

DIAGNOSI DI METASTASI DI CARCINOMA MAMMARIO NEGLI AGOASPIRATI ECOGUIDATI DEI LINFONODI ASCELLARI MEDIANTE IMMUNODOSAGGIO DEL CYFRA 21-1

Mercalli F¹, Castellano I², Paduos A³, Festini Mira I³, Favettini E⁴, Anrò P⁴, Bergamin M⁴, Amoroso A⁴, Malfitana V⁴, Molinar D⁴, Zanchetta M⁵, Liscia DS¹.

(Unità di Senologia dell'ospedale di Biella e dell'Università degli Studi di Torino) 1. Anatomia Patologica Osp. di Biella; 2. Università degli studi di Torino Anatomia Patologica – Molinette; 3. Chirurgia Osp. di Biella; 4. Radiologia Osp. di Biella; 5. Laboratorio Analisi Osp. di Biella. (coordinatore dello studio: Dr. Liscia email: daniele.liscia@aslbi.piemonte.it). Ospedale degli Infermi di Biella, via dei Ponderanesi 2, 13875 Ponderano.

Introduzione: il marcatore tumorale CYFRA 21-1 è un frammento solubile della citocheratina 19 (CK19) che viene rilasciato nei liquidi interstiziali ed in circolo in seguito all'azione della proteasi endocellulare Caspase 3 per i processi di morte cellulare delle neoplasie epiteliali (Fig.1). Questa molecola solubile è facilmente immunodosabile⁽¹⁾.

Obiettivo: lo studio è stato condotto per verificare se il dosaggio immunometrico del CYFRA 21-1 nel liquido di lavaggio dell'ago di agoaspirati ecoguidati dei linfonodi ascellari, è un saggio affidabile per la diagnosi di metastasi di carcinoma mammario.

Metodi: fra il dicembre del 2012 ed il febbraio del 2016 sono stati esaminati i linfonodi ascellari di 487 pazienti sottoposti ad agoaspirati sotto guida ecografica per un sospetto carcinoma. Se ecograficamente era individuato un linfonodo ascellare sospetto, veniva effettuata una biopsia con ago sottile 22G. I linfonodi sono stati selezionati sulla base di noti criteri ecografici come la scomparsa dell'usuale ilo centrale iperecoico, la comparsa di un anomalo pattern vascolare, l'ispessimento della corticale e la perdita della normale ovalità del profilo⁽²⁾. La casistica presentata in questo studio consiste di 131 linfonodi. Gli aghi 22G usati per la citologia sono stati lavati aspirando 2 ml di soluzione fisiologica (Fig.2) nella quale è stato immunodosato il CYFRA 21-1. In un precedente studio pilota di 82 casi il CYFRA 21-1 era stato confrontato sia con i risultati citologici che con l'immunoistochimica dei citoinclusi (Fig.3) con anticorpi diretti contro la CK19⁽³⁾. Il valore di "cutoff" in grado di discriminare casi positivi dai negativi è stato definito mediante una curva ROC (receiver operating characteristic). Tutte le analisi statistiche sono state effettuate con R, un ambiente di pubblico dominio (R Foundation for Statistical Computing, <http://www.R-project.org>).

Risultati: la mediana dei negativi è risultata di 0,92 ng/ml, quella dei positivi di 80,11 ng/ml (P<0.0001) (Tab.1). L'analisi della curva ROC ha dimostrato che il valore di "cutoff" ottimale è di 1,98 ng/mL (Fig.4). Sulla base di questo valore discriminante è stato possibile identificare 37 casi veri negativi (28,2%) e 92 casi veri positivi (70,2%). Sono stati rilevati n.2 falsi negativi e nessun falso positivo (Tab.2). Uno dei falsi negativi è stato causato da un insufficiente campionamento, il secondo da assenza di espressione della CK19 (vedi la Fig.3B). La sensibilità è risultata 0,98, la specificità 1,0, il valore predittivo positivo è risultato di 1,0 ed il valore predittivo negativo 0,95 (Tab.3).

