

Ganglion sentinelle axillaire : contribution de l'examen extemporané

Axillary sentinel lymph node: role of intraoperative examination

M. ANTOINE *, J. GONIN, B. POULET
(Paris)

Résumé

Le ganglion sentinelle est devenu le référentiel du mode d'exploration des ganglions de l'aisselle dans la prise en charge des cancers du sein de petite taille (T1 et T2 < 3 cm) cNO. L'exploitation anatomopathologique n'est toutefois pas uniforme de même que la pratique éventuelle du curage secondaire ou la décision de la chimiothérapie. Après un rappel des standards de l'examen pathologique du curage axillaire, nous discuterons de la place de l'examen préopératoire et peropératoire et de ses modalités, ainsi que de la prise en charge histologique définitive et de la nomenclature des métastases. Le choix de la procédure peropératoire doit toutefois tenir encore compte de l'incertitude de pouvoir se passer d'un curage axillaire en cas de micrométastases (et de cellules isolées) et de la signification exacte de la valeur pronostique de ces métastases occultes.

Mots clés : ganglion sentinelle, cancer du sein, examen extemporané, biologie moléculaire

* Hôpital Tenon - Service d'anatomie pathologique - Assistance Publique-Hôpitaux de Paris - 4 rue de la Chine - 75020 Paris

Correspondance : martine.antoine@tnn.aphp.fr

Abstract

The technique of sentinel node is actually recommended for patients with T1 or T2 < 3cm breast cancer with clinically node negative disease. Pathologic examination is however not uniform and it was the same for the decision of axillary lymph node dissection or the prescription of chemotherapy. We review in this article the modality of pathologic assessment of axillary lymph node and discuss the different methods of the peroperative procedures of sentinel node examination. However, the final choice of methodology probably needed that a clear option was chosen in terms of role and utility of completion of axillary dissection and of prognostic meaning of occult metastasis.

Keywords: sentinel lymph node, axillary lymph node, breast carcinoma, intra-operative examination, molecular biology

Déclaration publique d'intérêt

Je soussignée, Dr Martine Antoine, déclare ne pas avoir d'intérêt direct ou indirect avec un organisme privé ou industriel ou commercial en relation avec le sujet présenté.

INTRODUCTION

L'envahissement ganglionnaire axillaire est un facteur pronostique majeur dans le cancer du sein. La biopsie du ganglion sentinelle (GS) a prouvé son innocuité et sa validité pour l'évaluation initiale du statut ganglionnaire et a remplacé durant la dernière décennie la dissection axillaire dans les cancers du sein débutants comme en témoigne la diffusion de la technique : 26,8 % d'utilisation en 1998 à 65,5 % d'utilisation en 2005 [1, 2]. Mais cette technique a simultanément, du fait de l'examen anatomopathologique plus approfondi sélectif réalisé, augmenté le taux d'envahissement ganglionnaire, sans que la signification pronostique de ces cellules parfois en nombre faible dans le ganglion (15 % de micrométastases dans le ganglion sentinelle) soit parfaitement connue. Dans cette évaluation histologique, la place d'une

éventuelle détection peropératoire par technique classique ou moléculaire des métastases doit être évaluée en fonction des avantages et inconvénients de ces techniques mais également du recrutement des centres et de la stratégie adoptée en termes de complément par curage axillaire et des indications de chimiothérapie ainsi que d'impératifs médico-économiques.

I. « GOLD STANDARD » : L'EXAMEN DES GANGLIONS DU CURAGE AXILLAIRE

L'envahissement ganglionnaire axillaire est estimé par dissection du curage axillaire pour isoler macroscopiquement tous les ganglions. Après avoir été sectionnés en tranches macroscopiques (2 à 3 mm), ces ganglions sont alors inclus en totalité, dans un ou plusieurs blocs selon leur taille, blocs qui font l'objet d'une coupe (épaisseur 4 à 5 microns) et coloration en hémateïne éosine safran (HES). Le nombre de ganglions axillaires doit être au minimum de 10. La pratique de coupes sériées sensibilise cet examen avec découverte de 7 à 20 % de métastases supplémentaires de même que l'immunohistochimie (IHC) avec un anticorps pancytokératine : 7 à 32 % de métastases supplémentaires.

La fréquence d'envahissement des ganglions axillaires est différente selon la méthode d'investigation, plus élevée depuis l'estimation par le GS, et dépendante de la taille tumorale [3] et de la méthode utilisée (coupes sériées et IHC) avec une augmentation de détection de 10 à 52 % (Tableau 1).

Tableau 1 - Fréquence comparée des métastases axillaires (période pré-ganglion sentinelle) et des métastases des ganglions sentinelles du cancer du sein [3]

	T1mic	T1a	T1b	T1c	T2 ≤ 3 cm	T2 > 3 cm	T3
Curage axillaire	10 %	9-13 %	13-19 %	26-29 %	39-50 %	48-59 %	71-80 %
Ganglion sentinelle	10,7 %	13,5 %	21,8 %	35,6 %	54,7 %	66,2 %	88 %

II. L'EXAMEN PRÉOPÉRATOIRE DU GANGLION SENTINELLE PEUT-IL REMPLACER L'EXAMEN PEROPÉRATOIRE ? « DOCTEUR, QUEL EST LE RISQUE QUE J'AIE UN GANGLION SENTINELLE POSITIF ? »

L'examen préopératoire du GS apporte par la microbiopsie de la tumeur la preuve du caractère invasif de la lésion clinique et/ou radiologique. Certains critères sont connus pour être prédictifs de l'envahissement ganglionnaire (curage ou GS) : cliniques (âge) ou histologiques comme taille, multifocalité, type histologique, localisation, envahissement lymphovasculaire, grade histopronostique, positivité du récepteur aux œstrogènes (+ 2 %), et du récepteur à la progestérone (+ 4,6 %) [3]. Ces critères ont permis l'établissement d'un nomogramme [3] évaluant ce risque. La précision du risque estimé par l'aire sous la courbe Roc (0,754) est de l'ordre de celui apporté par la mammographie pour la prédiction de cancer (0,61 à 0,82 si mammographie numérique). Certains de ces critères ne sont pas connus de façon précise en préopératoire (taille, multifocalité) mais sont appréciés par l'imagerie. L'examen du creux axillaire : clinique par la palpation, radiologique par l'échographie ou le scanner, isotopique par le TEP-scan, et cytologique par la cytoponction (sous contrôle échographique) [4] peuvent faire récuser la procédure. 60 % des patientes avec ganglion palpable (N1a clinique) ont un GS envahi.

