.8 (2.6–3.1)	12	2.7 (1.5–3.9)	—	—

Note. Chr: chromosome; ACMG: American College of Medical Genetics and Genomics; B: benign; LB: likely benign; VUS: variant of unknown significance; BF(m): Bayes factor; Ref: reference allele; Alt: alternative allele; N: number of observations; 95% Cred. I: 95% credibility interval.

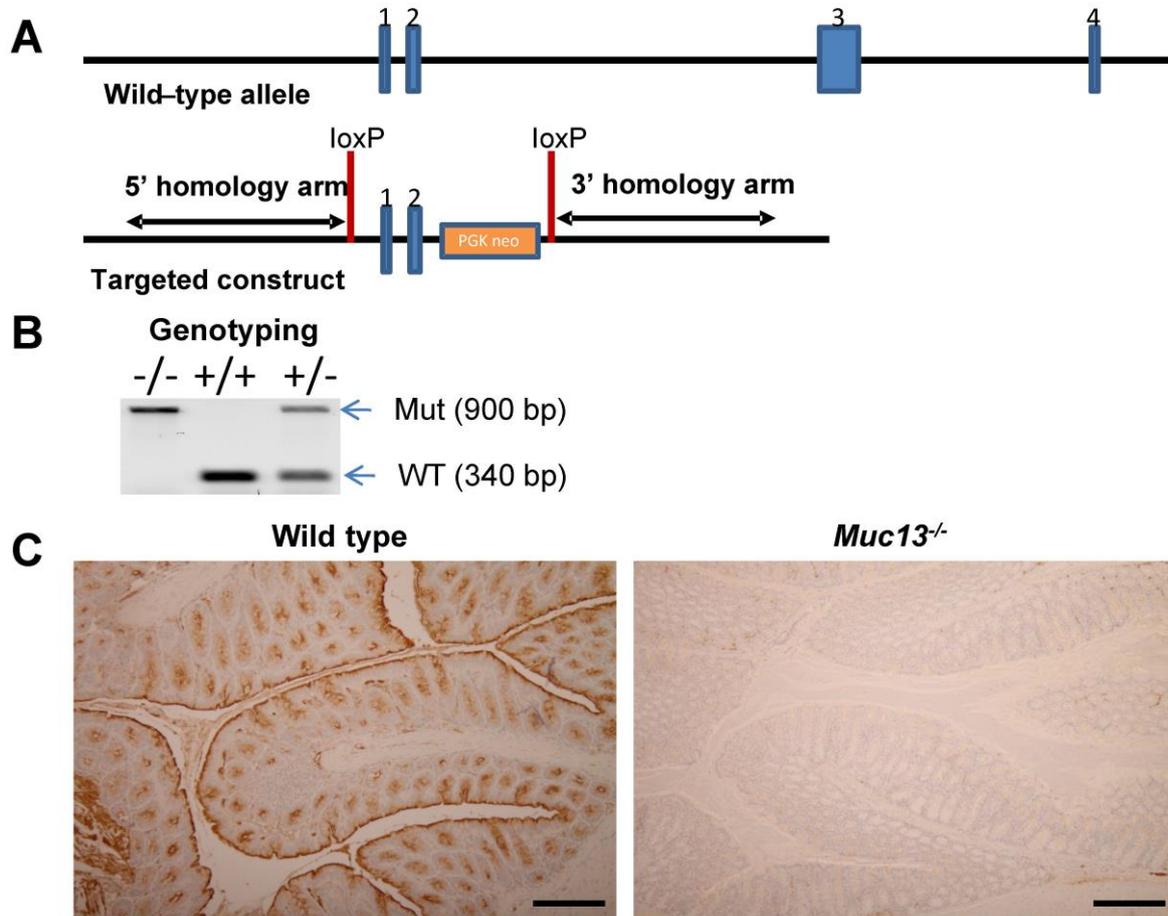
* Genomic positions are reported according to GRCh37.

Supplementary Table S9. Assessment of plasma iron metabolism markers, plasma hepcidin, and liver iron concentration in *Muc13*^{-/-} and *Muc13*^{+/+} mice.

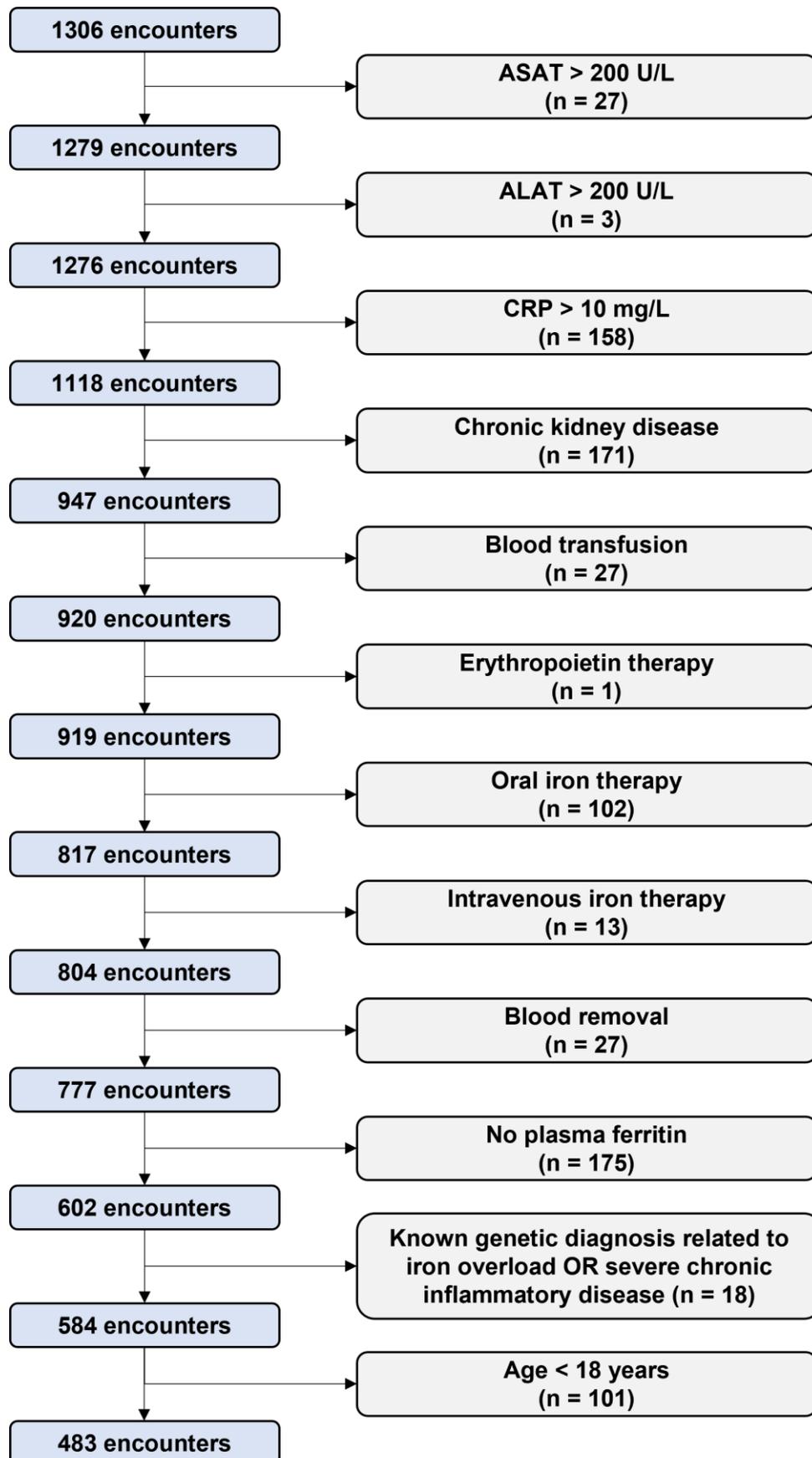
	<i>Muc13</i> ^{+/+} (n = 7)	<i>Muc13</i> ^{-/-} (n = 6)	<i>P</i> -value
Iron (μmol/L) — Median (IQR)	22.2 (4.0)	17.2 (4.2)	0.03
Transferrin saturation (%) — Median (IQR)	22.1 (2.6)	15.9 (2.9)	0.02
Transferrin (g/L) — Median (IQR)	0.80 (0.05)	0.70 (0.08)	0.54
Ferritin (μg/L) — Median (IQR)	614 (383)	625 (283)	0.88
Hepcidin (ng/mL) — Median (IQR)	15.8 (2.9)	11.9 (32.9)	0.77
Hepcidin ≤ 4.5 ng/mL — % (n/N)	0% (0/7)	50% (3/6)	0.07
Iron concentration, liver tissue (μmol/L) — Mean (SD)	1.88 (1.87)	2.87 (2.04)	0.53

