

# La ferritine sérique dans les tumeurs solides. Résultats comparatifs à partir de quatre troussees du commerce

M.C. REVENANT<sup>1</sup>, C. CHARLIER DE BRESSING<sup>2</sup>, G. PLOMTEUX<sup>2</sup>,  
J.C. RYMER<sup>3</sup>, C. GUILLEMIN<sup>4</sup>, M. VERNET<sup>1</sup>

## RÉSUMÉ

La ferritine a été dosée avec quatre systèmes analytiques du commerce dans le sérum de 61 patients porteurs de tumeurs solides malignes d'origines diverses. Quelle que soit la trousse, les médianes sont significativement plus élevées chez les sujets porteurs de tumeurs solides que chez les sujets sains.

La dispersion des résultats constatée entre les troussees chez les sujets sains est retrouvée chez les sujets porteurs de tumeurs solides, avec des différences très importantes pour quelques sérums. Ceci peut être expliqué par la présence d'isoferritines acides produites par les cellules tumorales, isoferritines mal reconnues par les systèmes analytiques du commerce adaptés à l'exploration du métabolisme martial. L'utilisation du même système analytique est donc impératif pour assurer la surveillance de tels malades et pour interpréter les variations de la ferritinémie.

1. Hôpital de la Croix-Rouge, Laboratoire de Biochimie, 69317 LYON CEDEX 04.

2. CHU du Sart Tilman, Laboratoire de Toxicologie Clinique, 4000 LIÈGE, Belgique.

3. Centre Hospitalier Universitaire Henri-Mondor, Département de Biochimie, 94010 CRÉTEIL CEDEX.

4. Centre Régional de Transfusion Sanguine, Laboratoire de Chimie Hématologique, 54500 VANDŒUVRE-LÈS-NANCY.

## INTRODUCTION

La ferritine est une molécule de structure complexe formée par l'assemblage de 24 sous-unités protéiques de 2 types différents H et L en proportions variables, définissant ainsi toute une famille d'isoferritines. A l'état physiologique, la ferritine sérique possède beaucoup d'analogies structurales avec les ferritines tissulaires de foie et de rate où la sous-unité L basique est prépondérante [1].

L'augmentation de la concentration de la ferritine sérique n'est pas toujours liée à une surcharge en fer [2]. D'autres causes sont à l'origine d'hyperferritinémies telles que maladies malignes, hémopathies ou tumeurs solides. Au cours de ces affections, le profil des isoferritines se caractérise par une prédominance nette des ferritines acides où la sous-unité H est majoritaire [3].

La diversité des isoferritines entraîne la diversité potentielle des anticorps antiferritine utilisés dans les troussees commerciales. Le but de ce travail est d'étudier les variations de la ferritinémie chez des sujets porteurs de diverses tumeurs solides avec quatre troussees différentes. Ces quatre troussees ont été testées sur des sérums de sujets sains dans le cadre d'un contrat de recherche de la CNAM accordé à la commission « Fer et Protéines de transport » de la SFBC. Lors de ce travail, des écarts



significatifs ont été constatés entre les trousse sur un même sérum, soulignant la nécessité de bien connaître les valeurs de référence de la technique utilisée [4].

L'étude complémentaire présentée ici se propose de tester le comportement des réactifs pour les échantillons provenant de sujets sains et pour ceux provenant de sujets porteurs de tumeurs solides malignes.

Trois trousse utilisent le principe enzymo-immunométrique à 2 sites sur support solide, une trousse le principe radio-immunologique par compétition. Les caractéristiques des réactifs et les modes opératoires sont résumés dans le tableau I.

### Appareillage

Abbott : laveur automatique Qwik wash  
lecteur et calculateur Quantum II

Biotrol : lavage manuel Photon<sup>TM</sup>  
photomètre Hybritech immunoassay  
analyser

Boehringer : dosage automatisé sur ES 600

Clinical Assays-Baxter : lavage manuel  
compteur Gamma.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Réactifs, modes opératoires

Abbott : Ferrizyme, référence 1364-24.

