

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2005

N°136

THESE

Pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Qualification en : **CHIRURGIE GENERALE**

Par

Thomas GUILLAN

Né le 13 février 1975, à Paris (15^{ème})

Présentée et soutenue publiquement le 20 octobre 2005

**Le ganglion sentinelle dans le cancer colorectal :
évaluation prospective d'une méthode de détection radio-
isotopique et colorimétrique.**

Président et directeur de thèse : Monsieur le Professeur PA Lehur

Membres du jury :

Président : Monsieur le professeur PA Lehur

Monsieur le professeur J Leborgne

Monsieur le professeur JY Douillard

Madame le docteur E Cassagnau

Monsieur le docteur B Buecher

Monsieur le docteur M Comy

Monsieur le docteur E Letessier

ABBREVIATIONS

Ganglion sentinelle	GS
Hématoxyline et Eosine	H&E
Immunohistochimie	IHC
Reverse transcriptase-Polymerase chain reaction	RT-PCR

TABLE DES MATIERES

I.	INTRODUCTION	7
II.	ETAT DE LA QUESTION	9
	1. LES ENJEUX	9
	2. LE DRAINAGE LYMPHATIQUE	11
	3. LE GANGLION SENTINELLE	12
	<i>a. Historique</i>	12
	<i>b. Définitions</i>	14
	<i>c. Les traceurs lymphatiques</i>	15
	<i>d. Micrométastases</i>	16
	4. LES CRITERES DE QUALITE DU CURAGE GANGLIONNAIRE	17
III.	BUTS DE L'ETUDE	19
IV.	PRESENTATION DU PROTOCOLE	20
	1. PROTOCOLE ENTRANT DANS LE PROGRAMME HOSPITALIER DE RECHERCHE CLINIQUE NATIONAL (PHRC)	20
	2. CENTRES INVESTIGATEURS	21
	3. RECUEIL DES DONNEES	22
	4. CRITERES D'EVALUATION	23

V.	PATIENTS ET METHODES	25
1.	PATIENTS	25
	<i>a. Critères d'inclusion</i>	25
	<i>b. Critères d'exclusion</i>	26
2.	METHODES	26
	<i>a. Résection chirurgicale</i>	26
	<i>b. Lymphoscintigraphie</i>	27
	<i>c. Radio-détection per-opératoire</i>	29
	<i>d. Détection par injection per-opératoire de Bleu Patenté V®</i>	31
	<i>e. Choix de la méthode de marquage</i>	32
	<i>f. Identification des ganglions sentinelles</i>	32
	<i>g. Examen anatomo-pathologique</i>	35
	<i>h. Suivi à long terme</i>	36
VI.	RESULTATS	37
1.	DESCRIPTION DES PATIENTS	37
	<i>a. Nombre de patients</i>	37
	<i>b. Age</i>	39
	<i>c. Sex-ratio</i>	39
	<i>d. Indice de masse corporelle (BMI)</i>	40
	<i>e. Siège de la tumeur primitive</i>	41
2.	TECHNIQUE DE MARQUAGE UTILISEE	42
3.	TAUX DE DETECTION	44
	<i>a. Selon la localisation tumorale</i>	44
	<i>b. Selon la méthode de détection</i>	45
	<i>c. Selon le stade histologique de la tumeur</i>	46
	<i>d. Selon le BMI</i>	46
4.	FAUX-NEGATIFS	48
	<i>a. Selon la localisation tumorale</i>	48
	<i>b. Selon la méthode de détection</i>	49
	<i>c. Selon le stade histologique de la tumeur</i>	49
	<i>d. Selon le BMI</i>	50

5. DRAINAGE LYMPHATIQUE ABERRANT	51
6. MICROMETASTASES	52
VII. COMMENTAIRES	53
1. TAUX DE DETECTION	54
2. FAUX-NEGATIFS	57
3. MICROMETASTASES	60
4. DRAINAGES ABERRANTS	66
5. CHOIX DU SITE D'INJECTION	67
6. FAUT-IL ASSOCIER LES DEUX METHODES ?	67
7. TECHNIQUE EX VIVO	69
8. TRAITEMENT ADJUVANT DES PATIENTS N0	70
9. SERVICE MEDICAL RENDU	72
VIII. CONCLUSION	73
IX. REFERENCES	75
X. ANNEXES	82
1. FEUILLET EXPLICATIF REMIS AU PATIENT	92
2. FEUILLET DE RECUEIL DU CONSENTEMENT ECLAIRE	93

I. INTRODUCTION

La prise en charge de l'adénocarcinome lieberkühnien colorectal est un enjeu de santé publique en France. Chaque année, environ 33 500 nouveaux cas sont recensés, représentant 15% de l'ensemble des cancers observés (1). Le traitement a pour objectif d'augmenter la survie des patients, mais aussi d'améliorer leur qualité de vie en proposant des solutions thérapeutiques adaptées à chaque cas. L'approche multidisciplinaire, associant chirurgiens, gastro-entérologues, anatomo-pathologistes et oncologues, a pris une place centrale dans cette stratégie. Elle est même devenue obligatoire depuis la mise en place du « Plan cancer ».

Parmi les différents facteurs pronostiques des cancers colorectaux, le stade histologique établi sur la pièce opératoire avec notamment l'extension ganglionnaire, est un élément prédictif majeur de l'évolution et de la survie des patients, sur lesquels les praticiens jugent de l'indication ou non d'un traitement adjuvant (2).

Pourtant, parmi les patients T1, T2 ou T3 et N0 (dans la classification TNM), pour qui le traitement chirurgical a été à prétention curatrice, un tiers va récidiver. La présence de micrométastases passées inaperçues au sein du curage ganglionnaire est l'une des hypothèses proposées pour expliquer ces échecs de prise en charge. La recherche de micrométastases n'étant pas réalisable sur l'ensemble des ganglions du curage, la technique du ganglion sentinelle permettrait de porter l'attention du pathologiste sur les ganglions les plus susceptibles d'être atteints.

L'étude multicentrique rapportée ici, avait pour but d'évaluer la faisabilité et l'intérêt, en pratique clinique quotidienne, de la recherche du ganglion sentinelle (GS) dans la prise en charge de l'adénocarcinome lieberkühnien colorectal, son incidence sur le traitement per et post-opératoire, ainsi que sur la récurrence et la survie.

Ce travail s'est attaché à décrire la prise en charge initiale et les résultats à court terme de l'application de cette technique encore très peu utilisée dans le cancer colorectal. Les résultats à long terme sur la récurrence et la survie à 5 ans feront l'objet d'un travail ultérieur.

II. ETAT DE LA QUESTION

1. LES ENJEUX

La « Commission on Cancer of the American College of Surgeons » a, en 1995, suivi plus de 39 000 patients porteurs d'un cancer colique ou rectal. Dans cette population, la survie à 5 ans pour les cancers coliques de stade I et II (c'est à dire sans envahissement ganglionnaire) était respectivement de 74% et 63% et pour les cancers coliques de stades III (avec envahissement ganglionnaire et sans métastase viscérale) de 46%. La survie à 5 ans pour les cancers rectaux de stade I et II était respectivement de 72% et 54%, de 39% pour ceux de stades III (2).

Ces statistiques montrent la gravité des stades avec envahissement ganglionnaire et l'importance de l'atteinte ganglionnaire en tant que facteur pronostique. Mais elles montrent également de façon plus inattendue, que plus d'un tiers des patients sans atteinte ganglionnaire, pour lesquels la résection chirurgicale était à prétention curative, évoluent de façon péjorative et vont mourir de l'évolution de leur cancer colorectal. Cette constatation amène à s'interroger sur les causes et les mécanismes des récurrences chez les patients pour lesquels le geste avait semblé initialement curateur.

On peut ainsi mettre en cause :

- 1) l'existence d'une dissémination tumorale par voie hématogène ou péritonéale,
- 2) la présence de métastases hépatiques synchrones en dessous du seuil de détection par les techniques d'imagerie moderne et de l'exploration per-opératoire indispensable,
- 3) un curage ganglionnaire incomplet,

Ces différentes difficultés peuvent être responsables d'un « down-staging ». On parle de down staging (ou sous-stadification), lorsque le stade TNM établi pour un patient donné est inférieur au stade réel de la tumeur dont il est atteint.

On peut aussi évoquer un défaut de diagnostic histologique des métastases ganglionnaires ou des cellules néoplasiques au sein du curage ganglionnaire (faux négatif vis à vis du critère « envahissement ganglionnaire »), sur l'examen histologique standard de la pièce opératoire. Actuellement, selon les recommandations issues des règles de bonne pratique (3), l'examen anatomo-pathologique du curage consiste en un repérage des ganglions au sein du méso côlon et à la réalisation d'une coupe par ganglion qui sera colorée par l'Hématoxyline et l'Eosine avant d'être lue par le praticien.

Afin d'augmenter la sensibilité de l'examen du curage, on peut augmenter le nombre de coupes étudiées par ganglion et modifier les méthodes de détection, notamment en associant un marquage immunohistochimique par des anticorps reconnaissant spécifiquement des antigènes présentés par les cellules d'origine épithéliale. Ces techniques alourdissant considérablement l'examen anatomo-pathologique, il n'est pas possible de les appliquer en pratique courante à tous les ganglions du curage.

Comment sélectionner, parmi les ganglions du curage, ceux sur lesquels faire porter un examen anatomo-pathologique plus approfondi ?

Le modèle de dissémination tumorale par voie lymphatique conduit à penser que les meilleurs « candidats » pour cet examen histologique approfondi sont les premiers relais ganglionnaires lymphatiques sur les voies drainant la tumeur.

Comment repérer ces premiers relais ganglionnaires lymphatiques ?

En s'inspirant des techniques de « ganglion sentinelle » utilisées pour la prise en charge d'autres types de tumeur (tumeur du sein, mélanome ou tumeurs pulmonaires). Les artifices d'identification des trajets de drainage lymphatique les plus couramment utilisées sont les techniques colorimétriques par des colorants vitaux et les techniques isotopiques.

2. LE DRAINAGE LYMPHATIQUE

Sur le plan anatomique, le drainage lymphatique du côlon et du rectum s'effectue le long des axes vasculaires qui les irriguent. Ces voies lymphatiques sont le siège de multiples relais ganglionnaires qui peuvent être classés en fonction de leur localisation dans le méso :

- ganglions épicoliques, directement au contact de la paroi digestive,
- ganglions paracoliques, en dedans de l'arcade vasculaire,
- ganglions intermédiaires,
- ganglions principaux, situés au contact des gros troncs vasculaires, dans ce qui sera le sommet du curage chirurgical.

La notion de flux lymphatiques centripètes sur des voies jalonnées par des ganglions relais est une notion admise de longue date, puisque William S. Halsted avait déjà en 1894 énoncé le concept de « dissémination lymphatique séquentielle » (4). Cette théorie selon laquelle la dissémination lymphatique d'une tumeur est séquentielle sous-entend que l'analyse du premier ganglion de drainage de cette tumeur pourrait prédire

l'envahissement du reste du curage. Ainsi, un ganglion à distance ne pourrait être envahi si le premier relais ganglionnaire est indemne. Cette théorie représente le support conceptuel des techniques de repérage du premier ganglion drainant la tumeur, pour la détermination du stade (staging) ganglionnaire. Il évite la réalisation d'un curage ganglionnaire complet et en limite la morbidité, notamment pour les tumeurs du sein ou les mélanomes.

3. LE GANGLION SENTINELLE

a. Historique

La première référence au GS que l'on retrouve grâce au moteur de recherche bibliographique Pubmed remonte à 1975 : Schein et Hasson avançaient une théorie finalement très éloignée du sens actuel du concept de GS. En effet, ils préconisaient la réalisation de biopsie des citernes lymphatiques pré-aortiques. Ils leur accordaient la même valeur qu'une adénopathie sus-claviculaire pour « les cancers du tractus gastro-intestinal et de l'abdomen », en arguant de la fréquence des « skip métastases », c'est à dire de l'envahissement ganglionnaire distal sans atteinte ganglionnaire proximale (5).

Le premier auteur à avoir véritablement recherché un GS a été Cabañas, en 1976, dans ses travaux sur la prise en charge du cancer du pénis (6). Le repérage était réalisé par lymphographie à partir d'un vaisseau lymphatique du dos de la verge. Cet examen réalisé sur 100 sujets masculins, dont 10 volontaires sains, a permis de préciser

la topographie du drainage lymphatique du pénis vers l'aïne et d'identifier des GS fémoraux ou iliaques. L'atteinte de ces ganglions à l'examen anatomo-pathologique après exérèse, avait une valeur pronostique importante, puisque la survie à 5 ans des patients dont le curage était négatif, était de 90%, alors qu'elle n'était plus que de 70% lorsque le GS inguinal était métastatique.



Fig. 1 : lymphographie à partir d'un lymphatique du dos de la verge
(d'après l'article de Cabañas (6)).

Ce concept a ensuite été repris pour la prise en charge de multiples autres tumeurs malignes, notamment le mélanome, l'adénocarcinome mammaire ou le cancer pulmonaire non à petites cellules. Cette technique est même devenue un standard de prise en charge de ces tumeurs pour de nombreux auteurs (7, 8). Des progrès sensibles ont été réalisés tant sur les techniques de repérage que sur les méthodes d'analyse anatomo-pathologique et ont permis d'en augmenter l'efficacité.

La lymphographie a laissé la place à des techniques plus simples de repérage, notamment le marquage par des colorants vitaux et le marquage isotopique comme Morton le décrivait en 1992 pour le traitement du mélanome (9). La prise en charge de ces tumeurs à un stade précoce était controversée compte tenu de la faible probabilité d'envahissement ganglionnaire et de la morbidité des curages ganglionnaires

(lymphœdème des membres). Avec un taux de faux-négatifs estimé à 1%, Morton proposait de ne réaliser de curage lymphatique régional dans les stades précoces du mélanome, que si l'étude histologique extemporanée du GS était positive.

b. Définitions

La définition du GS varie selon les auteurs, notamment en fonction des modes de marquage utilisés.

Pour Taylor *et al*, le GS est le ganglion le plus proche de la tumeur (10). Mais cette définition ne tient pas compte de la physiologie du drainage lymphatique.

lymphoscintigraphie

En se basant sur la lymphoscintigraphie, on pourrait définir le GS comme le premier ganglion repéré, mais la tumeur peut être drainée par plusieurs voies lymphatiques et donc plusieurs ganglions peuvent être sentinelles (11). Devant les multiples ganglions « s'allumant » en scintigraphie, certains auteurs ont choisi comme sentinelle, le ganglion le plus chaud. Cependant, le ganglion métastatique était le ganglion le plus chaud dans seulement 60% des cas lorsque plusieurs ganglions étaient vus en scintigraphie (12). D'ailleurs, la brillance d'un ganglion en lymphoscintigraphie n'est pas seulement fonction de la quantité de marqueur fixée, mais aussi de sa distance par rapport à la caméra et de sa taille.

En considérant la détection radio-isotopique per-opératoire, tous les ganglions chauds ne peuvent pas être considérés comme sentinelle (cela représenterait trop de ganglions, car le traceur traverse les premiers relais pour gagner les relais secondaires qui ne sont pas à proprement parler sentinelles). Il est alors plus rationnel de définir le GS comme un ganglion « un certain nombre de fois » plus radio-actif que le bruit de fond (11).

colorants vitaux

Les colorants vitaux sont des molécules de petite taille. Après les avoir injectés en sous-séreux, ils diffusent rapidement vers les relais secondaires ou tertiaires. Tous les ganglions marqués par cette technique ne sont donc pas nécessairement des sentinelles. A l'inverse, l'envahissement massif des canaux lymphatiques dans un ganglion détourne le flux lymphatique et empêche son marquage. Un ganglion macroscopiquement suspect, mais non teinté ne doit-il pas être considéré comme sentinelle ?

Au total, on peut retenir par convention que le GS est le premier relais sur les voies de drainage lymphatique de la tumeur et toute la difficulté est de mettre au point des artifices permettant son repérage avec une sensibilité acceptable.

c. Les traceurs lymphatiques

Le principe du marquage radio-actif est d'associer un traceur radio-actif, facilement détectable, à une molécule porteuse qui assure le passage dans les voies lymphatiques.

La nature chimique de la sonde radio-active choisie doit permettre un drainage préférentiel par voie lymphatique. Sa masse doit également lui permettre de se fixer dans les ganglions afin de stagner dans les premiers relais ganglionnaires plusieurs heures, sans migrer trop rapidement vers des relais lymphatiques secondaires. Cette progression lente dans le réseau lymphatique autorise ainsi un temps de latence de plusieurs heures entre l'injection du marqueur et sa détection à la fois par scintigraphie pré-opératoire et pendant l'intervention chirurgicale.

Un traceur de petite taille migre vite et permet une détection très précoce après l'injection, mais il est drainé très rapidement vers les relais ganglionnaires secondaires au risque de méconnaître les premiers relais si la détection est réalisée trop tardivement

(13, 14). Ce type de marqueur n'est donc pas compatible avec l'organisation logistique que demande la réalisation d'une endoscopie digestive basse, puis d'une lymphoscintigraphie pré-opératoire, par détection à la gamma-caméra, et enfin d'une détection per-opératoire.

Concernant la détection colorimétrique, les teintures initialement utilisées étaient des colorants vitaux tel que le rouge carmin (15) ou le bleu de méthylène. Ce sont des molécules de très petite taille qui diffusent très rapidement et gagnent précocement les relais ganglionnaires secondaires.

Actuellement, les colorants les plus communément utilisés pour la détection du GS sont le Bleu Isosulfan et le Bleu Patenté V[®] en raison de leur drainage préférentiel vers les vaisseaux lymphatiques et de leur innocuité. Le bleu Patenté V[®] a par ailleurs une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour l'injection intra-lymphatique.

d. Micrométastases

Le terme de micrométastase est utilisé pour définir un amas de cellules tumorales au sein d'un ganglion, mesurant moins de 2 mm de diamètre et de ce fait difficilement détecté par les méthodes anatomo-pathologiques standards. En effet, sur un ganglion mesurant un centimètre, si on ne réalise qu'une coupe, la lame peut être vierge de toute cellule tumorale, alors même que le ganglion est le siège d'une métastase. En pratique, l'anatomo-pathologiste réalise des coupes ganglionnaires tous les 2 à 3 mm, ce qui ne permet toujours pas d'écarter la présence d'une micrométastase occulte.