SUPPLEMENTAL FIGURES

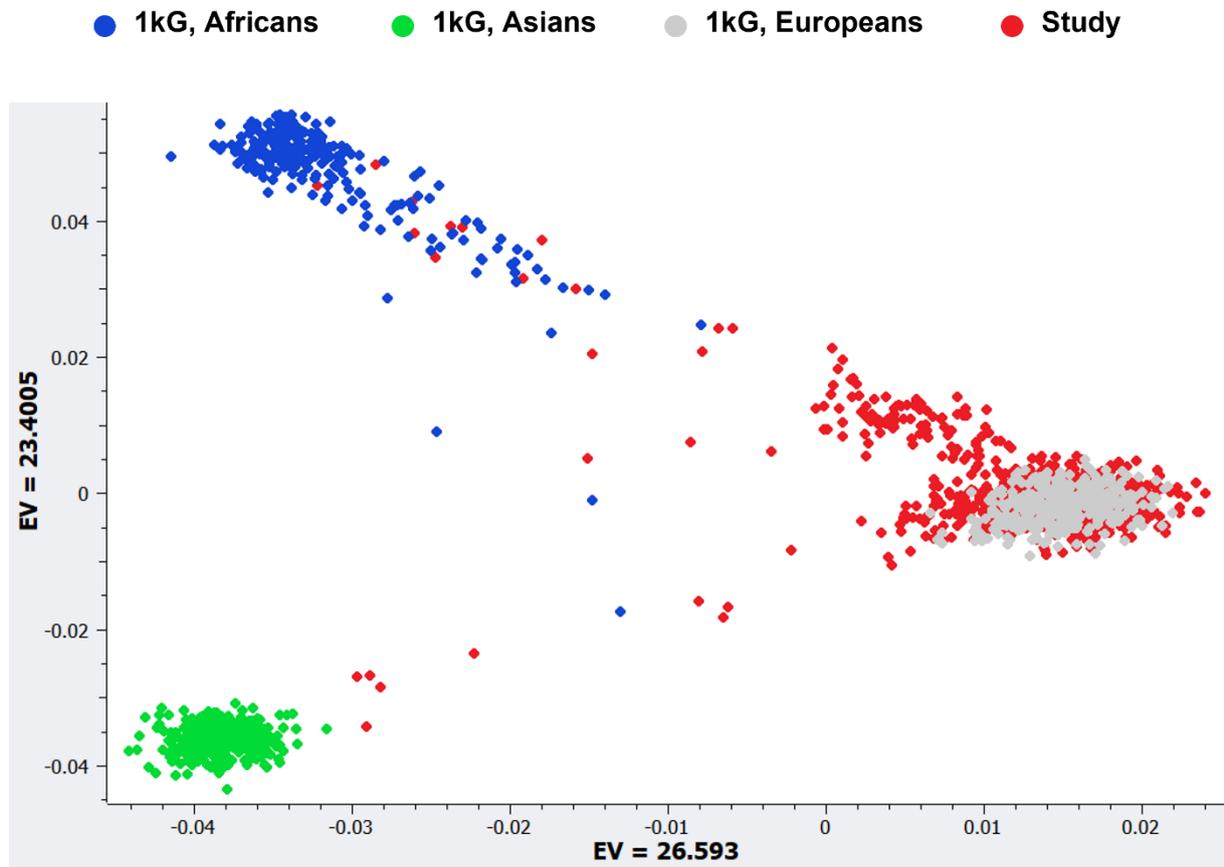
Supplemental Figure S1.



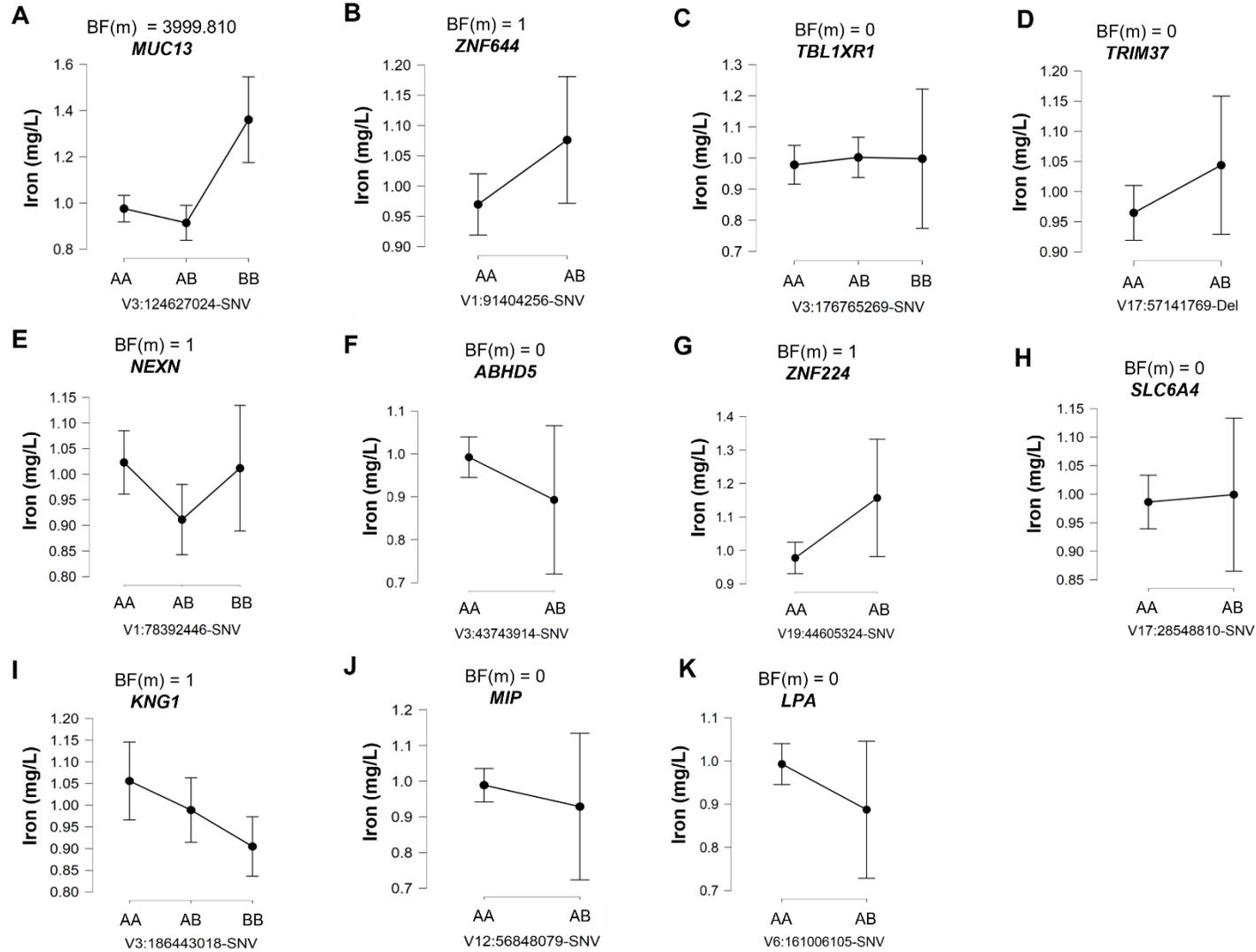
Supplemental Figure S2.