Conclusioni: il dosaggio del CYFRA 21-1 negli agoaspirati dei linfonodi ascellari si è dimostrato un test estremamente affidabile, confrontabile con la citologia e l'immunoistochimica, con minimi rischi di errore. Si noti inoltre che l'esame può essere effettuato con tempi e costi molto contenuti, i risultati infatti possono essere ottenuti entro 25-30 minuti ad un costo medio di 6 euro.

Bibliografia

- 1) Dohmoto K1, Hojo S, Fujita J, et al. The role of caspase 3 in producing cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1) in human lung cancer cell lines. *Int J Cancer*. 2001;91:468-73.
- 2) Koelliker SL, Chung MA, Mainiero MB, et al. Axillary Lymph Nodes: US-guided Fine-Needle Aspiration for Initial Staging of Breast Cancer—Correlation with Primary Tumor Size. *Radiology* 2008;246:81-89.
- 3) Liscia DS, Detoma P, Zanchetta M, et al. The use of cyfra 21-1 for the detection of breast cancer axillary lymph node metastases in needle washouts of fine needle aspiration biopsy. *Applied immunohistochemistry & Molecular Morphology*, published ahead of print Dec. 9, 2015.

Parametro Valore (Intervallo di confidenza al 95%)

Sensibilità	0.98 (0.93, 1.00)
Specificità	1.00 (0.87, 1.00)
Valore predittivo positivo	1.00 (0.94, 1.00)
Valore predittivo negativo	0.95 (0.83, 0.99)

Tab. 3 Valori di efficacia del test diagnostico CYFRA 21-1 negli agoaspirati dei linfonodi ascellari.

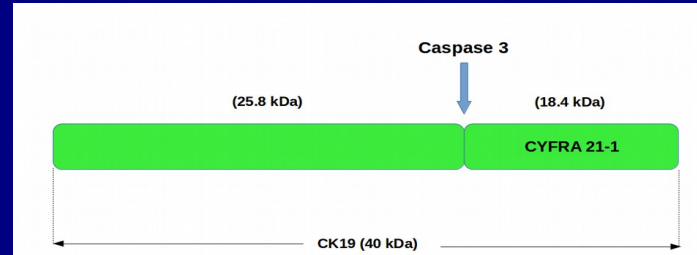


Fig.1 La citocheratina 19 (CK19) è una proteina non solubile del citoscheletro di molte neoplasie epiteliali. Dall'azione di una proteasi endogena, la Caspase 3, viene liberato un frammento solubile di 18,4 kDa, il CYFRA 21-1, che può essere immunodosato nei liquidi organici.

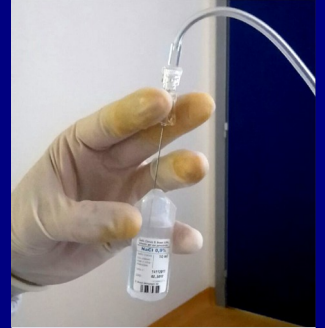


Fig.2 Il lavaggio dell'ago 22G spinale viene semplicemente effettuato con 2 ml di soluzione fisiologica.