III. L'EXAMEN PEROPÉRATOIRE DU GANGLION SENTINELLE

L'examen peropératoire du GS est justifié pour éviter la réintervention des patientes ayant un GS positif. Il est réalisé en Europe par plus de la moitié des équipes [5], et alors le plus souvent par technique anatomopathologique : histologiques (coupes au cryostat), et/ou cytologiques (apposition, grattage). L'examen par biologie moléculaire, seul ou combiné à l'histologie, est encore peu diffusé. Sa justification est liée aux critères de réintervention (la taille de métastase) pour curage axillaire ainsi qu'au taux de positivité du GS, tributaire de ses indications (taille tumorale). La méthodologie peropératoire conditionne l'examen histologique définitif.

III.1. Examen cyto/histologique peropératoire

Cet examen est tout d'abord macroscopique afin de déterminer si le prélèvement adressé est bien ganglionnaire, sa taille, sa coloration, et son caractère éventuellement suspect : induration plutôt que taille, aspect à la coupe après ouverture en bivalve, ou en tranches de 2 mm d'épaisseur si l'épaisseur du ganglion le nécessite (> 5 mm). Il a donc un rôle d'assurance qualité de la procédure. Cet examen oriente vers la technique éventuelle d'examen employée : coupe au cryostat d'emblée si le ganglion est macroscopiquement suspect ou cytologie, ainsi que vers l'attribution de la moitié sectionnée pour la coupe au cryostat : colorée en bleu, ou la plus suspecte macroscopiquement ou proche du lymphatique d'entrée coloré en bleu qui peut être repéré par une agrafe.

L'examen **cytologique** se fait par apposition : la face sectionnée du ganglion est apposée sans appuyer sur une lame de verre propre, ou par « *scrapping* » : la face sectionnée du ganglion est grattée par la tranche d'une lame de verre puis cette extrémité de lame riche en cellules permet la confection d'un frottis analogue à un frottis sanguin. Dans cette technique, la richesse cellulaire est plus grande, mais la disposition des cellules est plus aléatoire et l'interprétation parfois gênée par des superpositions cellulaires. Certains pathologistes sensibilisent ces techniques par l'usage d'une loupe binoculaire afin de repérer sur le tissu lymphoïde un aspect plus suspect et d'orienter le grattage de façon préférentielle à la surface du ganglion. Cette méthode ne nécessite pas d'environnement sophistiqué : portoir de lames, technique de coloration rapide des lames cytologiques, microscope, et peut être réalisée en ambulatoire aussi bien à proximité d'un bloc opératoire que dans un laboratoire d'anatomie pathologique d'un centre hospitalier avec un résultat en quelques minutes (10 à 15 min). Deux lames sont réalisées par ganglion, et la lecture peut être toutefois longue lors de la transmission de plusieurs ganglions, ou de la réalisation d'une coupe au cryostat secondaire si la cytologie est suspecte (figures 1 et 2). Cette technique préserve le ganglion, « sans consommer » de tissu, et elle est possible quand le ganglion est adipeux mais nécessite parfois que le pathologiste se familiarise avec la cytologie. Enfin, alors que la spécificité de cet examen est élevée : 91 à 100 % [6], la sensibilité estimée est très variable : de 30 à 100 % [6], majoritairement de 50 à 70 %. Le taux de faux négatifs varie de 6 à 31 % [6] et la précision de 83 à 95 % [7]. Le taux de faux négatifs est corrélé à la présence de micrométastases.

Figure 1 - Amas de cellules tumorales [→] sur un fond de lymphocytes et d'hématies de la métastase d'un adénocarcinome mammaire peu différencié. Apposition ganglionnaire. Coloration DiffQuick. Grossissement x 200

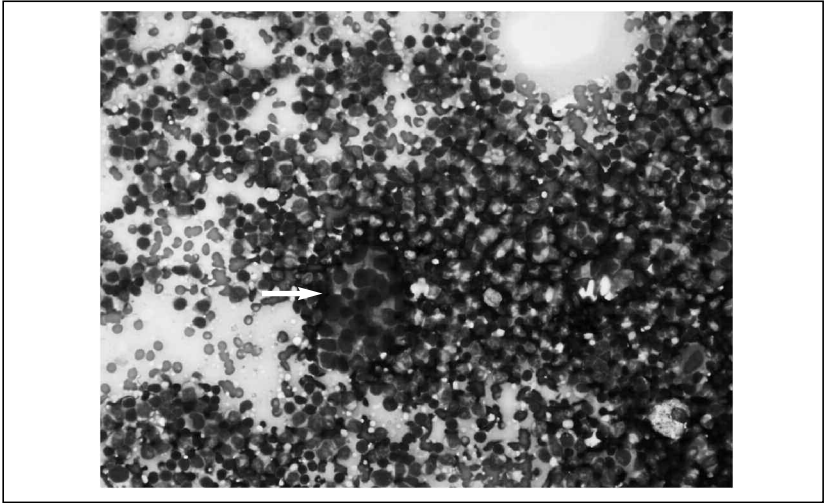
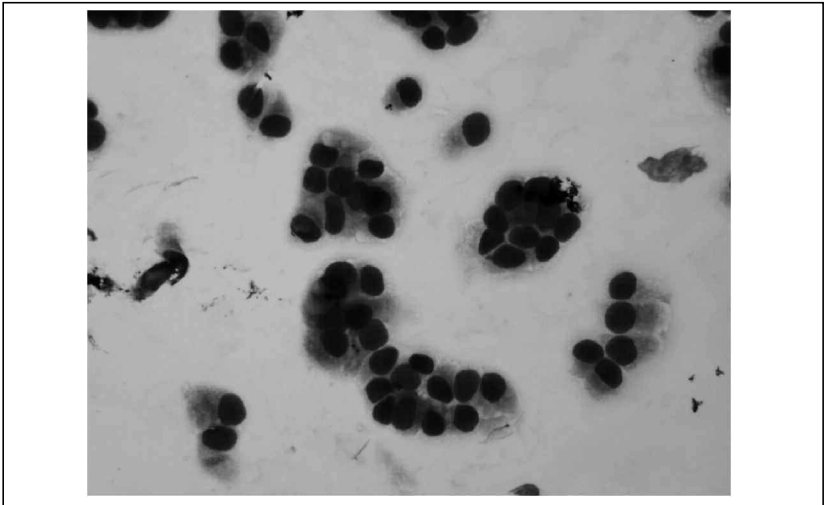