Biotrol : Tandem-ferritine, référence 4144 BE.

Boehringer : Enzymum-test ferritine, référence 677337.

Clinical Assays-Baxter : Gamma Dab (<sup>125</sup>I) ferritine, référence CA-590.

### Sérums étudiés

61 sérums ont été dosés avec les quatre trousse. La répartition en fonction du sexe et de l'âge est la suivante :

– 36 femmes âgées de 35 à 88 ans dont 55 % ont plus de 60 ans,

– 25 hommes âgés de 18 à 81 ans dont 48 % ont plus de 60 ans.

Tableau I. – Caractéristiques des différentes trousse testées.

Laboratoire Coffret	ABBOTT Ferrizyme réf. 1364-24	BIOTROL Tandem-fer. réf. 4144BE	BOEHRINGER Enzymum test ferritine réf. 677337	CLINICAL ASSAYS/BAXTER Gamma Dab ( <sup>125</sup> I)ferritin réf. CA-590
Principe	sandwich 1 temps	sandwich 1 temps	sandwich 2 temps	compétition
1 <sup>er</sup> anticorps	polyclonal mouton billes revêtues	monoclonal souris billes revêtues	polyclonal mouton tubes revêtus	polyclonal lapin
2 <sup>e</sup> anticorps	polyclonal lapin	monoclonal souris	polyclonal mouton	agent précipitant : sérum de chèvre anti lapin
marqueur	peroxydase	phosphatase alcaline	peroxydase	<sup>125</sup> I
Nature de l'étalon	rate vs OMS 80-602	sérum vs OMS 80-602	foie vs OMS 80-602	foie
Temps, température des réactions immunologiques	1 heure température ambiante agitation	1 heure température ambiante agitation	1 heure + 1 heure température ambiante	30' + 5' à 37 °C
Volume échantillon ( $\mu$ l)	25	25	20 (100)	25
Nombre d'étalons concentration ( $\mu$ g/l)	7 0, 10, 50, 100, 200, 400, 800*	2 0,250	7 Env. 1, 10, 20, 50, 200, 500, 800	6 0, 5, 20, 50, 200, 500
Contrôles inclus dans le coffret Concentration ( $\mu$ g/l)	0	2 25-100	0	2 10-100
Révélation	orthophénylène diamine	paranitrophényl- phosphate	acide azino 2,2' diéthyl 3 benzothiazoline sulfonique 6	compteur gamma

\* Étalon 800 non utilisé en pratique.



Les sujets concernés sont atteints de tumeurs solides d'origines diverses :

gynécologique : sein = 22 ; ovaire = 3 ; utérus = 1 ;  
 digestive : colon = 6 ; rectum = 3 ;  
 œsophage = 2 ; foie = 2 ;  
 pancréas = 1 ; grêle = 1 ; anus = 1 ;  
 pulmonaire : poumons, bronches = 6 ;  
 vessie : 4 ;  
 ORL : 3 ;  
 autres : 6 (peau, testicule, parotides, etc.).

## RÉSULTATS

Pour chaque trousse, les médianes des ferritinémies ont été établies en fonction du sexe. Elles sont comparées aux médianes obtenues chez les sujets sains (n = 107) lors du contrat de recherche précité. Les résultats sont indiqués dans le tableau II.

Quelle que soit la trousse, on observe des médianes significativement plus élevées chez les sujets porteurs de tumeurs solides que chez les sujets sains.

Les calculs ont été faits pour l'ensemble des tumeurs solides et pour le groupe le plus important d'entre elles constitué par les cancers du sein.