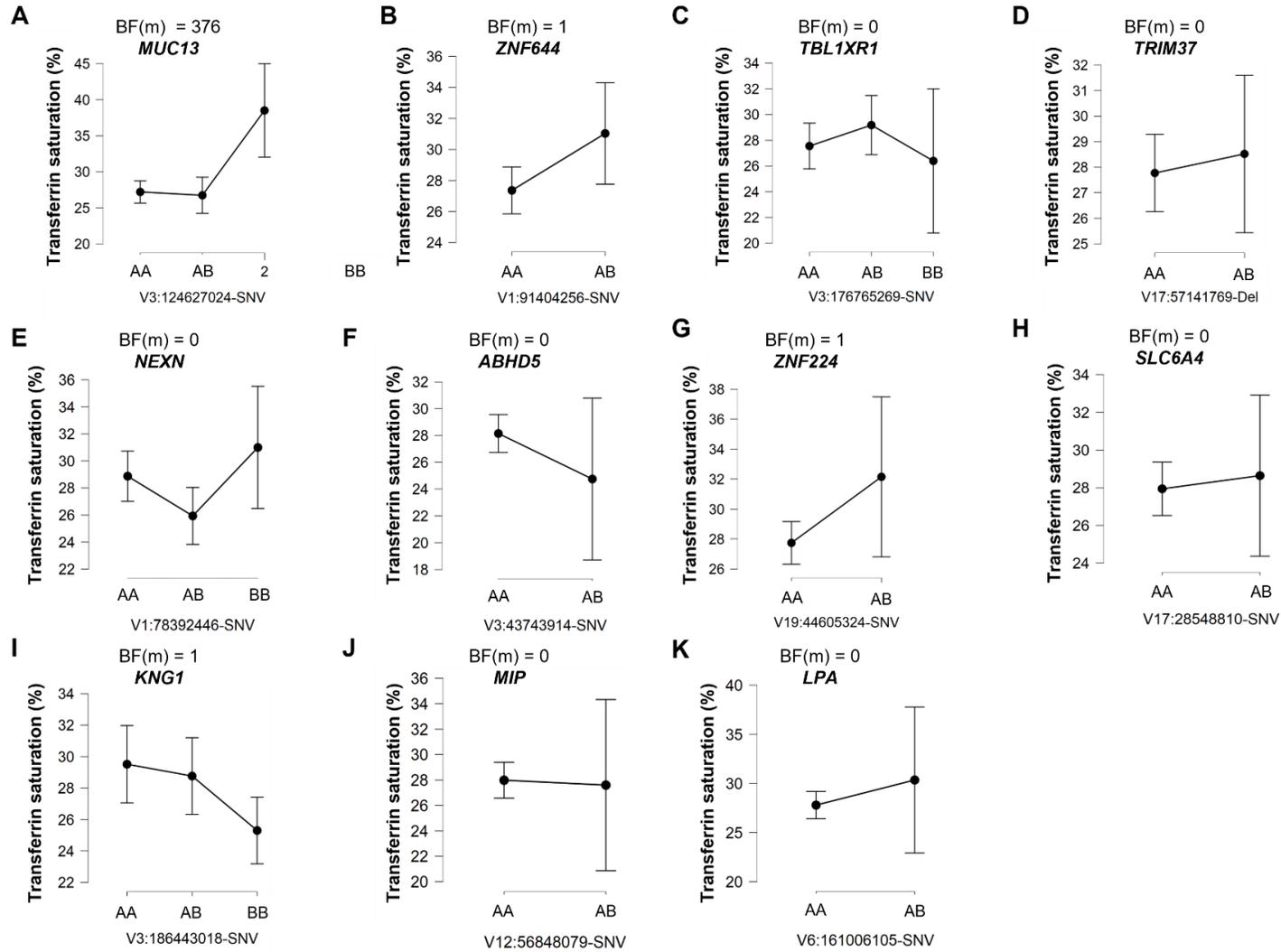
Supplemental Figure S3.



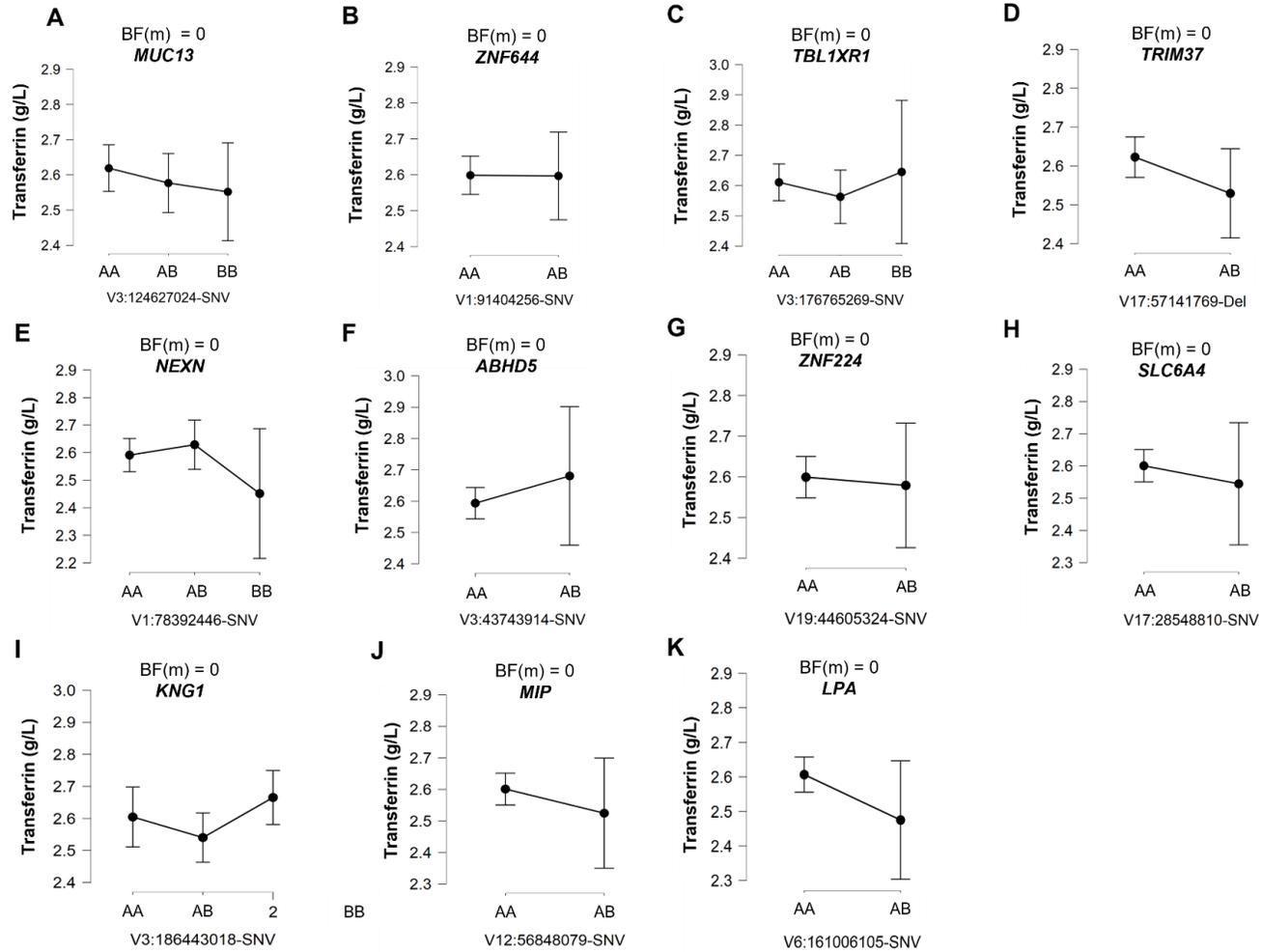
Supplemental Figure S4.



