

## La citologia su lavaggio pleurico come fattore prognostico nel carcinoma polmonare non a piccole cellule

F. MAZZA<sup>1</sup>, S. BALDO, A. PERCIVALE, P. LUPI, P. MAINERI, F. DE CIAN<sup>1</sup>, S. PENNATI<sup>1</sup>, A. BARRACO<sup>1</sup>, C. NATALE<sup>1</sup>, E. FERRARI<sup>1</sup>, R. PELLICCI

Dipartimento Chirurgia, Ospedale "Santa Corona" Pietra Ligure, ASL2 Savona

<sup>1</sup> Università degli Studi di Genova

**SUMMARY:** Pleural lavage cytology as prognostic factor in non-small cell lung cancer.

F. MAZZA, S. BALDO, A. PERCIVALE, P. LUPI, P. MAINERI, F. DE CIAN, S. PENNATI, A. BARRACO, C. NATALE, E. FERRARI, R. PELLICCI

**Objective:** The aim of our study was to assess the prognostic value of Pleural Lavage Cytology in patients undergoing pulmonary resections for NSCLC.

**Methods:** From January 2003 to July 2006 we performed PLC on 191 consecutive operable NSCLC without macroscopic pleural effusion. PLC was carried out soon after thoracotomy and before any lung manipulation, through the instillation of saline solution in the pleural cavity. PLC outcomes and patients clinicopathologic data were collected to evaluate their impact on prognosis.

**Results:** In our series PLC was positive in 8 patients (4,2%): positive finding were related to histological diagnosis of adenocarcinoma ( $p = 0,01$ ), grading G3-4 ( $p = 0,036$ ), local infiltration as pT3-4 ( $p < 0,001$ ), nodal dissemination as pN2-3 ( $p = 0,016$ ) and number of involved lymphatic stations ( $p = 0,001$ ). The 5-years survival rates were 37% in the positive group and 29% in the negative ( $p = 0,629$ ), furthermore we observed a cancer recurrence rate of 37,5% in patients with positive PLC versus 6,3% in negative ( $p = 0,001$ ). In the positive group cancer progressions were commonly local recurrences (25% vs 4% of negative) and cerebral metastasis (12,5% vs 0,5% of negative,  $p < 0,000$ ).

**Conclusions:** We found that PLC has a small impact on survival, it is however a good prognostic factor in predict cancer recurrence.

**KEY WORDS:** pleural space, survival, lung cancer, pleural lavage cytology, prognosis.

### Scopo

Il sistema di stadiazione TNM è ad oggi il più importante indicatore prognostico nei pazienti affetti da

NSCLC. Nonostante ciò sono di frequente riscontro carcinomi operati in stadio precoce che, causa recidiva o metastasi, risultano correlati ad una prognosi infausta, paragonabile a stadi più avanzati. Risulta quindi necessario definire nuovi fattori prognostici in grado di discriminare gruppi di pazienti caratterizzati da un maggior rischio di ricaduta dopo la resezione. Il presente studio ha lo scopo di analizzare il valore prognostico dell'esame citologico del liquido di lavaggio pleurico (PLC, Pleural Lavage Cytology), raccolto durante gli interventi di resezione polmonare per carcinoma. Questa tecnica consiste nella raccolta delle cellule naturalmente esfoliate dalla superficie pleurica mediante lavaggio del cavo, subito dopo la toracotomia e prima di qualsiasi manipolazione del parenchima polmonare, per valutare l'eventuale presenza di elementi neoplastici tra esse. Altri Autori (1-6) hanno già osservato un variabile impatto di questo fattore sulla sopravvivenza globale di NSCLC, ma tale procedura non è ad oggi considerata nella routine chirurgica. End Point primario dello studio è pertanto la conferma di PLC come fattore prognostico indipendente nei pazienti operati per NSCLC.