Les calculs statistiques de comparaison de méthodes (droites d'allométrie) ont été réalisés parallèlement à ceux établis pour les sujets sains. Les résultats sont indiqués dans le tableau III. Il y a une assez grande identité de comportement entre les sérums des sujets sains et ceux des sujets porteurs de tumeurs solides lorsque l'on observe les comparaisons Abbott/Biotrol et Boehringer/Biotrol : les valeurs des pentes et des coefficients de corrélation sont voisines ; on note une augmentation de l'ordonnée à l'origine en fonction de la concentration moyenne de ferritine. En ce qui concerne le réactif Clinical Assays/Baxter, il semble y avoir une différence de comportement entre les sérums des sujets sains et ceux des sujets pathologiques, surtout lorsque l'on considère l'ensemble des tumeurs solides : pente plus basse, ordonnée à l'origine élevée. Ce phénomène est lié à un sérum provenant d'un sujet ayant un hépatocarcinome pour lequel la ferritinémie est beaucoup plus élevée avec le réactif Clinical Assays/Baxter qu'avec les trois autres réactifs (1 800 µg/l contre 777, 826 et 1 035 µg/l pour Abbott, Biotrol et Boehringer respectivement). Dans notre étude, le groupe individualisé des cancers du sein semble avoir un comportement assez proche de celui des sujets sains.

Tableau II. — Comparaison des médianes de ferritinémies exprimées en µg/l en fonction du sexe (sujets sains, tumeurs solides)

		ABBOTT	BIOTROL	BOEHRINGER	CLINICAL ASSAYS BAXTER
<b>HOMMES</b>					
Sujets sains 20 à 60 ans n = 23	Médiane	86	126	144	132
	Extrême Bas	16	21	31	37
	Extrême Haut	275	317	370	380
Tumeurs solides n = 25	Médiane	159	173	217	160
	Extrême Bas	15	21	24	16
	Extrême Haut	951	1007	1245	1300
<b>FEMMES</b>					
Sujets sains 18 à 40 ans n = 40	Médiane	16	28	26,5	26,5
	Extrême Bas	1	2	3	2
	Extrême Haut	47	65,5	88	76
> 40 ans non ménopausées n = 19	Médiane	28	40	39	38
	Extrême Bas	1	2	3	2
	Extrême Haut	102	140	191	117
> 40 ans ménopausées n = 25	Médiane	54	83	84	72
	Extrême Bas	2	9	8	1,5
	Extrême Haut	208	230	323	260
Tumeurs solides n = 36	Médiane	138,5	184	182,5	180
	Extrême Bas	16	21	26	28
	Extrême Haut	777	826	1035	1800
Cancers du sein n = 22	Médiane	113,5	162,5	147,5	132,5
	Extrême Bas	16	21	26	28
	Extrême Haut	445	529	604	500



Tableau III. — Comparaison des résultats obtenus avec quatre trousse de ferritine chez les différents groupes de sujets étudiés.

Comparaison étudiée x/y	mx ( $\mu\text{g/l}$ )	my ( $\mu\text{g/l}$ )	sx ( $\mu\text{g/l}$ )	sy ( $\mu\text{g/l}$ )	Équation droite d'allométrie	r
<b>Sujets sains</b> n = 107						
Abbott/Biotrol	51,2	68,3	54,5	62,9	$y = 1,154x + 9,3$	0,957
Boehringer/Biotrol	79,2	68,3	78,9	62,9	$y = 0,797x + 5,2$	0,956
Cl. Assays-Baxter/Biotrol	72,8	68,3	71,2	62,9	$y = 0,883x + 4,1$	0,951
<b>Tumeurs solides</b> n = 61						
Abbott/Biotrol	214	258	194	207	$y = 1,067x + 30$	0,984
Boehringer/Biotrol	284	258	240	207	$y = 0,862x + 13$	0,981
Cl. Assays-Baxter/Biotrol	281	258	296	207	$y = 0,699x + 62$	0,905
<b>Cancers du sein</b> n = 22						
Abbott/Biotrol	140	185	112	136	$y = 1,214x + 15$	0,976
Boehringer/Biotrol	198	185	157	136	$y = 0,866x + 14$	0,990
Cl. Assays-Baxter/Biotrol	187	185	146	136	$y = 0,931x + 11$	0,968

### Étude graphique de quelques cas

Quelques exemples des valeurs de ferritine obtenues avec les différents réactifs sont représentés graphiquement, illustrant la variabilité inter-trousses.

