

FORUM OF PATHOLOGY

2002/3

25-01-2003

**Pièges Diagnostiques
dans les Tumeurs Pulmonaires
de type fréquent**

Dr F. Thivolet
Lyon

Brussels, January 25th, 2003

Pièges Diagnostiques dans les Tumeurs Pulmonaires de type fréquent

Dr F. Thivolet

PROGRAMME

09 h 00	Accueil et enregistrement des participants
09 h 30	Rappels théoriques
10 h 15	Histoséminaire (1 ^{ère} partie)
11 h 00	Pause-Café
11 h 30	Histoséminaire (2 ^{ème} partie)
13 h 00	Fin de la réunion

Pièges diagnostiques en fibroscopie bronchique

F Thivolet-Béjui

25 janvier 2003

Introduction

L'histopathologie du cancer du poumon a déjà été abondamment décrite. Notre but est de préciser la faisabilité et les limites de la classification histopathologique sur les biopsies par fibroscopie, ainsi que les indications de l'immunohistochimie en routine diagnostique.

La plupart des classifications y compris la classification révisée de l'OMS divisent les cancers du poumon en quatre types principaux : carcinome malpighien, adénocarcinome, carcinome à grandes cellules, et carcinome à petites cellules ainsi qu'en plusieurs sous types histologiques et des formes rares. Depuis l'émergence de la chimiothérapie moderne démontrant la relative sensibilité du carcinome à petites cellules et les études prouvant la fréquence des diffusions métastatiques précoces, le clinicien est essentiellement concerné par la distinction des cancers du poumon en carcinome à petites cellules et carcinome non à petites cellules.

Modifications histopathologiques du cancer du poumon

L'incidence du cancer du poumon dans le monde et en particulier aux Etats Unis continue à augmenter. Vincent et collaborateurs ainsi que d'autres auteurs ont démontré que l'incidence du carcinome malpighien (la forme la plus fréquente dans le monde du cancer du poumon) diminue en fréquence absolue et relative aux Etats unis ainsi qu'en Europe). Cette diminution s'accompagne d'une augmentation absolue et relative de l'incidence de l'adénocarcinome.

Il n'existe pas de modification de l'incidence du carcinome à petites cellules qui représente environ 25 % de toutes les tumeurs du poumon.

Les adénocarcinomes incluant bien sûr le type bronchioloalvéolaire sont traditionnellement le type histologique le plus fréquent des cancers du poumon, survenant chez les non-fumeurs, les femmes et les adultes jeunes ; ces constatations suggèrent donc une modification importante dans la pathogénèse des cancers du poumon. L'augmentation de l'incidence du carcinome bronchioloalvéolaire est probablement artificielle liée à un problème de classification.

Technique des biopsies bronchiques

La qualité du diagnostic histopathologique est fonction de la qualité des prélèvements biopsiques. Le nombre des biopsies et leur taille sont variables en fonction de l'expérience et surtout de l'habileté de l'opérateur . La représentativité du prélèvement intervient également : les tumeurs sténosantes sont généralement difficiles à biopsier, les biopsies concernent alors les lésions de bordure.

Il en est de même pour les lésions tumorales sous muqueuses qui peuvent être atteintes par des biopsies transbronchiques. Là encore le nombre des biopsies à prélever est important, certains auteurs considèrent qu'elles doivent être au nombre de 5 à 6 minimum et pour certains, 10 biopsies sont recommandées. Le diagnostic histologique repose parfois essentiellement sur la pratique de coupes sériées. Il est utile de prévoir des lames blanches au moment de la réalisation de la première coupe afin d'utiliser au maximum le matériel tissulaire.

- Histochimie

La coloration histochimique la plus rentable à pratiquer sur le plan diagnostique est la coloration de Kreyberg permettant d'identifier d'une part les mucines et d'autre part les grains de kératohyaline.

- Immunohistochimie

Les réactions réalisées en routine diagnostique le sont de façon rétrospective sur des biopsies qui ont fait l'objet d'une fixation, soit dans le liquide de Bouin, soit dans le formol tamponné.

La fixation diminue la sensibilité de la technique en particulier pour les antigènes membranaires. La petite taille de certains prélèvements biopsiques limite également le panel d'anticorps utilisables.

Nous verrons donc ponctuellement les indications limitées de l'immunohistochimie sur les biopsies bronchiques déparaffinées.

Carcinome malpighien et autres tumeurs à différenciation malpighienne

Les caractéristiques histopathologiques, immunohistochimiques et ultra-structurales de **différenciation malpighienne** sont inchangées depuis des années : il s'agit de la kératinisation intra et extracellulaire et des desmosomes (ponts intercellulaires) ainsi que des faisceaux de filaments intermédiaires de cytokératine se prolongeant au niveau des desmosomes. On note actuellement une diminution apparente du nombre des carcinomes malpighiens bien différenciés avec formation de globes cornés tumoraux et une augmentation relative du nombre des carcinomes malpighiens peu différenciés avec kératinisation ponctuelle de quelques cellules tumorales.