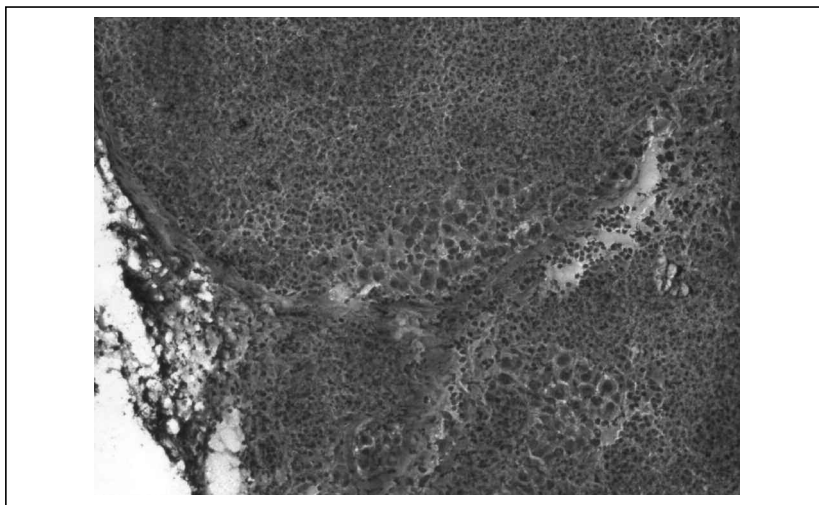
Figure 2 - Multiples amas de cellules tumorales d'une métastase ganglionnaire d'un adénocarcinome bien différencié avec regroupements glandulaires et cellules cylindriques. Apposition ganglionnaire. Coloration DiffQuick. Grossissement x 400



L'examen histologique ou coupe au cryostat est réalisé habituellement sur une seule moitié du ganglion, et le choix de celle-ci, guidé par l'examen macroscopique, va conditionner le résultat car 40 % des métastases n'intéressent qu'une moitié ganglionnaire. Cet examen nécessite un cryostat pour que la coupe (figure 3) soit de qualité, réalisée par le pathologiste ou le technicien, et donc un environnement en technique et place plus important ; donc habituellement réservée aux centres plus importants. Il existe une « consommation » du tissu ganglionnaire sectionné, et des pièges diagnostiques comme pour l'examen cytologique. La coupe est difficile si le ganglion est adipeux. La spécificité est excellente, et la sensibilité supérieure à la cytologie : 88 % [8]. Le taux de faux négatifs varie de 6 à 24 % et la précision de 83 à 95 % [7].

Dans ces deux techniques, le taux de faux négatifs est plus élevé pour les carcinomes lobulaires *in situ*, du fait de la modalité d'envahissement du ganglion en cellules isolées, et la sensibilité est accrue par l'augmentation du nombre de lames examinées, pouvant aller jusqu'à une coupe en totalité du ganglion en peropératoire : au moins 30 sections [9]. Le taux de faux négatifs diminue avec l'expérience du pathologiste [8], et si le type de carcinome infiltrant est connu (compte rendu ou lames de la microbiopsie diagnostique) [10]. Les faux positifs

Figure 3 - Envahissement des sinus lymphatiques du ganglion sentinelle par des cellules tumorales de grande taille qui respectent l'architecture ganglionnaire. Coupe au cryostat. Grossissement x 200



sont exceptionnels et liés à la constatation d'une cytologie suspecte non contrôlé par une coupe au cryostat. Ces résultats de sous-estimation diagnostique sont à relativiser : le taux de faux négatifs est majeur pour les micrométastases, mais la positivité du ganglion sentinelle en peropératoire est corrélée à la présence d'une macrométastase (identification de 98 % de macrométastases) et de 28 % des micrométastases, elle-même corrélée à la positivité du ganglion non sentinelle du curage axillaire [8].

III.2. L'examen immunohistochimique peropératoire

Réalisé sur la cytologie grâce à l'emploi d'anticorps pancytokératines, si elle augmente pour certains la sensibilité de la technique [11, 12] ou du moins confirme certains diagnostics difficiles [9], il consomme du temps per-opératoire (30 min supplémentaires) et augmente le coût de l'examen.

