



LA DIAGNOSI CITOLOGICA DI NEOPLASIA PANCREATICA SU AGOASPIRATO ECO-ENDOGUIDATO

A cura di: Giovanni De Rosa, Donatella Pacchioni

Approvato dal Gruppo di Studio sui Tumori del Pancreas e delle Via Biliari

Partecipanti:

Irene Alabiso, Marco Francesco Amisano, Vincenzo Arena, Elia Armellini, Marco Ballarè, Giovanna Bellotti, Elena Berrino, Donata Campra, Stefania Cerutti, Stefano Giaccardi, Daniele Giordano, Anna De Luca, Serena Langella, Alessandro Lavagna, Francesco Leone, Annalisa Macera, Donatella Marino, Oliviero Ostellino, Donatella Pacchioni, Eraldo Personnettaz, Luca Portigliotti, Ferruccio Ravazzoni, Vincenzo Ricci, Raffaele Romito, Paola Salacone, Mauro Santarelli, Stefano Silvestri, Beatrice Silvia, Pietro Sozzi, Rosella Spadi, Antonio Trogu

La metodica di aspirazione sotto guida ecoendoscopica (EUS-FNA) è diventata una delle modalità preferite per la diagnosi e stadiazione delle lesioni addominali profonde.

Anche la parte citopatologica conseguente a tale procedura si sta affinando sia nella manipolazione del materiale che nell'affidabilità diagnostica.

Al fine di ottimizzare la procedura ed i dati che da essa ne derivano, molti esperti hanno valutato e raccomandato la presenza del citopatologo durante lo svolgimento del prelievo, con la funzione di valutare macroscopicamente il materiale aspirato, esaminare al microscopio estemporaneamente su un preparato allestito e colorato rapidamente in sede **l'adeguatezza del prelievo**, dare una preliminare interpretazione del campione, programmare eventuali altri prelievi mirati in funzione di quesiti specifici.

La manipolazione del materiale dovrebbe essere affidata al citopatologo o al citotecnico (in loro assenza, da personale infermieristico adeguatamente istruito).

E' necessario disporre sia di preparati citologici per striscio che di sezioni da materiale citoincluso (cell-block).

Per una valutazione estemporanea alcuni preparati con una prima parte di materiale, vengono allestiti mediante strisci e colorati al momento del prelievo.

Le colorazioni (ematossilina-eosina, Papanicolaou, May-Grunwald-Giemsma, Blu di Toluidina, Diff-Quick) sono a discrezione del patologo secondo preferenze ed esperienza.

La restante parte del materiale viene destinata alla preparazione del cell-block previa fissazione (alcool 95°, formalina, altro)(Kopelman et all.).

Tale materiale viene utilizzato successivamente per approfondimenti di immunocitochimica e per la biologia molecolare.

A questo scopo è necessario valutare una idoneità del materiale utile che deve essere superiore al 50% del materiale presente nel cell block, con più di 100 cellule neoplastiche selezionate (Linee guida AIOM-SIAPEC -IAP del 10.11.2010).

I tempi di processazione del materiale per ottenere un cell block e le relative sezioni colorate è di 24 ore.

I tempi di refertazione possono andare dai 2 giorni ai 10/15 giorni nei casi complessi che richiedono esami di immunoistochimica.

Il ruolo dell'agoaspirazione sotto guida ecoendoscopica è in continua evoluzione.

Molti sono i lavori in letteratura che dimostrano la sempre maggior accuratezza nella diagnosi e stadiazione di masse pancreatiche.

L'impatto clinico della valutazione estemporanea dei preparati da parte di un citopatologo esperto è molto difficile da definire in campo ecoendoscopico diversamente da altre procedure agoaspirative (agoaspirati percutanei su guida ecografica di mammella, tiroide, linfonodi, polmone, torace).

Recenti studi sono stati condotti sulla valutazione estemporanea dei prelievi eseguiti sotto guida ecoendoscopica.

Chang e coll hanno dimostrato che valutando la citologia agoaspirativa sotto guida ecoendoscopica, tutti i casi seguiti con valutazione estemporanea da parte di un citopatologo hanno avuto una diagnosi citopatologica finale, mentre il 29 % dei prelievi eseguiti senza valutazione estemporanea sono risultati insoddisfacenti.

Questa discrepanza ha ultimamente indotto un cambiamento della politica organizzativa dei centri che utilizzano questo tipo di procedura diagnostica, che sempre più richiedono la presenza del citopatologo durante il prelievo.