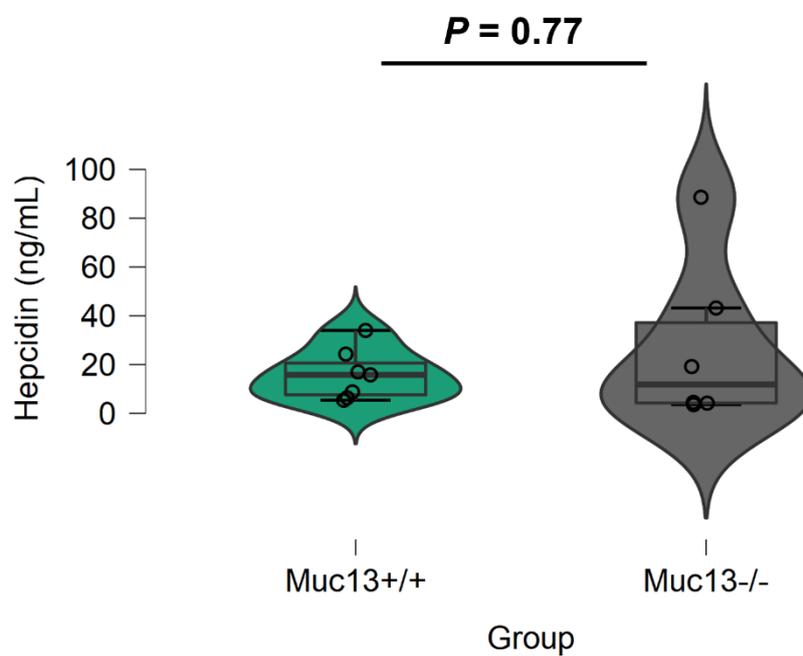
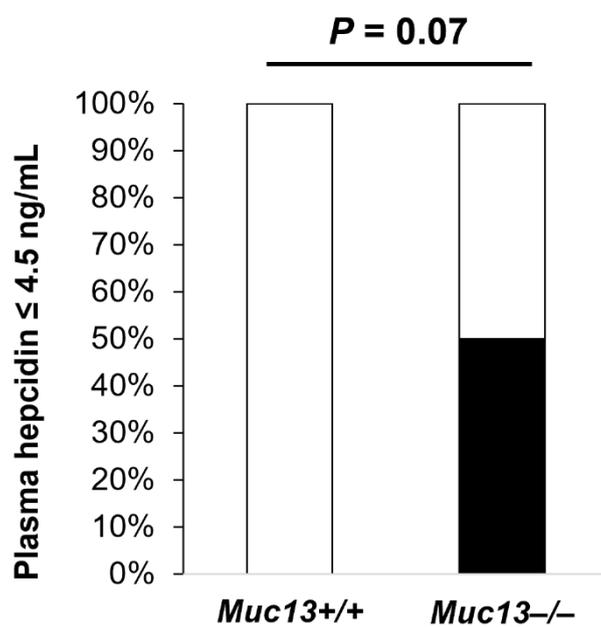
Supplemental Figure S5.



Supplemental Figure S6.



Supplemental Figure S7.

A**B**

Supplemental Figure Legends

Supplemental Figure S1. Targeted disruption of the mouse *Muc13* gene. (A) The endogenous murine *Muc13* gene and its flanking sequence with blue boxes denoting exons 1-4 and the line representing flanking and intron sequences. The lower image represents the vector used to target the *Muc13* locus with the location of the two loxP sites and the PGK-neo insert shown. (B) PCR analysis showing 340-bp and 900-bp products amplified from the wild type and knockout alleles, respectively. (C) *Muc13* expression by immunohistochemistry in the proximal colon of wild type and *Muc13*^{-/-} mice. scale bars, 150 μ m.

Supplemental Figure S2. Flow diagram of patient selection.

Supplemental Figure S3. Principal component analysis reporting ancestry inference analysis. We performed ancestry inference using principal-component analysis (PCA) on the samples merged with 1092 subjects from the 1kG phase 1 super populations as reference populations (Africans (AFR), n = 246; Americans (AMR), n = 181; Asians (ASN), n = 286; and Europeans (EUR), n = 379) (data were retrieved at: <http://www.internationalgenome.org/data/>). PCA analysis was performed under the additive model to find up to 10 components (Eigenvalues).

Supplemental Figure S4. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and plasma iron concentration (mg/L). At the top of each panel, the Bonferroni-corrected *P*-value, the Bayes factor (BF[m]), and the HGNC approved gene symbol are reported. For each variant, we reported the mean and 95% credibility interval (95% Cred. I) per genotype

subgroup. The Bayes factor [BF(m)], as a metrics of Bayesian inference, constitutes a natural ratio to compare the marginal likelihoods between a null and an alternative hypothesis. AA: homozygous genotype for the reference allele; AB: heterozygous genotype; BB: homozygous genotype for the alternative allele.

Supplemental Figure S5. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and plasma transferrin saturation (%). At the top of each panel, the Bonferroni-corrected *P*-value, the Bayes factor (BF[m]), and the HGNC approved gene symbol are reported. For each variant, we reported the mean and 95% credibility interval (95% Cred. I) per genotype subgroup. The Bayes factor [BF(m)], as a metrics of Bayesian inference, constitutes a natural ratio to compare the marginal likelihoods between a null and an alternative hypothesis. AA: homozygous genotype for the reference allele; AB: heterozygous genotype; BB: homozygous genotype for the alternative allele.

Supplemental Figure S6. Results of the Bayesian analysis of variance reporting the association between the 11 cross-validated genetic variants and plasma transferrin concentration (g/L). At the top of each panel, the Bonferroni-corrected *P*-value, the Bayes factor (BF[m]), and the HGNC approved gene symbol are reported. For each variant, we reported the mean and 95% credibility interval (95% Cred. I) per genotype subgroup. The Bayes factor [BF(m)], as a metrics of Bayesian inference, constitutes a natural ratio to compare the marginal likelihoods between a null and an alternative hypothesis. AA: homozygous genotype for the reference allele; AB: heterozygous genotype; BB: homozygous genotype for the alternative allele.

Supplemental Figure S7. Assessment of plasma hepcidin level in *Muc13^{-/-}* and *Muc13^{+/+}* mice. The comparison of plasma hepcidin levels revealed a lower albeit non-significant median value of hepcidin among *Muc13^{-/-}* mice when compared to *Muc13^{+/+}* mice and a higher variability of hepcidin levels among *Muc13^{-/-}* mice. Importantly, 50% (3/6) of *Muc13^{-/-}* mice exhibited a hepcidinemia ≤ 4.5 ng/mL versus 0% (0/7) of *Muc13^{+/+}* mice.

5. DISCUSSION

5.1. Discussion générale des résultats observés

Notre étude a mis en évidence un certain nombre de variants génétiques significativement corrélés à la ferritine plasmatique. Certains des gènes concernés sont impliqués plus ou moins directement dans le développement du syndrome métabolique (**Tableau 4**). Au niveau physiopathologique, il est bien connu que le métabolisme martial est en étroite corrélation avec le métabolisme du glucose et que notamment il existe un lien de causalité indiscutable entre syndrome métabolique et hyperferritinémie sans surcharge martiale associée (**Figure 6**). De nombreuses études ont montré que la protéine LPA est étroitement impliquée dans le développement du syndrome métabolique (43), de la coronaropathie (48), de la stéatohépatite non alcoolique (NASH). Le niveau de LPA sérique est significativement supérieur chez les patients atteints de syndrome métabolique (49), (50). Des modifications génomiques *ABHD5* sont en cause dans le syndrome de Chanarin-Dorfman (51), une maladie métabolique sévère du groupe des myopathies avec surcharge lipidique. Des cas de patients atteints de variants *ABHD5* présentant une cirrhose ont également été rapportés (52). La mutation du gène *TRIM37* codant pour une protéine peroxysomale est responsable du syndrome MULTIBREY consistant en un nanisme associé à des complications syndromiques diverses. Une insulino-résistance a été décrite chez ces patients (53). La protéine *SLC6A4* impliquée dans la transmission sérotoninergique se trouve être également en lien avec le syndrome métabolique (54). Des travaux ont montré que le gène *KNG1* est également impliqué dans la physiopathologie du syndrome métabolique (55).

D'autre part il a été décrit une association entre certains des gènes rapportés (*MIP*, *ZNF644*) et des manifestations ophtalmologiques, notamment la cataracte (30, 32). Ceci fait écho au syndrome « cataracte-hyperferritinémie », causé par un variant sur le gène *FTL* (36, 56). Un lien mécanistique entre l'hyperferritinémie et les manifestations ophtalmologiques mériterait d'être approfondi.

Tableau 4. Manifestations clinico-biologiques des gènes rapportés, d'après les bases de données GWAS catalog* et OMIM*

Gène	Inflammation	Syndrome métabolique	Hypersidérémie	Cataracte / Manifestations ophtalmologiques
<i>MUC13</i>	Non	Non	Non	Non
<i>ABHD5</i>	Oui	Oui	Non	Non
<i>TBL1XR1</i>	Oui	Non	Non	Non
<i>LPA</i>	Non	Oui	Non	Non
<i>MIP</i>	Non	Non	Oui	Oui
<i>TRIM37</i>	Non	Non	Non	Oui
<i>ZNF224</i>	Non	Non	Non	Non
<i>NEXN</i>	Non	Non	Non	Non
<i>SLC6A4</i>	Non	Non	Non	Non
<i>ZNF644</i>	Oui	Oui	Non	Oui
<i>KNG1</i>	Non	Non	Non	Non

*<https://www.ebi.ac.uk/gwas> ; <https://www.omim.org>

MUC13: Mucin 13, Cell Surface Associated; ***ZNF644***: Zinc Finger Protein 644; ***TBL1XR1***: Transducin Beta Like 1 X-Linked Receptor 1; ***TRIM37***: Tripartite Motif Containing 37; ***NEXN***: Nexilin F-Actin Binding Protein; ***ABHD5***: Abhydrolase Domain Containing 5, Lysophosphatidic Acid Acyltransferase; ***ZNF224***: Zinc Finger Protein 224; ***SLC6A4***: Solute Carrier Family 6 Member 4; ***KNG1***: Kininogen 1; ***MIP***: Major Intrinsic Protein Of Lens Fiber; ***LPA***: Lipoprotein(A).