La figure 1 montre 6 cas de cancers d'origine digestive : foie = 2 ; œsophage = 2 ; colon = 1 ; rectum = 1. Pour un des cas d'hépatocarcinomes, les valeurs de ferritine sont très différentes d'une trousse à l'autre (valeurs allant de 777  $\mu\text{g/l}$  à 1 800  $\mu\text{g/l}$ ). Les deux cas de cancers de l'œsophage correspondent au même malade pour lequel les ferritines ont été dosées à deux moments différents : on peut observer un certain parallélisme entre les deux graphiques.

La figure 2 montre 6 cas de cancers d'origine diverse, non digestive : bronches = 2 ; sein = 2 ; ovaires = 1 ; ORL = 1. Les deux cas de cancers des bronches correspondent au même malade à deux moments différents : comme dans le cas précédent, il y a un certain parallélisme entre les deux graphiques.

— d'une augmentation de la teneur en fer tissulaire liée à une érythropoïèse souvent insuffisante chez ces malades,

— d'une diminution de la clairance hépatique lors d'insuffisance hépato-cellulaire associée,

— d'une surcharge post-transfusionnelle.

Par ailleurs, bien que les tumeurs solides cancéreuses atteignent des patients de tout âge, celles-ci correspondent globalement dans notre étude à une pathologie du sujet âgé (âge médian = 60 ans). Une augmentation des concentrations de ferritine est observée dans la population âgée, augmentation non pas liée à l'âge, mais aux diverses pathologies particulières associées à l'âge (syndrome inflammatoire, maladies cardiovasculaires, affections rénales) [6].

La sécrétion de ferritine directement par la tumeur serait dans un certain nombre de cas, en particulier dans les hépatocarcinomes, dans certaines leucémies, une sécrétion d'isoferritines acides contenant moins de 20 % de sous-unités L, très pauvres en fer. Ces isoferritines ne sont reconnues que partiellement par les antisérums anti-ferritine hépatique [7, 8].

### DISCUSSION

La ferritinémie des sujets atteints de tumeurs solides est significativement plus élevée que celle des sujets sains.

L'hyperferritinémie des malades cancéreux peut résulter [5] :

— d'une production directe par les cellules tumorales,

— d'une libération accrue par les tissus non tumoraux plus ou moins lésés par le développement de la tumeur,

— d'une augmentation de synthèse par les cellules du système des phagocytes mononucléés associée à un syndrome inflammatoire,

Les principales trousse de commerce ne sont donc pas bien adaptées pour reconnaître les isoferritines acides [9]. Cependant, il semble que certaines d'entre elles montrent une sensibilité plus importante aux tumeurs solides que d'autres : à titre d'exemple, dans un hépatocarcinome, la ferritine a été trouvée à 777  $\mu\text{g/l}$  avec Abbott, 826  $\mu\text{g/l}$  avec Biotrol, 1 035  $\mu\text{g/l}$  avec Boehringer et 1 800  $\mu\text{g/l}$  avec Clinical Assays/Baxter. Les anticorps de ce dernier réactif permettent-ils de reconnaître un profil plus large d'isoferritines ? Le principe du dosage intervient-il ? Il s'agit d'une technique par compétition, alors que les trois autres réactifs proposent une technique sandwich. L'échantillon testé est insuffisant pour pouvoir conclure que le réactif Clinical Assays-Baxter reconnaît mieux les isoferritines acides que les trois autres réactifs.