Dans l'arbre trachéobronchique normal, il n'existe pas d'épithélium malpighien. Les carcinomes malpighiens sont précédés pendant des années d'une **transformation progressive** de la muqueuse incluant la métaplasie malpighienne, la dysplasie et le carcinome in situ. Des modifications prénéoplasiques identiques précèdent également la survenue du carcinome à petites cellules. Ces modifications associées au carcinome malpighien infiltrant permettent parfois de faire le diagnostic différentiel entre les tumeurs primitives pulmonaires et les métastases d'autres localisations de carcinome malpighien originaire de la tête, du cou et de l'oesophage.

L'origine des carcinomes malpighiens pulmonaires à partir d'une muqueuse sécrétant du mucus explique les autres constatations histopathologiques qui aident à distinguer le carcinome malpighien primitif des carcinomes métastatiques. En effet les carcinomes malpighiens pulmonaires sécrètent fréquemment des quantités variables de mucines intra et extracellulaires. Lorsque la production de mucines et la formation de glandes est majeure ces tumeurs sont appelées adénosquameuses.

Les filaments intermédiaires caractéristiques de toutes les cellules épithéliales, les cytokératines, sont présentes dans tous les types de cancer du poumon, y compris dans le carcinome à petites cellules.

Dans les cancers malpighiens, le degré de différenciation conditionne la présence en plus large quantité de kératine de haut poids moléculaire ainsi que de protéines structurales comme l'involucrine. Tous les cancers ayant des critères de différenciation malpighienne, c'est à dire les carcinomes malpighiens bien et peu différenciés, les carcinomes mucoépidermoïdes et adénosquameux présentent des caractéristiques identiques en quantité variable tant sur le plan biochimique qu'ultrastructural.

Les problèmes diagnostiques du carcinome malpighien sur les biopsies bronchiques varie en fonction de la présentation morphologique de la tumeur.

1. Les biopsies superficielles des carcinomes malpighiens différenciés kératinisants à développement endobronchique sont parfois exclusivement constitués de plages de **nécrose** dont on ne peut affirmer le caractère tumoral que lorsqu'elles contiennent encore des silhouettes de cellules carcinomateuses.
2. Les prélèvements biopsiques superficiels peuvent concerner des **remaniements** de type **dysplasique** de la muqueuse bronchique associés à des lésions sous muqueuses tantôt non tumorales (tuberculose, leishmaniose) ou parfois de type néoplasique (tumeur d'Abrikossof; carcinome à petites cellules associé en surface à une métaplasie malpighienne).
3. Le diagnostic différentiel se pose parfois avec de **véritables dysplasies** de la muqueuse bronchique. Il peut s'agir soit de lésions de bordure d'un carcinome malpighien infiltrant, soit d'un carcinome in situ vrai.
4. Il n'est pas rare de rencontrer des modifications cellulaires cytologiques évoquant soit sur une muqueuse plane, soit sur un revêtement hyperplasique et papillomateux une infection virale à Papillomavirus Hominis.

Adénocarcinomes

Les adénocarcinomes sont devenus la forme prédominante du cancer du poumon, classiquement

Il s'agit de tumeurs périphériques survenant sur les bronches périphériques et les alvéoles ou en association avec des "cicatrices" mais ils peuvent également se développer dans les grosses bronches à partir de l'épithélium de surface ou des glandes sous muqueuses.

Les caractéristiques morphologiques des carcinomes glandulaires sont des cellules cubiques ou cylindriques avec des microvillosités proéminentes et agencées en structures évoquant des glandes. Les mucines peuvent être présentes dans le tissu intercellulaire dans les glandes ou dans d'autres localisations extracellulaires. Les colorations des mucines sont nécessaires pour confirmer la présence des mucines et les distinguer du glycogène ou d'autres substances.

