

LE GANGLION SENTINELLE : ASPECTS ANATOMO-PATHOLOGIQUES

Frédérique PENAULT-LLORCA
Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand

Situation du problème

Le ganglion sentinelle est le premier ganglion recevant le drainage lymphatique à partir d'une tumeur. Sa détection peut se faire à l'aide d'un colorant ou d'un produit radioactif colloïde ou des deux. L'étude morphologique de ce ganglion peut révéler une métastase. Cette constatation implique la totalisation du curage ganglionnaire.

Métastases ganglionnaires

Les ganglions jouent un rôle essentiel dans le contrôle de la progression tumorale. En réponse à l'antigénicité des cellules tumorales, les ganglions régionaux peuvent initier et développer des réactions immunitaires. En même temps, ils peuvent capter les cellules tumorales circulantes. Agissant comme « barrière » ils peuvent soit les détruire complètement ou au moins arrêter temporairement leur progression.

Les métastases ganglionnaires lymphatiques sont le reflet de la diffusion et de la prolifération de cellules venues de la tumeur primitive par les canaux lymphatiques afférents et retenues dans les sinus ganglionnaires. Classiquement le premier ganglion de drainage se comporte comme un « filtre ». Tant qu'il n'est pas débordé par un afflux massif de cellules néoplasiques issues de la tumeur primitive, il formera un barrage efficace. La dissémination s'effectue de proche en proche par embols dans les vaisseaux lymphatiques efférents. Dans les ganglions, les cellules tumorales colonisent dans un premier temps le sinus périphérique, puis elles pénètrent le ganglion par les sinus médullaires, la médullaire et le cortex. Dans certains cas, cela aboutit à l'effacement complet du parenchyme ganglionnaire par le processus métastatique. Une dissémination extra ganglionnaire est également possible après rupture de la capsule ganglionnaire et atteinte de l'atmosphère cellulo-adipeuse péri-ganglionnaire.

Cependant, l'observation de ganglions distaux envahis (skip métastases) alors que les premiers ganglions du relais sont indemnes, suggère l'implication d'autres mécanismes. Des métastases rétrogrades, controlatérales ou paradoxales sont parfois rencontrées. Elles peuvent s'expliquer par des shunts, des blocages circulatoires (dans certains ganglions envahis) ou par des particularités immunologiques de certaines cellules tumorales. En fait, les vraies skip métastases resteraient rares (2 à 3%)(Mc Masters 1998). Dès que l'on pratique un examen histopathologique poussé sur le ganglion sentinelle, le taux de skip métastases diminue en moyenne de 10%.

Micrométastases, intérêt de l'étude du ganglion sentinelle

L'envahissement partiel d'un ganglion sous la forme d'embols sous capsulaires et/ou de micrométastases corticales a une valeur pronostique controversée. Une compilation récente de la littérature à ce sujet (F Bertrand 1998) montre néanmoins une nette tendance à une valeur pronostique péjorative de la mise en évidence de micrométastases axillaires dans les séries importantes de carcinomes mammaires (> 100 patientes) surtout si le recul est suffisant cinq voire dix ans (Dowlatshahi 1997 pour revue). L'effet observé est une baisse d'environ 10 % de la survie globale à 10 ans. Certains auteurs (Harveit et Lilleng 1996) soulignent également le fait que les embols sous capsulaires et les métastases dans le tissu lymphoïde n'auraient pas la même valeur pronostique, les embols étant plus péjoratifs. Ceci pourrait expliquer, en partie, les différences de survie observées dans la littérature, les critères histopathologiques définissant la micrométastase n'étant pas consensuels. Selon Rosen, une micrométastase se définit comme la présence d'amas de cellules néoplasiques d'un diamètre maximal de 2 mm, à l'opposé une macrométastase est réalisée par la présence d'amas de cellules néoplasiques de plus de 2 mm.