III.3. L'examen par biologie moléculaire

Il se faisait antérieurement par deux systèmes commercialisés. Un seul est actuellement disponible car le système GeneSearch™ (Veridex), utilisant une méthode de détection par amplification d'acide nucléique de plusieurs marqueurs (mammaglobine et CK 19), a interrompu sa commercialisation. La technique OSNA®-One Step Nucleic Acid Amplification (Sysmex) consiste à broyer le ganglion et à tester le lysat cellulaire obtenu par une technique d'amplification de l'ARN messenger de façon automatisée grâce à une technique particulière de RT-Lamp (Reverse Transcription Loop mediated isothermal Amplification). L'ARN messenger testé est spécifique de la CK 19 exprimé par la majorité des carcinomes mammaires, et le résultat exprimé de façon semi-quantitative en fonction du nombre de copies du gène, du fait d'une calibration adéquate pour détecter les macrométastases et micrométastases mais pas les cellules tumorales isolées. Le cut-off est de $> 5\ 000$ copies par μl pour le diagnostic positif macrométastase (résultat ++) et de > 250 copies par μl pour le diagnostic positif de micrométastase [13] estimé correspondre à un foyer de 0,3 à 0,4 mm (résultat +), considéré comme de 10 à 100 fois plus sensible que la détermination immunohistochimique avec un anticorps pancytokératine en histologie. La sensibilité de ces techniques varie de 82,7 à 100 % et la spécificité de 94,1 à 97,7 % [14, 15]. La méthodologie

élaborée dans ces articles fait état de biais d'attribution quand le ganglion fait l'objet d'une évaluation histologique classique couplée à l'évaluation moléculaire du fait de la répartition du matériel tissulaire attribué pour la réalisation des deux techniques [15], mais le ganglion est utilisé en entier dans plusieurs articles [16-18]. Le taux de métastases augmenté est observé préférentiellement pour les micrométastases [16-18]. Si cette technique a incontestablement une sensibilité bien supérieure à l'évaluation cytohistologique classique en peropératoire : 91,4 % en biologie moléculaire, 47,1 % en cytologie d'empreinte, 63,6 % en coupe au cryostat, elle garde une spécificité inférieure : 93,3 *versus* 100 % avec les deux autres techniques [15]. Elle nécessite un local adapté dans le local d'examen extemporané qui permette de travailler en absence de contamination moléculaire, un appareillage, un pathologiste ou technicien disponible et formé, avec un temps de technique non négligeable évalué à 33 min pour un ganglion et 40 min pour deux ganglions (jusqu'à 54 min pour 4 ganglions). Enfin, le concept de détection par un seul marqueur n'est pas celui considéré comme optimal (préférence avec deux marqueurs), et la CK 19, CK de type luminal n'est pas exprimée dans 5 à 10 % des carcinomes invasifs, correspondant aux carcinomes invasifs de type basal (triple négatif) [19]. De plus, l'absence de contrôle morphologique souhaité dans certaines études pour éviter les biais d'allocation du matériel tissulaire ne permet pas de diagnostiquer une éventuelle pathologie associée tumorale ou non tumorale (lymphome, sarcoïdose, etc.), ne permet pas d'affirmer la nature tumorale des éléments épithéliaux observés (diagnostic différentiel avec inclusions glandulaires bénignes et déplacements épithéliaux post-biopsiques) et prive le pathologiste et l'oncologue d'une éventuelle comparaison ou ré-estimation des marqueurs immunohistochimiques dans la métastase ganglionnaire si la tumeur mammaire est hétérogène.

L'aspect médico-économique est peu évalué dans la littérature (Jeruss 2006). La comparaison du coût de l'examen peropératoire et du coût de la réintervention pour un curage axillaire, et l'appréciation de la qualité de vie (indice Qaly) montrent que les procédures d'examen peropératoire sont d'autant plus justifiées que le risque d'envahissement du ganglion sentinelle est important (quand la taille de la tumeur augmente), que le coût de l'examen peropératoire est faible, que la méthode de détection est sensible et spécifique, et que le coût de la réintervention par curage axillaire est élevé. Dans ces conditions, le bénéfique en termes de rapport qualité de vie surcoût est supérieur [20].

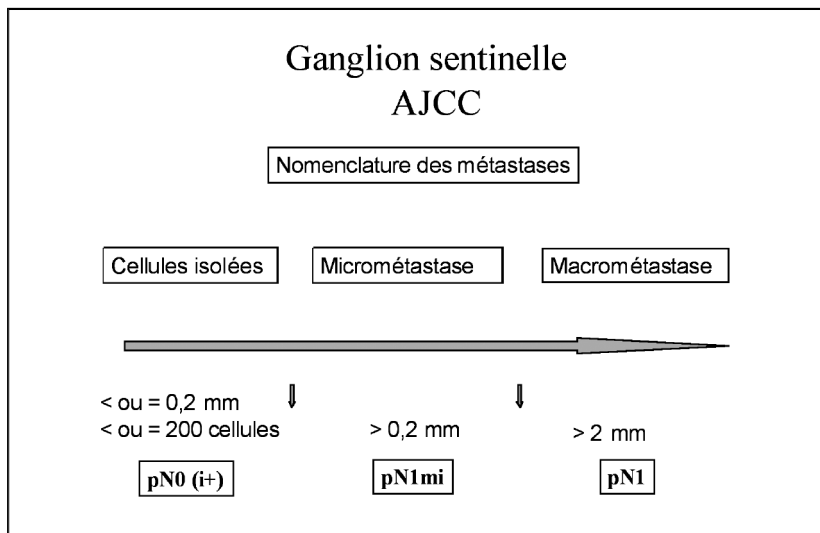
IV. L'EXAMEN HISTOLOGIQUE DÉFINITIF

Le nombre moyen de GS isolés est de 2 ; 25 à 30 % des femmes ont un GS positif et la taille moyenne métastatique est de 6 mm. 40 % des métastases n'intéressent qu'une moitié ganglionnaire. 40 % des métastases sont des micrométastases ou des cellules isolées.