Si possono distinguere varie funzioni del citopatologo.

- 1) valutare il caso clinico consultando la cartella clinica con tutti gli accertamenti eseguiti e confrontandosi con le ipotesi diagnostiche poste dall'endoscopista;
- 2) osservare e manipolare il materiale, provvedendo personalmente all'allestimento degli strisci necessari ed al successivo recupero del materiale residuo dalla sonda. E' molto importante eseguire le manovre velocemente, per evitare che il campione, generalmente ematico, si coaguli dentro la sonda, impedendo il recupero dei frustoli. Per fare ciò si può procedere sistematicamente con insufflazione di aria, poi di 1cc di soluzione fisiologica per lavaggio ed infine con rimandrinatura della sonda;
- 3) valutare estemporaneamente al microscopio l'adeguatezza del preparato. Il preparato va considerato inadeguato quando interamente rappresentato da materiale ematico, da lembi di mucosa contaminante (mucosa gastrica, duodenale, epitelio esofageo) che generalmente è presente nella maggior parte dei prelievi. Quando è rappresentato da elementi infiammatori, da necrosi esclusiva, da elementi benigni, è necessario confrontarsi con l'endoscopista ed essere concordanti sul giudizio. Se i dati clinico strumentali orientano nel senso della malignità della lesione è necessario ripetere il prelievo (errore di centratura, prelievo troppo periferico);

- 4) Se adeguato, formulare un primo giudizio orientativo diagnostico;
- 5) **Triage:** la prima impressione può costituire la base decisionale per successivi approfondimenti tecnici che possono risultare determinanti per la accuratezza della diagnosi finale:
 - a) se prelevato materiale liquido, parte deve essere inviata per la valutazione laboratoristica di tipo biochimico. La parte restante viene processata nel laboratorio di anatomia patologica per ottenere un cell block. Sulle sezioni seriate si possono eseguire le colorazioni istochimiche per le mucine (Pas Pas Diastase, alcian Blu Mucine).(Chebib I. et all);
 - b) nel sospetto di una malattia linfoproliferativa, conviene far eseguire un secondo campionamento che viene fissato in specifico buffer separato ed inviato nel laboratorio dedicato alla citoflussimetria. Quando non è possibile ripetere il campionamento, si può comunque utilizzare il materiale incluso in paraffina e procedere con tecniche di biologia molecolare alla valutazione della clonalità (riarrangiamento genico), oppure si possono eseguire reazioni di ibridizzazione in situ per la ricerca del virus di Epstein e Barr in caso di sospetto di Linfoma di Burkitt.(Stacchini A. Et all);
 - c) nel sospetto di una patologia infettiva (anche sulla base della storia clinica), quando nello striscio siano presenti elementi infiammatori granulocitari o materiale necrotico, è opportuno prevedere un campione da inviare presso la microbiologia, e programmare sul materiale incluso in paraffina eventuali colorazioni speciali come la Ziehl Neelsen, l'impregnazione argentea, fino alla ricerca del bacillo di Koch con teniche di Polimerase Chain Reaction (PCR). Sono descritti in letteratura casi di Tuberculosis in sede pancreatica;
 - d) se le cellule presenti nel preparato estemporaneo sono morfologicamente compatibili con una differenziazione neuroendocrina (cellule monomorfe, con aspetto plasmocitoide, nucleo regolare con cromatina finemente dispersa a “sale e pepe”, si può programmare l'allestimento preventivo di sezioni seriate su vetrini dedicati per l'immunocitochimica (reazioni con anticorpi anti Cromogranina A, Synaptofisina, Ki 67 etc).(Katzipantelis P. et all., Chang F. et all.);

- e) se il quesito clinico è quello di una lesione metastatica, si può cercare di caratterizzare l'origine della lesione con vari profili di reazioni di immunohistochimica, programmando anche in questo caso un certo numero di sezioni seriate.
- f) in caso di sospetta pancreatite autoimmune (mass forming pancreatitis) occorre programmare la valutazione immunocitochimica con IgG4.(Jarboe EA et al).

L'albero decisionale che deriva da questa schematizzazione, consente di accelerare i tempi della diagnosi e di raggiungere un maggior grado di accuratezza diagnostica.

Alcuni studiosi si sono interrogati sul costo della presenza del citopatologo e della sua consulenza.

Nasuti e coll. hanno recentemente rivisto una casistica di 5688 casi in un periodo di 5 anni, in cui era stata eseguita una valutazione on-site da parte del citopatologo ed hanno cercato di quantificarne il costo. La quota di non idonei era dello 0,98%.

Basandosi su questi risultati, gli autori hanno calcolato matematicamente, usando come ipotetica quota di non idonei del 20%, quando il citopatologo non è presente (dati della letteratura), che la valutazione estemporanea ha consentito un risparmio di 404.000 \$ per anno, considerando la riduzione dei costi delle procedure aggiuntive dovute al non raggiungimento della diagnosi finale.

Alcuni ecoendoscopisti hanno provato a valutare da soli gli estemporanei dopo un breve training citopatologico, ma il risultato è stato inferiore se comparato alla presenza del citopatologo.

Secondo le linee guida di Polkowski, la presenza del citopatologo sarebbe necessaria a fianco dell'endoscopista almeno nella fase di apprendimento.

Successivamente va istruito il personale infermieristico di sala ecoendoscopica per il recupero ottimale del materiale da inviare in anatomia patologica.

Le diagnosi citopatologiche sono categorizzate secondo le raccomandazioni delle linee guida della Società di Papanicolaou (2014) utilizzando la seguente nomenclatura.:

CAT I insufficiente/inadeguato;

CAT II non neoplastico (pancreatite pseudocisti);

CAT III atipie citologiche displastiche/ reattive di incerta interpretazione;

CAT IV A materiale amorfo mucina negativo (cistoadenoma sieroso);

CAT IV B materiale amorfo mucinoso mucina positivo (cistoadenoma mucinoso);

CAT IVB neoplasia neuroendocrina;



CAT IVB tumore solido-cistico pseudo papillare;

CAT IVB IPMN;

CAT V atipie di verosimile natura neoplastica;

CAT VI positivo per cellule di adenocarcinoma.

Tutte le diagnosi dovrebbero essere formulate dallo stesso gruppo di citopatologi dedicati, con la eventuale supervisione di un secondo citopatologo e con la eventuale revisione collegiale nei casi di maggiore complessità.

BIBLIOGRAFIA

- Rocca R, De Angelis C, Daperno M, Carucci P, Ravarino N, Bruno M, Crocellà L, Lavagna A, Fracchia M, Pacchioni D, Masoero G, Rigazio C, Ercole E, Sostegni R, Motta M, Bussolati G, Torchio B, Rizzetto M, Pera A. Endoscopic ultrasound-fine needle aspiration (EUS-FNA) for pancreatic lesions: effectiveness in clinical practice. *Dig Liver Dis.* 2007 Aug;39(8):768-74.
- Campisi P, Accinelli G, De Angelis C, Pacchioni D, Bussolati G. [On-site evaluation and triage for endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration cytology. The Turin experience]. *Minerva Med.* 2007 Aug;98(4):395-400.
- Pitman MB et al Standardized terminology and nomenclature for pancreatobiliary cytology. The Papanicolaou Society of Cytopathology Guidelines. *Cytojournal* 11 83) 2014.
- Haek Woon Baek et al Diagnostic accuracy of EUS-FNA cytology in pancreatic lesions. *J. of Pathology and Translational medicine* 49, 52-60, 2015.
- Stacchini A et al Diagnosis of deep lymphomas by endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration combined with flow cytometry. *Cytopathology* 1365-2303, 2011.
- Jarboe EA et al Cytologic features of pancreatic intraepithelial neoplasia and pancreatitis. *Diagnostic Cytopathology* 1-10, 2010.
- Chatzipantelis P. et al Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration cytology of pancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer Cytopathol.* 24-32; 2008.
- Kopelman J. Value of cell block preparation in the Eus Fna cytology. *Cytopathology* 22, 174-178, 2011.
- Chang F. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration cytology of pancreatic neuroendocrine tumors: cytomorphological and immunocytochemical evaluation. *Cytopathology* 17, 10-17, 2006.
- Wright PK. Outcomes of endoscopic ultrasound pancreatic fine needle aspiration diagnosis of solid cystic lesions at Manchester Royal Infirmary based upon the Papanicolaou Society of Cytopathology pancreatobiliary terminology scheme. *Cytopathology* 29,1: 71-79. 2018.
- Chebib I. Inspissated cyst fluid in endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration of pancreatic cysts. *Diagn Cytopathol.* 17; 1-5, 2018.