Ce qui apparaît le plus important dans la détection des micrométastases, c'est la prise en charge du ganglion par le pathologiste. L'étude histopathologique classique des ganglions d'un curage sous estime les micrométastases. Les séries où les ganglions sont étudiés de façon extensive, montrent plus souvent une valeur péjorative de la présence de micrométastases (Dowlatshahi 1997 et Bertrand 1998 pour revue). De nombreux travaux ont montré que la pratique de coupes sériées et/ou d'une réaction immunohistochimique (anti-cytokératine pour les carcinomes mammaires ou anti-HMB45 pour les mélanomes, par exemple), augmentait considérablement le seuil de détection d'un envahissement ganglionnaire (de 9 à 33 % dans le cancer du sein). Cependant de tels protocoles ne sont pas réalisables sur l'ensemble du curage ganglionnaire, pour des raisons évidentes de coût et de temps technique et médical, lié au nombre important de plans de coupe à étudier (Cox et coll 1998).

Par contre, cette approche pourrait être particulièrement adaptée à l'étude du ganglion sentinelle, puisque la présence d'un envahissement, même occulte dans ce ganglion, indique un curage. Le but de cette approche extensive va être d'obtenir des renseignements pertinents sur le ganglion sentinelle et donc sur le reste de du curage. Le paramètre le plus intéressant à étudier sera le taux de faux négatifs de cette méthode (c'est à dire le nombre de cas où le curage renferme des métastases avec un ganglion sentinelle négatif). Ils conduisent à une sous-stadification des patients et à une prise en charge thérapeutique insuffisante.

Protocoles d'étude du ganglion sentinelle

Le ganglion sentinelle est transmis séparément du reste du curage au pathologiste, à l'état frais de préférence. Il sera étudié en fonction des protocoles de recherche selon différentes techniques qui seront détaillées plus bas. Les autres ganglions du curage seront bien sûr soumis à une étude histo-pathologique conventionnelle : l'idéal étant l'inclusion en totalité des adénopathies, si possible une par cassette d'inclusion. Les ganglions les plus volumineux sont tranchés avant inclusion.

Plusieurs protocoles ont été développés. A l'heure actuelle il n'existe pas de consensus pour l'étude anatomopathologique des ganglions sentinelles.

Examen macroscopique

Cette étape, fondamentale dans l'étude des tumeurs est décevante pour l'évaluation d'un envahissement ganglionnaire. Certains ganglions macroscopiquement normaux se révèlent massivement envahis. D'autres sont en involution adipeuse. Enfin, parfois, un conglomérat induré et adhérent est observé. Seule une étude microscopique, menée dans des conditions optimisées, permettra une évaluation rigoureuse et précise du degré d'invasion ganglionnaire. Il n'apparaît pas y avoir de lien entre la taille du ganglion sentinelle et le risque d'invasion.

Si l'on a utilisé un colorant, il est important de noter la couleur du ganglion sentinelle (bleu, ardoise), qui témoigne d'une bonne diffusion du produit.

Examen extemporané

La pratique d'un examen per opératoire du ganglion sentinelle a fait l'objet de plusieurs études et est à l'origine de nombreuses controverses. Pouvoir déterminer lors de l'intervention chirurgicale, le niveau d'envahissement du ganglion sentinelle serait idéal en particulier dans la prise en charge des mélanomes où la détection du ganglion sentinelle est devenu un standard thérapeutique. Cependant, nous l'avons vu, les critères macroscopiques ne sont pas fiables, les ganglions repérés peuvent être volumineux (10 mm ou plus) et la pratique d'appositions ou de coupes à congélation risque de sous estimer grandement le degré d'envahissement ganglionnaire. En fait l'examen extemporané n'a de valeur que positive. Selon les séries 20 à 40 % de faux négatifs (métastases ganglionnaire dans le ganglion après inclusion en paraffine et immunohistochimie) sont retrouvés. Certains auteurs ont alors cherché à augmenter cette sensibilité en réalisant soit une étude extensive du ganglion sur coupe à congélation et/ou une étude immunohistochimique rapide lors de l'examen extemporané. Par exemple Orvietto et coll (1998) réalisent deux séries de 15 plans de coupes sur le ganglion sentinelle au microtome à congélation chez 119 patientes atteintes de cancer du sein. Quinze coupes sont colorées par HES en technique rapide et une technique immunohistochimique rapide par la cytokératine (EPOS, Danemark) est appliquée aux 15 plans adjacents. Avec cette technique, 54 patientes présentaient des métastases du ganglion sentinelle (43,5%) dont 14 micrométastases. Le taux de faux négatifs avec cette technique est alors de 4% seulement et la sensibilité de 91,5%. Cependant ce type d'approche n'est pas réalisable en routine. Un technicien et un pathologiste sont mobilisés pendant plus d'une heure. Le coût (15 réactions immunohistochimiques) est trop important pour une réaction ne présentant qu'une valeur prédictive négative de 93%.