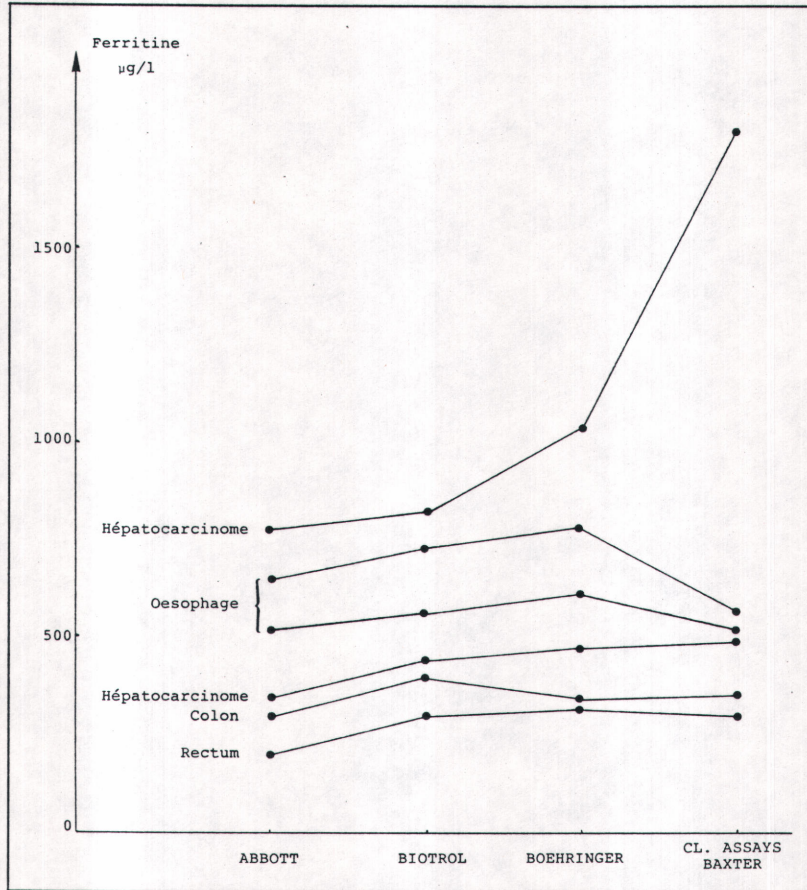


Fig. 1. — Représentation graphique des concentrations de ferritine sérique obtenues avec 4 trousse du commerce dans 6 cas de cancers d'origine digestive.