1. Il n'est souvent pas possible sur les prélèvements biopsiques de préciser les sous types histologiques de la classification de l'OMS.
2. Environ 70 à 80% des tumeurs à propagation lymphangitique sont des adénocarcinomes. L'aspect de lymphangite néoplasique peut correspondre d'une part à une métastase sous muqueuse d'un carcinome viscéral et d'autre part à l'extension d'un carcinome bronchique distal. Beaucoup d'embols métastatiques tumoraux sont entourés par de la fibrine, les cellules se nécrosent et ne se présentent jamais comme une tumeur invasive.
3. Il est souvent impossible de faire la distinction morphologique entre les adénocarcinomes primitifs et les métastases d'adénocarcinomes viscéraux. Seuls certains cancers viscéraux peuvent bénéficier d'un diagnostic immunohistochimique avec identification d'antigènes à la fois spécifiques d'une origine tissulaire et conservés après fixation. Il s'agit d'une part du carcinome vésiculaire et/ou papillaire du corps thyroïde (thyroglobuline) et du carcinome prostatique (phosphatase acide prostatique -PACP- et antigène spécifique de prostate -PSA).
4. Les adénocarcinomes broncho-pulmonaires expriment le plus souvent l'anticorps anti-TTF1 sous la forme d'un marquage nucléaire (85%).
5. Il n'existe pas de diagnostic possible sur biopsie bronchique du carcinome bronchioloalvéolaire qui ne peut être diagnostiqué que sur des biopsies trans-bronchiques puisqu'il se développe à l'intérieur du parenchyme alvéolaire.

Carcinome à grandes cellules

Initialement les carcinomes à grandes cellules étaient considérés comme des tumeurs indifférenciées.

Sur les biopsies bronchiques le terme de carcinome à grandes cellules est le plus souvent utilisé pour les carcinomes qui ne peuvent être classés dans d'autres catégories histopathologiques. Leur incidence varie donc en fonction des critères de classification des autres formes de carcinome non à petites cellules. En d'autres termes plus les critères de diagnostic des carcinomes malpighiens et glandulaires sont stricts, plus importante est l'incidence du carcinome à grandes cellules sur biopsies. L'incidence généralement reportée varie entre 10 à 20 % des tumeurs.

Sur pièces opératoires les carcinomes à grandes cellules sont en fait les carcinomes à cellules géantes ainsi que les carcinomes fusocellulaires.

L'ambiguïté morphologique avec, en particulier, l'association d'aspect glandulaire et d'aspect malpighien réalise fréquemment des formes dites "ambigües" qui sont fréquemment retrouvées sur les pièces opératoires sous la forme d'associations de différents contingents tumoraux réalisant des tumeurs de type composite.

L'utilisation des colorations spéciales, de la microscopie électronique et d'autres techniques ont confirmé l'hétérogénéité des carcinomes à grandes cellules. Dans la plupart des cas il s'agit de forme extrêmement peu différenciées d'adénocarcinomes de type malpighien voire même de tumeurs neuroendocrines. Un petit nombre seulement reste indifférencié après une évaluation complète avec l'ensemble des techniques actuelles.

Carcinome à petites cellules

La plupart des progrès en pathobiologie du cancer du poumon concerne le carcinome à petites cellules. Il existe un panel large de lignées cellulaires et les études intensives réalisées sur ces lignées dans beaucoup de laboratoires ont fait du carcinome à petites cellules, la tumeur solide humaine vraisemblablement la plus étudiée. Le conception pathobiologique du carcinome à petites cellules a beaucoup évoluée depuis Barnard qui le premier a reconnu son origine épithéliale et Azoppari reconnaissant la présence occasionnelle d'éléments non à petites cellules. La croissance rapide, le cytoplasme peu abondant des cellules du carcinome à petites cellules le rendent particulièrement sensible à la nécrose ischémique ainsi qu'à des artefacts résultants du prélèvement et de la fixation.

Le concept original de subdivision du CPC était basé exclusivement sur des données morphologiques.

Actuellement on admet qu'il n'existe aucune différence clinique et biologique entre le CPC à cellules en grains d'avoine et le CPC de sous type intermédiaire qui sont présents souvent dans une même tumeur. Les cellules en grains d'avoine sont souvent présentes dans les petites biopsies écrasées alors que le sous type intermédiaire est, lui, fréquent dans les pièces de résection chirurgicale, les liquides pleuraux et les cellules en culture.

Ceci suggère que le sous type intermédiaire est la véritable expression morphologique du carcinome à petites cellules, alors que le carcinome en grains d'avoine est un artefact résultant de l'ischémie et du mode de prélèvement.

Sur les fragments biopsiques le diagnostic différentiel se pose :

- bronchite lymphocytaire (K -; Ag Commun leucocytaire +)
- lymphome malin non hodgkinien de bas grade type Malt (K -; Pan leucocytaire +)

Le nombre élevé des marqueurs peptidiques associés au carcinome à petites cellules suggère que ceci devrait être une aide au diagnostic.

Pour un certain nombre de raisons ils ne sont en réalité que d'un apport modeste. Parmi les marqueurs de différenciation neuroendocrine **la chromogranine A** apparaît, le plus souvent, comme le marqueur moléculaire le plus utile pour distinguer le carcinome à petites cellules des carcinomes non à petites cellules.

