

LE RÔLE DE LA CYTOLOGIE DANS LA PRISE EN CHARGE DES NODULES THYROÏDIENS

A. Camboni

Summary

Cytology plays a key role in the management of thyroid nodules. This technique may prove to be a valuable diagnostic tool for differentiating benign lesions from malignant ones, enabling us to better select those nodules that warrant surgery. The middle cytology liquid allows us to complete this process by adding immunocytochemical or molecular biology tests, as necessary. In the event of nodules presenting atypia of undetermined significance, recent studies have revealed that genome sequencing for detecting BRAF or RAS mutations may permit to assess the risk for malignancy of these thyroid nodules. It should yet be mentioned that only a close collaboration with the clinicians in charge of the patient, in addition to a sound correlation with clinical-radiological data, allows the cytological thyroid examination to prove well-performing.

KEYWORDS

Cytopathology, Bethesda classification, thyroid nodule, thyroid cancer, cytology

La cytologie joue un rôle primordial dans la prise en charge des nodules thyroïdiens. Il s'agit tantôt d'un outil véritablement diagnostique pour des lésions bénignes ou malignes, tantôt d'un outil de dépistage avec sélection des nodules justifiant une chirurgie. La cytologie en milieu liquide nous permet de compléter cette démarche par des examens complémentaires immunocytochimiques ou de biologie moléculaire. De plus, dans le cas de nodules avec atypies de signification indéterminée, de récentes études montreraient une contribution potentielle d'un séquençage de gènes tels que BRAF ou RAS pour l'évaluation du risque de malignité de ces nodules. Rappelons néanmoins que seule une étroite collaboration avec les cliniciens et une corrélation avec les données clinico-radiologiques permettent un bon rendement de l'examen cytologique de la thyroïde.

Les nodules thyroïdiens sont très fréquents dans la population générale (4-7% des adultes) avec une nette prépondérance féminine. Cette prévalence est encore plus grande (20-30% et jusqu'à 70% selon les études et l'âge des sujets) si l'on inclut les nodules non palpables, détectés à l'imagerie (incidentalomes) ou à l'autopsie. La majorité de ces nodules sont bénins, moins de 10% sont malins. La ponction à l'aiguille fine (PAF) sous guide sonographique (US) joue un rôle clé dans l'évaluation des patients avec un ou plusieurs nodules thyroïdiens. Il s'agit d'une technique rapide, simple, fiable, peu onéreuse, généralement peu invasive et associée à une faible morbidité, qui permet de sélectionner adéquatement les patients qui devraient bénéficier d'une chirurgie, réduisant significativement les actes chirurgicaux effectués pour des nodules thyroïdiens bénins (par exemple: goitre multinodulaire, nodule colloïde).

Malgré la PAF montre une sensibilité de 95% et une spécificité entre 70-86% (selon les séries), la moitié des nodules réséqués restent bénins. L'objectif principal de la cytologie thyroïdienne est de confirmer la bénignité du nodule ou de dépister un carcinome. Cet examen est performant pour le diagnostic des lésions bénignes et du carcinome le plus fréquent, le carcinome papillaire. Cependant, la cytologie ne permet pas de poser un diagnostic précis dans le cadre des lésions d'architecture vésiculaire telles que l'adénome vésiculaire et le carcinome vésiculaire. Ceci vient surtout du fait que seul l'examen histologique standard permet, pour la catégorie des lésions folliculaires, de différencier de manière certain un adénome d'un carcinome. En effet, la malignité des lésions folliculaires est définie sur la base de critères histologiques (mise en évidence d'une invasion extracapsulaire et/ou vasculaire). Par contre, la PAF permet un vrai diagnostic positif pour certaines tumeurs thyroïdiennes (carcinome papillaire, carcinome médullaire, carcinome anaplasique, lymphome, métastase...).

La réussite de la PAF et son rôle contributif dans la prise en charge thérapeutique sont variables et dépendent de multiples facteurs (la technique de ponction et de préparation des lames cytologiques, l'expérience du ponctionner et du cytopathologiste). L'étroite collaboration entre le clinicien et le cytopathologiste offre

de nombreux avantages qui permettent d'optimiser le rendement de cet examen.