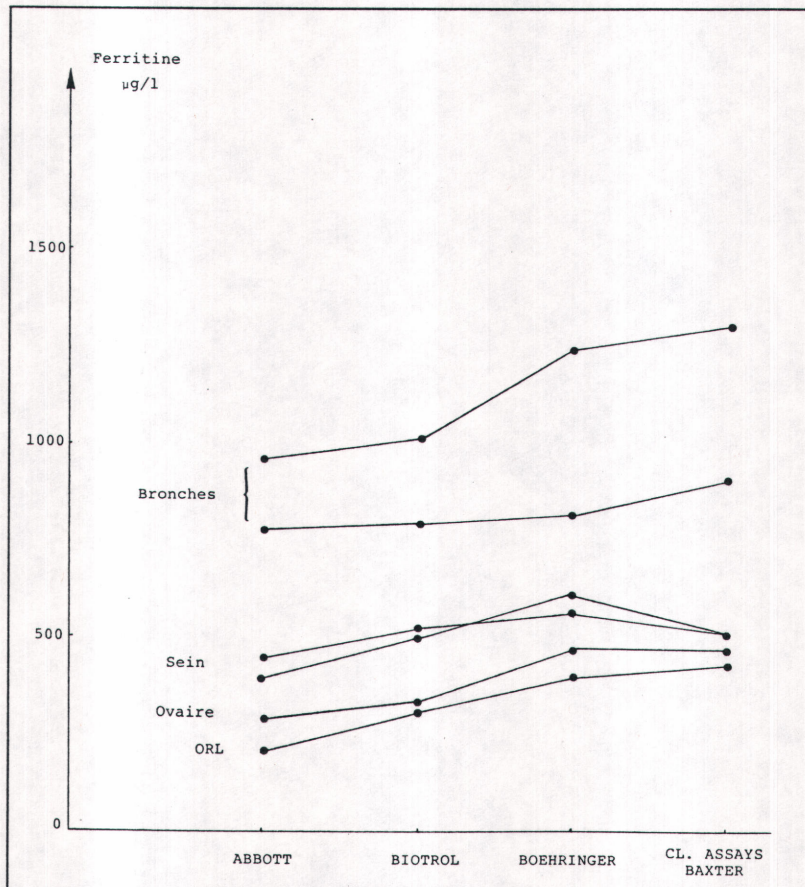


Fig. 2. — Représentation graphique des concentrations de ferritine sérique obtenues avec 4 trousse du commerce dans 6 cas de cancers d'origine diverse, non digestive.



De nombreux auteurs [3, 10, 11] pensent que l'hyperferritinémie observée lors des tumeurs solides est liée à la présence de métastases. La détermination de la ferritine ne présenterait pas un grand intérêt lors du diagnostic des cancers du sein ; par contre, elle serait un des éléments intéressants pour la surveillance de l'évolution de la maladie cancéreuse et particulièrement pour le diagnostic de l'apparition d'une métastase. Par ailleurs, selon Claustres et coll. [10], la teneur en ferritine des tissus tumoraux est en moyenne 4,5 fois plus élevée que celle des tissus normaux.

#### Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la Commission « Fer et Protéines de transport » de la SFBC (Président : M. Vernet). Nous remercions les différents membres de la Commission pour l'aide qu'ils nous ont apportée.

#### CONCLUSION

La pathologie tumorale est une des nombreuses causes d'hyperferritinémies. Il serait souhaitable de pouvoir disposer de trousse adaptées à ce type de pathologie avec une meilleure reconnaissance des isoferritines acides. La dispersion des résultats entre les différentes trousse impose d'assurer le suivi d'un malade avec le même système.

#### Références

1. Worwood M. — Serum ferritin. *Clin. Science*, 1986, 70, 215-220.
2. Vernet M. — Ferritine : aspects techniques, place de cet examen dans l'exploration du métabolisme du fer et dans diverses pathologies. *Feuillets de Biologie*, 1989, XXX, n° 166, 35-42.
3. Damour O., Dellamonica C., Vernet M., Collombel C., Lasne Y. — Ferritines et isoferritines tissulaires et circulantes. *Pathol. Biol.*, 1986, 34, 131-143.
4. Revenant M.C., Plomteux G., Charlier C., Vernet M., Guillemin C., Paris M., Pressac M., Rymer J.C. — Influence des réactifs utilisés pour le dosage de la ferritine sérique sur la dispersion des résultats. Communication affichée présentée lors du Colloque sur les carences en fer et en folates. Paris, juillet 1989.
5. Vernet M. — La ferritine : marqueur tumoral ? *Lyon Pharmaceutique*, 1990, 41, 137-140.
6. Touitou Y., Proust J., Carayon A., Klinger E., Nakache J.P., Huard D., Sachet A. — Plasma ferritin old age. Influence of biological and pathological factors in a large elderly population. *Clin. Chim. Acta*, 1985, 149, 37-45.
7. Hazard J.T., Yokota M., Arosio P., Drysdale J.W. — Immunologic differences in human isoferritins : implications for immunologic quantitation of serum ferritin. *Blood*, 1977, 49, 139-146.
8. Roberts D.D., Drysdale J.W. — Immunoreactivities of human isoferritins. *Clin. Chim. Acta*, 1985, 150, 41-51.
9. Rymer J.C., Vernet M. — Dosage de la ferritine sérique. Qualités et défauts. *Immunoanal. Biol. Spec.*, 1990, 19, 51-55.
10. Claustres M., Belaroussi N., Guilleux F., Magnan de Bornier B. — Ferritine et cancer du sein. *Pathol. Biol.*, 1984, 32, 265-268.
11. Pavesi F., Lotzniker M., Marbello L., Garbagnoli P., Acquistapace L., Moratti R. — Serum ferritin as a tumor marker in patients with solid neoplasms. *Haematologica*, 1987, 72, 415-419.