4. LES CRITERES DE QUALITE DU CURAGE GANGLIONNAIRE

Le curage ganglionnaire est réalisé en réséquant le méso en regard du segment colique ou rectal, siège de la tumeur (16). Cette résection est étendue jusqu'à l'origine des vaisseaux irriguant le segment intestinal intéressé. Pour ce qui est des cancers du rectum, il convient de réaliser une résection du méso-rectum jusqu'à 5 cm en dessous du pôle inférieur de la tumeur (haut rectum) ou de la totalité du méso-rectum (moyen et bas rectum).

La qualité du curage est proportionnelle au nombre de ganglions retrouvés et examinés par l'anatomo-pathologiste. Ce nombre est fonction de l'étendue de la résection réalisée par le chirurgien, de l'exhaustivité de l'examen des tissus par l'anatomo-pathologiste, mais aussi du nombre de ganglions présents chez le patient. Sarli *et al.* ont ainsi montré en analyse multivariée d'une série de cancers colorectaux de stade II que le nombre de ganglions identifiés dans le curage était fonction : de l'âge et du sexe du patient, du siège et du grade de la tumeur (17). L'exhaustivité de l'examen anatomo-pathologique dépend du soin apporté à la dissection par le praticien, de l'utilisation de techniques particulières (notamment la clarification des graisses), de la technique d'échantillonnage (ganglions inclus en totalité ou non), du nombre de niveaux de coupes réalisés et de l'utilisation de techniques immunohistochimiques. La conférence de consensus de l'ANAES de 1998 (16) recommandait l'analyse de tous les ganglions présents dans le curage et concluait que leur nombre ne devait pas être inférieur à huit pour obtenir un staging fiable. Ce chiffre seuil semble actuellement insuffisant. En effet, des études ont montré que la survie à 5 ans des patients porteurs d'un cancer colorectal de stade II avec moins de 10 ganglions analysés était identique à celle des stades III avec 1 à 3 ganglions envahis (après chimiothérapie adjuvante pour les stades III) (17). Swanson *et al* ont analysé une série de plus de 35 000 patients opérés d'un cancer du côlon T3 N0 : ils ont montré que le taux de survie à 5 ans dans

cette population différait selon le nombre de ganglions examinés. Il était plus élevé si le nombre de ganglions analysés était supérieur ou égal à 13 que s'il était inférieur à 8 (survie de 84 vs 69 % à 5 ans). Ils concluaient à la nécessité d'analyser au moins 13 ganglions pour pouvoir affirmer qu'un cancer du côlon est bien T3 N0 (18). Par ailleurs, ce même article a mis en évidence que le nombre de ganglions positifs pour des T3 est proportionnel au nombre de ganglions analysés dans le curage. En fait, il semble qu'il n'y ait pas de valeur seuil pour le nombre minimal de ganglions dans le curage, mais que la survie à 5 ans des cancers colorectaux T3 N0 est proportionnelle au nombre de ganglions examinés (19).

III. BUTS DE L'ETUDE

L'étude multicentrique nationale rapportée dans ce travail, cherchait à évaluer la faisabilité et l'intérêt de la technique du GS dans la prise en charge des patients atteints d'un adénocarcinome Lieberkühnien colique ou rectal. Quelques publications ont montré la faisabilité technique de la recherche du GS par méthode colorimétrique ou radio-isotopique, mais l'intérêt de l'association des deux méthodes de détection reste à déterminer. Par ailleurs, l'impact de la mise en évidence de micrométastases, par la technique du GS, sur la survie et la récurrence à moyen terme reste controversé.

L'objectif principal de l'étude a donc été l'évaluation de la faisabilité d'une double technique de détection, à la fois colorimétrique et radio-isotopique, dans la pratique courante, d'en apprécier la sensibilité par rapport à des modes plus simples de détection et de rechercher des micrométastases.

Les objectifs secondaires de l'étude ont été d'évaluer la sensibilité de cette technique en fonction de la localisation de la tumeur primitive, d'évaluer l'importance des drainages aberrants, d'évaluer son retentissement sur la récurrence à long terme et la survie à 5 ans.

Les dossiers analysés dans ce travail sont ceux des patients opérés depuis le début du protocole (avril 2004), jusqu'en mars 2005. Les inclusions pour cette étude étant toujours ouvertes, d'autres patients ont été inclus depuis cette date, mais n'ont pas été pris en compte dans ce travail. Ces données complémentaires seront relatées ultérieurement, en associant l'analyse du suivi à moyen terme des patients et notamment la recherche de l'influence de la technique du GS sur la récurrence, ainsi que sur la survie.

IV. PRESENTATION DU PROTOCOLE

1. PROTOCOLE ENTRANT DANS LE PROGRAMME HOSPITALIER DE RECHERCHE CLINIQUE NATIONAL (PHRC)

Cette étude prospective multicentrique a été organisée autour d'un protocole entrant dans le programme hospitalier de recherche clinique national (enregistré le 28-6-2002 sous le n°011285) dont le promoteur est le Centre Hospitalier Universitaire de Saint-Etienne et l'investigateur principal : le docteur Olivier TIFFET (CHU St-Etienne). Le protocole est en conformité avec les principes d'éthique établis par la 18^{ème} Assemblée Médicale Mondiale (Helsinki 1964) et par les amendements établis lors des 29^{ème}, 35^{ème}, 41^{ème} et 48^{ème} Assemblées Médicales Mondiales. Il a été soumis à l'avis du Comité Consultatif de Protection des Personnes se prêtant à la Recherche Biomédicale (CCPPRB) Rhône-Alpes-Loire le 21 septembre 2001. Ce comité, après délibérations, a rendu un avis favorable le 15 octobre 2001.

Il s'agit d'une étude prospective diagnostique, multicentrique, à bénéfice individuel direct (ABID) puisqu'elle permet une cartographie ganglionnaire plus précise et un examen anatomo-pathologique plus approfondi des ganglions identifiés comme

sentinelles, et ainsi une meilleure définition du stade tumoral du cancer et notamment de son extension ganglionnaire.

Un consentement éclairé et écrit à été obtenu pour tous les malades après un entretien, autant que possible en présence d'une personne de confiance, et après remise d'une notice explicitant :

- la prise en charge de l'adénocarcinome lieberkühnien colorectal,
- les principes du curage ganglionnaire,
- les principes du GS,
- le risque isotopique,
- l'organisation générale et les contraintes de l'étude,
- l'intérêt individuel du patient.

Le formulaire de recueil du consentement et la notice explicative de cette étude de recherche clinique sont fournis en annexes 1 et 2.

2. CENTRES INVESTIGATEURS

L'étude s'articule autour de quatre centres investigateurs associés :

- le CHU de St Etienne (services du Pr Cuilleret et du Pr Porcheron)
- le CHU de Grenoble (service du Pr Letoublon)
- le CHU de Lyon (service du Pr Baulieux)
- le CHU de Nantes (services du Pr Leborgne et du Pr Le Néel).

Dans chaque centre, les équipes de chirurgie digestive, d'anatomie pathologique, de gastro-entérologie et de médecine nucléaire ont collaboré pour la prise en charge multidisciplinaire des patients et pour le bon déroulement du protocole.

Seuls les CHU de St Etienne et de Nantes ont inclus des patients dans cette étude à ce jour.

3. RECUEIL DES DONNEES

Un cahier anonyme et individuel a été attribué à chaque patient. Sur ce cahier, sont énumérés :

- les renseignements administratifs,
- les antécédents notables,
- l'histoire de la maladie,
- sur le plan technique :
 - la ou les techniques de repérage ganglionnaire utilisées,
 - l'intervention chirurgicale réalisée,
 - les éventuels gestes associés,
- les résultats de la lymphoscintigraphie,
- le nombre et la position des ganglions prélevés,
- les modalités et les résultats de l'examen anatomo-pathologique,
- le suivi post-opératoire,
- les complications,
- les éventuels traitements néo-adjuvants ou adjuvants.

L'ensemble des données colligées dans chaque centre a été centralisé et enregistré dans une banque de données type Excel[®], par E. Bourgeois, attaché de recherche clinique dans le service de chirurgie digestive du CHU de St Etienne.

Cette base de données était conforme à la Loi « informatique et liberté » ; les patients ont la possibilité de consulter et de modifier les renseignements les concernant.

4. CRITERES D'EVALUATION

Le critère d'évaluation principal de l'étude est la détection ou non d'un GS par au moins une des techniques de marquage (radio-isotopique ou colorimétrique). A été défini comme détection positive, l'identification d'un ou plusieurs ganglions:

- 1) Bleu, mais non chaud
- 2) Bleu et chaud
- 3) Chaud, mais non bleu

A été considéré comme un **succès**, la détection d'un ganglion bleu et/ou chaud si son statut histologique reflétait le statut histologique des autres ganglions du curage.

A été considéré comme un **échec** :

- 1) l'absence de détection de GS par au moins une des deux techniques,
- 2) la négativité de l'examen histologique d'un ganglion identifié comme « sentinelle », alors qu'un ganglion non sentinelle était le siège d'une métastase de l'adénocarcinome sur les données de l'examen histologique.

Les critères d'évaluation secondaires ont été définis :

1) A court terme :

- la détection ou non d'un GS en fonction de la taille et de la localisation de la tumeur primitive,
- le taux de GS en position de drainage aberrant et qui n'aurait pas été détecté en l'absence de lymphoscintigraphie pré-opératoire.
- le taux de faux-négatif, soit le pourcentage de GS d'histologie négative en amont d'autres ganglions positifs.

2) A long terme :

- l'incidence de l'évolution métastatique dans le groupe de patients N0 après technique du GS pour répondre à la question : « L'utilisation de cette technique change-t-elle le taux de récurrence et la survie à 5 ans des patients inclus ? »

V. PATIENTS ET METHODES

1. PATIENTS

a. Critères d'inclusion

Les critères d'inclusion ont été peu restrictifs afin de pouvoir évaluer l'intérêt de la recherche du GS dans l'ensemble des cancers colorectaux.

Pour être inclus dans l'étude, le patient devait :

- être âgé de plus de 40 ans
- être porteur d'un cancer colorectal chirurgicalement curable
- avoir signé le consentement éclairé (dans le cadre de la loi Huriet).

En l'absence d'un seul de ces critères, le patient n'était pas inclus.

b. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusion étaient:

- la grossesse,
- le refus de signer le consentement éclairé,
- l'incapacité de comprendre le protocole proposé,
- un cancer colique ou rectal multifocal.

La présence d'un seul de ces critères conduisait à exclure le patient de l'étude.

Les patients pouvaient être exclus en cours d'étude s'ils en faisaient la demande ou s'il apparaissait un critère d'exclusion (par exemple, découverte per-opératoire d'une seconde localisation tumorale).

2. METHODES

a. Résection chirurgicale

La technique chirurgicale réalisée pour la résection colique ou rectale ne présentait pas de particularité liée à l'étude. Il s'agissait d'un geste répondant aux critères carcinologiques couramment reconnus, notamment par la conférence de

consensus de l'ANAES (16). La ligature première des vaisseaux et l'exclusion endoluminale étaient laissées à l'appréciation du chirurgien. La résection du segment intestinal, siège de la tumeur primitive, après ligature vasculaire à l'origine, et de son méso permettait de réaliser un curage ganglionnaire classique, avec préservation nerveuse en cas de lésion rectale.

La voie d'abord (ouverte ou cœlioscopique) n'était pas imposée. Les systèmes de coagulation et d'hémostase étaient laissés à l'appréciation du chirurgien.

L'importance de la résection colique était conditionnée par la topographie de la tumeur. Les tumeurs du côlon droit et de la partie droite du transverse ont été traitées par hémi-colectomie droite avec anastomose iléo-transverse. Les tumeurs du côlon transverse ont été traitées par colectomie transverse. Les tumeurs du côlon gauche ont été traitées par hémi-colectomie gauche ou colectomie segmentaire gauche avec anastomose colo-rectale. Les marges de sécurité sur le côlon ont été de 5 cm au minimum, alors qu'elles pouvaient être réduites à 2 cm dans les cancers du bas ou moyen rectum en vue d'une conservation sphinctérienne. Dans un cas de cancer du bas rectum, la conservation étant impossible, une amputation abdomino-périnéale a été réalisée.

Les anastomoses ont été réalisées selon les habitudes du chirurgien, sans restriction particulière. Elles pouvaient être latéro-latérales, latéro-terminales ou termino-terminales, confectionnées par suture manuelle ou mécanique.

b. Lymphoscintigraphie

La première méthode de détection du GS testée dans cette étude a été la technique isotopique pour réalisation d'une lymphoscintigraphie pré-opératoire.

La bio-cinétique du marqueur dépendant de sa taille et de sa nature chimique, en s'inspirant de l'expérience de radiodétection du GS pour le mélanome notamment (20), le sulfure de rhénium colloïdal a été choisi pour sa taille moyenne de 100 nm (extrêmes : 50-1000 nm) et sa diffusion préférentielle par voie lymphatique.

Le colloïde a été marqué au Technétium 99m dont la demi-vie est de 6 heures et qui délivre, sous forme de rayonnement gamma, une énergie de 140 Kev. Une dose de 156 MBq (4 mCi) de Technétium 99m répartie en 4 seringues de 39 MBq (1 mCi) dans un volume inférieur à 0,1 ml a été injectée en sous-muqueux aux quatre quadrants de la tumeur. Cette dose a été calculée en se basant sur les doses injectées pour la recherche du GS dans le mélanome et le cancer pulmonaire, mais en tenant compte de la décroissance radioactive pendant le délai entre l'injection et l'opération (17 h en moyenne). Pour les patients, il n'y a pas d'effet indésirable connu en relation avec la dose de Technétium 99m injectée. En effet, la dose effective estimée par examen est très inférieure à 0,1 mSv et la plus grande partie de la radioactivité est retirée par le chirurgien après résection et curage ganglionnaire.

Le sulfure colloïde est distribué en France par Cis Bio International. Le coût engendré par le radio traceur est d'environ 60 € par malade. Ce traceur a une licence européenne d'utilisation chez l'homme pour la réalisation d'examen des voies lymphatiques.

Le radio-traceur a été injecté en sous-muqueux, aux quatre quadrants de la tumeur, au cours d'une endoscopie basse, par le gastro-entérologue, en collaboration avec le praticien de médecine nucléaire. Lorsque la tumeur était non franchissable par l'endoscope, les injections ont été réalisées uniquement à son pôle inférieur.

L'examen lymphoscintigraphique avait pour but de rechercher en pré-opératoire un éventuel trajet de drainage lymphatique aberrant, pouvant passer inaperçu lors d'une radio-détection per-opératoire simple.

La lymphoscintigraphie a été effectuée au moins 4 heures avant le prélèvement chirurgical du ou des GS. En effet, c'est à partir de la 4^{ème} heure et jusqu'à la 24^{ème} heure qui suivent l'injection du Sulfure de Rhénium colloïdal-Tc^{99m} que le rapport signal/bruit au niveau des ganglions est optimal. Les images scintigraphiques ont été obtenues avec une gamma caméra simple ou double tête (double tête, grand champ

rectangulaire Vertex[®] ou Forte[®] ADAC pour St Etienne), équipée d'un collimateur parallèle basse énergie haute résolution.

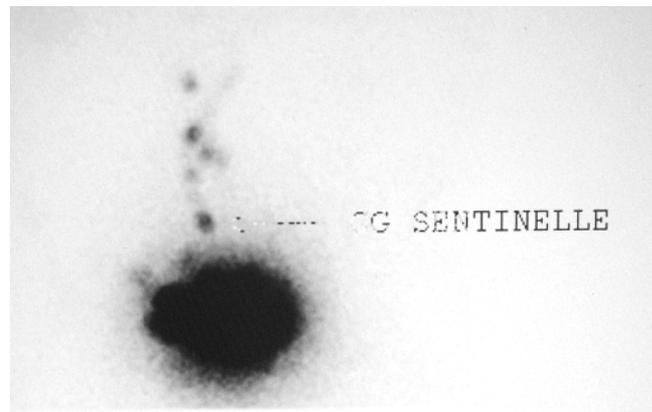


Fig. 2 : image obtenue en lymphoscintigraphie pré-opératoire. On distingue une zone fortement radio-active correspondant à la tumeur, autour de laquelle a été injecté le traceur, ainsi qu'un chapelet de ganglions ayant fixé le traceur.

c. Radio-détection per-opératoire

La recherche per-opératoire des ganglions marqués par le radio-isotope a été réalisée grâce à une sonde détectant les radiations gamma de faible et moyenne énergie (Iode 125, Technétium 99^m, Iode 123). Cette sonde a été conditionnée avec un manchon stérile afin de pouvoir être manipulée par l'opérateur.

La mesure du bruit de fond de référence était réalisée à distance du champ opératoire et de la tumeur. La mesure de la source radio-active maximale était réalisée en regard de la tumeur. Le méso était ensuite balayé par la sonde à la recherche de zones de radio-activité traduisant la fixation du traceur au niveau d'un ganglion. Un compte par seconde inférieur à 10% de la principale radio-activité était considéré comme un bruit de fond. Tous les ganglions dont le compte dépassait 10% de la radio-activité principale étaient donc considérés comme sentinelle.



Fig. 3 : détection radio-isotopique per-opératoire.



Fig. 4 : écran du compteur, indiquant la radio-activité en coups par minutes (cpm). Ici, le compteur indiquait 369 cpm.

d. Détection par injection per-opératoire de Bleu Patenté V[®]

Le repérage colorimétrique du GS a été réalisé en per-opératoire, après mobilisation du côlon par décollement du méso-côlon et libération de l'angle gauche ou droit en fonction de la localisation tumorale. Ce repérage devait être réalisé avant toute ligature des vaisseaux mésentériques et toute section mésentérique afin de ne pas méconnaître un éventuel trajet de drainage aberrant.