LA CLASSIFICATION DE BETHESDA

La classification cytologique de Bethesda (1, 2) pour les nodules de la thyroïde est une classification internationale qui a permis de standardiser les critères diagnostiques et la prise en charge des nodules thyroïdiens (annexe 1). Elle reconnaît six catégories cytologiques fondées sur des critères cytologiques précis qui ont fait l'objet d'un descriptif publié dans un atlas disponible pour tout pathologiste. Cette terminologie présente un double avantage : chaque catégorie cytologique est associée à un risque de cancer et à une conduite à tenir thérapeutique (suivi clinique, répétition de la ponction, lobectomie, ou thyroïdectomie), ce qui permet d'harmoniser la prise en charge du patient.

La quantité et la représentativité du matériel doivent être évaluées pour chaque PAF de la thyroïde. Les frottis peuvent être non valables ou non diagnostiques par insuffisance de cellules et/ou par la présence d'éléments rendant leur évaluation insatisfaisante (trop de sang, artéfact de fixation...). Les critères pour un matériel valable ne sont pas stricts et varient selon les recommandations et le contexte. Est considéré comme valable, un matériel cytologique contenant au moins six groupes de dix cellules folliculaires bien visibles. Néanmoins, la corrélation avec les données ultrasonographiques est essentielle, d'où l'importance de

la collaboration clinico-pathologique. Par exemple la ponction d'un kyste qui ne contient que des macrophages ou des sidérophages ; elle est considérée comme représentative de la partie kystique de la lésion pour autant qu'il n'y ait aucune composante solide et aucune caractéristique radiologique suspecte (Catégorie I).

Le bénéfice de la PAF thyroïdienne provient surtout du fait de pouvoir interpréter de façon fiable un prélèvement comme « bénin » (Catégorie II), évitant de ce fait une chirurgie de la thyroïde. Cette catégorie représente 60- 70 % des PAF thyroïdiennes. Dans cette catégorie le risque de cancer estimé est très faible, de l'ordre de 0 à 3 %.

La catégorie III (atypies de signification indéterminée : AUS) représente une minorité des PAF thyroïdiennes et correspond à des cas où les critères cytologiques requis pour répondre « suspects de malignité » ne sont pas présents, mais avec quelques modifications cytonucléaires qui ne permettent pas d'assurer le caractère bénin du nodule. Les cas ainsi classés ne doivent pas dépasser 7 % des ponctions thyroïdiennes. Le risque de cancer estimé est de l'ordre de 5 à 15 %. Il est recommandé d'effectuer une deuxième ponction sous contrôle échographique dans un délai de trois à six mois. Dans la plupart des cas, la nouvelle PAF permettra de reclasser ces nodules dans une catégorie plus précise.

La catégorie IV (néoplasie folliculaire ou suspicion de néoplasie folliculaire) vise à orienter ces patients vers une chirurgie (lobectomie). L'objectif de cette catégorie

Tableau 1. Système de Bethesda 2010. (Adapté de Ali and Cibas, 2010)

Catégorie (prévalence)	Terminologie	Risque de cancer	Suivi clinique
1 (<15%)	Non diagnostique	?	Si nodule solide, 2e ponction après un délai de 3 mois Si nodule kystique, corrélér avec la clinique et US. Si zones suspectes ré-aspirer sous contrôle US
2 (60%)	Bénin	0-3 %	Simple contrôle échographique à 6 — 18 mois d'intervalle pendant une période de 3 à 5 ans
3 (<7%)	Lésion folliculaire de signification indéterminée ou atypies de signification indéterminée (AUS)	5-15 %	2e ponction dans un délai approprié (3 à 6 mois) sous contrôle échographique
4 (6-11%)	Néoplasme folliculaire / Néoplasme folliculaire à cellules oncocytaires	15-30 %	Contrôle chirurgical (lobectomie)
5 (2-8%)	Suspect de malignité	60-75 %	Contrôle chirurgical (thyroïdectomie totale ou lobectomie)
6 (5-8%)	Malin	97-99 %	Contrôle chirurgical (thyroïdectomie totale) ou traitement médical spécifique (radiothérapie et/ou une chimiothérapie)

est d'identifier les nodules qui pourraient être des carcinomes vésiculaires ou oncocytaires pour les orienter vers une lobectomie, puisque le diagnostic de carcinome vésiculaire bien différencié ou de carcinome oncocytaire est impossible cytologiquement et repose exclusivement sur la mise en évidence de signes d'invasion vasculaire ou capsulaire sur la pièce de résection. Le diagnostic définitif ne pourra donc être posé que sur la pièce opératoire.