IV.1. Nomenclature des métastases

La terminologie des métastases de petite taille est issue de celle des cellules métastatiques sanguines ou médullaires. Les cellules isolées (ITCs) sont des cellules circulantes dans le courant sanguin, n'adhérant pas à la paroi des vaisseaux ou des sinus lymphatiques, et ne s'accompagnant pas de prolifération des cellules tumorales ni de stroma réaction. La micrométastase (MICs) (encore dénommée métastase occulte) définie par une taille inférieure ou égale à 0,2 cm, est distinguée des cellules isolées par ces critères initialement qualitatifs selon Hermanek [21] : adhérence, stroma réaction, prolifération, et non pas quantitatifs (taille). Les ITCs et les MICs donc initialement non différenciées par la taille l'ont été secondairement par le type de détection : IHC et/ou biologie moléculaire pour les cellules isolées. La nomenclature actuelle des métastases est celle de la classification UICC (Union for International Cancer Control) TNM des tumeurs malignes [22] qui tient compte de critères quantitatifs : taille, et qualitatifs : 1) cellules isolées (ITCs) ne dépassant pas 0,2 mm, sans prolifération ni stroma réaction, localisées dans le sinus lymphatique, nommées pN0(i+), détectées en HES et/ou en IHC ; 2) micrométastases (MICs) si taille supérieure ou égale à 0,2 mm mais inférieure à 2 mm, ou aspect de ITCs mais localisées dans la pulpe lymphoïde nommée pN1mi ; 3) macrométastase supérieure à 2 mm. La classification de l'AJCC (American Joint Committee on Cancer) [23] ne tient compte que des critères quantitatifs de taille et utilise les mêmes abréviations en référence à la taille et non pas à la technique de détection. Ces critères viennent d'être associés à un critère quantitatif de nombre : limite de 200 cellules entre cellules isolées et micrométastases (7^e édition TNM) (tableau 2). La valeur de 2 mm égale un diamètre de champ au faible grossissement (objectif 10) pour la plupart des microscopes, et la valeur de 0,2 mm égale un diamètre de champ à très fort grossissement (objectif 100). Cette classification reste d'application difficile et peu reproductible [24] même après consensus initial : k de 0,39 à 0,49, mais

Tableau 2. Nomenclature des métastases



est améliorée par un apprentissage sur images numérisées : k de 0,57 à 0,94 [25]. Elle est difficile en cas de multiples foyers ou d'envahissement en cellules isolées comme habituellement observé dans les adénocarcinomes lobulaires infiltrants [26]. La topographie de la métastase peut modifier la nomenclature dans l'UICC (sinus périphérique *versus* pulpe lymphoïde). Elle reste également de classification difficile pour les localisations intracapsulaires ou périganglionnaires dans le tissu adipeux.

IV.2. Topographie des métastases et relation avec le type histologique

Le tissu lymphoïde ganglionnaire est limité par une capsule fibreuse et entouré de tissu adipeux. Les métastases sont localisées à la périphérie du ganglion, sous la capsule à la jonction des lymphatiques afférents et des sinus sous-capsulaires, se regroupant aux points d'entrée des lymphatiques. Selon une classification décrite pour les GS drainant le mélanome, van Deurzen [27], appliquant les mêmes critères pour le GS du sein, montre que dans 97 % des cas, la localisation tumorale comporte l'atteinte sous-capsulaire (47 %), parfois combinée

à l'atteinte parenchymateuse (11 %) ou extensive (39 %) alors que la localisation parenchymateuse profonde isolée est beaucoup plus rare (3 %). De plus, les ITCs et MICs sont presque exclusivement localisées dans ces zones sous-capsulaires : respectivement 96 % et 81 %, justifiant un examen électif de ces zones dans les GS. La topographie de cet envahissement apporte des données prédictives de l'envahissement des ganglions du curage, plus probable lors de localisation parenchymateuse, et corrélée non seulement à la taille de la métastase mais aussi à la profondeur de l'envahissement. Cette topographie élective périphérique décrite [28, 29] par rapport aux vaisseaux afférents lymphatiques a également été mise en évidence par des études tridimensionnelles [30]. La localisation sinusale est plus fréquente pour les carcinomes canauxiers invasifs de haut grade avec envahissement vasculaire [30]. Les carcinomes tubuleux s'accompagnent plus souvent d'une extension extracapsulaire indépendante de la masse tumorale [28]. L'extension extranodale a toutefois été décrite comme témoin d'obstruction lymphatique et associée à un défaut d'incorporation isotopique [31]. Les ITCs sont plus fréquentes dans les carcinomes lobulaires invasifs (inactivation de la E-cadhérine intervenant dans le système d'adhésion cellulaire) et le mode d'envahissement n'est pas corrélé pour ce type histologique à la masse tumorale [32]. Il est de ce fait important que le chirurgien respecte l'intégrité de la capsule lors de la dissection (éviter les artefacts de coagulation liés au bistouri électrique), et il est important de privilégier, en particulier en peropératoire, l'examen de la moitié ganglionnaire colorée, ou la moitié ganglionnaire correspondant aux lymphatiques afférents repérés [33].

IV.3. Coupes sériées et immunohistochimie

L'examen anatomopathologique du GS a deux objectifs : 1) distinguer avec précision les métastases supérieures à 2 mm pour la décision de chimiothérapie (consensus) ; 2) détecter avec des moyens raisonnables les MICs et ITCs car ceci conditionne encore la pratique du curage axillaire complémentaire. La chance de découvrir des cellules tumorales dans un ganglion dépend du volume tumoral examiné. Puisque les coupes préparées ont une épaisseur de 4 à 5 microns, il faudrait 2 000 coupes pour examiner en totalité un ganglion de 1 cm [34]. La technique d'une section HES par ganglion ne permet d'explorer que moins de 1 % du ganglion. Des choix doivent être faits, balançant entre une pratique clinique acceptable, et une sensibilité suffisante.