5.2. Implication du gène *MUC13* comme potentiel nouvel acteur du métabolisme martial

Parmi l'ensemble des variants rapportés, le variant sur le gène *MUC13* est le seul augmentant de manière significative la ferritinémie, le fer plasmatique, le coefficient de saturation de la transferrine : ce variant provoque donc une surcharge martiale. Le gène *MUC13* code une glycoprotéine transmembranaire de la famille des mucines présente principalement au niveau gastro-intestinal et hématopoïétique (57), impliquée dans une vaste voie d'absorption du fer ferrique : la voie mucine-mobilferrine-intégrine (MMI) (58, 59). La protéine *MUC13* présente sur le versant luminal des entérocytes duodénaux, au sein des microvillosités, est capable de complexer le fer ferrique luminal qui ne peut pas être absorbé tel quel par la classique voie DMT1 (**Figure 7**). Elle achemine ensuite le fer ferrique jusqu'à la membrane cellulaire qu'il traverse via une $\beta 3$ intégrine. Une fois en intracellulaire il est capté par une protéine cytosolique : la mobilferrine. La mobilferrine se lie à un complexe protéique massif de 520 kDa

nommé « paraferriatine » incluant la flavine mono-oxygénase et la β 2-microglobuline (**Figure 8**). Le complexe paraferriatine dispose d'une activité ferriréductase médiée par le FAD (Flavine Adénine Dinucléotide), les atomes de fer ainsi réduits peuvent par la suite être exportés par la ferroportine dans le compartiment sanguin (60). Le complexe paraferriatine est en fait un carrefour entre les 3 voies d'absorption du fer alimentaire : la voie DMT1 (alias *DCT1 : Divalent Cation Transporter 1*) pour le fer ferreux circulant, la voie HCP1 (*Heme Carrier Protein 1*) pour le fer héminique, et la voie MMI pour le fer ferrique circulant. La protéine MUC13 est essentiellement exprimée au niveau apical de l'entérocyte duodénal (**Figure 9**) où elle permet l'absorption du fer ferrique, non-héminique, d'origine végétale ; néanmoins elle est également présente au niveau des cellules de la lignée érythroïde, et en particulier les réticulocytes (61). Ces cellules ont besoin de quantités massives de fer pour synthétiser l'hémoglobine, elles utilisent donc conjointement la voie de la transferrine et la voie MMI pour optimiser les apports. En cas de carence martiale, la quantité de mobilferrine augmente au niveau duodénal de manière à optimiser l'absorption du fer ferrique (59).

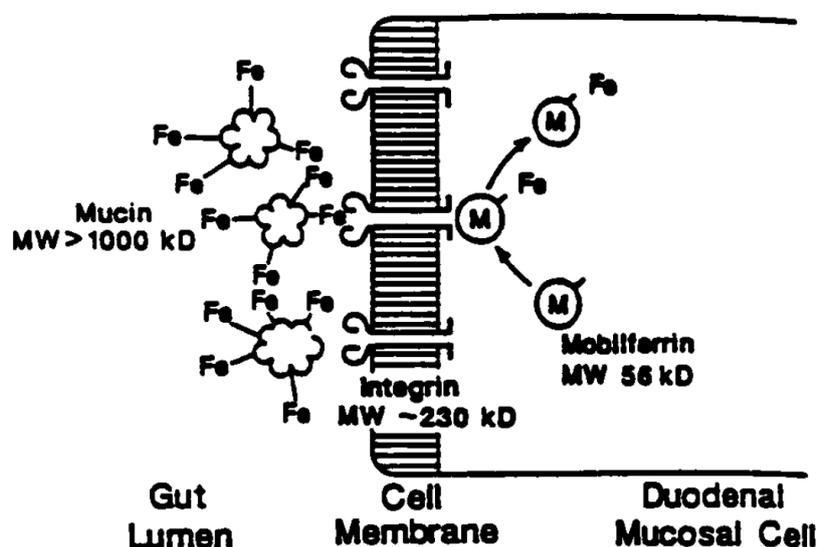


Figure 7. Modèle d'internalisation du fer ferrique luminal. La mucine fixe en extracellulaire le fer ferrique, l'achemine jusqu'à la membrane cellulaire qu'il traverse via une intégrine. En intracellulaire il est pris en charge par la mobilferrine. D'après Simovich et al. (59)

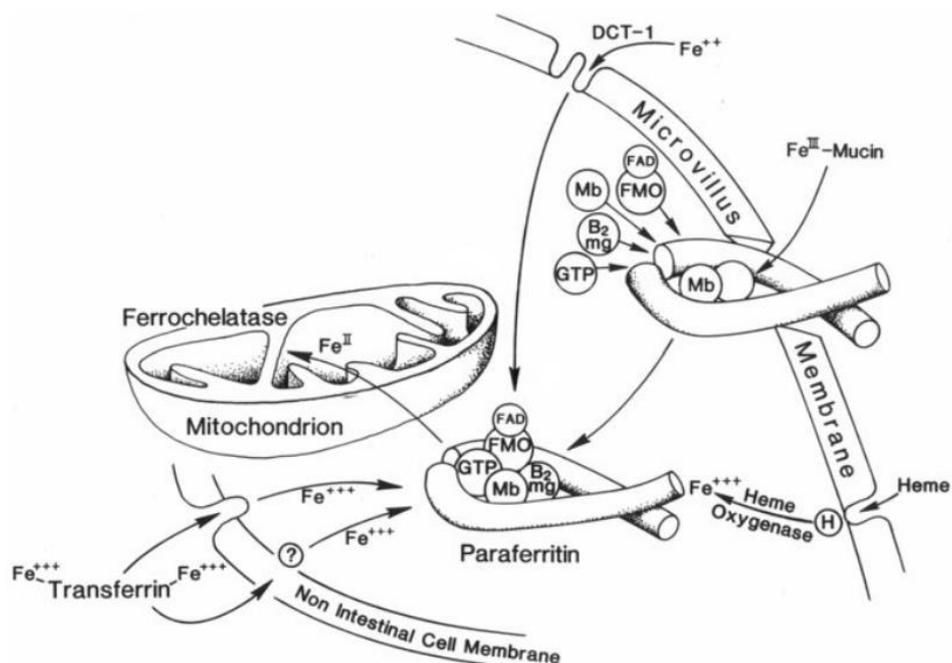


Figure 8. Absorption du fer ferrique par la voie Mucine-Mobilferrine-Intégrine (MMI) au niveau de l'entérocyte. Mb : mobilferrine ; B₂Mg : β2 microglobuline ; FMO : Flavine monooxygénase ; DCT-1 : Divalent Cation Transporter 1 ; GTP : Guanosine Triphosphate ; FAD : flavine adénine dinucléotide. Le fer ferrique est pris en charge au niveau de la lumière duodénale par la mucine, internalisé via une intégrine, puis pris en charge par la mobilferrine cytosolique. Le complexe formé par la mobilferrine liée au fer et à d'autres protéines stabilisatrices est dénommé paraferritine. La paraferritine a une activité ferriréductase qui permet l'externalisation du fer par les voies classiques et son utilisation dans la voie de synthèse de l'hème. La paraferritine est au croisement des 3 voies de l'absorption du fer : la voie DCT-1, la voie du fer héminique, la voie MIP. D'après Conrad et al. (62)