Le Bleu Patenté V[®] (Laboratoire Guerbet) est un colorant vital, non toxique, qui diffuse préférentiellement dans les voies lymphatiques. Il peut être responsable d'un choc anaphylactique (chez 1% de la population), imposant de pratiquer l'injection après en avoir prévenu l'anesthésiste.

L'injection a été réalisée à l'aide d'une seringue de 1 ou 2 ml et d'une aiguille pour injection intra-dermique, en sous-séreuse, aux 4 quadrants de la tumeur, sans effraction tumorale. Afin de ne pas souiller le champ opératoire par des gouttelettes de colorant, la zone d'injection était isolée à l'aide de compresses ou de champs intestinaux.

La quantité totale de colorant injecté était de 2 ml, soit 0,5 ml à chaque quadrant de la tumeur.



Fig. 5 : injection sous-séreuse du Bleu Patenté V[®].

e. Choix de la méthode de marquage

Le repérage par technique colorimétrique per-opératoire a été réalisée pour tous les patients, sauf en cas de tumeur du rectum sous-péritonéal, cette localisation ne permettant pas de réaliser d'injection péri-tumorale sous-séreuse.

La technique de repérage radio-isotopique est réalisée pour les patients ayant une tumeur du rectum et du côlon gauche et qui acceptaient l'injection du marqueur radio-actif lors d'une nouvelle endoscopie digestive basse, la veille de l'intervention. Compte tenu de la difficulté de réaliser une coloscopie totale (nécessitant le plus souvent une anesthésie générale), le marquage radio-isotopique n'a que rarement été réalisé pour les tumeurs coliques droites.

f. Identification des ganglions sentinelles

Les ganglions considérés comme sentinelles étaient en lymphoscintigraphie, les ganglions « chauds » repérés dans le méso-côlon ou le méso-rectum, sachant que le marquage péri-tumoral aux sites d'injection masque le plus souvent les ganglions épicoliques par manque de résolution spatiale de la technique. Ont aussi été considérés comme sentinelles en lymphoscintigraphie, les éventuels ganglions « chauds » sur des trajets de drainage aberrant (inguinaux ou obturateurs notamment en cas de tumeurs rectales). Le prélèvement de ces ganglions pour examen anatomo-pathologique a pu nécessiter d'étendre le curage ganglionnaire en fonction des trajets repérés en lymphoscintigraphie pré-opératoire, avec réalisation d'un curage inguinal et/ou obturateur.

La radiodétection per-opératoire isotopique était réalisée par une sonde mesurant le rayonnement gamma. Le bruit de fond était mesuré à distance de la tumeur et le compte de référence était effectué sur la tumeur elle-même. Le méso était examiné grâce à cette sonde et tous les ganglions dont la radio-activité était supérieure à 10% de la mesure de référence, étaient considérés comme sentinelles.

En technique colorimétrique, étaient considérés comme sentinelles, tous les ganglions « bleus ». Autant leur repérage était aisé chez des sujets maigres ayant des mésos fins, autant leur recherche était difficile chez les patients obèses ayant des mésos très épais. Cette recherche nécessitait parfois une réelle dissection du méso, en ouvrant le péritoine et en suivant les canalicules lymphatiques eux aussi rehaussés par le Bleu Patenté V®.

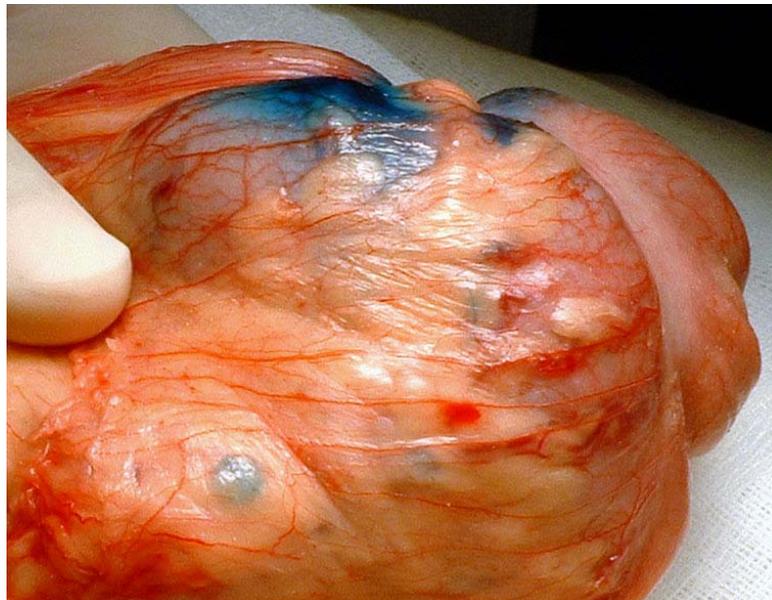


Fig. 6 : repérage des ganglions bleu dans le méso.

Tous les ganglions considérés comme sentinelles ont été repérés et, après exérèse de la pièce opératoire, prélevés et adressés séparément au Laboratoire d'anatomo-pathologie en précisant pour chacun d'entre eux :

- la position exacte par rapport à la tumeur (avec localisation sur un schéma),
- la position dans le méso (épicolique, paracolique, intermédiaire, principal),
- la radio-activité en coups-par-minute,
- la coloration bleue.

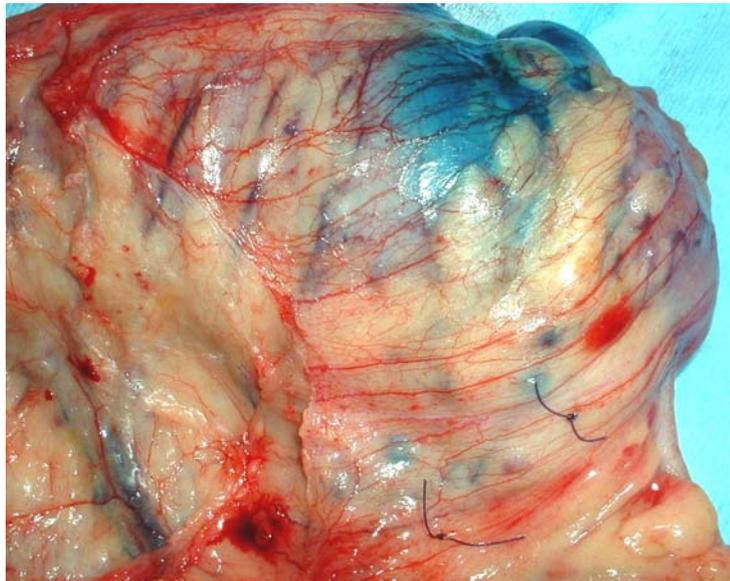


Fig. 7 : marquage des ganglions sentinelles par des ligatures.



Fig. 8 : ganglion marqué au Bleu Patenté V[®], après dissection.

g. Examen anatomo-pathologique

La pièce opératoire a été adressée sans délais en pièce fraîche, non fixée, au Laboratoire d'anatomie pathologique. Les GS ont été adressés séparément, non fixés, en précisant leur localisation, leur éventuelle coloration bleue et le niveau de radio-activité (exprimée en cpm) si un marquage isotopique avait été réalisé.

La pièce de colectomie ou de proctectomie était préparée et examinée selon les recommandations de l'ANAES (16) et les recommandations pour la rédaction des comptes rendus anatomopathologiques des cancers colorectaux (3). Tous les ganglions étaient prélevés, puis fixés dans un bloc de paraffine. On réalisait une coupe par ganglion qui était examinée après coloration standard par Hématoxyline et Eosine (H&E). Le nombre de ganglions prélevés et examinés devait être supérieur à 8 pour valider les résultats du curage conformément aux recommandations de l'ANAES (16).

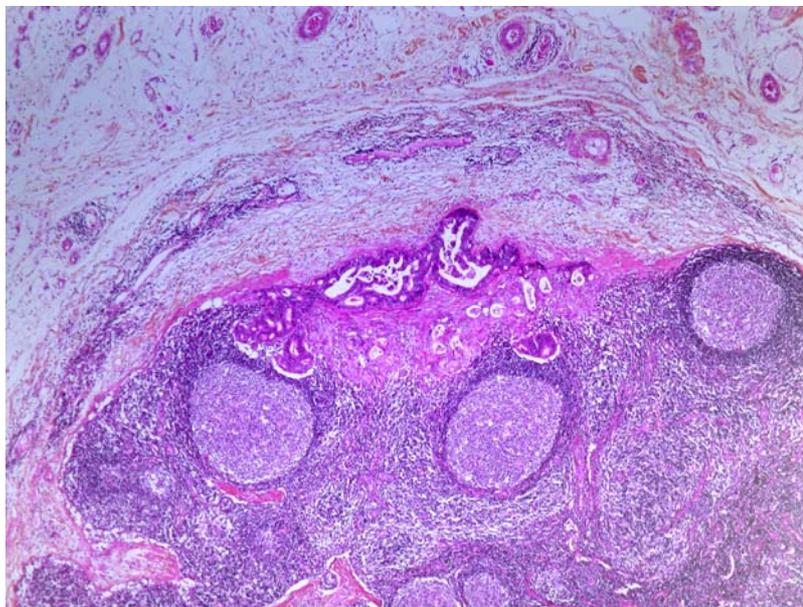


Fig. 9: métastase ganglionnaire après coloration HPS(Hématoxyline/Phloxine/Safran) à grandissement x 40. le parenchyme ganglionnaire infiltré et détruit par des glandes tumorales.

Les GS étaient divisés en deux dans leur plus grand axe, puis les deux fragments étaient fixés. Dix coupes étaient réalisées sur chacun des blocs. En cas d'absence de métastase à l'examen microscopique après coloration standard par H&E, un marquage immunohistochimique avec un anti-corps anti-cytokératine était réalisé à la recherche de micrométastases (définies comme des amas de cellules tumorales de moins de 2 mm de diamètre, intra-tissulaire, extra-vasculaire) ou des cellules circulantes (définies comme des cellules tumorales isolées, dans les sinus des ganglions) (21).

h. Suivi à long terme

Le suivi des patients participant à cette étude était sans particularité et répondait aux recommandations de l'ANAES (16) pour les cancers colorectaux :

- un examen clinique tous les 3 mois pendant 2 ans, puis tous les 6 mois pendant 3 ans,
- une échographie abdominale tous les 3 à 6 mois pendant 3 ans, puis annuelle,
- une radiographie de thorax de face annuelle pendant 5 ans,
- une coloscopie à 3 ans, puis tous les 5 ans si la première était normale.

Si la coloscopie initiale avait mis en évidence 3 adénomes ou plus, dont l'un de plus de 1 cm ou présentant un contingent vilieux, la coloscopie était faite à un an.

Cette surveillance était assurée conjointement par les équipes de chirurgie, de gastro-entérologie ou d'oncologie.

VI. RESULTATS

1. DESCRIPTION DES PATIENTS

a. Nombre de patients

Les patients ont été pris en charge dans deux centres hospitalo-universitaires, à Saint- Etienne et à Nantes. Cinquante-huit patients ont été inclus dans l'étude, quarante-sept à Saint-Etienne et onze à Nantes.

Un patient qui avait été inclus pour un cancer du cæcum, a été exclu de l'étude car l'examen de la pièce opératoire (colectomie droite) avait identifié une deuxième tumeur cæcale à proximité.

La suite de notre étude a donc porté sur les 57 patients pour lesquels l'ensemble des critères d'inclusion étaient réunis et qui ne présentaient pas de critère d'exclusion.

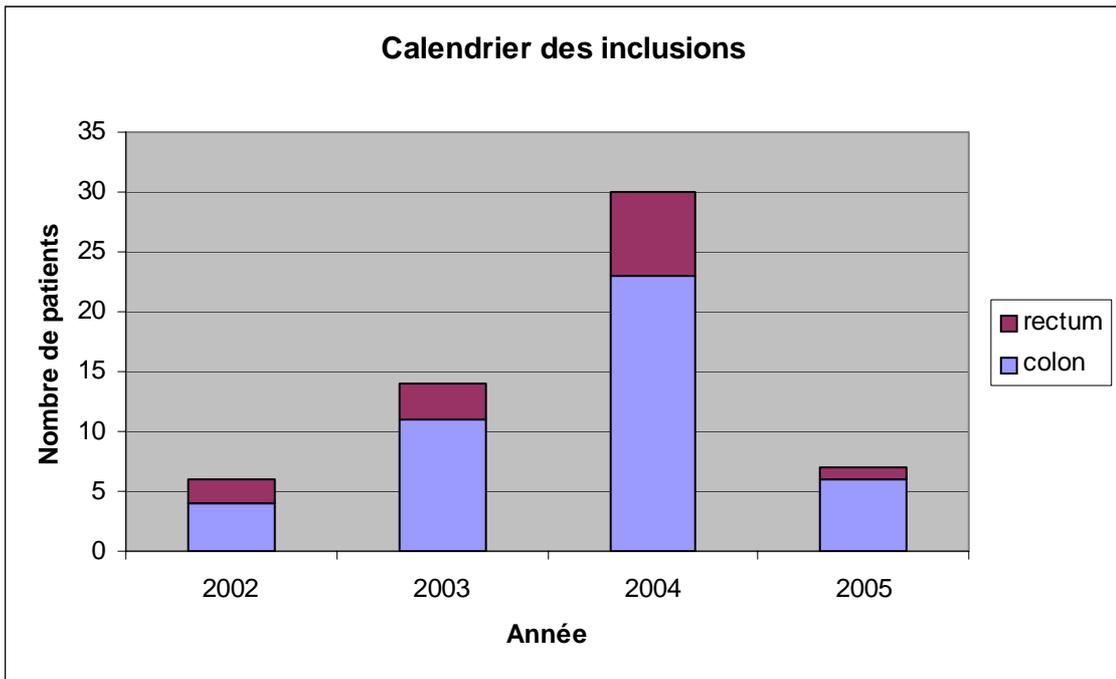


Fig. 10 : calendrier des inclusions.

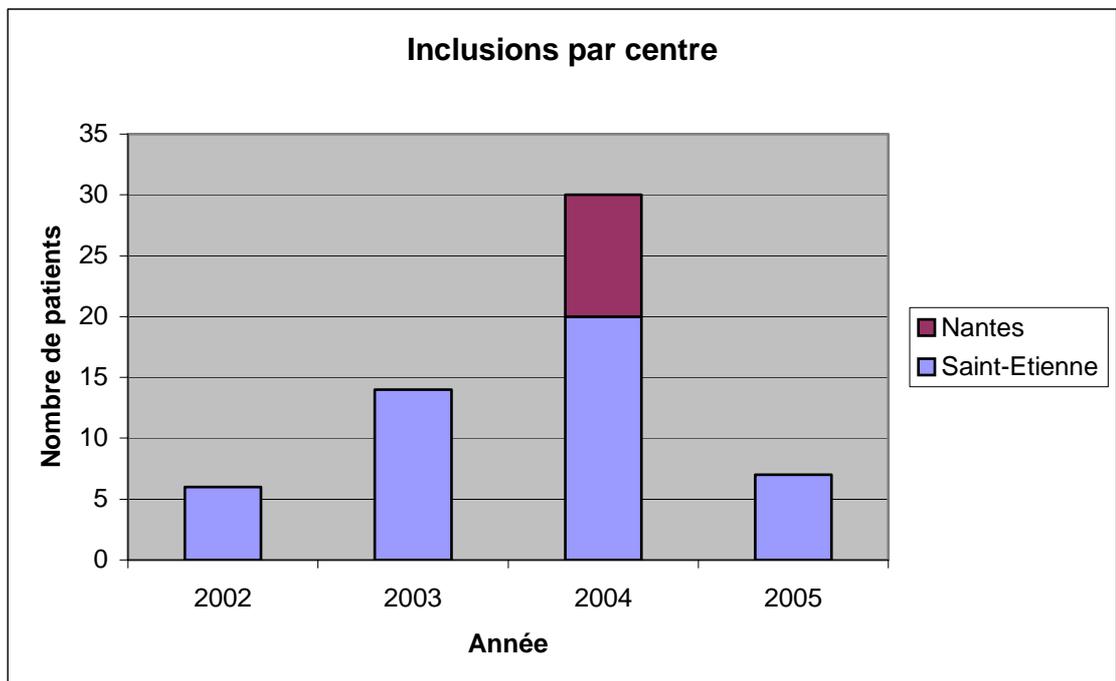


Fig. 11 : inclusions par centre.

b. Age

L'âge moyen des patients était de 71,1 ans avec des extrêmes allant de 45 à 88 ans. Six patients étaient âgés de moins de 60 ans et 9 de plus de 80 ans.

Pour les patients atteints de tumeurs du rectum, l'âge moyen était de 72,4 ans avec des extrêmes de 51 à 84 ans. Pour les patients atteints de cancer du côlon, l'âge moyen était de 70,7 ans avec des extrêmes de 51 à 88 ans.

c. Sex-ratio

Le sexe-ratio est de 0,96 avec 28 hommes pour 29 femmes.

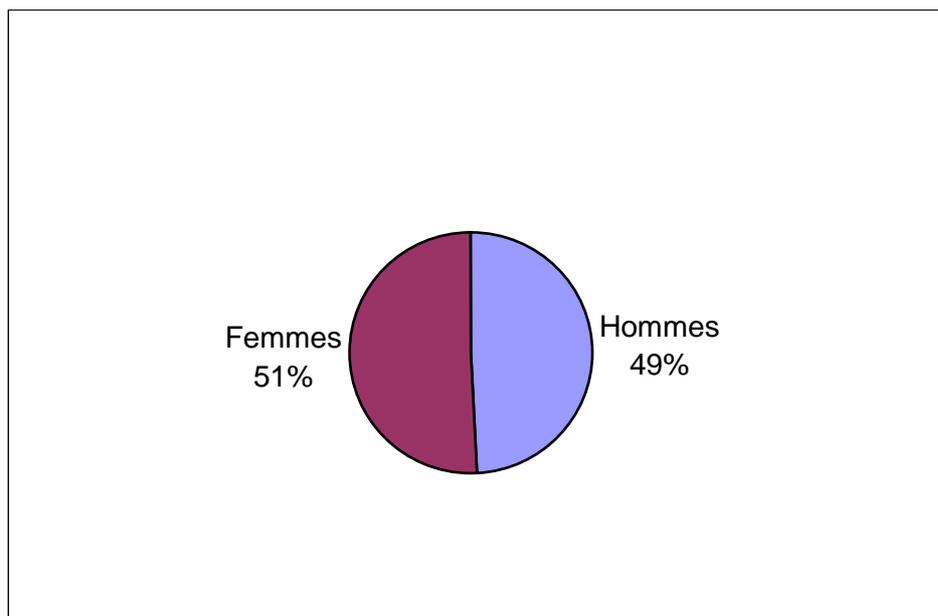


Fig 12 : sex-Ratio.

d. Indice de masse corporelle (BMI)

L'indice de masse corporelle moyen est de 24,6 kg/m² avec des extrêmes de 14 à 34 kg/m². Cette valeur était non renseignée pour 6 patients.