Examen microscopique

Pour le mélanome malin, la technique est en général réalisée en deux temps (détection du ganglion sentinelle, biopsie exérèse, étude anatomopathologique classique et immunohistochimie, Morton et coll (1997), dans une série de 237 patients retrouvent des métastases dans 21% des cas. Le taux de faux négatifs est de moins de 1% (curage envahi et ganglion sentinelle sain). Dans une revue récente (Bilchick et coll 1998) les auteurs comparent la rentabilité de l'examen du ganglion sentinelle dans différentes pathologies néoplasiques (cancer du sein, cancer de la thyroïde, du colon etc...) par rapport au mélanome. Le ganglion sentinelle a été identifié dans 96% des patients contre 98% des mélanomes (MMC). Dans 36% des cas le ganglion sentinelle était le seul ganglion positif (71% MMC). Dix-huit pour cent des métastases dans les ganglions sentinelles ont été détectées par immunohistochimie (15% MMC).

Dans le cancer du sein, certains auteurs étudient le ganglion sentinelle de façon routinière, classique (Krag et coll 1998, Salmon et coll 1998) : un ou deux niveaux de coupe et pas de recoupes profondes. Leurs taux de faux négatifs est de 8 à 11 %. D'autres préconisent l'examen en coupe sériées d'un ganglion au préalable coupé perpendiculairement au grand axe en tranches de 2 mm (Dowlath et coll 1998). Les coupes sériées sont étudiées tous les 0,25mm. Une immunodétection à l'aide d'un anticorps anti-cytokératine est alors réalisée. Des métastases occultes ont été retrouvées dans 52% des cas (24/46). Il n'y a pas de faux négatifs dans cette étude et de plus 12 des 46 patientes (26 %) ont été sur-stadifiées grâce à l'immunohistochimie puisque leur métastase n'était pas détectable sur les colorations standards. Entre ces deux attitudes opposées, un équilibre raisonnable consisterait à réaliser un échantillonnage du ganglion sur 3 niveaux de coupes et à réaliser dans la mesure du possible un examen immunohistochimique. Ce dernier va entraîner un surcoût à l'examen anatomopathologique (P300+(n-1)PHN 300) qui devra être pris en compte si l'approche se développe. L'équipe de A Guiliano (1997) réalise trois niveaux de coupe par ganglion coupé en deux, soit six niveaux d'examen. Un niveau examiné en extemporané (coupes à congélation), un niveau en HES classique (coupes en paraffine) et un niveau par immunohistochimie. Les sensibilités, spécificités et valeurs prédictives (positives et négatives) de la technique sont de 100%. Les auteurs comparent ces résultats à leur étude initiale de 1994. Cent soixante quatorze personnes étaient évaluées et la sensibilité de la technique était seulement de 88 %, la spécificité de 100, la valeur prédictive positive de 100 et la

valeur prédictive négative de 94%. Dans cette étude initiale, le taux de 11,9% de faux négatifs est à mettre sur le compte du manque de technicité de l'équipe au début de l'étude (chirurgiens, pathologistes).

Une étude récente, évalue la stratégie d'étude en anatomie pathologique des ganglions sentinelles, d'après un calcul mathématique évaluant la probabilité de trouver une métastase sur un plan de coupe (Meyers 1998). L'auteur démontre que pour trouver des métastases avec une probabilité d'environ 1.0, deux coupes par blocs sont nécessaires si la métastase mesure 1 mm de diamètre, 4 si elle mesure 0,5 mm, 8 si elle mesure 0,25 et 16 si elle mesure 0,125mm. En réalisant un examen immunohistochimique, la sensibilité de l'examen est augmentée. Le temps technique pour réaliser 8 niveaux de coupe sur le ganglion est évalué à 15 minutes.