Dans notre expérience l'expression de la chromogranine A concorde entièrement avec l'expression des granules neurosécrétoires.

La chromogranine A est présente dans toutes les cellules tumorales en lignée continue, alors que l'immunohistochimie de la chromogranine A est démontrée par des colorations focalisées dans environ 50 % des carcinomes à petites cellules.

Les **antigènes natural killer (NK) type Leu 7 et NK1** sont des marqueurs neuroendocrines théoriquement intéressants mais partiellement détruits par le formol. Ils ne sont pas retrouvés de façon reproductible sur coupes déparaffinées.

La **NSE** colore toutes les tumeurs pulmonaires NE mais également 57% à 66% des tumeurs pulmonaires non NE et n'est donc pas un marqueur fiable de différenciation NE.

Il n'existe pas de marqueur de différenciation NE unique; **la meilleure indication pour la mise en évidence d'une différenciation NE est l'utilisation d'un panel composé au minimum de 3 marqueurs généraux de différenciation NE.(chromogranine A; Leu 7; Synaptophysine)**

Autres tumeurs endocrines

Les **carcinoïdes** bronchiques représentent environ 1 à 2 % des tumeurs du poumon. Ce sont des tumeurs à croissance lente, de bas grade de malignité. Ils se développent à partir des cellules endocrines des glandes sous muqueuses pour la plupart.

Les carcinoïdes contiennent un grand nombre de granules neurosécrétoires et ils expriment la plupart des marqueurs neuroendocrines souvent de façon intense.

Alors que les carcinoïdes et le carcinome à petites cellules représentent deux entités bien définies pathologiques et cliniques, les tumeurs neuroendocrines constituent actuellement un large spectre de présentation histologique entre ces deux extrêmes. Certaines tumeurs carcinoïdes ont un comportement histologique et clinique mauvais et on été classés en tumeurs carcinoïdes atypiques ou malignes. Ils sont également classés en **carcinomes neuroendocrines bien différenciés** avec une incidence de 60 à 70 % de métastases ganglionnaires hilaires. Les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules ou **CNE peu différenciées** consistent en des tumeurs à cellules moyennes à larges avec souvent des cellules rondes à cytoplasme granuleux, suggérant une différenciation neuroendocrine. Cette présentation étant confirmée ultérieurement par l'immunohistochimie et la microscopie électronique.

Ces dernières catégories incorporent vraisemblablement les carcinomes précédemment diagnostiqués comme étant des carcinomes à cellules intermédiaires, quelques tumeurs carcinoïdes très agressives et quelques carcinomes à grandes cellules non à petites cellules. Ces malades évoluent très mal et ne répondent pas, habituellement aux protocoles des carcinomes à petites cellules.

Récemment la présence de granules neurosécrétoires dans des tumeurs d'apparence histologique non neuroendocrines a été beaucoup publiée. Cette expression représenterait environ 10 à 20 % des tumeurs non neuroendocrines. Les travaux réalisés sur des lignées continues tumorales suggèrent que les tumeurs non neuroendocrines à contingent neuroendocrine sont plus sensibles à la chimiothérapie que les autres tumeurs non neuroendocrines.

En pratique

Le diagnostic des carcinomes neuroendocrines à grandes cellules est souvent impossible sur les prélèvements biopsiques de trop petite taille.

En immunohistochimie l'expression antigénique des marqueurs neuroendocrines dans les différentes tumeurs neuroendocrines est d'autant moins bonne que la tumeur est plus indifférenciée.

Immunohistochimie Propriétés des cellules et des tumeurs neuroendocrines	
Propriétés	Commentaire
Produit spécifique Peptide et amine Propriétés générales Granules de sécrétion Chromogranine A Neurone spécifique enolase NSE Antigène des cellules natural killer Synaptophysine	+ de 30 produits spécifique identifiés site cytoplasmique de stockage des produits spécifiques protéine matricielle des granules isoenzyme acide de l'enolase trouvée dans les neurones et les cellules neuro-épithéliales quelques antigènes des cellules natural killer (Leu7 et NKH1) trouvés dans les neurones et les cellules neuro-épithéliales marqueur récemment identifié des neurones et des cellules neuro-épithéliales

concordance diagnostique entre biopsies transbronchiques et résections chirurgicales pour 107 tumeurs opérées					
pièce opératoire	adéno-carcinome	carcinome malpighien	carcinome à grandes cellules	carcinome peu différencié	tumeur "mixte" composite
biopsie					
adéno carcinome 44 cas	41	1	1	0	1
carcinome malpighien 32 cas	3	21	4	0	3
carcinome à grandes cellules 24 cas	14	5	5	2	0
carcinome peu différencié 7 cas	6	0	0	1	0

Chang et al. Thorax 1984, 39;175-178