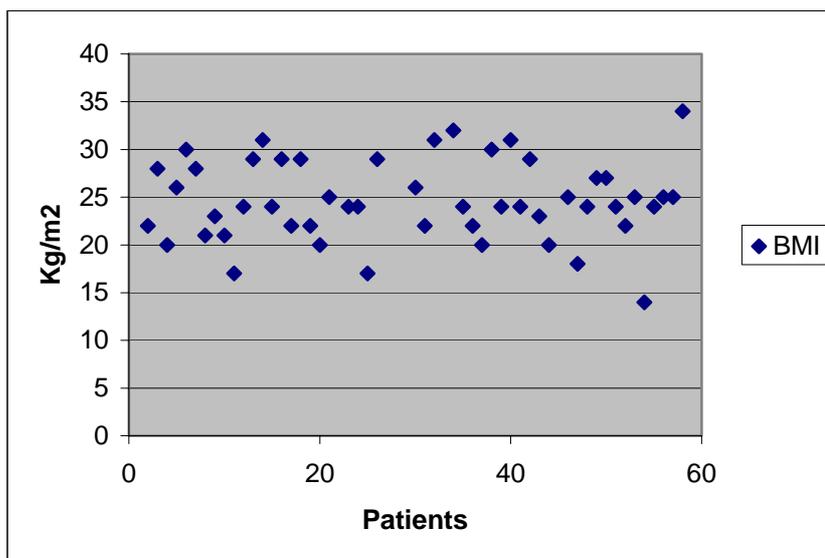


Fig. 13 : indice de masse corporelle (BMI).

Nombre de patients	57
Sex ratio (H/F)	28/29
Age moyen (ans)	71 (45-88)
BMI moyen (kg/m ²)	25 (14-34)
Nombre moyen de ganglions par patient	18 (4-37)
Nombre moyen de GS par patient	2,8 (0-10)
Tumeurs Tis, T1, T2, T3	39 (68%)
Tumeurs T4	18 (32%)

Tableau 1 : principales caractéristiques des patients entrant dans l'étude (GS= ganglion sentinelle).

e. Siège de la tumeur primitive

Pour 44 patients (77 %), la tumeur était de localisation colique : 21 tumeurs coliques droites, 4 tumeurs transverses et 19 tumeurs coliques gauches.

Pour 13 patients (23%), la tumeur était de localisation rectale.

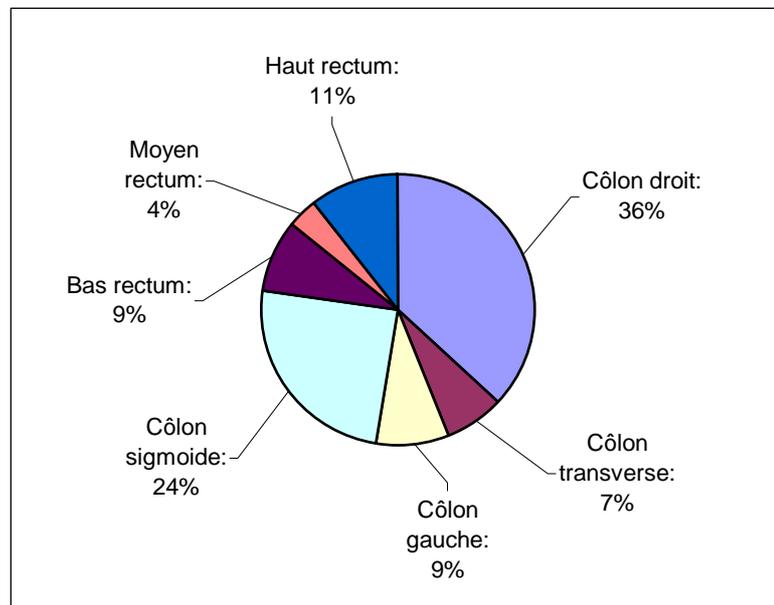


Fig. 14 : siège de la tumeur primitive.

2. TECHNIQUE DE MARQUAGE UTILISEE

Pour les cancers du côlon droit, 2 patients ont bénéficié d'un marquage radio-isotopique seul (dont un patient avec une tumeur in situ non palpable en per-opératoire, rendant impossible l'injection sous-séreuse et péri-tumorale), 1 patient d'un marquage mixte et 18 patients d'un marquage colorimétrique seul (après refus de l'injection de radio-traceur, compte tenu de la nécessité de réaliser une nouvelle coloscopie totale pré-opératoire).

Pour les cancers du côlon transverse et gauche, 6 patients ont bénéficié d'un simple marquage colorimétrique, 12 patients d'une technique mixte et 5 d'un marquage radio-isotopique seul.

Pour les cancers du rectum, 3 patients ont bénéficié d'un marquage mixte, 10 d'un marquage radio-isotopique seul et aucun d'un marquage au Bleu Patenté V[®] isolé (tumeur sous-péritonéale : 6, envahissement pariétal : 1, cul de sac de Douglas inaccessible : 2).

Localisation tumorale	Technique			Total (%)
	Mixte	Bleu Patenté [®]	Isotopique	
Côlon droit	1	18	2	21 (36)
Côlon transverse	3	1	0	4 (7)
Côlon gauche et sigmoïde	9	5	5	19 (23)
Rectum	3	0	10	13 (24)
Total (%)	16 (28)	24 (42)	17 (30)	57 (100)

Tableau 2 : technique de détection en fonction de la localisation tumorale.

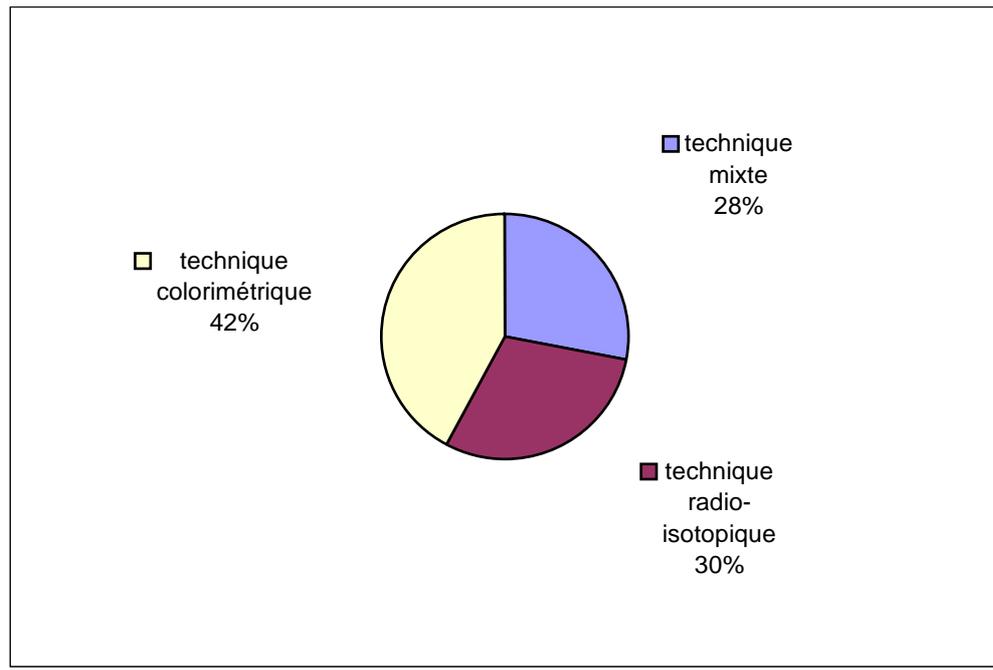


Fig. 15 : technique de repérage utilisée.

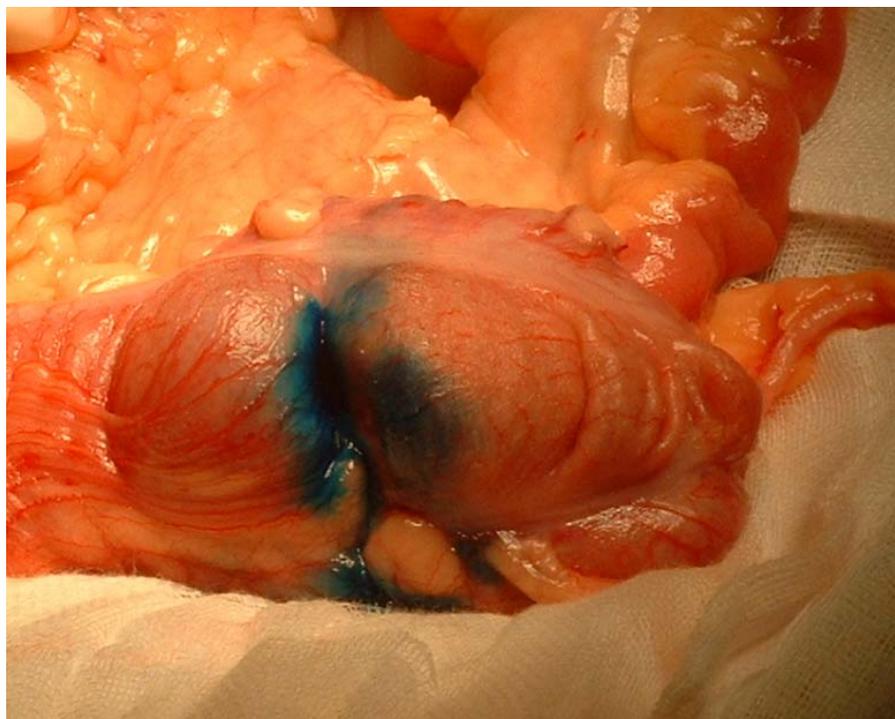


Fig. 16 : marquage d'une tumeur cæcale avec du Bleu Patenté V®.

3. TAUX DE DETECTION

Au moins un GS a été détecté pour 52 patients (91%), avec en moyenne 2,79 (0-10) GS par patient.

a. Selon la localisation tumorale

Pour les cancers du côlon (n= 44), un GS a été détecté chez 41 patients, soit 93 %, avec en moyenne 2,61 (extrêmes : 1-6) GS.

Pour les cancers du rectum (n= 13), un GS a été retrouvé pour 11 patients, soit 85%, avec en moyenne 3,45 (extrêmes : 1-10) GS.

La différence de détection n'est pas significative ($0,3 < p < 0,5$)

	N	Nb moyen de ganglions par patient	Nb moyen de GS par patient	Taux de détection (%)
Côlon	44	18,02	2,61	93
Rectum	13	17,08	3,45	85
Série totale	57	17,81	2,79	91

Tableau 3 : taux de détection du GS en fonction de la localisation de la tumeur primitive

b. Selon la méthode de détection

Avec une méthode de marquage colorimétrique seule (n= 24), un GS a été détecté chez 23 patients, soit 96%, avec en moyenne 2,13 GS (extrêmes : 1-5).

Avec une méthode de marquage radio-isotopique seule (n= 17), un GS a été détecté chez 14 patients, soit 82%, avec en moyenne 3,07 GS (extrêmes : 1-6).

Avec une méthode de marquage mixte (n= 16), un GS a été détecté chez 15 patients, soit 94%, avec en moyenne 3,53 GS (extrêmes : 1-10).

Le taux de détection semble plus élevé en colorimétrie qu'en méthode radio-isotopique, mais la différence n'est pas statistiquement significative ($0,1 < p < 0,2$).

De même, l'association des deux techniques n'augmente pas significativement le taux de détection (colorimétrie vs technique mixte : $0,5 < p < 0,9$; radiodétection vs technique mixte : $p=0,3$).

	N	Nb moyen de ganglions par patient	Nb moyen de GS par patient	Taux de détection (%)
Technique colorimétrique	24	17,92	2,13	96
Technique radio-isotopique	17	15,94	3,07	82
Technique mixte	16	19,63	3,53	94
Série totale	57	17,81	2,79	91

Tableau 4 : taux de détection du GS en fonction de la méthode de marquage.

c. Selon le stade histologique de la tumeur

Parmi les 39 patients présentant des tumeurs Tis, T1, T2 ou T3, un ou plusieurs GS ont été détectés pour 36 patients (92%).

Parmi les 18 patients traités pour une tumeur T4, au moins un GS a été retrouvé pour 16 d'entre eux (89%).

La différence est non significative ($0,5 < p < 0,9$).

d. Selon le BMI

Trente-trois patients avaient un BMI inférieur ou égal à 25 kg/m^2 ; dans cette population, un GS a été retrouvé pour 29 patients (88%). Lorsque la détection était réalisée uniquement par méthode colorimétrique ($n=12$), le taux de détection était de 92%.

Dix-neuf patients avaient un BMI supérieur à 25 kg/m^2 ; dans cette population de patients en surpoids, un GS a été retrouvé pour 18 patients (95%). Lorsque la détection a été faite uniquement par méthode colorimétrique ($n=8$), le taux de détection était de 100%.

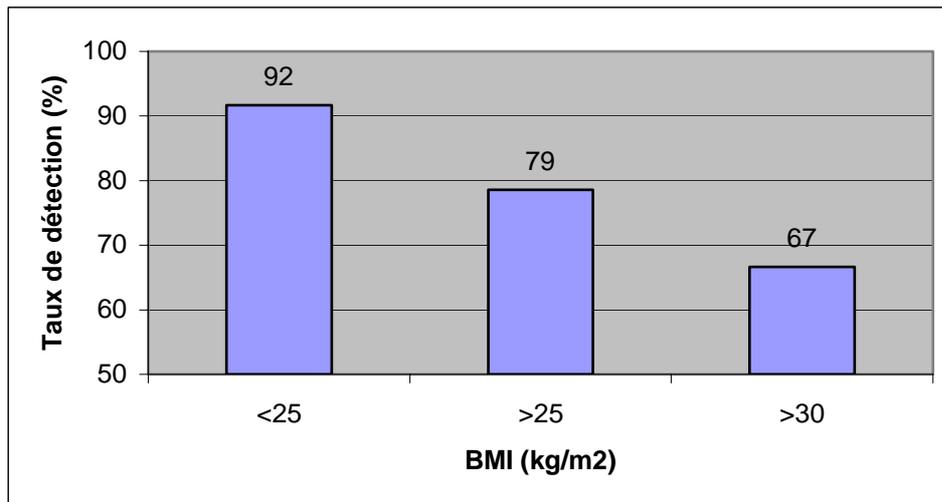


Fig. 17 : taux de détection en colorimétrie en fonction du BMI.

Quelle que soit la méthode de détection, il n'y avait pas de différence statistiquement significative de détection que le BMI soit supérieur ou inférieur à 25 ($p>0,3$).

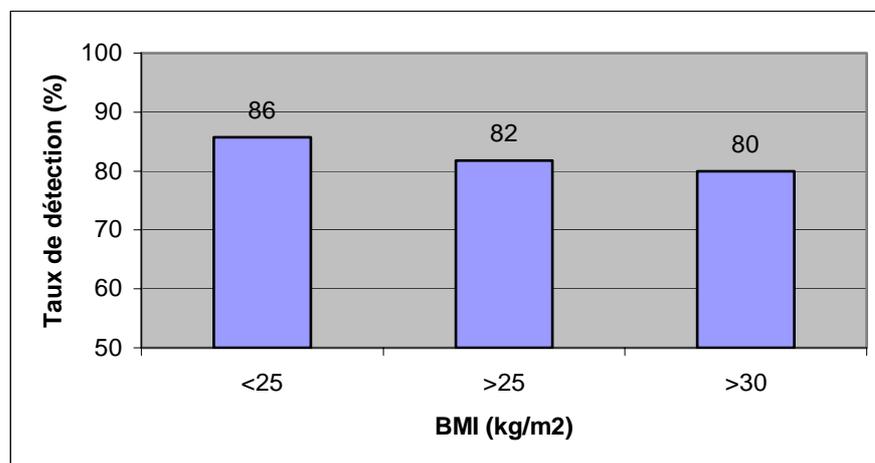


Fig. 18 : taux de détection par marquage isotopique en fonction du BMI.

4. FAUX-NEGATIFS

Sur l'ensemble des patients pour lesquels un GS a été détecté (n= 52), 21 patients présentaient des métastases ganglionnaires (sentinelle et non-sentinelle). L'examen anatomo-pathologique, par coloration standard et en IHC, du GS était négatif pour 10 de ces 21 patients, soit un taux de faux-négatif de 48%.

Le taux de faux-négatifs est obtenu en divisant le nombre de patients présentant des GS faussement négatifs, par le nombre de patients ayant un envahissement ganglionnaire.

La valeur prédictive négative de l'examen anatomo-pathologique du GS sur l'envahissement du reste du curage, était de 77%.

Toute métastase ganglionnaire, qu'elle soit retrouvée dans un GS ou dans un ganglion non-sentinelle, possède, a priori, la même valeur pronostique. A ce titre, il n'existe pas de faux-positif. De ce fait, on ne peut pas déterminer de valeur prédictive positive.

a. Selon la localisation tumorale

Pour les tumeurs coliques avec un GS détecté (n=41), 16 patients avaient un envahissement ganglionnaire. L'examen du GS était négatif chez 8 patients alors qu'il existait des métastases dans des ganglions non sentinelles, soit un taux de faux-négatif de 50%.