Turner et coll (1997) ont évalué la pertinence éventuelle d'une étude exhaustive du reste du curage identique à celle pratiquée pour le ganglion sentinelle, pour la détection de faux négatifs (curage envahi et ganglion sentinelle négatif). Dans leur série de 103 patientes, un seul faux négatif était retrouvé après immunohistochimie sur l'ensemble des ganglions des curages (1087). La pratique d'un examen immunohistochimique sur les ganglions du curage a entraîné un taux de conversion de 0,09% (1/1087 ganglions) contre un taux de conversion de 6,4% (10/157) des ganglions sentinelles.

Pour Chu et A Guylain (1998), l'étude du ganglion sentinelle peut donner des indications sur le reste du curage axillaire. Ils montrent sur une série de 158 cas que la taille (>2mm) et le nombre de ganglions sentinelles envahis (>1) sont corrélés à la présence d'un envahissement axillaire d'au moins quatre ganglions.

Biologie moléculaire

La recherche de micrométastases peut être effectuée à l'aide de techniques de RT-PCR (Reverse transcriptase polymerase chain reaction). Avec l'évolution des techniques les prélèvements utilisés pour la biologie moléculaire sont aujourd'hui de très petite taille et ne compromettent pas trop l'étude morphologique. Bostick et coll (1998) travaillent sur des plans de coupes à congélation de 16 µm consécutifs à des coupes colorées de 4 µm. La perte de matériel dédié à l'examen morphologique est donc équivalente à 4 niveaux de coupe standard. Par rapport aux techniques publiées précédemment (Schoenfeld et coll 1996) qui sacrifiaient la moitié du ganglion, l'évaluation du gain de sensibilité par RT-PCR est plus juste. Bostick et coll (1998) retrouvent ainsi 43 % de micrométastases ganglionnaire contre 30% par combinaison coloration standard et immunohistochimie. Cependant le choix des marqueurs utilisés pour la RT-PCR restent source de controverses, le taux de faux positif est de l'ordre de 10% (transcription aberrante de la cytokératine, détection d'inclusions épithéliales bénignes intra-ganglionnaires). Ces techniques, très prometteuses sont encore en cours de validation et de standardisation.

Commentaires et conclusion

A la lecture de la littérature, il semble admis que les efforts du pathologiste doivent se concentrer sur le ou les ganglions sentinelles. Si le ganglion sentinelle est non métastatique sur les colorations classiques et après immunohistochimie, la probabilité d'un envahissement des ganglion non sentinelle est inférieure à 0,1% (McIntosh et Purushotham, 1998).

Standard : étude microscopique du ganglion sentinelle coupé en deux sur trois niveaux

Option : examen extemporané, immunohistochimie du ganglion sentinelle, du reste du curage, biologie moléculaire

Recommandations : étude microscopique du ganglion sentinelle coupé en deux sur trois niveaux et immunohistochimie sur un plan de coupe.

Bibliographie

- Bertrand F, Sem Hôp Paris 1998, 74, 1198-1202
- Bilchik AJ et coll, Cancer J Sci Am, 1998, 4, 351-358
- Bostick PJ et coll. Int J Cancer (predictive Oncology) 1998, 79, 645-651
- Chu K et Guiliano AE, Breast Cancer Res Treat, 1998, 50, 285; #209
- Cox CE et coll Annals of Surgery, 1998, 227, 645-653
- Dowlatsahi K et coll, Cancer, 1997, 80, 1188-1197
- Downlat K, Breast Cancer Res Treat, 1998, 50, 260; #217
- Guiliano AE et coll J Clin Oncol, 1997, 15, 2345-2350
- Harveit F et Lilleng PK, Histopathology, 1996, 28, 241-246
- Krag D et coll, N Engl J Med, 1998, 339, 941-946
- Mc Intosh AS et Purushotham, British journal of Surgery, 1998, 85, 1347-1356
- Mc Masters KM et coll, N Engl J Med, 1998, 339, 990-995
- Meyer JS, Breast Cancer Res Treat, 1998, 50, 286; #213
- Morton DL, J Surg Oncol, 1997, 66, 267-269
- Orvietto E, Arch Anat Cytol Path Clin Exp Path, 1998, 46, 311, #143
- Salmon Rj et Fried D, Presse Med, 1998, 27, 509-512
- Schoenfeld A, Br J cancer, 1996, 74, 1639-1642
- Turner RR et coll, Annals of Surgery, 1997, 226, 271-278
- Veronesi U et coll Lancet, 1997, 349, 1864-1867