Il n'y a donc pas d'accord sur la meilleure méthode anatomo-pathologique d'examen des GS. Certains [35] défendent une exploitation totale du ganglion en sections espacées de 50 microns, d'autres préconisent des coupes espacées de 150 à 200 microns. Les modèles de Cserni [36] montrent que la pratique de coupe tous les mm permet de ne pas laisser passer les macrométastases et de plus, de les identifier comme telles. Des sections plus espacées et en particulier le modèle d'une section par tranche macroscopique de 2 mm permet de ne pas laisser passer de macrométastases, mais celles-ci ne sont alors pas toujours identifiées comme telles et peuvent apparaître comme des MICs ou ITCs. Si le pathologiste veut retrouver des métastases de l'ordre de 0,2 mm, il doit couper le ganglion de façon progressive tous les 0,2 mm (200 μ) jusqu'à épuisement du bloc. Chaque tranche de 2 mm de ganglion nécessite 20 sections de 10 μ (taille minimale de cellules tumorales) pour éliminer la présence d'ITCs. L'épaisseur du tissu examiné détermine la taille maximale de la métastase occulte potentielle. Ces recommandations justifient la précaution de coupe macroscopique soigneuse du GS en tranche de 2 mm d'épaisseur. La méthode utilisée en paraffine est dépendante de la méthode utilisée en peropératoire : moléculaire (combinée ou exclusive), cytologique, histologique avec consommation de la totalité ou partie du GS. Le choix de la méthode utilisée en peropératoire doit donc être réfléchi, non seulement par rapport à l'option immédiate de la technique chirurgicale (complément par dissection axillaire) mais aussi par rapport à sa pertinence en termes de signification pronostique et thérapeutique : décision de chimiothérapie.

L'étude immunohistochimique (IHC) ne permet pas d'estimer par sa positivité la taille de la métastase. Elle sensibilise la lecture histologique en améliorant le signal visuel, du fait de la technique chromogène utilisée. Il est vrai que cette amélioration est surtout efficace pour les amas de petite taille comme MICs et ITCs difficilement visibles en HES. Cette technique permet au pathologiste de lire rapidement les lames quelle que soit la taille de la métastase. L'anticorps le plus fréquemment utilisé est un cocktail de cytokératines (ck) ou pancytokératine, de type AE1-AE3 dirigé contre plusieurs sous-types de ck ciblant les différents types moléculaires de tumeurs mammaires luminales (ck 8 et 19) et basales (ck 5, 6 et 14), ou d'autres types de ck (Cam5-2, MNF116, KL1), voire selon les indications des ac d'autres spécificités.

Les métastases sont retrouvées dans les quatre premiers GS. Il est donc nécessaire de faire préciser par le chirurgien l'ordre de détection

et ne pas examiner en peropérateur et/ou en méthode sériée et/ou IHC les ganglions au-delà de 4.

La diversité de la méthodologie anatomopathologique a été démontrée dans une enquête réalisée dans 382 institutions européennes avec la description de 123 protocoles différents [1]. 88 % des institutions utilisaient la pratique de coupes sériées, pour la plupart (50 %) espacées de 100 à 250 μ , et 70 % une détection IHC. Cette variabilité est le résultat de différences dans le but de l'examen du GS : si la détermination du pronostic est le but principal, la limite inférieure pour découvrir une métastase doit être la plus petite taille qui a une signification considérée pronostique. Si le ganglion sentinelle est utilisé pour recommander le traitement de l'aisselle (réduire le nombre de faux négatifs), la limite inférieure de détection doit être à un niveau où le taux de faux négatifs (ou risque d'envahissement des ganglions non sentinelles) est à un niveau acceptable inférieur à 5 %.

IV.4. Choix des pratiques

Les calculs exposés par Rutgers [34] à partir des chiffres retrouvés par la méta-analyse de Cserni montrent que pour 100 femmes explorées par le GS (tumeurs T1/T2 < 3 cm), l'absence de pratique de coupes sériées et d'IHC, et donc la perte de chance de retrouver des cellules isolées, risque de ne pas diagnostiquer une seule patiente avec micrométastases dans le curage axillaire, soit 1 % des patientes, ce qui est inférieur au taux de faux négatifs de la technique elle-même. Ceci est à comparer aux pratiques habituelles d'exploitation du curage axillaire dont la limite de définition est la MICs en l'absence de coupe sériées et d'IHC. Ceci est également à mettre en parallèle avec le pronostic des MICs, et du taux de récurrence axillaire dans les séries de patientes avec GS négatif : 0,3 %, médiane 19 mois [37], ou de récurrence axillaire chez les patientes avec GS positif ayant refusé un curage axillaire : 0 à 1,4 % (risque évalué à 2-3 ans), mais dans une population à bas risque avec effet de la chimiothérapie adjuvante.

La pratique du GS induit un phénomène de Will Rogers ou surstadification, ou migration de stade [37-38] avec une augmentation des N+, qui restent de meilleur pronostic.

CONCLUSION

Si le ganglion sentinelle fait partie des standards du traitement du cancer du sein et de la chirurgie de l'aisselle, l'option de l'examen peropératoire du ganglion sentinelle et de ses modalités résulte d'une réflexion globale du centre de chirurgie oncologique. Les éléments de cette réflexion sont : le recrutement du centre en termes de nombre de patientes et de type de recrutement (cTN), le type d'examen histologique définitif, la conviction par rapport au risque pronostique de récurrence et prédictif de rechute axillaire des micrométastases et des cellules isolées [39-45]. Ces derniers éléments vont motiver éventuellement la reprise du curage axillaire et l'indication de chimiothérapie, justifiant alors l'intérêt de l'examen peropératoire pour permettre une chirurgie en un temps. La modalité de cet examen peropératoire tiendra également compte de l'organisation du centre de chirurgie et de pathologie et des coûts respectifs de ces techniques et donc de l'aspect médico-économique de cette stratégie.

