



Il Convegno Nazionale SITLaB
Chieti 10-11 giugno 2023

SITLab - Società Scientifica Italiana dei TSLB



ESAME DEL LINFONODO SENTINELLA IN PAZIENTI CON CARCINOMA MAMMARIO SOTTOPOSTE A CHEMIOTERAPIA NEOADJUVANTE: CONFRONTO TRA METODICA MORFOLOGICA E METODICA MOLECOLARE STUDIO SPERIMENTALE IN UN GRUPPO DI PAZIENTI ANONIMIZZATI

R. Fumai, R. Vitulano, A. Soletto, A. Ancona, G. Ferrara, A. Lamanna
A. O. C. Policlinico di Bari

INTRODUZIONE

La notevole diffusione della pratica chirurgica del linfonodo sentinella e la mancanza di protocolli universalmente adottati per la loro definizione patologica hanno inevitabilmente portato a una ampia eterogeneità delle procedure attualmente utilizzate nei diversi istituti nell'ambito dei carcinomi mammari. Ne deriva la necessità di stabilire il metodo più affidabile per la loro valutazione, assicurando standardizzazione delle tecniche e riproducibilità dei risultati, riducendo al minimo il rischio di falsi negativi. La tecnica OSNA (One Step Nucleid acid Amplification) consente, durante l'intervento chirurgico, di analizzare il LNS con approccio di tipo molecolare e, in caso di presenza di metastasi, di poter eseguire immediatamente la dissezione ascellare, evitando così al paziente un secondo intervento. Attualmente l'affidabilità dell'OSNA è controversa per quanto riguarda i pazienti sottoposti a terapia neoadjuvante, la cui valutazione del LNS resta affidata al metodo morfologico.

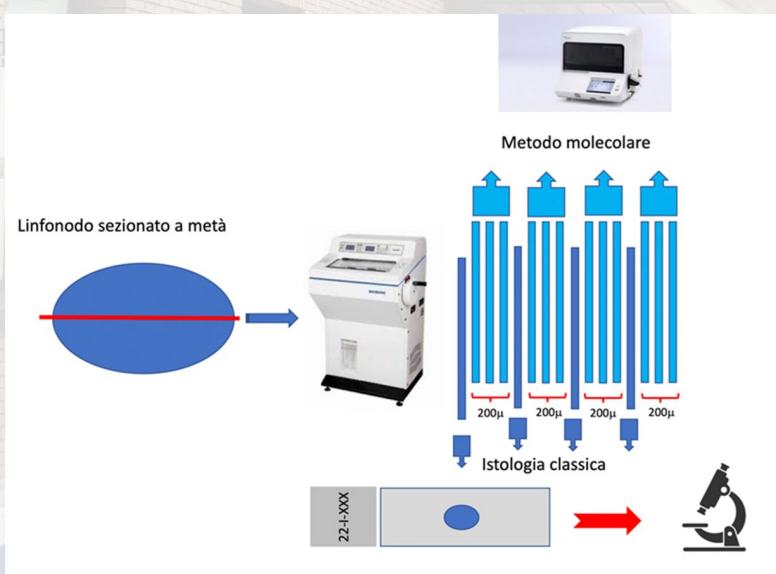


OBIETTIVI

La finalità dello studio è di verificare l'efficacia del metodo molecolare comparandolo al gold standard istologico, attualmente raccomandato per questo esame, in termini di affidabilità della metodica, di tempistica di esecuzione e di risorse utilizzate. Recentemente OSNA è stato raccomandato dal National Institute for Health and Care Excellence (NICE) basata sulla scoperta che l'OSNA intraoperatoria presenti notevoli vantaggi rispetto ai tradizionali test istopatologici.

MATERIALI E METODI

Per il nostro scopo abbiamo arruolato, in maniera prospettica e in cieco, 11 pazienti anonimizzati e sottoposti, dopo trattamento neoadjuvante, a chirurgia mammaria con contemporaneo esame intraoperatorio del LNS. Per ogni paziente sono stati isolati e inviati in anatomia patologica per l'esame istologico con metodo morfologico in sede intraoperatoria al criostato, 3 linfonodi sentinella. Per la valutazione comparativa, i 3 linfonodi sentinella di ogni paziente sono stati sottoposti ad entrambe le metodiche, morfologica e molecolare, mentre per la diagnosi, è stato tenuto conto dell'esito del solo esame istologico, anche perché i risultati dell'esame molecolare sono stati anonimizzati. Per ogni linfonodo sentinella incluso in singola biocassetta, abbiamo raccolto su vetrini portaoggetto 1 sezione di tessuto congelato da colorare con EE, ottenuta con un intervallo di taglio ogni 200 μm fino a esaurimento del linfonodo. Il tessuto di scarto tra ogni livello di sezione è stato poi raccolto in un contenitore sterile monouso da avviare alla metodica OSNA. Come detto, le sezioni di tessuto ottenute durante l'intervallo di taglio (multistep sectioning) di 200 micron non utilizzate per la valutazione morfologica anziché essere scartate come da protocollo, sono state raccolte in un contenitore sterile per la successiva valutazione con il metodo OSNA, alla eventuale ricerca dell'amplificazione della CK19.





RISULTATI

Il confronto tra istologia e RT-PCR è stato in 6 casi su 10 sovrapponibile. Nei restanti 4 casi, l'analisi morfologica ha evidenziato 1 caso positivo (10%) contro la negatività molecolare, mentre l'analisi molecolare ha evidenziato 3 casi (30%) positivi contro la negatività morfologica. In questi ultimi 3 casi, la discordanza valutativa è stata verificata in 1 solo linfonodo per paziente. Sommando tutti i linfonodi (27 linfonodi) dei pazienti morfologicamente negativi, in 3 linfonodi (11,1%) OSNA ha individuato la presenza di mRNA.

PZ	N. LNS	Diametro medio	N. sez. totali	Risultato istologico-fibrosi		Risultato Osna	N. di copie di mRNA/ μ l
1	3	1	100	3/3	+	0/3*	220
2	3	1,1	110	0/3	-	0/3	160
3	3	0,6	60	0/3	-	1/3	830
4	3	0,9	90	0/3	+	1/3	260
5	3	0,4	40	0/3	+	0/3	160
6	3	0,8	80	0/3	+	0/3	160
7	3	0,8	80	0/3	+	0/3	160
8	3	0,5	50	0/3	+	1/3	930
9	3	0,6	60	0/3	+	0/3	160
10	3	1,1	110	0/3	+	0/3	160

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti ci hanno permesso di convalidare che la tecnica OSNA, basata su PCR in tempo reale per il rilevamento di metastasi ai LNS in casi di carcinoma mammario, sia affidabile anche nel setting neoadjuvante. Possiamo affermare che l'analisi e valutazione istologiche possono essere sostituite dalla più recente metodica molecolare nei casi di pazienti sottoposte a terapia neoadjuvante perché attendibile, rende standardizzabile il percorso del campione e permette al personale di laboratorio di ottenere gli stessi risultati in minor tempo.

BIBLIOGRAFIA:

- Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K et al. One Step Nucleic Acid Amplification for intraoperative detection of lymph node metastasis in breast cancer patients. Clin Cancer Res 2007;13: 4807-16
- Apple SK (2016) Sentinel lymph node in breast cancer: review article from a pathologist's point of view. J Pathol Transl Med 50:83-95