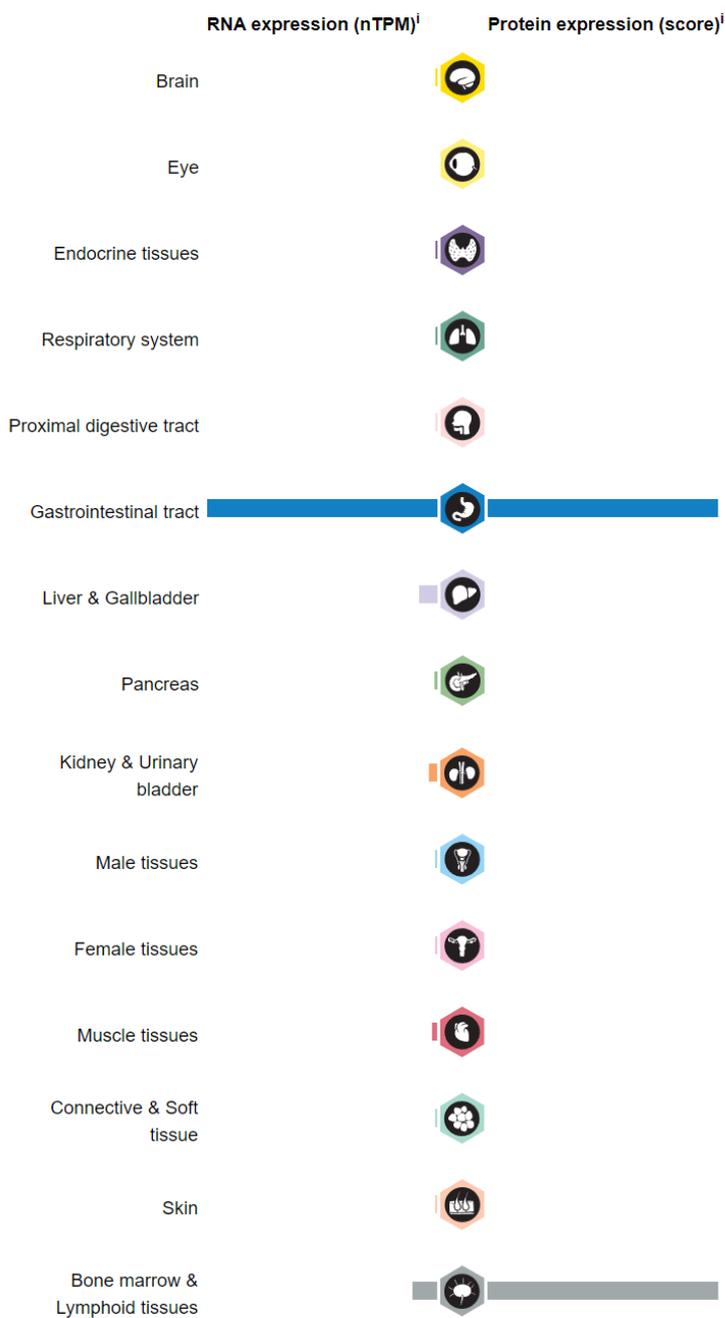


Figure 9. Expression de la protéine MUC13 l'organisme. MUC13 est principalement exprimée au niveau duodénal et médullaire où elle permet l'absorption du fer trivalent via la voie mucine-mobilferrine-intégrine. D'après Protein Atlas <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000087086-FTL/tissue>

5.3. Aspects translationnels entre les résultats observés chez l'homme et le modèle animal sur le locus *MUC13* / *Muc13*

L'étude d'association exome clinique a mis en évidence un variant sur *MUC13* associé à un statut d'hyperferritinémie avec augmentation de la charge martiale. Le variant *MUC13* n'était pas associé à l'indice de masse corporelle, aux transaminases plasmatiques (ALAT) ni à la protéine C-réactive ce qui souligne le faible risque de biais sur l'association entre *MUC13* et le statut martial en lien avec une cause classique d'hyperferritinémie secondaire. Le modèle animal a mis en évidence un statut carencé en fer chez les souris *Muc13* KO. Ce résultat peut sembler, de prime abord, paradoxal, néanmoins, il confirme les données initialement publiées sur les mécanismes de l'absorption du fer trivalent (ferrique) par la voie Mucine-Mobilferrine-Intégrine (58-61). Ces résultats peuvent soulever l'hypothèse de l'effet potentiel du variant de *MUC13* sur la structure de la mucine avec comme conséquence une augmentation de l'efficacité de la voie Mucine-Mobilferrine-Intégrine pour l'absorption du fer trivalent. En se basant sur cette hypothèse mécanistique, les sujets porteurs homozygotes du variant *MUC13* auront tendance à avoir une absorption accrue du fer ferrique avec un risque d'accumulation à long terme. Afin d'étayer cette hypothèse des investigations complémentaires ne rentrant pas dans le champ de la présente thèse sont prévues et porteront sur : i) le phénotypage biochimique et métabolique d'un modèle in vitro de lignées sous-exprimant et sur-exprimant *MUC13* ; ii) l'utilisation du modèle murin *Muc13* KO afin d'évaluer l'effet sur les marqueurs du métabolisme martial d'un régime alimentaire enrichi ou non en fer ferrique. Nos résultats chez l'homme nécessitent également d'être validés dans une cohorte indépendante répondant aux mêmes critères de sélection que ceux utilisés dans l'étude afin d'exclure les patients présentant une hyperferritinémie expliquée par une cause primaire ou secondaire qu'elle soit liée ou non à une surcharge martiale.

6. CONCLUSION

Les hyperferritinémies inexplicables représentent une problématique clinique fréquente pour laquelle il n'existe pas d'algorithme décisionnel ni de conduite à tenir univoque du point de vue diagnostique et thérapeutique. L'objectif de la présente thèse était de réaliser une étude d'association de l'exome afin d'évaluer les prédicteurs génétiques rares et fréquents potentiellement associés à la ferritinémie. Nous avons réalisé cette étude d'association avec une approche originale sur des données sériées, issues de patients suivis en centre référent tertiaire au CHRU de Nancy. L'analyse d'association génomique a pris en compte dans un premier temps les loci via des tests de charge (*gene burden testing*) puis des tests à l'échelle des variants génétiques. Nous avons appliqué une démarche méthodologique systématisée afin d'évaluer la pertinence des résultats, incluant notamment une évaluation de l'effet des variants mis en évidence sur les différents marqueurs du métabolisme martial en utilisant à la fois une approche fréquentiste et une approche Bayésienne. Nous avons appliqué des critères de sélection stricts de manière à exclure de l'analyse les patients présentant une hyperferritinémie expliquée par une cause réactionnelle ou une cause monogénique connue. Enfin nous avons pu évaluer nos résultats à la lumière d'un modèle animal (*Muc13 KO*).

Nous avons mis en évidence 11 variants génétiques associés à une augmentation de la ferritinémie dont un associé à un profil de surcharge martiale (*MUC13*). Le locus *MUC13* trouve une importance particulière. En effet, la protéine MUC13 fait partie de la famille des mucines, une famille de protéines glycosylées entrant dans la composition des mucus épithéliaux. Il existe une voie documentée d'absorption spécifique du fer ferrique impliquant la protéine MUC13 duodénale, la mobilferrine cytoplasmique entérocytaire et une intégrine membranaire. Il est possible que le variant identifié sur le gène *MUC13* soit à l'origine d'un gain de fonction, provoquant une surrégulation de la voie MMI et par conséquent un accroissement de la capacité d'absorption du fer trivalent. Les résultats observés sur notre cohorte ont été renforcés par des analyses complémentaires plasmatiques et histologiques sur un modèle animal. En effet, l'analyse du bilan martial et de l'hepcidine plasmatique sur des

souris *Muc13* KO et *Muc13* WT a permis de confirmer l'implication du locus *Muc13* dans le statut martial. Comparées aux échantillons de souris *Muc13*^{+/+}, les souris *Muc13*^{-/-} présentaient un statut martial carencé et une fréquence plus élevée d'hepcidine effondrée (50 % vs. 0 %), ce qui pourrait suggérer une adaptation métabolique au défaut d'absorption du fer ferrique par la voie mucine-mobilferrine-intégrine chez les souris *Muc13*^{-/-}. Nos résultats tendent à montrer qu'il existe un lien entre le variant identifié sur le gène *MUC13* et le phénotype biologique de surcharge martiale via un accroissement de l'activité de la voie mucine-mobilferrine-intégrine. Nos résultats chez l'homme nécessitent d'être validés dans une cohorte indépendante répondant aux mêmes critères de sélection que ceux utilisés dans l'étude.