### Materiali e metodi

Abbiamo eseguito un'analisi retrospettiva su una popolazione di 191 pazienti sottoposti a resezione per NSCLC da Gennaio 2003 a Luglio 2006; sono stati esclusi pazienti presentanti versamento pleurico maligno di riscontro pre- o intra- operatorio, non sono stati considerati gli interventi conclusi con toracotomia esplorativa. Il protocollo prevede l'irrigazione del cavo pleurico subito dopo la toracotomia, prima di qualsiasi manipolazione del polmone, con 250 mL di soluzione fisiologica riscaldata seguita da completa aspirazione. Un campione di 50 mL in contenitore

Corrispondenza Autore:  
Dott. Stefano Baldo  
Borgo Gramsci 42 - 17014 Cairo Montenotte (SV)  
E-mail: stefano\_baldo@libero.it

© Copyright 2009, CIC Edizioni Internazionali, Roma

sterile viene inviato in anatomia patologica per l'esame citologico. I dati clinici sono stati registrati attraverso la revisione delle cartelle cliniche, gli outcome raccolti per mezzo di interviste telefoniche. Il follow-up (durata media è stata di 776,3 giorni) è stato realizzato mediante valutazione dei markers tumorali ed esecuzione di TC, addome superiore e torace, a sei mesi ed a un anno dall'intervento, in seguito annualmente. Per valutare l'impatto clinico del PLC abbiamo analizzato per ciascun paziente i seguenti fattori clinico-patologici: età, sesso, terapia preoperatoria neo-adiuvante, tipo di intervento eseguito, istotipo e grading della neoplasia, valori TNM istopatologici (in caso di infiltrazione locale o linfonodale sono state anche riportate le strutture interessate), diametro della massa e distanza dalla sezione bronchiale, radicalità della terapia chirurgica, terapia postoperatoria adiuvante, sede di eventuali recidive in corso di follow-up. I dati sono stati raccolti in tabelle di contingenza e il test del chi-quadro è stato utilizzato per valutare l'omogeneità dei gruppi PLC positivo e PLC negativo. Le curve di sopravvivenza sono state calcolate in accordo con il metodo Kaplan-Meier, le differenze nella sopravvivenza sono state valutate per mezzo del log-rank test. Per la valutazione dell'impatto prognostico è stata eseguita un'analisi multivariata utilizzando il modello regressione di Cox.

## Risultati

Nei 191 pazienti sottoposti al lavaggio pleurico 8 (4,2) sono risultati positivi. I gruppi PLC positivo e negativo sono risultati omogenei per distribuzione di età, sesso, terapia pre-operatoria, tipo di intervento, lato e sede della neoplasia, radicalità dell'intervento, metastasi skip ed extranodali, linfonodi bulky, terapia postoperatoria (Tab. 1). Non sono invece omogenei per istologia, grading, pT, pN e numero di stazioni linfonodali coinvolte ( $p < 0.05$ ). Valori positivi del PLC sono più facilmente riscontrabili in pazienti con adenocarcinoma (9,7%; 7 su 72 adenocarcinomi analizzati), mentre non ne abbiamo individuati nei carcinomi squamosi (0 su 82 carcinomi squamosi analizzati). Il gruppo positivo più frequentemente presenta buona differenziazione cellulare: i lavaggi positivi sono il 12,1% dei G1 e il 4,8% dei G2, mentre nessun G3 o G4 ha manifestato positività. Cellule maligne sono state riscontrate in 5 dei 23 pazienti con pT3 (21,7%) e in 1 dei 10 pazienti con pT4 (10%), mentre nessun pT2 e solo 1 su 57 pT1 sono risultati positivi. Il risultato del PLC è quindi significativamente correlato all'estensione locale del tumore ( $p < 0,001$ ). Ogni volta che l'esame istologico ha individuato l'infiltrazione di altre strutture toraciche (pT3 e pT4) abbiamo registrato quale di queste fosse interessata: l'analisi statistica non

TABELLA 1 - CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE IN STUDIO.