Pour les tumeurs rectales avec un GS détecté (n=11), 5 patients avaient un envahissement ganglionnaire. L'examen du GS était négatif chez 2 patients alors qu'il existait des métastases dans des ganglions non sentinelles, soit un taux de faux-négatif de 40% (p>0,5).

b. Selon la méthode de détection

Après détection colorimétrique (n=23), l'examen du GS était faussement négatif chez 3 des 9 patients avec envahissement ganglionnaire, soit un taux de faux-négatif de 33%.

Après repérage radio-isotopique (n=14), l'examen du GS était faussement négatif pour 4 des 7 patients avec envahissement ganglionnaire, soit un taux de faux-négatif de 57% ($p>0,5$).

Après une technique mixte (n=15), 3 patients avaient un examen du GS faussement négatif, sur les 5 ayant un envahissement ganglionnaire, soit un taux de faux-négatif de 60%. L'association des deux techniques ne modifiait pas significativement le nombre de faux-négatifs.

c. Selon le stade histologique de la tumeur

Parmi les tumeurs classées Tis, T1, T2 ou T3 (n= 36), on dénombrait 6 faux-négatifs sur les 12 patients avec envahissement ganglionnaire, soit un taux de faux-négatif de 50%.

Parmi les patients atteints de tumeur T4 (n= 16), le GS était faussement négatif pour 4 des 9 patients avec envahissement ganglionnaire, soit un taux de faux négatif de 44 % ($p>0,5$).

d. Selon le BMI

Parmi les patients de BMI inférieur ou égal à 25 kg/m² avec au moins un GS retrouvé (n=29), l'histologie était faussement négative pour 6 patients, soit un taux de faux-négatif de 40%. Pour les patients de BMI supérieur à 25 kg/m² (n=18), l'histologie était faussement négative chez 4 d'entre eux, soit un taux de faux-négatif de 80%. Cette différence n'est pas statistiquement significative (p>0,1).

		Nb de patients N+	Nb de faux négatifs	Taux de faux négatifs (%)
Selon la localisation	Côlon droit	8	3	37
	Côlon gauche	8	5	62
	Rectum	5	2	40
Selon la méthode de détection	Colorimétrique	9	3	33
	Radio-isotopique	7	4	57
	Mixte	5	3	60
Selon le stade de la tumeur	Tis à T3	12	6	50
	T4	9	4	44
Selon le BMI	<25	15	6	40
	>25	5	4	80
Total de la série		21	10	48

Tableau 5 : ganglion sentinelle et faux-négatifs

5. DRAINAGE LYMPHATIQUE ABERRANT

Sur l'ensemble de la série, un seul drainage lymphatique ganglionnaire aberrant a été mis en évidence (2 %) par marquage radio-isotopique (3 %), pour une tumeur rectale (7 %), alors qu'aucun cancer du côlon n'avait de drainage aberrant ($p=0,06$).

Il s'agissait d'une tumeur du rectum moyen chez une patiente de 74 ans, traitée par radiothérapie néo-adjuvante, puis résection antérieure du rectum. La tumeur étant sous-péritonéale, le marquage colorimétrique n'a pas été réalisé.

L'adénopathie correspondant au drainage lymphatique aberrant a été visualisée à la scintigraphie pré-opératoire. Cet examen retrouvait un nodule chaud à droite de la tumeur. Ce ganglion « chaud » a été retrouvé en per-opératoire par la sonde de radio-détection en position obturatrice. Cette découverte a conduit à modifier le geste chirurgical pour associer à la résection habituelle, un curage obturateur droit. L'examen anatomo-pathologique a conclu à une tumeur T2, sans envahissement ganglionnaire sur les 8 ganglions de la pièce, y compris les ganglions en position aberrante.

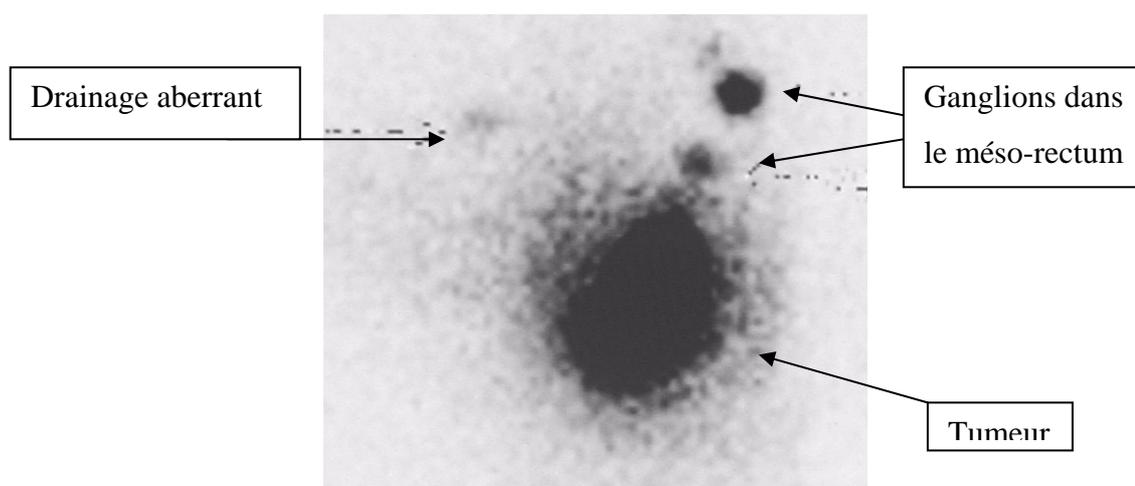


Fig. 19 : lymphoscintigraphie d'une tumeur du rectum avec drainage lymphatique aberrant vers les chaînes obturatrices droites.

6. MICROMETASTASES

Parmi les 33 patients chez qui un ganglion sentinelle avait été retrouvé et sans envahissement ganglionnaire après marquage par H&E, deux patients (3 % de la série) ont eu une micrométastase détectée par le marquage de l'anticorps anti-cytokératine en IHC, soit 6% (2/33) de patients « sur-stadés », et 10% (2/21) des patients N+ dans l'ensemble de la série.

Ces patients étaient tous les deux atteints d'un cancer du côlon droit, soit 9% des patients atteints de cancer du côlon droit et 25% (2/8) des patients N+ avec une tumeur primitive colique droite.

Dans les deux cas, les GS, siège de micrométastases, ont été mis en évidence par méthode colorimétrique.

Ces micrométastases étaient, à chaque fois, les seules métastases retrouvées lors de l'examen du curage ganglionnaire. Elles ont conduit à proposer une chimiothérapie adjuvante, qui n'aurait pas été réalisée sinon, compte tenu du stade N0.

Par contre, l'analyse histologique avec IHC n'a retrouvé de cellules tumorales circulantes isolées dans aucun des ganglions examinés.

VII. COMMENTAIRES

La technique du GS est développée depuis une dizaine d'années, dans la prise en charge des cancers colorectaux et plusieurs études ont montré sa faisabilité, mais il reste à évaluer l'impact de cette technique sur la survie et sur la récurrence tumorale.

Notre étude, portant sur 57 patients atteints de cancer colique ou rectal, a cherché à mettre en évidence des GS par 2 techniques de détection :

-méthode radio-isotopique, par injection sous muqueuse, lors d'une endoscopie, d'un sulfure colloïdal marqué au ^{99m}Tc , détecté en pré-opératoire par une lymphoscintigraphie et en per-opératoire par une sonde détectant le rayonnement gamma ;

-méthode colorimétrique, par injection sous-séreuse de Bleu Patenté V[®], en per-opératoire.

Les ganglions ainsi repérés étaient soumis à un examen histologique approfondi, avec multiplication du nombre de coupes et recherche de micrométastases par IHC (anticorps anti-CK20), si la coloration standard par Hématoxyline et Eosine était normale.

Les différentes questions posées sont les suivantes :

- Quel est le taux de détection de la méthode : pour combien de patients retrouve-t-on un GS ?
- La fréquence des faux-négatifs représente-t-elle un échec de la technique ?
- Quelle est la fréquence des trajets de drainage lymphatique aberrant ?
- Quelle est la signification d'une micrométastase en terme de survie et de récurrence tumorale ?

-Y-a-t-il un intérêt à associer les 2 techniques de repérage des ganglions sentinelles ?

-Peut-on proposer une recherche ex vivo du GS, pour limiter les manipulations tumorales per-opératoire et diminuer la durée de la procédure ?

-A l'heure où, dans certains protocoles, des patients classés pN0 reçoivent des traitements adjuvants, y-a-t-il encore un intérêt à la recherche du GS ?

-Au total, quel est le service médical rendu par cette technique qui, si elle n'est pas dangereuse, a cependant un coût significatif ? Y-a-t-il un bénéfice individuel direct ?

1. TAUX DE DETECTION

Dans cette étude, un ou plusieurs GS ont été détectés chez 91% des patients. Cette valeur est tout à fait comparable à celles publiées pour les séries dernièrement rapportées, quelle que soit la méthode de détection utilisée (22-32)(Tableau 6).

La détection semble moins sensible pour les cancers du rectum (82%) que pour les cancers du côlon (95%) même si cette différence n'est pas significative dans notre série. Cette observation va dans le sens de ce que Mulsow *et al* avaient rapporté dans une revue de la littérature avec un taux de détection de 75% pour les cancers du rectum (32). Cette constatation amène à souligner deux difficultés : la difficulté de réaliser le marquage péri-tumoral dans les cancers du rectum sous-péritonéal et la difficulté de repérage des ganglions marqués au sein du méso-rectum.

Pour les cancers du rectum sous-péritonéal, il n'est pas possible de réaliser d'injection sous-séreuse per-opératoire, ce qui interdit la réalisation du marquage

standard par un colorant vital. Pour contourner cette difficulté, certains auteurs ont choisi de réaliser l'injection péri-tumorale de colorant, en sous-muqueux, lors d'une rectoscopie per-opératoire (22, 24). Dans notre série, nous avons pris le parti de ne pas réaliser de marquage au Bleu Patenté® lorsque la tumeur était sous-péritonéale, mais de réaliser un marquage radio-isotopique par injection sous-muqueuse pré-opératoire. Cette option limite les manœuvres per-opératoires et présente plusieurs avantages. Le premier est de pouvoir réaliser une scintigraphie pré-opératoire qui permet une meilleure visualisation des trajets de drainage aberrant et une recherche plus aisée de ceux-ci en per-opératoire. Le deuxième avantage est de permettre une détection radio-isotopique per-opératoire qui est une technique de repérage plus aisée lorsque les mésos sont épais et que les ganglions ne sont pas directement visibles sous le péritoine, notamment au niveau du méso-rectum.

La présence d'un plus faible nombre de ganglions dans le méso-rectum par rapport au méso-côlon aurait pu être évoquée pour expliquer cette différence de sensibilité, mais cette hypothèse est infirmée par le dénombrement total des ganglions sur les pièces opératoires. En effet, le nombre moyen de ganglions retrouvés dans l'ensemble de la série était de 17,8, de 18 sur les colectomies et de 17,1 sur les résections rectales. La différence n'est pas statistiquement significative.

De même, le faible nombre de patients pris en charge pour une tumeur du rectum ne permet pas d'évaluer l'impact d'une éventuelle radiothérapie néo-adjuvante sur le taux de détection du GS dans cette série (5 patients ont reçu une radiothérapie néo-adjuvante, sur les 13 patients pris en charge pour une tumeur du rectum). Les effets de la radiothérapie néo-adjuvante restent donc incertains. Wiese *et al* mettent en cause la sclérose des vaisseaux lymphatiques pour expliquer cette diminution de détection (33). A l'inverse, Gandy *et al* ne retrouvent pas d'impact de la radiothérapie néo-adjuvante (en programme court, « short course ») sur le taux de détection du GS (31).

Le taux de détection en méthode radio-isotopique (82%) est plus faible que celle de la méthode colorimétrique (96%). Cependant, là encore, la différence n'est pas statistiquement significative. Cette tendance pourrait notamment s'expliquer par la forte proportion de patients traités pour une tumeur du rectum dans la population qui n'a eu qu'un marquage radio-isotopique (10/17 dans notre série). Dans cette série, 7 patients porteurs d'un cancer du côlon ont eu un marquage radio-isotopique seul, et un ou

plusieurs GS ont été retrouvés pour six d'entre eux, soit un taux de détection de 86%. Ce résultat va dans le sens d'une détection plus faible pour la méthode radio-isotopique que pour la méthode colorimétrique, mais les faibles effectifs des différents groupes comparés ne permettent pas de conclure définitivement.

L'obésité semblait, a priori, être un obstacle pour la détection colorimétrique des ganglions, avec des ganglions enfouis profondément dans des mésos épais. L'exploration des mésos à la recherche des ganglions, chez ces patients, nécessite donc une dissection soignée, après ouverture du péritoine, et peut notamment être guidée par la dissection d'un canalicule lymphatique marqué.

Le taux de détection du GS en méthode colorimétrique était de 92% pour les patients de BMI inférieur ou égal à 25 kg/m², alors qu'elle était de 79% pour les patients de BMI supérieur à 25 kg/m² et de 67% pour les patients de BMI supérieur ou égal à 30 kg/m². Notre étude confirme donc les limites de la détection colorimétrique chez les patients obèses avec un BMI supérieur ou égal à 30 kg/m². Cette différence est significative entre les groupes « inférieur ou égal à 25 » et « supérieur ou égal à 30 », avec $p < 0,02$.

Cette différence n'est pas retrouvée en ce qui concerne la méthode de détection radio-isotopique, puisque le taux de détection est de 86% dans le groupe de BMI inférieur ou égal à 25 kg/m², de 82% pour le groupe supérieur à 25 kg/m², et de 80% pour le groupe supérieur ou égal à 30 kg/m². Cette méthode semblerait donc préférable à la détection colorimétrique chez les patients obèses, cependant, compte tenu du faible effectif dans chaque groupe, la différence n'est pas statistiquement significative ($p > 0,5$).

2. FAUX-NEGATIFS

On parle de faux-négatif lorsqu'il existe une métastase dans un ganglion non-sentinelles alors que l'analyse histologique du GS est négative.

Le taux de faux-négatif s'élève à 48% sur l'ensemble de la série. Cette valeur n'est statistiquement influencée ni par la localisation de la tumeur primitive, ni par son stade TNM, ni par le BMI. Par ailleurs, ce taux n'est pas non plus différent, quelle que soit la technique de détection, et il n'est pas non plus diminué par l'association des deux méthodes de détection. Lorsqu'un ganglion du curage était positif en coloration standard, la recherche de micrométastases par IHC n'était pas réalisée, ce qui a un impact sur le nombre de faux-négatifs.

Pour cette cohorte de patients, il est important de noter que l'on parlera d'échec de la technique du GS, et non pas d'échec de la prise en charge globale du malade. En effet, même si l'étude du GS est faussement négative, l'examen histologique standard du reste du curage permet de corriger le diagnostic de métastase ganglionnaire (N+ ou N-). Par ailleurs, dans l'ensemble de la série, on ne dénombre aucune complication directement imputable à la recherche du GS, même s'il existe un risque théorique de choc anaphylactique à l'injection de Bleu Patenté V[®], ainsi qu'un risque de perforation lors de la coloscopie nécessaire à l'injection du radio-traceur. Les différentes revues de la littérature sur la recherche du GS dans la prise en charge des cancers colorectaux, ne mentionnent pas non plus de cas de complication imputable à cette technique (32, 35, 36).

Les patients « faux-négatifs » n'ont donc pas eu de bénéfice individuel direct, mais n'ont pas non plus pâti de cette technique, en dehors du désagrément d'une endoscopie supplémentaire (pour les 11 patients qui ont eu une recherche radio-isotopique faussement négative). On peut considérer qu'ils ont bénéficié d'un curage ganglionnaire standard, comme il est pratiqué pour tous les patients opérés d'un cancer colorectal, sans recherche du GS.

Le taux de faux-négatifs, rapporté par les séries de la littérature, est plus bas puisqu'il varie généralement entre 0 et 38% (22, 23, 34, 36-40)(Tableau 6). Ces faux

négatifs sont rapportés par l'ensemble des auteurs à des « Skip metastases », c'est-à-dire l'envahissement métastatique d'un relais ganglionnaire secondaire sans envahissement des relais ganglionnaires primaires. On peut, sans doute aussi, attribuer une partie de ces faux négatifs à des erreurs techniques (notamment au moment de l'injection du traceur) qui conduisent à repérer des ganglions marqués qui ne sont pas les premiers relais ganglionnaires de la tumeur. Par ailleurs, l'envahissement massif de certains ganglions conduit à une inversion des flux lymphatiques dérivant les marqueurs vers des ganglions qui ne sont pas les premiers relais ganglionnaires et donc parfois à des faux négatifs (41). Toutefois, pour ces patients, le diagnostic d'envahissement ganglionnaire est facilement corrigé par l'examen anatomo-pathologique standard du curage.

	N	Méthode	Taux de détection (%)	Taux de faux négatif (%)
Cserni 1999(23)	25	Bleu / H&E	96	38
Saha 2000(36)	86	Bleu / IHC	98,8	9
Paramo 2001(38)	35	Bleu / IHC	71	26
Wood 2001(37)	75	Bleu / IHC / laparoscopie / in vivo / ex vivo	96	12
Saha 2001(22)	203	Blue / IHC	98	10
Bilchik 2001(39)	40	Bleu / IHC / RT-PCR	100	0
Wong 2001(61)	26	Bleu / ex vivo / IHC	92	35
Wood 2002(40)	100	Bleu / IHC	97	5
Bilchik 2003(73)	120	Bleu & isotope / In vivo & ex vivo / IHC	96	8
Saha 2004(59)	57	Bleu & isotope / IHC	100	16
<u>Notre série</u>	57	Bleu & isotope / IHC	91	48

Tableau 6 : taux de détection et de faux-négatif dans les séries publiées.

L'efficacité de la technique du GS correspond au nombre de patients pour lequel le résultat de l'ensemble du curage concorde avec le résultat de l'analyse histologique du GS. Dans notre série, 42 patients ont été correctement classés par la technique du GS, soit une efficacité de 81%. Le ou les GS étaient les seuls ganglions positifs du curage dans 3 cas, et le repérage de ces métastases n'a été possible que par IHC (micrométastase) pour 2 patients.