7. BIBLIOGRAPHIE

1. Knovich MA, Storey JA, Coffman LG, Torti SV, Torti FM. Ferritin for the clinician. *Blood reviews*. 2009;23(3):95-104. Epub 2008/10/07.
2. Ogilvie C, Fitzsimons K, Fitzsimons EJ. Serum ferritin values in primary care: are high values overlooked? *Journal of clinical pathology*. 2010;63(12):1124-6. Epub 2010/10/16.
3. Wang W, Knovich MA, Coffman LG, Torti FM, Torti SV. Serum ferritin: Past, present and future. *Biochimica et biophysica acta*. 2010;1800(8):760-9. Epub 2010/03/23.
4. Sandnes M, Ulvik RJ, Vorland M, Reikvam H. Hyperferritinemia-A Clinical Overview. *Journal of clinical medicine*. 2021;10(9). Epub 2021/06/03.
5. Dawkins S, Cavill I, Ricketts C, Worwood M. Variability of serum ferritin concentration in normal subjects. *Clinical and laboratory haematology*. 1979;1(1):41-6. Epub 1979/01/01.
6. Adams PC, Reboussin DM, Barton JC, McLaren CE, Eckfeldt JH, McLaren GD, et al. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population. *N Engl J Med*. 2005;352(17):1769-78.
7. Theil EC. Ferritin: the protein nanocage and iron biomineral in health and in disease. *Inorganic chemistry*. 2013;52(21):12223-33. Epub 2013/10/10.
8. Vidal R, Miravalle L, Gao X, Barbeito AG, Baraibar MA, Hekmatyar SK, et al. Expression of a mutant form of the ferritin light chain gene induces neurodegeneration and iron overload in transgenic mice. *J Neurosci*. 2008;28(1):60-7.
9. Festa M, Ricciardelli G, Mele G, Pietropaolo C, Ruffo A, Colonna A. Overexpression of H ferritin and up-regulation of iron regulatory protein genes during differentiation of 3T3-L1 pre-adipocytes. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(47):36708-12. Epub 2000/09/09.
10. Corsi B, Cozzi A, Arosio P, Drysdale J, Santambrogio P, Campanella A, et al. Human mitochondrial ferritin expressed in HeLa cells incorporates iron and affects cellular iron metabolism. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(25):22430-7. Epub 2002/04/16.
11. Levi S, Ripamonti M, Dardi M, Cozzi A, Santambrogio P. Mitochondrial Ferritin: Its Role in Physiological and Pathological Conditions. *Cells*. 2021;10(8). Epub 2021/08/28.

12. Ruzzenenti P, Asperti M, Mitola S, Crescini E, Maccarinelli F, Gryzik M, et al. The Ferritin-Heavy-Polypeptide-Like-17 (FTHL17) gene encodes a ferritin with low stability and no ferroxidase activity and with a partial nuclear localization. *Biochimica et biophysica acta*. 2015;1850(6):1267-73. Epub 2015/03/10.
13. Broyles RH, Belegu V, DeWitt CR, Shah SN, Stewart CA, Pye QN, et al. Specific repression of beta-globin promoter activity by nuclear ferritin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2001;98(16):9145-50. Epub 2001/08/02.
14. Ponka P, Beaumont C, Richardson DR. Function and regulation of transferrin and ferritin. *Seminars in hematology*. 1998;35(1):35-54. Epub 1998/02/14.
15. Drakesmith H, Nemeth E, Ganz T. Ironing out Ferroportin. *Cell metabolism*. 2015;22(5):777-87. Epub 2015/10/07.
16. Geissler C, Singh M. Iron, meat and health. *Nutrients*. 2011;3(3):283-316. Epub 2012/01/19.
17. Fleming RE, Ponka P. Iron overload in human disease. *N Engl J Med*. 2012;366(4):348-59.
18. Brissot P, Pietrangelo A, Adams PC, de Graaff B, McLaren CE, Loreal O. Haemochromatosis. *Nature reviews Disease primers*. 2018;4:18016. Epub 2018/04/06.
19. Rifai N. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*: Elsevier Health Sciences; 2017.
20. Donker AE, Raymakers RA, Vlasveld LT, van Barneveld T, Terink R, Dors N, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of microcytic anemias due to genetic disorders of iron metabolism or heme synthesis. *Blood*. 2014;123(25):3873-86; quiz 4005. Epub 20140324.
21. Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochimica et biophysica acta*. 2012;1823(9):1434-43. Epub 2012/02/07.

22. Agarwal AK, Yee J. Hepcidin. *Advances in chronic kidney disease*. 2019;26(4):298-305. Epub 2019/09/04.
23. Muckenthaler MU, Galy B, Hentze MW. Systemic iron homeostasis and the iron-responsive element/iron-regulatory protein (IRE/IRP) regulatory network. *Annual review of nutrition*. 2008;28:197-213. Epub 2008/05/21.
24. Andriopoulos B, Jr., Corradini E, Xia Y, Faasse SA, Chen S, Grgurevic L, et al. BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nature genetics*. 2009;41(4):482-7. Epub 2009/03/03.
25. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *The Journal of clinical investigation*. 2004;113(9):1271-6. Epub 2004/05/05.
26. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *The Journal of clinical investigation*. 2002;110(7):1037-44. Epub 2002/10/09.
27. Adams PC, Barton JC. A diagnostic approach to hyperferritinemia with a non-elevated transferrin saturation. *Journal of hepatology*. 2011;55(2):453-8. Epub 2011/03/01.
28. Benyamin B, Esko T, Ried JS, Radhakrishnan A, Vermeulen SH, Traglia M, et al. Novel loci affecting iron homeostasis and their effects in individuals at risk for hemochromatosis. *Nature communications*. 2014;5:4926. Epub 2014/10/30.
29. Brissot P, LORHO R, GUYADER D, MOIRAND R, LOREAL O. Que faire devant une hyperferritinémie? Tirés à part: Pierre Brissot, Service des maladies du foie, hôpital Pontchaillou-Rennes 24e Journées nationales de formation continue en hépato-gastroentérologie des. 2006;18.
30. Tran-Viet KN, St Germain E, Soler V, Powell C, Lim SH, Klemm T, et al. Study of a US cohort supports the role of ZNF644 and high-grade myopia susceptibility. *Molecular vision*. 2012;18:937-44. Epub 2012/04/28.

31. Lorcerie B, Audia S, Samson M, Millière A, Falvo N, Leguy-Seguin V, et al. Démarche diagnostique devant une hyperferritinémie. *La Revue de médecine interne*. 2015;36(8):522-9.
32. Sun W, Xu J, Gu Y, Du C. The relationship between major intrinsic protein genes and cataract. *International ophthalmology*. 2021;41(1):375-87. Epub 2020/09/14.
33. Vujic M. Molecular basis of HFE-hemochromatosis. *Frontiers in pharmacology*. 2014;5:42. Epub 2014/03/22.
34. Asberg A, Thorstensen K, Hveem K, Bjerve KS. Hereditary hemochromatosis: the clinical significance of the S65C mutation. *Genetic testing*. 2002;6(1):59-62. Epub 2002/08/16.
35. Kwiatkowski JL, Cohen AR, Garro J, Alvarez O, Nagasubramanian R, Sarnaik S, et al. Transfusional iron overload in children with sickle cell anemia on chronic transfusion therapy for secondary stroke prevention. *American journal of hematology*. 2012;87(2):221-3. Epub 2011/11/29.
36. Moravikova J, Honzik T, Jadvidzakova E, Zdrahalova K, Kremlikova Pourova R, Korbasova M, et al. Hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome in three Czech families: molecular genetic testing and clinical implications. *Journal of AAPOS : the official publication of the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*. 2020;24(6):352 e1-e5. Epub 2020/11/23.
37. Suarez-Ortegon MF, Ensaldo-Carrasco E, Shi T, McLachlan S, Fernandez-Real JM, Wild SH. Ferritin, metabolic syndrome and its components: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2018;275:97-106. Epub 2018/06/11.
38. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature*. 2016;536(7616):285-91.
39. Mura C, Raguenes O, Ferec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis. *Blood*. 1999;93(8):2502-5. Epub 1999/04/09.
40. European Association For The Study Of The L. EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. *Journal of hepatology*. 2010;53(1):3-22. Epub 2010/05/18.