Dans la catégorie V (suspect de malignité) sont inclus tous les cas pour lesquels la malignité est vraisemblable, mais ne peut être affirmée, soit parce que le nombre de cellules est insuffisant, soit parce qu'il manque un ou deux critères pour permettre un diagnostic formel. Il est nécessaire dans chaque cas de préciser le type du cancer suspecté (carcinome papillaire, carcinome médullaire, carcinome peu différencié, lymphome ou métastase). Cette catégorie inclut les différents types de cancers de la thyroïde, à l'exception des nodules suspects de pouvoir correspondre à un carcinome vésiculaire ou à un carcinome oncocytaire à classer dans la catégorie précédente. Le risque de cancer estimé est de l'ordre de 60 à 75 %.

La catégorie VI (malin) est réservée au cas pour lesquels la cytologie permet d'affirmer la malignité. La sous-catégorie doit être mentionnée dans le compte-rendu (carcinome papillaire, médullaire, peu différencié, anaplasique, lymphome, métastase, ...).

LES EXAMENS COMPLÉMENTAIRES : IMMUNOCYTOCHIMIE ET MARQUEURS MOLÉCULAIRES

À partir des produits cytologiques issus des ponctions thyroïdiennes à l'aiguille fine des analyses immunohistochimiques peuvent être réalisées dans de cas particuliers.

Lors de la conférence de Bethesda, l'étude immunocytochimique pour les ponctions des nodules thyroïdiens a été recommandée pour le diagnostic différentiel entre adénome thyroïdien et adénome parathyroïdien inclus dans la glande thyroïde ; pour confirmer un diagnostic de carcinome médullaire ; pour le diagnostic différentiel carcinome indifférencié primitif versus métastase ; et dans le cas de lymphomes.

L'utilisation de l'immunohistochimie est aussi recommandée pour les lésions de nature « indéterminée » qui représentent 10-40 % des nodules ponctionnés et qui englobent plusieurs sous-types de lésions thyroïdiennes : les lésions folliculaires de signification indéterminée (catégorie 3), les néoplasies folliculaires et les néoplasies à cellules oncocytaires (catégorie 4), et les lésions suspectes de malignité (catégorie 5). L'expression de la Galactine-3 peut être utile dans ces lésions de nature « indéterminée » pour distinguer entre lésion bénigne et maligne (3, 4). Ce test immunohistochimique montre une spécificité de 93% et une sensibilité de 78%. La présence des faux négatifs (environ 22%) semble être liés en partie à des problèmes de nature

technique, et en partie à la possible présence d'altérations moléculaires additionnelles qui intéressent le gène *LGALS3* (3).

Un nombre croissant de publications montre que les différentes analyses moléculaires pratiquées à partir de produits de cytoponction thyroïdienne augmentent de façon significative la spécificité du diagnostic des nodules thyroïdiens, particulièrement dans les lésions de nature « indéterminée » (4, 5)

Quatre types de mutation représentent la grande majorité des mutations somatiques actuellement connues (tableau 2), ayant le plus grand impact pour le diagnostic et le pronostic des carcinomes folliculaires et papillaires de la thyroïde : il s'agit des mutations ponctuelles de *BRAF* et de *RAS* et des réarrangements de *RET/PTC* et de *PAX8/PPAR γ* . Les mutations constitutionnelles de *RET* permettent de distinguer les formes familiales et les formes sporadiques des carcinomes médullaires de la thyroïde.

La majorité des études réalisées explorent le rôle diagnostique de la présence d'une mutation *BRAF*. Toutes les études

Tableau 2. Principales altérations génétiques et mutations observées en pathologie thyroïdienne. (Adapté de Hofman, 2011)