Bibliographie

- [1] Chen AY, Halpern MT, Shrag NM, Stewart A, Leitch M, Ward E. Disparities and trends among early stage breast cancer patients (1998-2005). *J Natl Cancer Inst* 2008;100:462-474.
- [2] Lyman GH, Giuliano AE, Somerfield ER *et al.* American Society of Clinical Oncology guideline recommendations for sentinel node biopsy in early stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:7703-7720.
- [3] Bevilacqua JLB, Katan MW, Fey JV, Cody III HS, Borgen PI, van Zee KJ. Doctor, what are my chances of having a positive sentinel node? A validated nomogram for risk estimation. *J Clin Oncol* 2007;25:3670-3679.
- [4] Houssami N, Ciatto S, Turner RM, Cody HS 3rd, Macaskill P. Preoperative ultrasound-guided needle biopsy of axillary nodes in invasive breast cancer: meta-analysis of its accuracy and utility in staging the axilla. *Ann Surg* 2011;254:243-51.
- [5] Cserni G, Bianchi S, Vezzosi V *et al.* Sentinel node biopsy in staging small (up to 15mm) breast carcinomas. Results from a European multi-institutional study. *Pathol Oncol Res* 2007;13:5-14.
- [6] Lee A, Krishnamurthy S, Sahin A, Fraser Symmans W, Hunt K, Sneige N. Intraoperative touch imprint of sentinel nodes in breast carcinoma patients. *Cancer Cytopathology* 2002;96:225-231.
- [7] Turner RR, Hansen NM, Stern SL, Giuliano AE. Intraoperative examination of the sentinel lymph node. *Am J Clin Pathol* 1999;112:627-634.
- [8] Mori M, Tada K, Ikegana M, Miyagi Y, Takahashi K, Makita M, Iwase T, Kazumi F, Koizumi M. Frozen section is superior to imprint cytology for the intraoperative assessment of sentinel lymph node metastasis in stage I breast cancer patients. *World J Surg Oncol* 2006;4:26.
- [9] Viale G, Bosari S, Mazzarol G, Galimberti V, Luini A, Veronesi P, Paganelli G, Bedoni M, Orvieto E. Intraoperative examination of axillary sentinel lymph nodes in breast carcinoma patients. *Cancer* 1999;85:2433-8.
- [10] Llatjos M, Castellan E, Fraile M, Julian FJ, Fuste F, Rovira C, Fernandez-Liamazares J. Intraoperative assessment of sentinel nodes in patients with breast carcinoma. Accuracy of rapid imprint cytology compared with definitive histologic workup. *Cancer Cytopathology* 2002;96:150-155.
- [11] Salem AA, Douglas-Jones AG, Sweetland HM, Newcombe RG, Mansel RE. Evaluation of axillary lymph node using touch imprint cytology and immunohistochemistry. *Br J Surg* 2002;89:1386.
- [12] Krishnamurthy S, Meric-Bernstam F, Lucci A, Hwang RF, Kuerer HM, Babiera G, Ames FC, Feig BW, Ross MI, Singletary E, Hunt KK, Bedrosian I. A prospective study comparing touch imprint cytology, frozen section analysis, and rapid cytokeratin immuno stain for intraoperative evaluation of axillary lymph nodes in breast cancer. *Cancer* 2009;115:1555-62.
- [13] Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, Kaneko T, Iwase T, Akiyama F, Kato Y, Tsuda H, Ueda S, Sato K, Tamaki Y, Noguchi S, Kataoka TR, Nakajima H, Komoike Y, Inaji H, Tsugawa K, Suzuki K, Nakamura S, Daitoh M, Otomo Y, Matsuura N. One-step nucleic acid amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2007;13:4807-16.
- [14] Snook KL, Layer GT, Jackson PA, de Vries CS, Shousha S, Sinnett HD, Nigar E, Singhal H, Chia Y, Cunnick G, Kissin MW; OSNA Study Group. Multicentre evaluation of intraoperative molecular analysis of sentinel lymphnodes in breast carcinoma. *Br J Surg* 2011;98:527-35.
- [15] Le Frère-Belda MF, Bats AS, Gillaizeau F, Poulet P, Clough KB, Nos C, Peoc'h M, Seffert P, Bouteille C, Leroux A, Guillemin F, Blanc-Fournier C, Crouet H, Arnould L, Cuisenier J, Penault-Llorca F, Gimbergues P, Jacquemier J, Houvenaeghel G, Chatellier G, Lécure F. Diagnostic performance of one-step nucleic acid amplification for intraoperative sentinel node metastasis detection in breast-cancer patients. *Int J Cancer* 2011 Jul 21. doi:10.1002/ijc.26291.
- [16] Castellano I, Macri L, Deambrogio C, Balmativala D, Bussone R, Ala A, Coluccia C, Sapino A. Reliability of whole sentinel lymph node analysis by one-step nucleic acid

amplification for intraoperative diagnosis of breast cancer metastases. *Ann Surg* 2011 Oct 4.

[17] Laia BV, Marcos MB, Refael CM, Francisco SC, Jose T, Blai BS, Maria de LC. Molecular diagnosis of sentinel lymph nodes for breast cancer: one step ahead for standardization. *Diagn Mol Pathol* 2011;20:18-21.

[18] Osako T, Iwase T, Kimura K, Yamashita K, Horii R, Yanagisawa A, Akiyama F. Intraoperative molecular assay for sentinel lymph node metastases in early stage breast cancer: a comparative analysis between one-step nucleic acid amplification whole node assay and routine frozen section histology. *Cancer* 2011;117:4365-74.

[19] Williams BS DJ, Cohen C, Van To T, Page AJ, Lawson D, Sussman ZM, Nasser A. Triple negative breast carcinoma in women from Vietnam and the United States: characterization of differential marker expression by tissue microarray. *Hum Pathol* 2009;40:1176-81.