41. Gofeyz S, Lewis S, Weisberg IS. Hemochromatosis: pathophysiology, evaluation, and management of hepatic iron overload with a focus on MRI. *Expert review of gastroenterology & hepatology*. 2018;12(8):767-78. Epub 2018/07/03.
42. Pfeifer CD, Schoennagel BP, Grosse R, Wang ZJ, Graessner J, Nielsen P, et al. Pancreatic iron and fat assessment by MRI-R2* in patients with iron overload diseases. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2015;42(1):196-203. Epub 2014/09/23.
43. Wu XY, Lin L, Qi HY, Du R, Hu CY, Ma LN, et al. Association between Lipoprotein (a) Levels and Metabolic Syndrome in a Middle-aged and Elderly Chinese Cohort. *Biomedical and environmental sciences : BES*. 2019;32(7):477-85. Epub 2019/07/25.
44. Regenboog M, van Kuilenburg AB, Verheij J, Swinkels DW, Hollak CE. Hyperferritinemia and iron metabolism in Gaucher disease: Potential pathophysiological implications. *Blood reviews*. 2016;30(6):431-7. Epub 2016/06/07.
45. Mekinian A, Stirnemann J, Belmatoug N, Heraoui D, Fantin B, Fain O, et al. Ferritinemia during type 1 Gaucher disease: mechanisms and progression under treatment. *Blood cells, molecules & diseases*. 2012;49(1):53-7. Epub 2012/05/09.
46. Stirnemann J, Belmatoug N, Camou F, Serratrice C, Froissart R, Caillaud C, et al. A Review of Gaucher Disease Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatments. *International journal of molecular sciences*. 2017;18(2). Epub 2017/02/22.
47. Medrano-Engay B, Irun P, Gervas-Arruga J, Andrade-Campos M, Andreu V, Alfonso P, et al. Iron homeostasis and inflammatory biomarker analysis in patients with type 1 Gaucher disease. *Blood cells, molecules & diseases*. 2014;53(4):171-5. Epub 2014/08/26.
48. Zhang Y, He H, Zeng YP, Yang LD, Jia D, An ZM, et al. Lipoprotein A, combined with alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase, contributes to predicting the occurrence of NASH: a cross-sectional study. *Lipids in health and disease*. 2020;19(1):134. Epub 2020/06/13.
49. Ramesh G, Sai NVB, Gururaj P, Bhupal R, Patel N. Association of metabolic syndrome and level of hs-CRP, Lp(a), and serum ferritin in young Asian patients (≤ 45 years) with acute

myocardial infarction. *Interventional medicine & applied science*. 2018;10(2):65-9. Epub 2018/10/27.

50. Bermudez V, Rojas J, Salazar J, Bello L, Anez R, Toledo A, et al. Variations of lipoprotein(a) levels in the metabolic syndrome: a report from the Maracaibo City Metabolic Syndrome Prevalence Study. *Journal of diabetes research*. 2013;2013:416451. Epub 2013/05/28.

51. Redaelli C, Coleman RA, Moro L, Dacou-Voutetakis C, Elsayed SM, Prati D, et al. Clinical and genetic characterization of Chanarin-Dorfman syndrome patients: first report of large deletions in the ABHD5 gene. *Orphanet journal of rare diseases*. 2010;5:33. Epub 2010/12/03.

52. Cakir M, Bruno C, Cansu A, Cobanoglu U, Erduran E. Liver cirrhosis in an infant with Chanarin-Dorfman syndrome caused by a novel splice-site mutation in ABHD5. *Acta paediatrica*. 2010;99(10):1592-4. Epub 2010/06/10.

53. Karlberg N, Jalanko H, Kallijarvi J, Lehesjoki AE, Lipsanen-Nyman M. Insulin resistance syndrome in subjects with mutated RING finger protein TRIM37. *Diabetes*. 2005;54(12):3577-81. Epub 2005/11/25.

54. Sookoian S, Gianotti TF, Burgueno A, Pirola CJ. Gene-gene interaction between serotonin transporter (SLC6A4) and CLOCK modulates the risk of metabolic syndrome in rotating shiftworkers. *Chronobiology international*. 2010;27(6):1202-18. Epub 2010/07/27.

55. Benabdelkamel H, Masood A, Okla M, Al-Naami MY, Alfadda AA. A Proteomics-Based Approach Reveals Differential Regulation of Urine Proteins between Metabolically Healthy and Unhealthy Obese Patients. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(19). Epub 2019/10/19.

56. Christiansen G, Mohny BG. Hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome. *Journal of AAPOS : the official publication of the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus*. 2007;11(3):294-6. Epub 2007/06/19.

57. Williams SJ, Wreschner DH, Tran M, Eyre HJ, Sutherland GR, McGuckin MA. Muc13, a novel human cell surface mucin expressed by epithelial and hemopoietic cells. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(21):18327-36. Epub 2001/03/30.
58. Conrad ME, Umbreit JN. A concise review: iron absorption--the mucin-mobilferrin-integrin pathway. A competitive pathway for metal absorption. *American journal of hematology*. 1993;42(1):67-73. Epub 1993/01/01.
59. Simovich M, Hainsworth LN, Fields PA, Umbreit JN, Conrad ME. Localization of the iron transport proteins Mobilferrin and DMT-1 in the duodenum: the surprising role of mucin. *American journal of hematology*. 2003;74(1):32-45. Epub 2003/09/02.
60. Umbreit JN, Conrad ME, Hainsworth LN, Simovich M. The ferrireductase paraferitin contains divalent metal transporter as well as mobilferrin. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2002;282(3):G534-9. Epub 2002/02/14.
61. Umbreit JN, Conrad ME, Berry MA, Moore EG, Latour LF, Tolliver BA, et al. The alternate iron transport pathway: mobilferrin and integrin in reticulocytes. *British journal of haematology*. 1997;96(3):521-9. Epub 1997/03/01.
62. Conrad ME, Umbreit JN. Pathways of iron absorption. *Blood cells, molecules & diseases*. 2002;29(3):336-55. Epub 2003/01/28.

VU

NANCY, le **09 mars 2022**
Le Président de Thèse

NANCY, le **09 mars 2022**
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur Jean-Louis GUEANT

Professeur Marc BRAUN

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/ **12398C**

NANCY, le **14 mars 2022**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE,

Professeur Pierre MUTZENHARDT

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

L'hyperferritinémie est un désordre biologique fréquent aux étiologies nombreuses. Dans la majorité des cas, l'hyperferritinémie est réactionnelle (ex. étiologie inflammatoire, infectieuse, métabolique, toxique). Dans de rares cas, l'hyperferritinémie est d'origine génétique (primaire) et s'associera ou non à une surcharge martiale. En pratique clinique de routine, après l'exclusion des étiologies connues, il persiste une proportion non négligeable de patients pour lesquels l'étiologie de l'hyperferritinémie n'est pas univoque, voire non identifiée. L'objectif de la thèse était de réaliser une étude d'association de l'exome (*exome-wide association study*) afin d'évaluer les prédicteurs génétiques rares et fréquents potentiellement associés à la ferritinémie chez des patients pour lesquels les causes d'hyperferritinémies réactionnelles et génétiques connues ont été exclues. Nous avons appliqué une démarche méthodologique systématisée afin d'évaluer la pertinence des résultats, incluant notamment une évaluation de l'effet des variants mis en évidence sur les différents marqueurs du métabolisme martial en utilisant des approches fréquentiste et Bayésienne. Nous avons mis en évidence 11 variants génétiques potentiellement associés à la ferritinémie, dont un variant associé à un profil de surcharge martiale (*MUC13*). Nous avons pu évaluer nos résultats en lien avec le locus *MUC13* en utilisant un modèle murin *Muc13* knock-out. Les analyses menées sur le modèle animal *Muc13* KO ont confirmé l'association du locus *Muc13* avec le statut martial. Nos résultats tendent à montrer qu'il existe un lien entre le variant identifié sur le gène *MUC13* et le phénotype biologique de surcharge martiale via un accroissement de l'activité de la voie mucine-mobilferrine-intégrine. Les résultats observés chez l'homme nécessitent d'être validés dans une cohorte indépendante.

TITRE EN ANGLAIS

Exome-Wide Association Study Identifies Novel Loci Associated With Plasma Ferritin Levels and Highlights the Role of Mucin-Mobilferrin-Integrin Pathway (*MUC13*) in Iron Metabolism.

THÈSE : MÉDECINE, DES DE BIOLOGIE MÉDICALE, ANNÉE 2022

MOTS CLEFS :

Etude d'association par séquençage de l'exome ; Hyperferritinémie inexplicquée ; Métabolisme martial ; Hémochromatose ; Hpcidine ; Variants génétiques rares et fréquents ; Voie mucine-mobilferrine-intégrine.

INTITULÉ ET ADRESSE :

UNIVERISTÉ DE LORRAINE
Faculté de Médecine de Nancy

9, avenue de la forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex