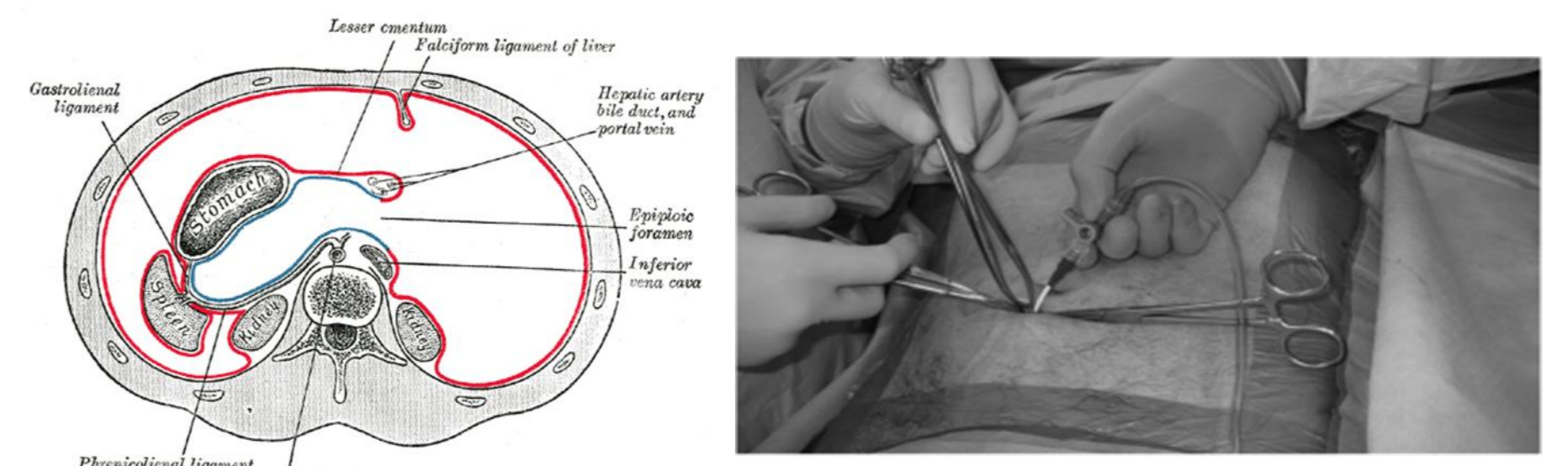


**Anna Crescenzi<sup>1</sup>, Pamela Mozetic<sup>2</sup>, Chiara Taffon<sup>1</sup>, Isabella Giovannoni<sup>1</sup>, Marco Caricato<sup>3</sup>, Fabio Miraglia<sup>4</sup>, Giovanni Zelano<sup>4</sup>.**

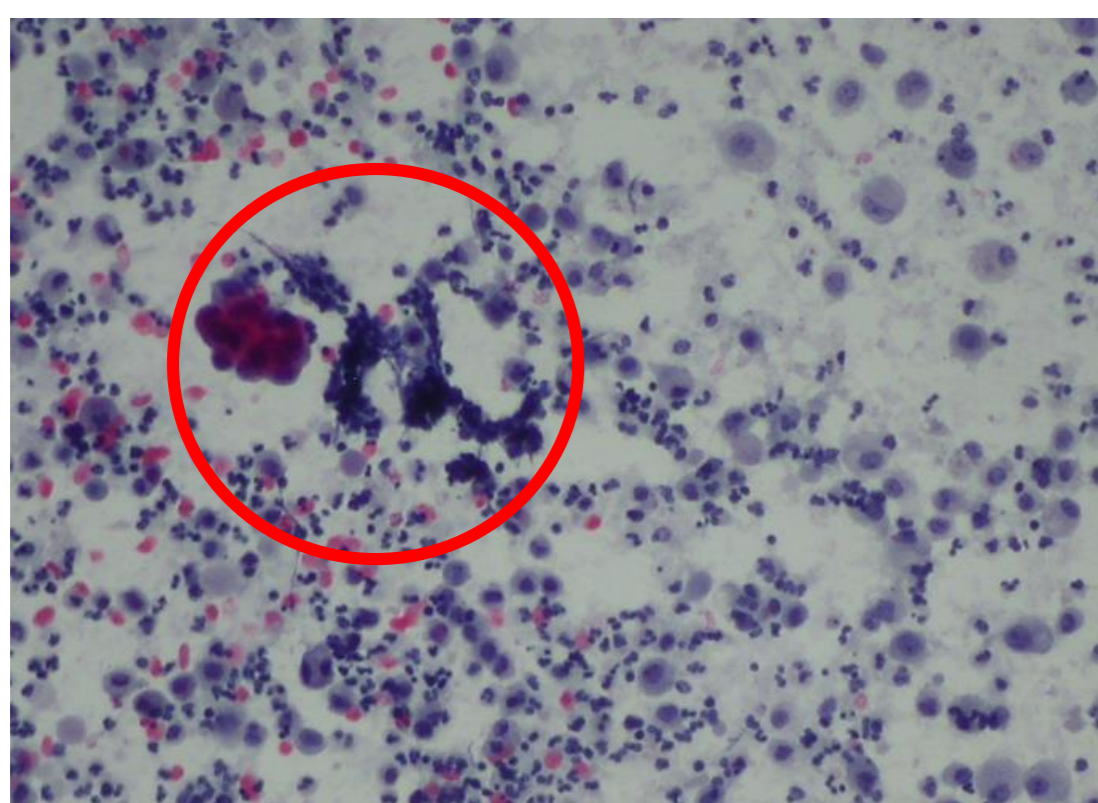
*1 UOC Anatomia Patologica- Policlinico Universitario Campus Bio-Medico, Roma, Italia; 2 UOC Laboratorio Analisi - Policlinico Universitario Campus Bio-Medico, Roma, Italia; 3 UOC Chirurgia - Policlinico Universitario Campus Bio-Medico, Roma, Italia; 4 Giomi Innovation and Research Srl, Roma, Italia.*

**Introduzione e Scopo:** Il carcinoma gastrico, il tumore maligno più frequente dello stomaco, è un problema di salute rilevante ed è la quinta causa di morte per cancro al mondo. Tra i fattori prognostici, l'individuazione di cellule tumorali intraperitoneali è associata ad una significativa diminuzione della sopravvivenza globale. L'attuale edizione del TNM classifica i pazienti con lavaggio peritoneale positivo come stadio IV (**Fig. 1**). La malattia presente in peritoneo correla con prognosi infausta. L'esame citologico del lavaggio peritoneale è lo strumento diagnostico di routine, tuttavia la sensibilità nell'individuare cellule tumorali nel liquido di lavaggio peritoneale è relativamente bassa e recidive neoplastiche intraperitoneali sono osservate anche nei pazienti con citologia negativa. Il principale problema dal punto di vista morfologico è dovuto al fatto che il carcinoma gastrico metastatizza nel peritoneo in cellule singole o piccoli aggregati, spesso difficili da individuare nel contesto della cellularità normale o infiammatoria del peritoneo (**Fig. 2**). Negli ultimi tempi sono state individuate tecniche immunocitochimiche e molecolari di supporto alla citologia per migliorare l'identificazione dei pazienti ad alto rischio anche se con risultati talora controversi e che evidenziano la necessità di standardizzazione e validazione.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di aumentare la sensibilità e la specificità della diagnosi citologica del lavaggio peritoneale eseguendo analisi molecolari con l'utilizzo di un biomarcatore clinico per i tumori gastrointestinali, il Ceacam5.

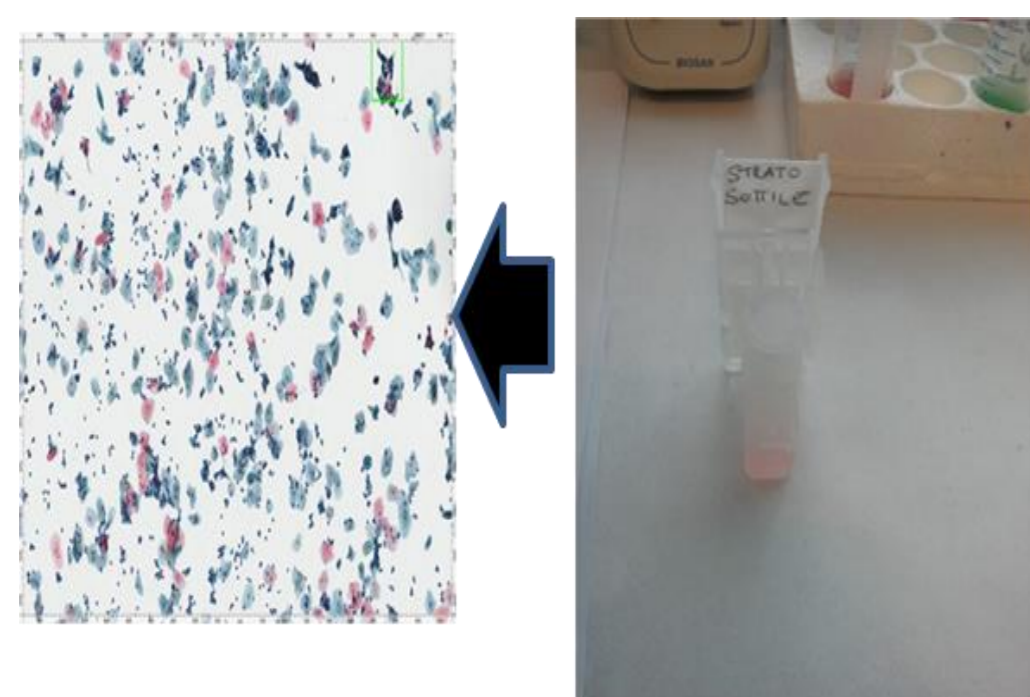


**Fig. 1. Carcinosi peritoneale massiva**

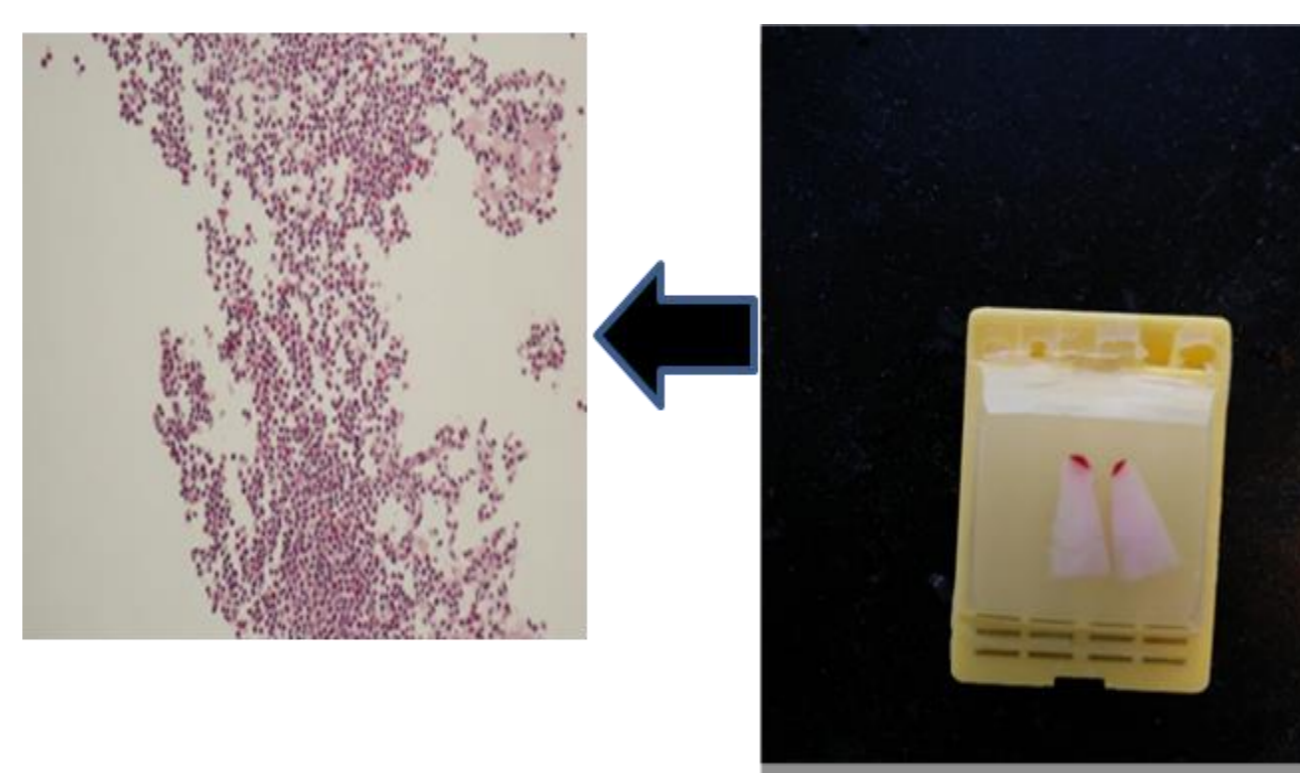


**Fig. 2. Un isolato gruppo di cellule neoplastiche è presente nel contesto del lavaggio peritoneale con cellule mesoteliali reattive e cellule infiammatorie.**

**Materiali e metodi:** Sono stati valutati prospetticamente 20 pazienti sottoposti a chirurgia per carcinoma gastrico. Per ogni paziente il lavaggio peritoneale è stato analizzato sia mediante diagnostica citologica routinaria sia con tecniche molecolari (qRT-PCR). Ciascun campione di lavaggio peritoneale (300 ml di soluzione fisiologica) è stato suddiviso in due aliquote: una è stata sottoposta ad analisi citologica con citologia da strato sottile (**Fig.3**) e allestimento di citoincluso (**Fig.4**); l'altra metà è stata congelata immediatamente dopo il lavaggio e conservata a -80°C fino all'estrazione dell'RNA. Dai campioni criopreservati è stato estratto RNA e retrotrascritto. Analisi di qRT-PCR sono state condotte mediante sonde TaqMan® per geni housekeeping (GAPDH, B-catenina) e per Ceacam5 (**Fig. 6**).

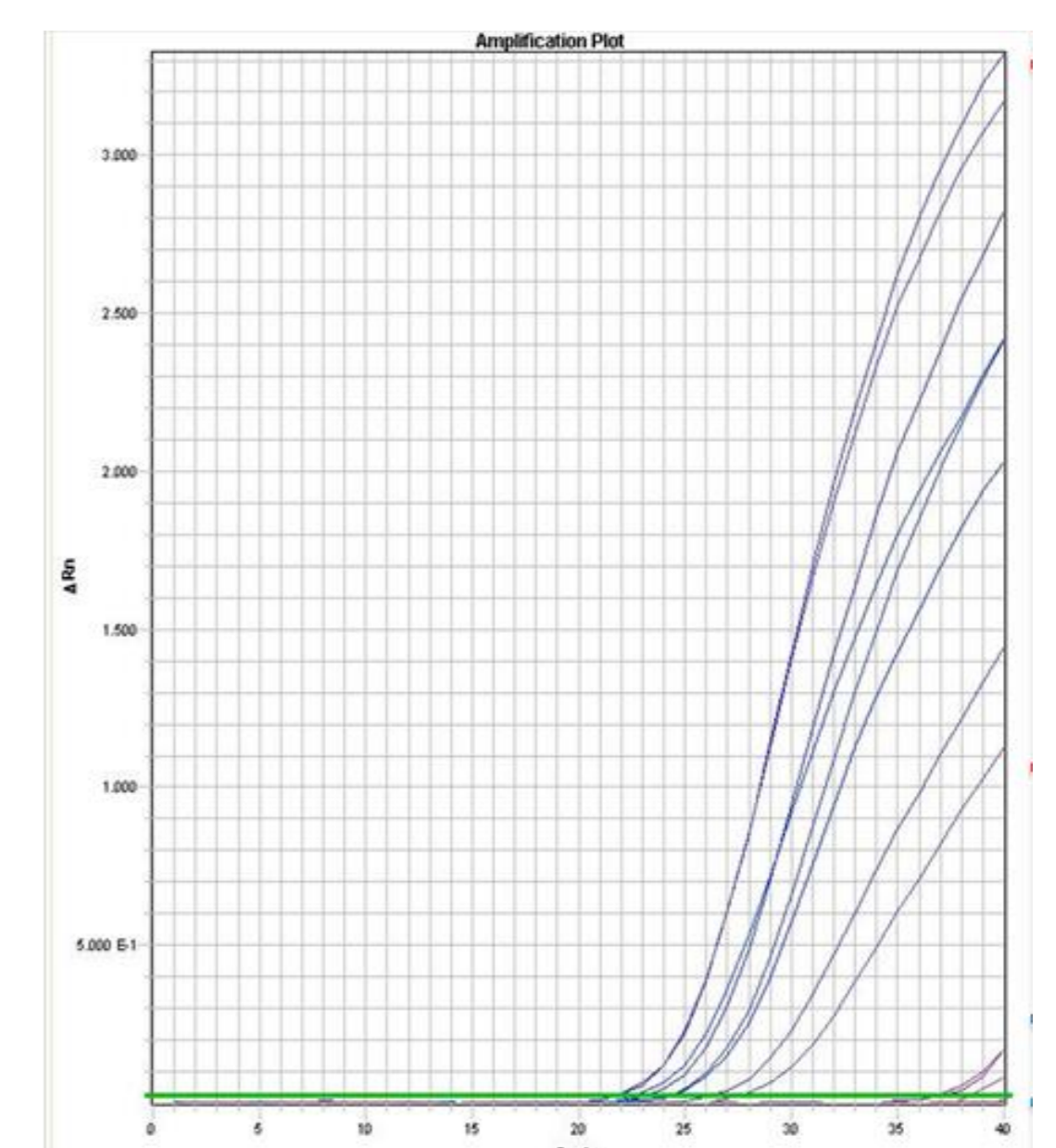


**Fig. 3 Citologia su strato sottile**



**Fig.4 Citoincluso**

Quantità media di RNA da congelato	Qualità media di RNA da congelato
75.98 ng/µl	260/280=1.99



**Fig. 6 Analisi mediante qRT-PCR**

**Risultati:** L'analisi citologica routinaria del lavaggio peritoneale ha individuato 3 pazienti positivi per presenza di cellule tumorali su 20 esaminati (15%). L'analisi con tecniche molecolari ha confermato i 3 casi positivi ed ha permesso di individuare ulteriori 3 pazienti con positività neoplastica tra quelli risultati citologicamente negativi (18%). Nel complesso la qRT-PCR ha individuato 6 pazienti positivi (30%) raddoppiando la capacità identificativa dell'analisi citologica routinaria.

**Conclusioni:** La sensibilità e la specificità della citologia del lavaggio peritoneale possono essere notevolmente migliorate mediante l'introduzione di tecniche molecolari. In questo ambito l'applicazione della qRT-PCR con l'analisi del biomarcatore Ceacam5 ha rivelato la capacità di aumentare significativamente la sensibilità della citologia permettendo di individuare pazienti ad alto rischio di recidiva, non identificati dall'analisi citologica standard. Il test in qRT-PCR si propone pertanto come importante integrazione nella stadiazione di pazienti con carcinoma gastrico. A questo proposito è utile sottolineare che i costi e la disponibilità dei test molecolari in RT-PCR rendono accessibile tale applicazione nei centri di patologia specializzati.