La valeur prédictive négative de l'examen du GS, sur le reste du curage ganglionnaire est de 76% dans notre série. Il ne peut donc pas être question de limiter le curage ganglionnaire aux seuls GS, comme cela est proposé pour le cancer du sein ou le mélanome (19, 42).

Toutefois, la technique du GS a un intérêt très différent dans la prise en charge du cancer colorectal. En effet, compte tenu de la morbidité des curages des tumeurs extra-digestives (sein, mélanome), le but de la recherche du GS est de sélectionner une cohorte de patients avec un examen extemporané négatif, autorisant alors à ne pas réaliser de curage ganglionnaire standard. Pour ce type de sélection, il faut privilégier un test avec une forte valeur prédictive négative, afin de diminuer le plus possible le nombre de faux négatifs et éviter ainsi que des patients avec des métastases ganglionnaires soient faussement considérés comme N0.

En ce qui concerne les tumeurs colorectales, il n'y a pas, à proprement parler, de morbidité imputable au curage ganglionnaire, en dehors des troubles vésico-sphinctériens et sexuels entraînés par des lésions des plexus nerveux, notamment lors des colectomies gauches (si le pédicule mésentérique inférieur est sectionné trop à proximité de l'aorte) ou lors de la chirurgie du rectum (quand le plan du méso rectum n'est pas respecté). Ces écueils semblent actuellement maîtrisés par la plupart des équipes. L'enjeu de la recherche du GS dans les cancers colorectaux n'est donc pas de réduire l'étendue du curage ganglionnaire, mais bien d'en améliorer la qualité et la sensibilité (43). Le but est d'éviter de méconnaître une métastase ganglionnaire puisque, lors de l'examen histologique classique, on n'examine qu'environ 1% de toute la masse ganglionnaire du curage (44). A l'inverse, il n'est pas possible en pratique courante, en dehors de protocoles de recherche, de réaliser un examen anatomo-pathologique

approfondi sur la totalité des ganglions, pour des raisons de surcoût et de consommation de temps médical et paramédical. L'identification des premiers relais ganglionnaires de la tumeur permet donc de sélectionner les meilleurs ganglions candidats pour cet examen approfondi, associant la réalisation de niveaux de coupe, tous les millimètres, jusqu'à épuisement du bloc et une étude immunohistochimique.

3. MICROMETASTASES

Le marquage par H&E ne retrouvait pas de métastase ganglionnaire pour 33 patients chez lesquels un GS avait été retrouvé (n=52). Parmi ces patients, des micrométastases ont été retrouvées par IHC pour 2 patients, ce qui représente 9% des patients avec atteinte ganglionnaire. Le marquage IHC a donc permis de « sur-stader » 2 des 33 patients pN0 (chez qui un ganglion sentinelle a été retrouvé), soit 6% des pN0. Le siège initial de la tumeur était le côlon droit dans les 2 cas, soit 25% des patients N+ avec une tumeur colique droite. A la suite de cette constatation, ces patients ont été traités par chimiothérapie adjuvante alors que cette thérapeutique ne leur aurait pas été proposée si l'examen anatomo-pathologique s'était limité à une coloration standard par H&E. En effet, en l'absence de marquage immunohistochimique, les patients auraient été considérés comme pN0.

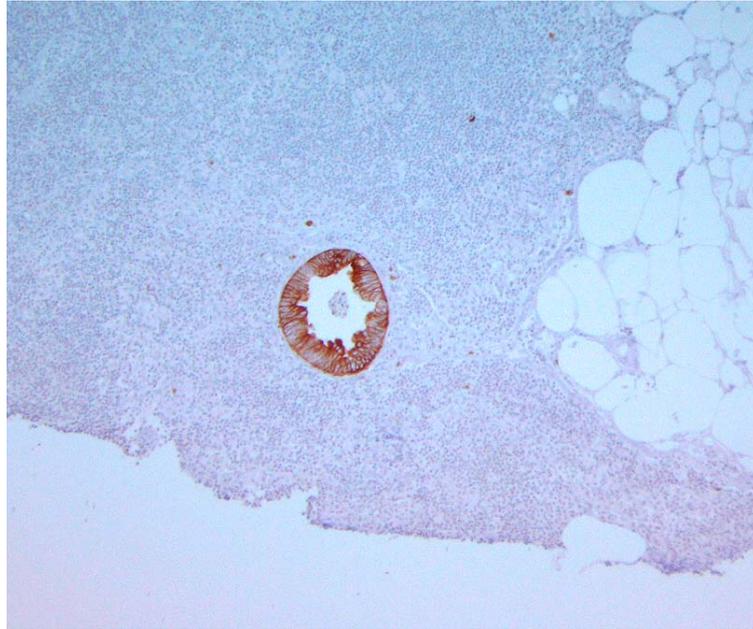


Fig 20 : micrométastase ganglionnaire identifiée en IHC anti-Cytokératine 20.

La fréquence des micrométastases est hétérogène dans les différentes séries publiées puisqu'elle varie de 0 à 47% (25, 30). Cette hétérogénéité est le reflet de différences importantes dans la définition et dans les méthodes de mise en évidence de ces micrométastases. En effet, le marquage des GS par IHC, retrouve une fréquence de micrométastases de l'ordre de 20%, alors qu'elle est d'environ 40% lorsque la recherche est réalisée par RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) (39). Par ailleurs, le nombre de coupes histologiques examinées par ganglion influence la sensibilité de la détection des micrométastases. On comprendra aisément le manque de sensibilité de la recherche de métastase, si on examine en technique standard un ganglion d'un centimètre, avec 2, voire 3 niveaux de coupe ; une métastase mesurant moins de 2 mm peut tout à fait n'apparaître sur aucune des lames examinées. A l'opposé, la multiplication des coupes entraîne un surcoût et une consommation importante de temps médical, incompatibles avec l'application de ces méthodes à tous les patients traités pour un cancer colorectal. Adell *et al* ont montré que la lecture de 3 plans de section permettait de détecter 95% des micrométastases (45). De même, Wiese *et al* ont montré que l'examen de 3 coupes, dont une en IHC, était suffisant pour détecter tous les patients présentant des micrométastases (33).

	N	Méthode*	Nb de patients pN+ (%)**	Micrométastases(Mm)***	
				Mm/pN+ (%)	Mm/pN0 en H&E (%)
Merrie (26)	26	M / IHC / RT-PCR	42	36	21
Paramo (27)	55	B / IHC	29	40	26
Feig (29)	48	B / IHC	33	0	0
Wood (40)	100	B / IHC	44	41	24
Saha (36)	86	B / IHC	39	6	13
Bilchik (74)	40	B / IHC	42	47	26
Bilchik (75)	100	M / IHC / RT-PCR	44	41	24
<u>Notre série</u>	57	M / IHC	40	10	6

Tableau 7 : détection de micrométastases dans les ganglions sentinelles (exprimé en nombre de patients et pas en nombre de ganglions).

* **Détection** : par colorant bleu (B) ou par technique mixte (M), ultra-staging : par IHC &/ou RT-PCR.

**Ensemble des patients pN+ après marquage par H&E et ultra-staging.

*** **Mm/pN+** : rapport du nombre de patients avec micrométastases sur le nombre de patients pN+ après ultra-staging. **Mm/pN0** : rapport du nombre de patients avec micrométastases sur le nombre de patients pN0 après H&E.

La technique immunohistochimique consiste à identifier un antigène cible au sein d'une coupe histologique par un anticorps monoclonal marqué. L'anticorps le plus souvent utilisé dans le cadre de la recherche de micrométastases de cancer colorectal, est un anticorps dirigé contre la cyto-kératine 20 qui est exprimée par les cellules d'origine épithéliale.

La technique de RT-PCR consiste à la mise en évidence d'un ARN codant pour un marqueur tumoral, au sein des ganglions du curage, au moyen d'une reverse transcription-polymerase chain reaction, permettant de détecter des quantités infinitésimales d'ARN. Pour la mise en évidence des micrométastases ganglionnaires des cancers colorectaux, les ARN les plus fréquemment recherchés sont ceux codant pour l'antigène carcino-embryonnaire (ACE), pour la cyto-kératine 20 (CK-20), pour la Guanylyl cyclase C (GCC), pour la chaîne β de l'hormone chorionique gonadotrope (β -hCG), pour c-Met ou pour u MAGE (qui sont pour les 3 derniers, absent dans les cellules bénignes).

La multiplication des méthodes de détection a conduit à proposer une mise à jour de la classification TNM, précisant le mode de découverte et le type de « métastase » ganglionnaire (46).

Descripteur	Définition
pN0 (i-)(sn)	GS négatif en H&E et en IHC
pN0 (i+)(sn)	GS négatif en H&E et envahi en IHC
pN0 (mol-)(sn)	GS négatif en H&E et en RT-PCR
pN0 (mol+)(sn)	GS négatif en H&E et envahi en RT-PCR

Tableau 8 : modification de la classification TNM des cancers colorectaux en fonction du ganglion sentinelle.

Dans une série de 100 patients opérés de cancer colorectaux avec repérage colorimétrique du GS, Bilchik *et al* retrouvaient une fréquence de micrométastases dans les GS inversement proportionnelle au stade pT de la tumeur (86% des pT2 et 20% des pT4) (47). Cependant, les auteurs ne précisent pas la fréquence des métastases ganglionnaires supérieures à 0,2mm, et on peut penser que leur fréquence est plus importante pour les patients pT4 que pour les pT2 ; de ce fait les micrométastases sont plus souvent recherchées pour les tumeurs pT2, ce qui pourrait expliquer qu'on les retrouve plus fréquemment.

Même si la notion de taille inférieure à 2 mm, semble généralement acceptée pour définir une micrométastase, la confusion est fréquemment faite entre micrométastase et métastase, au sein d'un GS, découverte par un examen anatomopathologique approfondi (quelle que soit la technique utilisée pour la mettre en évidence). En fait, des métastases ganglionnaires de 2 mm sont souvent détectées par un examen histologique standard, et considérées comme les métastases ganglionnaires

supérieures à 2mm, sans être mentionnées de quelque manière que ce soit dans le compte rendu d'anatomie pathologique. Ces différences de définitions entraînent une sous-estimation du nombre de micrométastases, et biaisent la comparaison des séries publiées. Par ailleurs, cette constatation modifie le débat sur la signification pronostique des micrométastases. Pourquoi une micrométastase mise en évidence par IHC aurait un retentissement pronostic plus faible que la même micrométastase retrouvée par coloration H&E standard ?

Initialement, la présence de micrométastases n'avait pas fait la preuve de son influence sur la survie ou sur la récurrence tumorale. On aurait donc pu les assimiler à des faux-positifs de la technique du GS. En fait, les résultats diffèrent dans les dernières séries publiées sur le sujet.

En définitive, faut-il considérer les patients pour qui des micrométastases ont été mises en évidence, comme des patients pN0, comme des patients pN+, ou comme une sous-population de patients pN0 plus à risque de récurrence ?

Dès 1994, Greenson *et al* montraient, dans une revue bibliographique (48), que la présence de micrométastases détectées par IHC, était corrélée à un pronostic statistiquement plus sombre sur la survie des patients classés Dukes B, puisqu'ils avaient un pronostic semblable à celui des patients Dukes C.

Liefers *et al*, retrouvaient que les micrométastases détectées par la recherche d'ACE en RT-PCR, étaient corrélées à une diminution significative de la survie à 5 ans (50 vs 91%, respectivement avec et sans micrométastase) ; sachant qu'aucun des ganglions positifs après méthode moléculaire n'était positif en IHC (49). Rosenberg *et al* ont repris les dossiers de 85 patients Dukes B, et ont étudié les ganglions des pièces opératoires à la recherche de Cytokératine-20 (CK-20) en IHC et RT-PCR (sans recherche du GS)(50). La RT-PCR était positive pour 52% de l'ensemble des patients et 83% des patients dont le décès était imputable au cancer colorectal ; la positivité de la RT-PCR est donc corrélée à une diminution de la survie à 5 ans ($p < 0.009$). Parmi ces patients avec une RT-PCR positive, l'IHC retrouvait, pour environ un quart des patients, un marquage extra-nodal considéré comme une contamination et donc un faux-positif de la RT-PCR. Après association de ces deux méthodes de marquage, la survie à 5 ans était de 71% pour les patients positifs, contre 96% pour les patients négatifs ($p < 0.001$).

Pour s'assurer du caractère péjoratif des micrométastases, Clark *et al* ont réalisé une étude multivariée chez 100 patients classés Dukes B ayant eu une résection à visée

curative d'un cancer colorectal. Cette étude a montré qu'en analyse univariée ainsi qu'en multivariée, la présence de micrométastases, détectées par IHC, est statistiquement corrélée à la mortalité par cancer (51).

Au-delà de l'absence ou de la présence de micrométastases, Yasuda *et al* ont cherché à évaluer l'importance du nombre de micrométastases pour un patient donné. Ils ont montré, dans une série rétrospective de 42 patients, avec une recherche IHC sur tous les ganglions des pièces opératoires, que des micro-métastases étaient retrouvées chez 92% des patients ayant récidivé, contre 70% des patients sans récidive (cependant, le délai moyen de surveillance n'était pas précisé). Par ailleurs, la présence de micrométastases dans plus de 3 ganglions était significativement plus fréquente chez les patients récidivant (58 vs 20%, $p < 0.05$) (52).

Parallèlement à ces études, d'autres équipes ne mettent pas en évidence d'impact statistiquement significatif des micrométastases sur la survie (53-56, 45). En fait, la plupart des ces études ne différencient pas micrométastases et cellules tumorales circulantes, retrouvées dans les sinus périphériques des ganglions lymphatiques (53-55). Or, Choi *et al* ont montré que les cellules tumorales circulantes détectées par IHC n'avaient pas d'impact sur la survie à 5 ans (57).

On notera également que dans les séries évaluant l'impact des micrométastases sur la survie et sur la récurrence, les cas de récurrence locale ne sont pas différenciés des cas de récurrence métastatique métachrone ; or les facteurs de risque de ces deux types d'évolution sont probablement distincts.

Au total, on peut penser que la présence de micrométastases, surtout si elles sont retrouvées dans plusieurs ganglions, est corrélée à un taux de récurrence tumoral plus élevé, ainsi qu'à une réduction de la survie à 5 ans. De ce fait, elle pourrait justifier d'un traitement adjuvant d'emblée. Le suivi à long terme de notre cohorte de patients, cherchera à préciser cet impact sur la survie. Cependant, la présence de ces micrométastases ne présage pas de la réponse au traitement adjuvant et il convient donc d'évaluer cette réponse par des essais randomisés.

4. DRAINAGES ABERRANTS

Le drainage lymphatique aberrant est une des causes pouvant être responsable d'un « down staging. ». Si le premier relais ganglionnaire drainant la tumeur a une localisation aberrante, il ne sera pas emporté par un curage ganglionnaire standard, et s'il est le siège de métastases, elles passeront inaperçues. On comprend aisément que ce phénomène peut faire passer un patient N+ pour un patient pN0 et le priver d'un éventuel traitement adjuvant.

Dans notre série, un drainage aberrant a été retrouvé pour une patiente (2%) atteinte d'un cancer du rectum, détectée par la lymphoscintigraphie pré-opératoire, et a conduit à modifier le geste opératoire en y associant un curage obturateur droit. L'ensemble du curage ganglionnaire, sentinelle et non-sentinelle, était indemne de toute métastase ou micrométastase.

Depuis 1999, 14 études, regroupant 693 patients, ont relevé 43 patients (6%) pour qui ont été retrouvés des GS en position aberrante (58). Parmi ces études, deux séries, publiées par la même équipe en 2001 et 2002, en chirurgie laparoscopique, rapportaient moins de 15 cas chacune et un taux de drainage aberrant de 28 et 36% (68, 69). En fait, parmi les séries avec des effectifs plus importants, la fréquence des drainages aberrant varie entre 0 et 10% (58).

Le drainage aberrant n'est pas l'apanage du cancer du rectum, en effet, Wood *et al*, rapportaient dans une série de 100 patients, 3 cas de cancers du côlon droit avec un GS à gauche de la colica média, siège d'une métastase ganglionnaire unique pour 2 de ces 3 patients(40).

Le plus souvent, est considéré comme drainage aberrant, tout GS situé en dehors du champ du curage lymphatique habituellement réalisé par le chirurgien. Or l'étendue du curage diffère d'un praticien à l'autre et peut-être aussi en fonction de la voie d'abord par laparotomie ou laparoscopie. Par ailleurs, aucune étude n'a évalué l'impact de la détection d'un trajet de drainage aberrant sur la survie ou sur la récurrence tumorale.

5. CHOIX DU SITE D'INJECTION

Autant l'anatomie du réseau vasculaire et de ses vaisseaux lymphatiques satellites, irriguant le tube digestif, est bien connue, autant la topographie des voies de drainage de la paroi digestive reste à préciser. Le drainage lymphatique de la sous-muqueuse est-il parallèle à celui de la sous-séreuse ?

La sous-muqueuse semblerait, en théorie, la localisation de choix pour l'injection du traceur, puisque les tumeurs coliques et rectales se développent à partir de la muqueuse. Cependant, le processus expansif gagnant le reste de la paroi digestive, la dissémination tumorale peut tout aussi bien suivre les voies de drainages des couches superficielles que des couches profondes de la paroi digestive. Cet élément pourrait être un argument théorique pour associer les deux techniques de détection, puisque le traceur radio-actif est injecté en sous-muqueux et le Bleu Patenté V[®] en sous-séreux. En pratique, les résultats cliniques de l'association des deux techniques restent à préciser.

6. FAUT-IL ASSOCIER LES DEUX METHODES ?

Comme nous l'avons rapporté plus haut, le taux de détection du GS était de 96% pour la méthode colorimétrique seule, 82% pour la méthode radio-isotopique seule et 94% pour la méthode mixte. La différence entre ces résultats n'est pas statistiquement significative ($p > 0.5$). Dans notre série, l'adjonction d'un radio-marquage ne semble pas

augmenter la sensibilité du marquage colorimétrique. Par contre, le seul trajet de drainage aberrant a été mis en évidence par lymphoscintigraphie, sans marquage au bleu Patenté V[®].