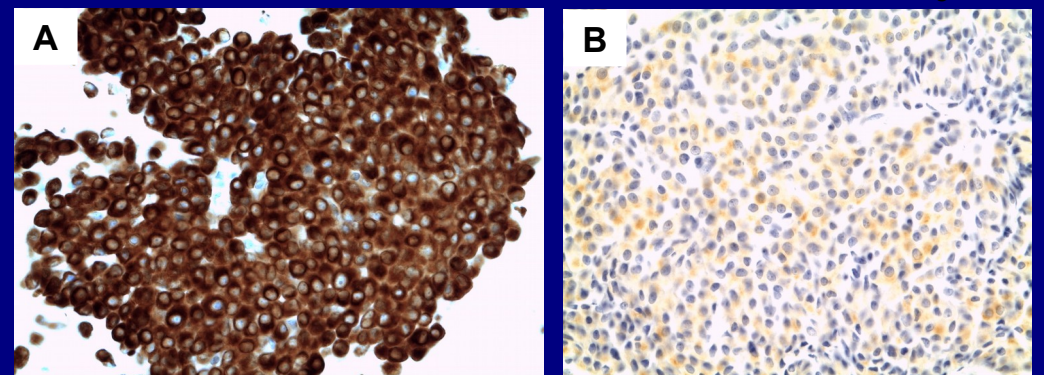


Fig.3 Reazione immunostochimica su citoinclusi di agoaspirati di linfonodi ascellari. A) linfonodo metastatico con alta espressione di CK19 che è risultato positivo al CYFRA 21-1 test. B) uno dei rari casi di carcinoma con assenza d'espressione di CK19 che è risultato "falso negativo" al CYFRA 21-1 test.

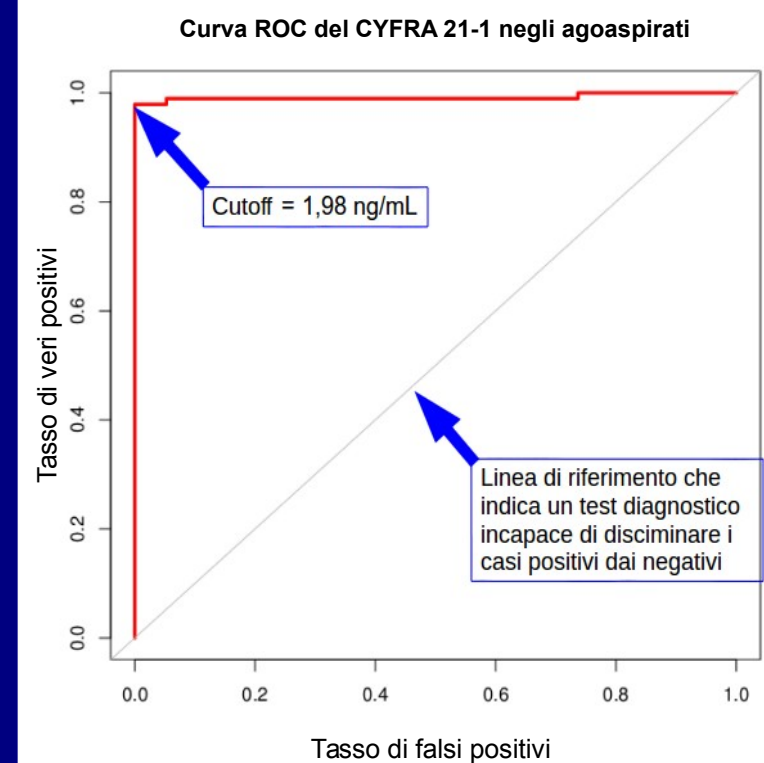


Fig.4 Curva ROC (receiver operating characteristic) dei valori di CYFRA 21-1 nei liquidi di lavaggio degli aghi messi a confronto con la loro capacità di discriminare i "veri positivi" dai "falsi positivi". Il punto di inflessione della curva (in alto a sinistra) fornisce il valore ottimale di "cutoff". AUC=0,99

Citologia	CYFRA 21-1 (ng/mL)				P
	Media (SD)	Mediana	Minimo	Massimo	
Negativi	0,94 (0,37)	0,92	0,22	1,73	<0,0001
Positivi	220,53 (474,16)	80,11	0,73	3854	

Tab.1 Valori di statistica descrittiva del CYFRA 21-1 nei linfonodi negativi ed in quelli positivi. La differenza con il Wilcoxon rank sum test è risultata altamente significativa.

	CITOLOGIA		P
	Negativa [N(%)]	Positiva [N(%)]	
CYFRA 21-1 negativo (<1,98 ng/mL)	37 (28,2%)	2 (1,5%)	<0,0001
CYFRA 21-1 positivo (>1,98 ng/mL)	0 (0%)	92 (70,2%)	

Tab. 2 Il valore di "cutoff" individuato dalla curva ROC consente di conteggiare il numero di casi negativi e positivi. Il livello di significatività è stato stimato con il test Chi quadro.