[20] Jeruss JS, Hunt KK, Krishnamurthy S, Meric-Bernstam F, Cantor SB, Ross MI, Cormier JN. Is intraoperative touch imprint cytology lymph nodes in patients with breast cancer cost effective. *Cancer* 2006;107:2328-36.

[21] Hermanek P, Hutter RVP, Sobin LH, Wittekind C. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer* 1999;86:2668-73.

[22] Sobin LH, Wittekind Ch, eds. TNM classification of malignant tumors, 7th ed. New York: John Wiley 2010.

[23] Greene FL, Page DL, Fleming ID *et al.* Eds. American Joint Committee on Cancer Staging Manual, 6th ed. Philadelphia: Springer 2002.

[24] Cserni G, Bianchi S, Boecker W *et al.* Improving the reproducibility of diagnosing micrometastases and isolated tumor cells. *Cancer* 2005;103:358-367.

[25] Turner RR, Weaver DL, Cserni G *et al.* Nodal stage classification for breast carcinoma: improving interobserver reproducibility through standardized histologic criteria and image-based training. *J Clin Oncol* 2008;26:258-63.

[26] De Mascarel I, MacGrogan G, Debled M, Brouste V, Mauriac L. Distinction between isolated tumor cells and micrometastases in breast cancer. *Cancer* 2008;112:1672-8.

[27] Van Deurzen CHM, Seldenrijk CA, Koelemij R, van Hillegersberg R, Hobbelink MGG, van Diest PJ. The microanatomic location

of metastatic breast cancer in sentinel lymph node involvement. *Ann Surg Oncol* 2008; 15:1309-1315.

[28] Cserni G. Axillary lymph node micrometastases with extracapsular extension: a distinct pattern of breast cancer metastasis? *Clin Pathol* 2008;61:115-8.

[29] Diaz LK, Hunt K, Ames F *et al.* Histologic localization of sentinel lymph node metastases in breast cancer. *Am J Surg Pathol* 2003;27:385-389.

[30] Paish EC, Green AR, Rakha EA, Macmillan RD, Maddison JR, Ellis IO. Three-dimensional reconstruction of sentinel lymph nodes with metastatic breast cancer indicates three distinct patterns of tumor growth. *J Clin Pathol* 2009;62:617-623.

[31] Goyal A, Douglas-Jones AG, Newcombe RG *et al.* Effect of lymphatic tumor burden on sentinel lymph node biopsy in breast cancer. *Breast J* 2005;11:188-194.

[32] Vincent-Salomon A, Caly M, De Ricke Y *et al.* Lobular phenotype related to occult-metastatic spread in axillary lymph node and/or bone marrow in breast carcinoma. *Eur J Cancer* 2009;45:1979-86.

[33] Cserni G. Mapping metastases in sentinel lymph nodes of breast cancer. *Am J Clin Pathol* 2000;113:351-354.

[34] Rutgers EJT. Sentinel node biopsy: interpretation and management of patients with immunohistochemistry-positive sentinel nodes and those with micrometastases. *J Clin Oncol* 2008;26:698-702.

[35] Viale G, Maiorano E, Mazzarol G, Zurrada S *et al.* Histologic detection and clinical implications of micrometastases in axillary sentinel lymph nodes for patients with breast carcinoma. *Cancer* 2001;15:1378-84.

[36] Cserni G. A model for determining the optimum histology of sentinel lymph nodes in breast cancer. *J Clin Pathol* 2004;57:467-471.

[37] Weaver DL. Sentinel lymph nodes and breast carcinoma: which micrometastases are clinically significant? *Am J Surg Pathol* 2003; 27:842-5.

[38] Van Rijk MC, Petersee JL, Nieweg OE, Oldenberg HS, Rutgers EJ, Kroon BB. Additional axillary metastases and stage migration in breast cancer patients with micrometastases or submicrometastases in sentinel lymph nodes. *Cancer* 2006;107:467-471.

[39] Krag DN, Anderson ST, Julian TB *et al.* Technical outcomes of sentinel lymph node resection and conventional axillary lymph node dissection in patients with clinically node negative breast cancer: results from the NSABP-32 randomized phase III trial. *Lancet Oncology* 2007;8:881-88.

[40] Cox CE, Kiluk JV, Riker AI, Cox JM *et al.* Significance of sentinel lymph node micrometastases in human breast cancer. *J Am Coll Surg* 2008;206:261-268.

[41] De Boer M, Van Deurzen CHM, van Dijk JAAM *et al.* Micrometastases or isolated tumor cells and the outcome of breast cancer. *N Engl J Med* 2009;361:653-63.

[42] Weaver DL, Ashikaga T, Krag DN, Skelly JM, Anderson SJ, Harlow SP, Julian TB, Mamounas EP, Wolmark N. Effect of occult metastases on survival in node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2011 Feb 3;364(5):412-21.

[43] De Boer M, van Dijk JA, Bult P, Borm GF, Tjan-Heijnen VC. Breast cancer prognosis and occult lymph node metastases, isolated tumor cells, and micrometastases. *J Natl Cancer Inst* 2010 Mar 17;102(6):410-25.

[44] Vestjens JH, de Boer M, van Diest PJ, van Deurzen CH, van Dijk JA, Borm GF, Adang EM, Bult P, Tjan-Heijnen VC. Prognostic impact of isolated tumor cells in breast cancer axillary nodes: single tumor cell(s) *versus* tumor cell cluster(s) and micro-anatomic location. *Breast Cancer Res Treat* 2011 Sep 17.

[45] Weber WP, Barry M, Stempel MM, Junqueira MJ, Eaton AA, Patil SM, Morrow M, Cody HS 3rd. A 10-year trend analysis of sentinel lymph node frozen section and completion axillary dissection for breast cancer: are these procedures becoming obsolete? *Ann Surg Oncol* 2011 Jun 7.