Depuis 1999, quatre études ont cherché à évaluer l'intérêt d'une détection mixte colorimétrique et radio-isotopique. Saha *et al*, en 2004, avaient déjà rapporté un taux de détection de 100% après marquage colorimétrique et 89% après marquage radio-isotopique pour des tumeurs colorectales ; là non plus, la différence n'était pas significative. Par contre, la présence de métastases ganglionnaires était plus fréquente pour les ganglions détectés simultanément par les 2 méthodes (20%), que pour les ganglions détectés seulement par la méthode colorimétrique (11%, $p < 0.028$) (59). Le colloïde marqué étant de plus grande taille que le colorant bleu, il diffuse moins vite dans les voies lymphatiques, à travers les relais ganglionnaires, et marque donc un nombre de ganglions moins important que le bleu, mais il repère probablement les tous premiers ganglions drainant la tumeur. La technique radio-isotopique étant plus sensible pour la détection des métastases ganglionnaires, Saha *et al* préconisaient donc l'association des 2 techniques de marquage. Cependant, la proportion de patients « up-stagés » n'est pas plus importante dans les séries utilisant une technique mixte que dans les séries avec marquage colorimétrique seul.

Le marquage radio-isotopique pré-opératoire est une technique lourde à mettre en œuvre puisqu'elle demande la collaboration et la coordination de quatre équipes : l'équipe d'endoscopie digestive (avec au premier rang le gastro-entérologue), l'équipe de médecine nucléaire (qui prépare, conditionne, injecte le radio-traceur puis réalise la lymphoscintigraphie), l'équipe chirurgicale et le Laboratoire d'anatomie pathologique.

Compte tenu de la difficulté d'organisation et d'un taux de détection globalement plus faible que la détection colorimétrique, la détection radio-isotopique ne semble donc pas justifiée pour la recherche du GS dans le cancer colorectal. Cependant l'association des deux techniques semble plus sensible pour la mise en évidence des GS métastatiques et la détection radio-isotopique est supérieure à la colorimétrie chez les sujets obèses.

7. TECHNIQUE EX VIVO

Une technique d'injection ex vivo du colorant vital a été proposée, notamment en raison du risque théorique d'essaimage tumoral par mobilisation et manipulation de la tumeur avant d'avoir lié les vaisseaux à leur origine, lors de la technique d'injection in vivo.

En pratique, dans la technique ex vivo, la résection colique ou rectale est réalisée selon la technique opératoire habituelle (ligature vasculaire première), avant de procéder à l'injection de colorant vital. Cette injection peut être réalisée par le chirurgien, à l'écart du champ opératoire, en sous séreux, aux quatre quadrants de la tumeur comme le décrivent Fitzgerald *et al* (60). Mais l'injection peut aussi être réalisée par l'anatomo-pathologiste, en sous-muqueux, aux quatre quadrants de la tumeur, après avoir ouvert la pièce opératoire sur son bord anti-mésentérique, comme le décrivent Wong *et al* (61). La zone d'injection est ensuite massée afin d'accélérer le passage du colorant dans les voies lymphatiques. Après quelques minutes (5 à 10 en fonction des séries), le méso est minutieusement disséqué et examiné, en suivant les voies lymphatiques marquées par le colorant, à la recherche des ganglions teintés, qui sont alors considérés comme sentinelles. Ces ganglions sont ensuite analysés selon les mêmes méthodes que celles utilisées lors du repérage in-vivo.

Le taux de détection de ces techniques ex vivo est équivalent à celle de notre série (92 et 88% en ex vivo vs. 91% dans notre série), pour des séries comparables en terme de nombre total de ganglions examinés et de détection de micrométastases (60, 61).

Wong *et al* avançaient comme intérêt de cette méthode qu'elle diminuait le temps nécessaire pour faire l'apprentissage de la technique, puisqu'elle est réalisée par l'anatomo-pathologiste qui traite les pièces opératoires de plusieurs chirurgiens (61). En effet, l'American College of Surgeons Oncology Group faisait le parallèle avec la recherche du GS dans le cancer du sein, pour lequel la courbe d'apprentissage était de 30 procédures (62). Sachant qu'un chirurgien généraliste aux USA, ne réalise en moyenne que treize colectomies par an pour cancer (63), il aurait donc fallu près de 3

ans avant d'atteindre le sommet de la courbe d'apprentissage. En fait, la courbe d'apprentissage est beaucoup plus « plate » pour le cancer colorectal, comme l'ont montré Paramo *et al* (64). Le nombre de procédures nécessaires avant de maîtriser la technique est estimé à 5. Ce résultat limite donc l'intérêt de la recherche ex vivo du GS.

En contre-partie, cette méthode ex vivo ne permet pas de détecter de drainage aberrant et d'adapter le geste opératoire si un tel type de drainage est mis en évidence. De plus, la procédure doit être réalisée après l'encrage de la pièce afin de s'assurer des marges latérales de sécurité, ce qui impose l'utilisation successive de deux colorants par l'anatomo-pathologiste et augmente le risque de souillures. En outre, la nécessité de ligature première des vaisseaux lors de la colectomie pour cancer, n'a pas été établie et ne fait pas partie des recommandations pour la prise en charge des cancers du côlon selon l'ANAES (16). Il n'y a donc pas de contre-indication à réaliser l'injection du traceur en per-opératoire avant la ligature des vaisseaux, ce qui permet un drainage, a priori, plus physiologique du marqueur, ainsi qu'un repérage des trajets de drainages aberrants.

8. TRAITEMENT ADJUVANT DES PATIENTS

N0

Finalement, la question du GS se pose-t-elle encore à l'heure où est discuté le traitement adjuvant à la chirurgie, pour les patients atteints de cancer colorectal sans envahissement ganglionnaire ? En effet, de nombreux essais sont menés pour évaluer l'intérêt d'une chimiothérapie adjuvante pour les patients présentant des tumeurs classées T3N0 (stade Dukes B). Dans l'hypothèse où on retiendrait l'indication d'un

traitement complémentaire systématique chez ces patients, la recherche du GS n'aurait plus de conséquence sur la décision thérapeutique, mais seulement un intérêt pronostique.

Partant de la même constatation que les promoteurs du GS (un tiers des patients atteints d'un adénocarcinome colorectal classé T2-3 N0 (stade II) va récidiver malgré un traitement chirurgical correctement conduit), de nombreuses équipes médico-chirurgicales ont proposé de réaliser une chimiothérapie adjuvante à ces patients N0. En pratique, la survie des patients atteints de cancer de stade II n'est pas significativement prolongée après une chimiothérapie (65) mais cet ensemble de patients est hétérogène et tous les stades II ne sont pas à risque égal de décès ou de récurrence.

Parmi ces patients, des facteurs de mauvais pronostic peuvent être mis en évidence et permettre d'isoler des groupes de patients à haut risque de récurrence ou de décès. Les premiers sont des facteurs anatomopathologiques telles qu'une faible différenciation cellulaire et la présence d'invasions péri-nerveuses ou péri-vasculaires (66-68). Les seconds sont des facteurs génétiques, dominés par les instabilités micro-satellites (69) ou les pertes alléliques (notamment la perte d'une partie du bras court du chromosome 18) (70).

Toutefois, ces éléments restent des facteurs pronostiques et leur influence sur la réponse au traitement reste à définir. Actuellement, les recommandations de l'ASCO (American Society of Clinical Oncology) et du NCCN (National Comprehensive Cancer Network) vont contre l'administration systématique d'une chimiothérapie adjuvante pour les patients atteints de cancer du côlon de stade II (71, 72). Par contre, ces traitements devraient pouvoir être proposés aux patients N0, mais faisant partie d'un groupe à haut risque, après discussion multidisciplinaire et dans le cadre de protocoles de recherche clinique. La mise en évidence de micro-métastases dans les GS fait probablement rentrer les patients dans un groupe à haut risque et pourrait donc justifier, de la même façon d'une chimiothérapie adjuvante.

9. SERVICE MEDICAL RENDU

Au total, on peut considérer que dans notre série, 3 patients ont bénéficié de la technique du GS (5 %). L'un par le repérage d'un trajet de drainage lymphatique aberrant, les deux autres par la mise en évidence, en IHC, de micrométastases. Ces constatations ont entraîné la modification de la prise en charge qui aurait été réalisée si le GS n'avait pas été recherché. Mais ce n'est que l'analyse des résultats à long terme, dans le cadre de la seconde partie de notre travail, qui permettra de dire définitivement s'il y a un intérêt individuel à la technique du GS, en terme de récurrence et de survie notamment.

VIII. CONCLUSION

Le traitement du cancer colorectal est un enjeu de santé publique, à l'heure où le « Plan cancer » met l'accent sur l'aspiration de la société civile et du corps médical, à améliorer la prise en charge « du cancer » en France.

Notre étude a cherché à évaluer l'intérêt de l'association de méthodes colorimétrique et radio-isotopique pour la recherche du GS dans l'adénocarcinome colorectal et la réalisation d'un ultra-staging ganglionnaire par IHC. Il s'agissait d'une étude multicentrique, nationale, avec bénéfice individuel direct.

Les taux respectifs de détection et de faux-négatif ont été de 91% de 48%, avec détection de 2 micrométastases en IHC, ainsi que d'un trajet de drainage aberrant.

Les faux-négatifs ne sont pas à considérer comme un échec de la prise en charge puisque l'examen du reste du curage rattrape le diagnostic d'envahissement ganglionnaire. Par contre, leur fréquence souligne la nécessité de réaliser systématiquement un curage standard, sans se limiter aux ganglions sentinelles, comme cela est proposé pour le cancer du sein ou le mélanome. Aucun effet secondaire n'est imputable au protocole suivi pour cette étude.

Au total, l'association des deux méthodes colorimétrique et radio-isotopique est faisable, mais n'augmente pas statistiquement le taux de détection.

La méthode isotopique trouve tout son intérêt chez les patients obèses et pour les tumeurs du rectum sous-péritonéal. Son inconvénient est, par contre, la nécessité de réaliser une endoscopie basse pré-opératoire et la lourdeur, en terme d'organisation, de faire collaborer 4 équipes médico-chirurgicales.

Les drainages aberrants et les micrométastases, mis en évidence par IHC ou techniques moléculaires, ont un rôle pronostique important en terme d'évaluation du risque de récurrence et de la survie, poussant à les rechercher et à traiter les patients ayant des micrométastases par une chimiothérapie adjuvante conventionnelle.

A l'heure actuelle, malgré les nombreux essais en cours, la chimiothérapie adjuvante n'est pas indiquée pour les patients sans envahissement ganglionnaire, en dehors de protocoles. On peut donc conclure que la recherche du ganglion sentinelle reste pertinente pour la mise en évidence de patients à risque élevé de récurrence et avec réduction de la survie à 5 ans, nécessitant de ce fait, la proposition d'un traitement adjuvant.

IX. REFERENCES

- 1 Megegoz F., Black R.J., Arveux P. et al., Cancer incidence and mortality in France in 1975-1995. *Eur J Cancer Prev* 1997; 6:442-66.
- 2 Beart WR, Steele GD, Menck HR et al. Management and survival of patients with adenocarcinoma of the colon and rectum : a national survey of the commission on cancer. *J Am Coll Surg* 1995, 181 : 225-36.
- 3 Monges G, Piard F. Recommandations pour la rédaction des comptes rendus anatomopathologiques des cancers colorectaux. *Ann Pathol* 1998 ; 18(5) :444-9.
- 4 Halsted WS. The results of operation for cancer of the breast performed at the Johns Hopkins Hospital from June 1889 to January 1894. *Johns Hopkins Hosp Rep* 1894;4:297-350.
- 5 CJ. Schein, J Hasson. The sentinel lymph nodes of the abdomen. *Surg Gynecol Obstet.* 1975; 141(6):922-3.
- 6 R Cabanas. An approach for the traitement of penile cancer. *Cancer.* 1977; 39: 456-66.
- 7 Gershenwald JE, Thompson W, Mansfield PF et al. Multi-institutional melanoma lymphatic mapping experience: the prognostic value of sentinel lymph node status in 612 stage I or II melanoma patients. *J Clin Oncol* 1999;17:976-83.
- 8 Giuliano AE, Haigh PI, Brennan MB et al. Prospective observational study of sentinel lymphadenectomy without further axillary dissection in patients with sentinel node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:2553-9.
- 9 Morton D, Wen D, Wong J, Economou J, Cagle L, Storm F, Foshag L, Cochran A. Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg.* 1992; 127:392-9.
- 10 Taylor AT, Murray D, Herda S, Vansant J, Alazraki N. Dynamic lymphoscintigraphy to identify the sentinel and satellite nodes. *Clin Nucl Med.* 1996; 21: 755-8.

- 11 Nieweg OE, Tanis PJ, Kroon B. The definition of a sentinel node. *Ann Surg Oncol*. 2001; 8 (6): 538-41.
- 12 Eubus D, Leitch AM, Huth J, et al. Hot, blue, or hot and blue: maximizing the accuracy of mammary sentinel lymph node (SLN) biopsy (abstract). Presented at: 52nd Annual Meeting of the Society of Surgical Oncology; March 4-7, 1999; Orlando,FL.
- 13 Alex JC, Weaver DL, Faiban KJT et al. Gamma-probe-guided lymph node localisation in malignant melanoma. *Surg Oncol* 1993; 2:303-308.
- 14 Paganelli G, Chicco C, Cremonesi M, et al. Optimised Sentinel Node scintigraphy in breast cancer. *Q J Nucl Med* 1998; 42: 49-53
- 15 Braitwaite LR etAL. The flow of lymph from the ileocaecalangle, and its possible bearing on the cause of duodenal and gastric ulcer. *Brit J Surg*. 1923 ; 11 :7.
- 16 Conférence de consensus sur les cancers du côlon. Agence Nationale pour le Développement de l' Evaluation Médicale. Paris, 1998, Les cahiers FMC Gastroentérologie Sept 1998,n°7 , vol 12.
- 17 Sarli L, Bader G, Iusco D, Salvemini C, Di Mauro D, Mazzeo A, Regina G, Roncoroni L. Number of lymph nodes examined and prognosis of TNM stage II colorectal cancer. *Eur J Cancer*. 2005; 41:272-9.
- 18 Swanson R, Compton C, Stewart A, Bland K. The prognosis of T3N0 colon cancer is dependent on the number of lymph nodes examined. *Ann Surg Oncol*. 2003; 10 (1):65-71.
- 19 Cserni G, Vinh-Hung V, Burzykowski T. Is there a minimum number of lymph nodes that should be histologically assessed for a reliable nodal staging of T3N0M0 colorectal carcinoma? *J Surg Oncol*. 2002; 81 (2): 63-9.
- 20 Tiffet O, Perrot JL, Soler C et al. Recherche des métastases ganglionnaires du mélanome malin après isolement du ganglion sentinelle par lymphoscintigraphie pré-opératoire et détection per-opératoire (résultats préliminaires). *Ann Chir* 2000 ; 125 : 32-9
- 21 Hermanek P, Hutter RVP, Sobin LH, Wittekind C. Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer* 1999 ; 86 : 2668-73.
- 22 Saha S, Bilchik A, Wiese D, Espinosa M, BadinJ, Ganatra BK et al. Ultra staging of colorectal cancer by sentinel node mapping- a multicenter trial. *Ann Surg Oncol*. 2001; 8 (suppl): 94S-98S.

- 23 Cserni G, Vajda K, Tarjan M, Bori R, Svebis M, Baltas B. Nodal staging of colorectal carcinomas from quantitative and qualitative aspects. Can lymphatic mapping help staging? *Pathol Oncol Res* 1999; 5: 291-6.
- 24 Joosten JJA, Strobbe LJA, Wauters CAP, Pruszczyński M, Wobbes Th, Ruers TJM. Intraoperative lymphatic mapping and the sentinel node concept in colorectal carcinoma. *Br J Surg* 1999; 86: 482-6.
- 25 Waters GS, Geisinger KS, Garske DD, Loggie BW, Levine EA. Sentinel lymph node mapping for carcinoma of the colon: a pilot study. *Am Surg* 2000; 66: 943-5.
- 26 Merrie AE, Van Rij AM, Phillips LV, Rossaak JI, Yun K, McCall JL. Diagnostic use of the sentinel node in colon cancer. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 410-7.
- 27 Paramo JC, Summerall J, Wilson C, Cabral A, Willis I, Wodnicki H et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer. *Am J Surg* 2001; 182:40-3.
- 28 Esser S, Reilly WT, Riley LB, Eyvazzadeh C, Arcona S. The role of sentinel lymph node mapping in staging of colon and rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 850-4.
- 29 Feig BW, Curley S, Lucci A, Hunt KK, Vauthey JN, Mansfield PF et al. A caution regarding lymphatic mapping in patients with colon cancer. *Am J Surg* 2001; 182: 707-12.
- 30 Bendavid Y, Latulippe JF, Younan RJ, Leclerc YE, Dube S, Heyen F et al. Phase I study on sentinel lymph node mapping in colon cancer: a preliminary report. *J Surg Oncol* 2002; 79: 81-4.
- 31 Gandy CP, Biddlestone LR, Roe AM, O'Leary DP. Intra-operative injection of patent blue V dye to facilitate nodal staging in colorectal cancer. *Colorectal Dis* 2002; 4: 447-9.
- 32 Mulsow J, Winter DC, O'Keane JC, O'Connell PR. Sentinel lymph node mapping in colorectal cancer. *Brit J Surg.* 2003 ; 90 :659-67.
- 33 Wiese DA, Saha S, Badin J, Ng PS, Gauthier J, Ahsan A et al. Pathologic evaluation of sentinel lymph nodes in colorectal carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 1759-63.
- 34 Saha S, Nora D, Wong JH, Weise D. sentinel lymph node mapping in colorectal cancer-a review. *Surg Clin North Am* 2000; 80 (6): 1811-9.
- 35 Cserni G. Nodal staging of colorectal carcinomas and sentinel nodes. *J Clin Path* 2003; 56:327-35.