Type histologique	Terminologie
Carcinome folliculaire	
PAX8-PPAR γ	35
RAS	45
Carcinome papillaire	
BRAF	45 – 60
RET/ PTC	20
RAS	10
Carcinome anaplasique	
TP53	70
B-caténine	50 – 70
RAS	50
BRAF	20
Carcinome peu différencié	
RAS	35
B-caténine	20
TP53	20 – 30
BRAF	20
Carcinome médullaire	
RET formes familiales	> 95
RET formes sporadiques	50

réalisées montrent que parmi les cytoponctions qui étaient *BRAF* positives, les tumeurs enlevées chirurgicalement étaient des carcinomes papillaires de la thyroïde (6, 7). D'autres études ont exploré l'intérêt d'une détection des mutations de *RET/PTC*, *TRK* ou de *RAS* sur du matériel de cytoponction. Il semble que l'impact diagnostique est d'autant plus important qu'un panel comportant la recherche de plusieurs de ces mutations est réalisé. Les réarrangements chromosomiques de type *RET/PTC* n'ont été retrouvés que dans des carcinomes, jamais dans des nodules bénins ni des adénomes vésiculaires (5). L'intérêt de rechercher des mutations activatrices de Ras semble plus discutable puisque cet événement est retrouvé également fréquemment dans les tumeurs bénignes (6).

En outre, ces biomarqueurs moléculaires peuvent ainsi contribuer à évaluer le pronostic de ces tumeurs. La mutation *BRAFV600E* est considérée comme étant un biomarqueur pronostique des carcinomes papillaires de la thyroïde (6, 7). Les résultats obtenus sur de larges cohortes de patients montrent que la plupart des carcinomes papillaires de la thyroïde mutés pour *BRAF* ont un potentiel évolutif plus agressif (7).

Cela souligne l'intérêt majeur de les rechercher afin de guider le choix de la chirurgie et le geste qui en découlera.

Annexe 1. Catégories diagnostiques recommandées (terminologie Bethesda 2010)

I – Prélèvement non satisfaisant, non diagnostique
<ul style="list-style-type: none"> • Peu ou pas de cellules épithéliales • Cellules mal conservées ou mal visibles (hémorragiques+++) • Liquide de kyste
II – Bénin
<ul style="list-style-type: none"> • Nodule colloïde • Thyroïdites (lymphocytaire, granulomateuse subaiguë)
III – Atypies de signification indéterminée ou lésion vésiculaire de signification indéterminée
(ASI ou <i>atypia of undetermined significance</i> « AUS »)
IV – Tumeur vésiculaire ou tumeur oncocytaire (à cellules de Hürthle)
V – Suspect de malignité (préciser le type)
<ul style="list-style-type: none"> • Suspecte de carcinome papillaire • Suspecte de carcinome médullaire • Suspecte de carcinome peu différencié • Suspecte de lymphome • Suspecte de métastase d'un carcinome
VI – Malin (préciser le type)
<ul style="list-style-type: none"> • carcinome papillaire • carcinome médullaire • carcinome indifférencié (anaplasique) • carcinome peu différencié • métastase, lymphome

RÉFÉRENCES

1. Ali SZ, Cibas ES. *The Bethesda System for reporting thyroid cytopathology: definitions, criteria and explanatory notes*. New-York: Springer; 2010.
2. Cochand-Priolleta B, Vielh P, Royer B, Belleannée G, Collet J-F, Goubin-Versini I, Leteurre E. Cytopathologie thyroïdienne : le système de Bethesda 2010. *Ann Pathol* 32(3):177–183.
3. Bartolazzi A, Orlandi F, Saggiorato E, Volante M, Arecco F, Rossetto R, *et al*; Italian Thyroid Cancer Study Group (ITCSG). Galectin-3-expression analysis in the surgical selection of follicular thyroid nodules with indeterminate fine-needle aspiration cytology: a prospective multicentre study. *Lancet Oncol* 2008 Jun; 9(6):543-9.
4. Gómez Sáez JM. Diagnostic usefulness of tumor markers in the thyroid cytological samples extracted by fine-needle aspiration biopsy. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2010 Mar; 10(1):47-56.
5. Bricaire-Dubreuil L. *Detection of molecular abnormalities in fine-needle aspiration cytology of thyroid nodule*. Correspondances en Métabolismes Hormones Diabète et Nutrition. Septembre 2012.
6. Hofman P. *Apport de la biologie moléculaire en pathologie thyroïdienne*. Revue francophone des laboratoires. Janvier 2011.
7. Li C, Lee KC, Schneider EB, Zeiger MA. BRAF V600E mutation and Its Association with Clinicopathological Features of Papillary Thyroid Cancer: A Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 Dec; 97(12): 4559–4570.

Correspondance

Dr. ALESSANDRA CAMBONI
Cliniques universitaires Saint-Luc
Service d'Anatomie Pathologique
Avenue Hippocrate 10
B-1200 Bruxelles