	Totale, n (%)	PLC negativo, n (%)	PLC positivo, n (%)	<i>p</i> *
<b>Caratteristiche generali</b>				
Età (anni)				
Media	66.31 ± 9.65	66.40 ± 9.44	64.12 ± 14.30	
Minima	36	37	36	
Massima	86	86	80	
Gruppi di età				
<61	47 (24.6)	45 (95.7)	2 (4.3)	1
61-70	72 (37.7)	69 (95.8)	3 (4.2)	
>70	72 (37.7)	69 (95.8)	3 (4.2)	
Sesso				
Maschio	143 (74.9)	139 (97.2)	4 (2.8)	0,098
Femmina	48 (25.1)	44 (91.7)	4 (8.3)	
<b>Caratteristiche pre-operatorie</b>				
Terapia				
Nulla	167 (87.5)	159 (95.2)	8 (4.8)	0,878
Chemioterapia (CT)	17 (8.9)	17 (100)	0 (-)	
Radioterapia (RT)	1 (0.5)	1 (100)	0 (-)	
CT + RT	4 (2.1)	4 (100)	0 (-)	
CT + immunoterapia	2 (1.0)	2 (100)	0 (-)	
Tipo di chirurgia				
Pneumectomia	30 (15.7)	28 (93.3)	2 (6.7)	0,208
Lobectomia	133 (69.6)	128 (96.2)	5 (3.8)	
Bilobectomia	20 (10.5)	20 (100)	0 (-)	
Segmentectomia	4 (2.1)	4 (100)	0 (-)	
Atipica	4 (2.1)	3 (75.0)	1 (25.0)	

continua

TABELLA 1 - segue

	Totale, n (%)	PLC negativo, n (%)	PLC positivo, n (%)	p*
<b>Caratteristiche post-operatorie</b>				
Lato neoplasia				0,749
Destro	106 (55.5)	102 (96.2)	4 (3.8)	
Sinistro	85 (44.5)	81 (95.3)	4 (4.7)	
Sede neoplasia				0,383
Superiore	111 (58.1)	105 (94.6)	6 (5.4)	
Medio	10 (5.2)	10 (100)	0 (-)	
Inferiore	40 (20.9)	40 (100)	0 (-)	
Pneumectomia totale	30 (15.7)	28 (93.3)	2 (6.7)	
Istologia				0,010#
Carcinoma squamoso	82 (42.9)	82 (100)	0 (-)	
Adenocarcinoma	72 (37.7)	65 (90.3)	7 (9.7)	
Altro	37 (19.4)	36 (97.3)	1 (2.7)	
Grading				0,036#
G1	33 (17.3)	29 (87.9)	4 (12.1)	
G2	83 (43.5)	79 (95.2)	4 (4.8)	
G3	73 (38.2)	73 (100)	0 (-)	
G4	2 (1.0)	2 (100)	0 (-)	
T patologico				<0,001#
T1	57 (29.8)	56 (98.2)	1 (1.8)	
T2	101 (52.9)	100 (99.0)	0 (-)	
T3	23 (12.0)	18 (78.3)	5 (21.7)	
T4	10 (5.2)	9 (90.0)	1 (10.0)	
Radicalità				0,573
R0	184 (96.3)	176 (95.7)	8 (4.3)	
R1	7 (3.7)	7 (100)	0 (-)	
N patologico				0,016#
N0	107 (56.0)	104 (97.2)	3 (2.8)	
N1	33 (17.3)	33 (100)	0 (-)	
N2	48 (25.1)	44 (91.7)	4 (8.3)	
N3	3 (1.6)	2 (66.7)	1 (33.3)	
Numero stazioni interessate				0,001#
Nessuna	107 (56.0)	104 (97.2)	3 (2.7)	
1 stazione	40 (20.9)	40 (100)	0 (-)	
2 stazioni	18 (9.4)	18 (100)	0 (-)	
>2 stazioni	26 (13.6)	21 (80.8)	5 (19.2)	
Skipped metastasis				0,514
No	178 (93.2)	171 (96.1)	7 (3.9)	
Si	13 (6.8)	12 (92.3)	1 (7.7)	
Extra-nodal metastasis				0,416
No	177 (92.7)	169 (95.5)	8 (4.5)	
Si	14 (7.3)	14 (100)	0 (-)	
Bulky				0,834
No	190 (99.5)	182 (95.8)	8 (4.2)	
Si	1 (0.5)	1 (100)	0 (-)	
Terapia adiuvante				0,172
Nulla	118 (61.8)	114 (96.6)	4 (3.4)	
Chemioterapia (CT)	40 (20.9)	36 (90.0)	4 (10.0)	
Radioterapia (RT)	18 (9.4)	18 (100)	0 (-)	
CT + RT	15 (7.9)	15 (100)	0 (-)	

\* test chi-quadro di Pearson per eterogeneità (p per confronto rispetto a PLC); #: statisticamente significativo (p < 0,05).

ha individuato differenze rilevanti per i pT4, è invece caratteristica per i pT3 positivi al PLC l'infiltrazione del pericardio (50%, 4 casi positivi su 8 pazienti con tale struttura infiltrata); un altro caso positivo ha manifestato infiltrazione pleurica, mentre dei tre rimanenti due non avevano infiltrazione locale ed uno presentava estensione multifocale (pT4). La positività del lavaggio pleurico è inoltre dipendente dall'interessamento linfonodale: 8,3% degli N2 (4 su 48) e 33% degli N3 (1 su 3) presentano cellule maligne nel cavo pleurico alla toracotomia, contro il solo 2,8% degli N0 (3 su 107) e lo 0% degli N1 (0 su 33,  $p = 0,016$ ). Analizzando anche il numero di stazioni linfonodali interessate si nota che i pazienti con PLC positivo hanno più frequentemente infiltrazione in tre o più di queste (5 su 26 cioè 19,2%), mentre in chi presenta due o meno stazioni infiltrate la positività è più rara (3 su 165 cioè 1,8%,  $p = 0,001$ ). Un altro dato significativo emerso dall'analisi è la maggior incidenza in corso di follow-up di recidiva nei pazienti con PLC positivo ( $p = 0,001$ ): essi presentano una seconda localizzazione metacrona del tumore nel 37,5% dei casi, contro il 6,3% dei negativi. Inoltre la ripresa di malattia, nei PLC positivi, è più frequentemente rappresentata dall'insorgenza di recidiva locale (25% vs 4% nei PLC negativi) o di metastasi cerebrali (12,5% vs 0,5% nei PLC negativi), piuttosto che di altre sedi (Tab. 2). Al termine del follow-up la mortalità è risultata maggiore nel gruppo con PLC positivo, 37% di decessi contro il 29% dei PLC negativi (Tab. 3, Fig. 1),

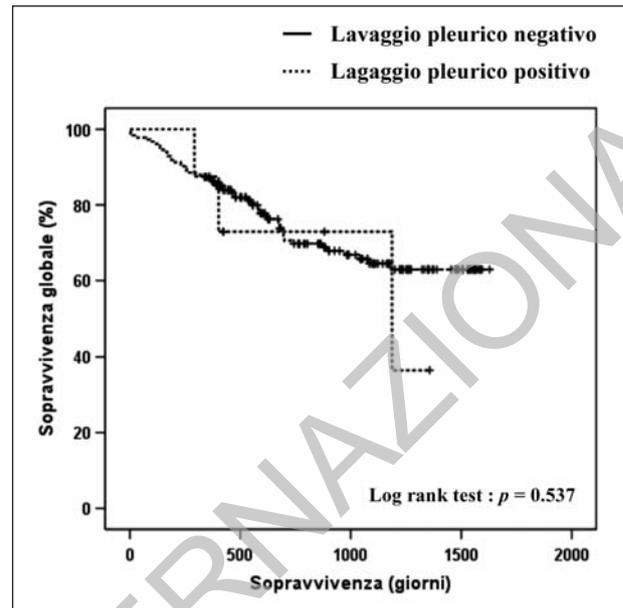


Fig. 1

non è stata però osservata una differenza statisticamente significativa ( $p = 0,629$ ).

### Conclusioni

Nel presente studio abbiamo riscontrato un tasso di positività del PLC di 4,2%, in linea con i dati presenti

TABELLA 2 - INCIDENZA RECIDIVE POST-TRATTAMENTO CHIRURGICO E SEDI PIÙ FREQUENTI.

	Pazienti totali	Pazienti PLC negativo	Pazienti PLC positivo	
RECIDIVA				
No	177 (92,7%)	172 (94%)	5 (62,5%)	$p = 0,001^*$
Si	14 (7,3%)	11 (6%)	3 (37,5%)	
SEDE				$p < 0,000^*$
Assente	177 (92,7%)	172 (94%)	5 (62,5%)	
Locale	9 (4,7%)	7 (4%)	2 (25%)	
MTS osso	3 (1,6%)	3 (1,5%)	0 (0%)	
MTS SNC	2 (1%)	1 (0,5%)	1 (12,5%)	

\* test chi-quadro di Pearson per eterogeneità ( $p$  per confronto rispetto a PLC).

TABELLA 3 - DISTRIBUZIONE DEI DECESSI IN BASE AL REFERTO DEL PLC.

Decesso	Pazienti totali	Pazienti PLC negativo	Pazienti PLC positivo	$p^*$
NO	134 (70,2%)	129 (70,5%)	5 (62,5%)	0,629
SI	57 (29,8%)	54 (29,5%)	3 (37,5%)	

\* test chi-quadro di Pearson per eterogeneità ( $p$  per confronto rispetto a PLC).

in letteratura che mostrano un range di 3,18-13,08% (1-4). Tale positività abbiamo dimostrato essere associata ad un aumento significativo del rischio di ripresa di malattia, mentre non è stato osservato un altrettanto significativo impatto sulla sopravvivenza, comunque presente, probabilmente a causa di un relativamente breve periodo di follow-up. Satoh et al. (5) hanno recentemente pubblicato uno studio su 853 pazienti, di cui 41 positivi (4,8%), dal quale è risultato che la sopravvivenza a cinque anni, dopo resezione per NSCLC, è significativamente ridotta dalla presenza di cellule maligne nel liquido del lavaggio pleurico: 88% nei pazienti in stadio I PLC negativi contro 60% negli stadi I PLC positivi. La differenza tende a scomparire negli stadi più avanzati: ciò è accettabile poiché in questi stadi la prognosi è talmente infausta da rendere difficilmente quantificabile l'impatto di altri fattori. Nakagawa et al. (6) hanno riscontrato un simile impatto del PLC sulla sopravvivenza, inoltre, attraverso l'analisi multivariata di alcune variabili (simili a quelle da noi considerate), hanno dimostrato come il PLC sia un fattore prognostico indipendente per NSCLC, raggiungendo una buona significatività ( $p = 0,016$ ). Nel nostro lavoro non abbiamo raggiunto lo stesso livello di certezza, ma i dati indicano possibile l'utilizzo del PLC come fattore prognostico, in accordo con Nakagawa. Un altro dato emerso dalla nostra casistica è l'evidente associazione tra lavaggio pleurico positivo e adenocarcinoma. In letteratura questa associazione è riportata anche da altri Autori, senza che nessuno ne abbia individuato un significato prognostico. Si può infatti ipotizzare che la prevalenza dell'adenocarcinoma sugli altri istotipi, riguardo alla positività del PLC, non derivi da una sua maggiore tendenza all'infiltrazione, ma piuttosto dalla sede di crescita di tale tumore, che frequen-

te è più periferica rispetto alle altre forme e quindi più vicina alla superficie pleurica. In conclusione il lavaggio pleurico è di per sé una semplice procedura, caratterizzata da un basso costo e da un irrilevante allungamento della durata dell'intervento, in grado di identificare pazienti chirurgici con micrometastasi non altrimenti riscontrabili. Esso può diventare un importante fattore prognostico, utile nel selezionare pazienti con alto rischio di recidiva e quindi meritevoli di ulteriori terapie.

## Bibliografia

1. Okada M, Sakamoto T, Nishio W, Uchino K, Tsuboshima K, Tsubota N. Pleural lavage cytology in non-small cell lung cancer: lessons from 1000 consecutive resections. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:1911-5.
2. Lim E, Ali A, Theodorou P, Nicholson AG, Ladas G, Goldstraw P. Intraoperative pleural lavage cytology is an independent prognostic indicator for staging non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127:1113-8.
3. Enatsu S, Yoshida J, Yokose T, Nishimura M, Nishiwaki Y, Shirakusa T, et al. Pleural lavage cytology before and after lung resection in non-small cell lung cancer patients. *Ann Thorac Surg* 2006;81:298-304.
4. Dresler CM, Fratelli C, Babb J. Prognostic value of positive pleural lavage in patients with lung cancer resection. *Ann Thorac Surg* 1999;67:1435-9.
5. Satoh Y, Hoshi R, Ishikawa Y, Horai T, Okumura S, Nakagawa K. Recurrence patterns in patients with early stage non-small cell lung cancers undergoing positive pleural lavage cytology. *Ann Thorac Surg* 2007;83:197-202.
6. Nakagawa T, Okumura N, Kokado Y, Miyoshi K, Matsuoka T, Kameyama K. Clinical relevance of intraoperative pleural lavage cytology in non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2007;83:204-8.