- 36 Saha S, Wiese D, Badin J, Beutler T, Nora D, Ganatra BK et al. Technical details of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer and its impact on staging. *Ann Surg Oncol* 2000;7:120-4.
- 37 Wood TF, Saha S, Morton DL, Tsioulis GJ, Rangel D, Hutchinson W et al. Validation of lymphatic mapping in colorectal cancer: in vivo, ex vivo, and laparoscopic techniques. *Ann Surg Oncol* 2001;8:150-7.
- 38 Paramo JC, Summerall J, Wilson C, Cabral A, Willis I, Wodnicki H et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer. *Am J Surg* 2001;182:40-3.
- 39 Bilchik AJ, Saha S, Wiese D, Stonecypher JA, Wood TF, Sostin S et al. Molecular staging of early colon cancer on the basis of sentinel node analysis: a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 2001;19:1128-36.
- 40 Wood TF, Nora DT, Morton DL, Turner RR, Rangel D, Hutchinson W et al. One hundred consecutive cases of sentinel lymph node mapping in early colorectal carcinoma: detection of missed micrometastases. *J Gastrointest Surg* 2002;6:322-9.
- 41 Grinnell RS. Lymphatic block with atypical and retrograde lymphatic metastasis and spread in carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg* 1996; 163:272-80.
- 42 Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;220:391-8.
- 43 Tuech JJ, Regenet N, Ollier JC, Rodier JF. Le ganglion sentinelle dans les cancers du côlon et du rectum. *Gastroenterol Clin Biol* 2003 ;27 :204-11.
- 44 Abati A, Liotta LA. Looking forward in diagnostic pathology : the molecular superhighway. *Cancer* 1996;78:1-3.
- 45 Adell G, Boeryd B, Franlund B, Sjudahl R, Hakansson L. Occurrence and prognostic importance of micrometastases in regional lymph nodes in Dukes' B colorectal carcinoma: an immunohistochemical study. *Eur J Surg* 1996;162(8):637-42.
- 46 Sobin LH, Wittekind C, eds. *TNM classification of malignant tumors*. 6th ed. New York: Wiley; 2002.
- 47 Bilchik A, Saha S, Tsioulis GJ, Wood T, Morton D. Aberrant drainage and missed micrometastases: the value of lymphatic mapping and focused analysis of sentinel lymph nodes in gastrointestinal neoplasms. *Ann Surg Onc* 2001; 8(9S):82-5.
- 48 Greenson JK, Isenhardt GE, Rice R, Mojzisek C, Houchens D, Martin EW Jr. Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Dukes' B

- colorectal cancer patients using monoclonal antibodies against cytokeratine and CC49. correlation with long-term survival. *Cancer* 1994; 73:563-9.
- 49 Liefers GJ, Cleton-Jansen AM, Van de Velde CJ, et al. Micrometastases and survival in stage II colorectal Cancer; *N Engl J Med* 1998; 339:223-8.
- 50 Rosenberg R, Hoos A, Mueller J, Baier P, Stricker D, Werner M, Nekarda H, Siewert JR. Prognostic significance of cytokeratine-20 reverse transcriptase polymerase chain reaction in lymph nodes of node-negative colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 2002; 20(4):1049.
- 51 Clarke G, Ryan E, O'Keane JC, Crowe J, MacMathuma P. The detection of cytokeratins lymph nodes of Duke'B colorectal cancer subjects predicts a poor outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12(5):549-52.
- 52 Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi N, Yamaguchi K, Hirabayashi Y, Kitano S. Pattern of lymph node micrometastasis and prognosis of patients with colorectal cancer. *Ann Surg Onc* 2001;8(4):300-4.
- 53 Jeffers MD, O'Dowd GM, Mulcahy H, Stagg M, O'Donoghue DP, Toner M. the prognostic significance of immunohistochemically detected lymph node micrometastases in colorectal carcinoma. *J Pathol* 1994; 172:183-7.
- 54 Cutait R, Alves VA, Lopes LC, Cutait DE, Borges JL, Singer J, Da Silva JH, Goffi FS. Restaging of colorectal cancer based on the identification of lymph node micrometastases through immunoperoxidase staining of CEA and cytokeratins. *Dis Colon Rectum* 1991; 34(10):917-20.
- 55 Broll R, Schauer V, Schimmelpenning H, Stik M, Woltmann A, Best R, Bruch HP, Duchrow M. Prognostic relevance of occult tumor cells in lymph nodes of colorectal carcinomas: an immunohistochemical study. *Dis Colon Rectum* 1997;40(12):1465-71.
- 56 Oberg A, Stenling R, Tavelin B, Lindmark G. Are lymph node micrometastases of any clinical significance in Dukes A and B colorectal cancer? *Dis Colon Rectum* 1998; 41(10):1244-9.
- 57 Choi HJ, Choi YY, Hong SH. Incidence and prognostic implications of isolated tumor cells in lymph nodes from patients with Dukes B colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 2002;45:750-6.
- 58 Stojadinovic A, Allen PJ, Protic M, Potter JF, et al. Colon sentinel lymph node mapping: practical surgical applications. *J Am Coll Surg* 2005;201(2):297-13.

- 59 Saha S, Dan AG, Berman B, Wiese D, Mannam S et al. Lymphazulin 1% versus ^{99m}Tc sulfur colloid for lymphatic mapping in colorectal tumors: a comparative analysis. *Ann Surg Oncol* 2004; 11(1):21-3.
- 60 Fitzgerald TL, Khalifa MA, Al Zahrani M, Law CHL, Smith AJ. Ex vivo sentinel lymph node biopsy in colorectal cancer: a feasibility study. *J Surg Oncol* 2002; 80: 27-32.
- 61 Wong JH, Steineman S, Calderia C, Bowles J, Namiki T. Ex vivo sentinel node mapping in carcinoma of the colon and rectum. *Ann Surg* 2001; 233 (4): 515-521.
- 62 Giuliano AE. See one, do twenty-five, teach one: the implementation of sentinel node dissection in breast cancer. *Ann Surg Oncol* 1999; 6: 520-1.
- 63 Richie WP, Rhodes RS, Biester TW. Works loads and practice patterns of general surgeons in the United States, 1995-1997. *Ann Surg* 1999; 230: 533-43.
- 64 Paramo JC, Summerall J, Popittl R, Mesko TW. Validation of sentinel node mapping in patients with colon cancer. *Ann Surg Oncol* 2002;9:550-4.
- 65 Baddi L, Benson A. Adjuvant therapy in stage II colon cancer: current approaches. *Oncologist*. 2005;10(5):325-31.
- 66 Compton CC, Fielding LP, Burgart LJ et al. Prognostic factors in colorectal cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:979-94.
- 67 Horn A, Dahl O, Morild I. Venous and neural invasion as predictors of recurrence in rectal adenocarcinoma. *Dis Colon Rectum* 1991;34:798-804.
- 68 Knudsen JB, Nilsson T, Spechler M et al. Venous and nerve invasion as prognostic factors in postoperative survival of patients with resectable cancer of the rectum. *Dis Colon Rectum* 1983; 26:613-7.
- 69 Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247-57.
- 70 Jen J, Kim H, Piantadosi S et al. Allelic loss of chromosome 18q and prognostic in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994;331:213-21.
- 71 Benson AB 3rd, Schrag D, Somerfield MR et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol* 2004;22:3408-19.
- 72 National Comprehensive Cancer Network. Consultable sur <http://www.nccn.org>. modifié en Mars 2005.

- 73 Bilchik AJ, Nora DT, Sobin LH, et al. Effect of lymphatic mapping on the new tumor-node-metastasis classification for colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:668-72.
- 74 Bilchik AJ, Nora DT, Saha S, Turner R, et al. The use of molecular profiling of early colorectal cancer to predict micrometastases. *Arch Surg* 2002;137:1377-83.
- 75 Bilchik AJ, Nora DT, Tollenaar R, van de Velde C, Wood T, et al. Ultrastaging of early colon cancer using lymphatic mapping and molecular analysis. *Eur J Surg* 2002;38: 977-85.

X. ANNEXES

1. FEUILLET EXPLICATIF REMIS AU PATIENT

2. FEUILLET DE RECUEIL DU CONSENTEMENT ECLAIRE

DETECTION PER-OPERATOIRE DU GANGLION SENTINELLE DANS LES CANCERS COLO-RECTAUX A L'AIDE D'UNE TECHNIQUE RADIOISOTOPIQUE ET COLORIMETRIQUE

LETTRE D'INFORMATION DU PATIENT

Madame, Monsieur,

Vous allez subir une opération pour une lésion tumorale digestive cancéreuse. Lors de cette intervention, nous prélevons habituellement les ganglions situés dans les environs de cette lésion. Ces ganglions (glandes lymphatiques) ayant un rôle de filtre, ils peuvent être envahis par des cellules cancéreuses. C'est pourquoi, le chirurgien a besoin de leur examen pour déterminer le degré d'évolution de la tumeur afin d'adapter au mieux les modalités des traitements complémentaires. Cela permet également de réaliser une ablation aussi complète que possible des lésions cancéreuses.

Ces ganglions étant souvent difficilement repérables lors de l'intervention, nous vous proposons de participer à une étude visant à évaluer une nouvelle méthode de détection de ces glandes lymphatiques. En effet, nous pensons que ces ganglions peuvent être identifiés plus facilement par l'injection d'une très faible quantité de produit radioactif avant l'opération et d'un colorant bleu durant le temps de l'intervention. De plus, cette méthode permet d'analyser plus précisément le premier ganglion coloré (ganglion sentinelle) qui est souvent un bon indicateur de l'état d'avancement de la maladie.

Si vous acceptez de participer à cette étude, vous aurez en plus, par rapport à la pratique habituelle :

- une endoscopie, la veille de l'opération, pendant laquelle on vous injectera une petite quantité de produit radioactif à proximité de la tumeur.
- au minimum 4 heures avant l'intervention chirurgicale, le médecin réalisera un examen lymphoscintigraphique : à l'aide d'une caméra spécifique, il visualisera les ganglions radioactifs et marquera leur emplacement, au feutre, sur la peau.
- pendant l'opération, on vous injectera, à proximité de la tumeur du colorant bleu.

La suite de l'opération sera réalisée selon la pratique habituelle, c'est à dire :

- la tumeur et les ganglions colorés en bleu et/ou radioactifs seront enlevés par le chirurgien
- le suivi post-opératoire ne comportera pas de consultations ou de séjour supplémentaire à l'Hôpital.

La quantité de radioactivité injectée est très faible, beaucoup moins importante que lors d'un examen médical standard (scintigraphie osseuse par exemple) et n'entraîne pas plus de risques pour vous. De plus, la très grande majorité de la radioactivité sera enlevée durant le temps de l'intervention par la résection d'une partie ou de tout l'organe atteint et des ganglions. Le reste disparaîtra en 48 heures. L'injection de bleu durant le temps d'intervention peut entraîner une coloration bleue passagère (24 heures) des urines.

Votre participation à cette étude est entièrement volontaire, et vous êtes libre d'accepter ou de refuser, vous serez alors opéré selon la technique habituelle. Les éventuelles informations obtenues par cet examen seront communiquées au médecin qui vous suit.

Comme la loi l'exige, le CHU de S^t-Etienne, promoteur de cette étude, a souscrit une assurance pour cette étude et le Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale Rhône-Alpes-Loire, a donné un avis favorable à la réalisation de cette recherche le 15 octobre 2001.

**DETECTION PER-OPERATOIRE DU GANGLION SENTINELLE DANS LES
CANCERS COLO-RECTAUX A L'AIDE D'UNE TECHNIQUE RADIOISOTOPIQUE ET
COLORIMETRIQUE**

CONSENTEMENT DE PARTICIPATION DU PATIENT

de M.....

Le Docteur m'a proposé de participer à une recherche sur la détection per-opératoire du ganglion sentinelle dans les cancers colo-rectaux.

Il m'a précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser. Cela ne changera pas nos relations pour mon traitement.

J'ai reçu et j'ai bien compris les informations suivantes :

- le but de cette recherche est d'évaluer une nouvelle méthode de détection des ganglions susceptibles de renfermer des cellules tumorales et en particulier du premier ganglion de drainage de la tumeur afin de l'analyser plus précisément.

- cette étude ne change en rien les modalités du traitement chirurgical.

J'accepte de participer à cette recherche dans les conditions précisées ci-dessus.

Mon consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités. Je conserve tous mes droits garantis par la loi. Si je le désire, je serais libre à tout moment d'arrêter ma participation. J'en informerai alors le Docteur

Conformément à la loi « informatique et liberté », j'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette étude puisse faire l'objet d'un traitement informatisé en préservant strictement mon anonymat. Les données qui me concernent resteront strictement confidentielles et je n'autorise leur consultation que par des personnes qui collaborent à cette recherche et, éventuellement, un représentant des autorités de santé. Mon droit d'accès et de rectification à ces informations pourra s'exercer à tout moment auprès du Dr

Je pourrais à tout moment demander toutes informations complémentaires au Docteur

Fait à, le/...../200... , en deux exemplaires dont un est remis à l'intéressé(e)

Nom du médecin

Nom et prénom du patient

.....

.

..

.....

Signature du médecin

Signature du patient précédée de la mention « Lu et approuvé »

LISTE DES FIGURES

- fig. 1 : lymphographie à partir d'un lymphatique du dos de la verge.
(d'après l'article de Cabañas (10)). p22
- fig. 2 : image obtenue en lymphoscintigraphie pré-opératoire. On distingue une zone fortement radio-active correspondant à la tumeur, autour de laquelle a été injecté le traceur, ainsi qu'un chapelet de ganglions ayant fixé le traceur. p38
- fig. 3 : détection radio-isotopique per-opératoire. p39
- fig. 4 : écran du compteur, indiquant la radio-activité en coups par minutes (cpm). p39
- fig. 5 : injection sous-séreuse du Bleu Patenté V[®]. p40
- fig. 6 : repérage des ganglions bleu dans le méso. p42
- fig. 7 : marquage des ganglions sentinelles par des ligatures. p43
- fig. 8 : ganglion marqué au Bleu Patenté[®], après dissection. p43
- fig. 9 : métastase ganglionnaire après coloration HPS(Hématoxyline/Phloxine/Safran) à grandissement x 40. le parenchyme ganglionnaire infiltré et détruit par des glandes tumorales. p44

<u>fig. 10</u> : calendrier des inclusions.	p47
<u>fig. 11</u> : inclusions par centre.	p47
<u>Fig 12</u> : sex-Ratio.	p48
<u>fig. 13</u> : indice de masse corporelle (BMI).	p49
<u>fig. 14</u> : siège de la tumeur primitive.	p50
<u>fig. 15</u> : technique de repérage utilisée.	p52
<u>fig. 16</u> : marquage d'une tumeur cœcale avec du Bleu Patenté V [®] .	p52
<u>fig. 17</u> : taux de détection en colorimétrie en fonction du BMI.	p56
<u>fig. 18</u> : taux de détection par marquage isotopique en fonction du BMI.	p56
<u>fig. 19</u> : lymphoscintigraphie d'une tumeur du rectum avec drainage lymphatique aberrant vers les chaînes obturatrices droites.	p60
<u>fig 20</u> : micrométastase ganglionnaire identifiée en IHC anti-Cytokératine 20.	p70

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : principales caractéristiques des patients entrant dans l'étude.	p49
<u>Tableau 2</u> : technique de détection en fonction de la localisation tumorale.	p51
<u>Tableau 3</u> : taux de détection du ganglion sentinelle en fonction de la localisation de la tumeur primitive	p53
<u>Tableau 4</u> : taux de détection du ganglion sentinelle en fonction de la méthode de détection	p54
<u>Tableau 5</u> : ganglion sentinelle et faux-négatifs	p59
<u>Tableau 6</u> : taux de détection et de faux négatif dans les séries publiées.	p67
<u>Tableau 7</u> : détection de micrométastases dans les ganglions sentinelles (exprimé en nombre de patients et pas en nombre de ganglions).	p71
<u>Tableau 8</u> : modification de la classification TNM des cancers colorectaux en fonction du ganglion sentinelle.	p72

NOM : GUILLAN

Prénom : Thomas

Titre de Thèse :

« Le ganglion sentinelle dans le cancer colorectal : évaluation prospective d'une méthode de détection radio-isotopique et colorimétrique. »

RESUME

Introduction : Chaque année en France, plus de 33 000 patients sont traités pour un adénocarcinome lieberkühnien colorectal. Parmi les patients sans envahissement ganglionnaire après résection chirurgicale à visée curative, un tiers va récidiver.

But de l'étude : nous avons cherché à évaluer l'intérêt de la recherche du ganglion sentinelle (GS) par une double technique radio-isotopique et colorimétrique, afin de mettre en évidence des micrométastases en immunohistochimie (IHC).

Patients : 57 patients ont été inclus, de avril 2004 à mars 2005, et évalués dans 2 centres investigateurs, dans le cadre d'un programme hospitalier de recherche clinique.

Résultats : Le taux de détection du GS a été de 91%. Le taux de faux-négatif (GS négatif avec envahissement d'un ganglion non-sentinelle) a été de 48%. Une patiente présentait un trajet de drainage aberrant et deux patients avaient des micrométastases ganglionnaires. Dans ces 3 cas l'attitude thérapeutique a été modifiée par la recherche du GS.

Conclusion : Cette méthode, grâce à un meilleur staging ganglionnaire, permet de sélectionner une population de pN0 à haut risque de récurrence. Ce groupe est celui qui pourrait, potentiellement, bénéficier d'une chimiothérapie adjuvante. L'association des 2 méthodes de repérage demande une coordination entre les différentes équipes médico-chirurgicales et entraîne un surcoût, mais n'augmente pas statistiquement le taux de détection du GS, sauf chez les patients obèses.

Mots-Clés :

Ganglion sentinelle, cancer colorectal, lymphoscintigraphie, micrométastase, IHC.

Key-words :

Sentinel lymph node, colorectal carcinoma, lymphoscintigraphy, micrometastase, immunohistochemistry.