



Universitat Autònoma de Barcelona

Programa de Medicina
Departamento de Medicina. Facultad de Medicina

UTILIZACIÓN DE CRIOSONDAS PARA LA REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA PULMONAR TRANSBRONQUIAL

TESIS DOCTORAL presentada por:

VIRGINIA PAJARES RUIZ

DIRECTORES

Dr. Joaquín Sanchis Aldás

Dr. Vicente Plaza Moral

Barcelona, 2014



Universitat Autònoma de Barcelona

El **Dr. Joaquín Sanchis Aldás**, Catedrático Emérito del Departamento de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona y el **Dr. Vicente Plaza Moral**, Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona y Director del Servicio de Neumología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau,

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral titulada: UTILIZACIÓN DE CRIOSONDAS PARA LA REALIZACIÓN DE LA BIOPSIA PULMONAR TRANSBRONQUIAL, presentada por **Virginia Pajares Ruiz** para optar al grado de Doctor en Medicina, ha sido realizada bajo su dirección y consideran que reúne los requisitos formales y científicos para proceder a su lectura y defensa pública.

Dr. Joaquín Sanchis Aldás

Dr. Vicente Plaza Moral

Barcelona, 4 de Diciembre de 2014

“Que gane el quiero la guerra del puedo”

J. Sabina

*“No te rindas, aún estás a tiempo
de alcanzar y comenzar de nuevo”*

M. Benedetti

AGRADECIMIENTOS

Son muchos los momentos vividos en el hospital, tantos que puedo decir que Sant Pau se ha convertido en mi segunda casa. En mayo de 2004, comenzaba mi residencia y con ella, un viaje en el que he ido conociendo a muchos amigos y compañeros. Sus inestimables consejos me han hecho crecer como persona y como médico. Esta tesis tiene un poco de cada uno de ellos y por eso, quiero agradecerles su ayuda:

A mis directores de tesis; el Dr. Joaquín Sanchis y el Dr. Vicente Plaza. Gracias Ximo, por orientarme desde el principio y por transmitirme la calidad y el rigor científico necesario para llevar a cabo todo este proceso. Gracias Vicente, por tu confianza y tus consejos. Y gracias por permitirme formar parte del gran equipo de profesionales de nuestro servicio.

A mis dos maestros: Carmen Puzo y Alfons Torrego. Parece que fue ayer cuando llegué a broncoscopia como becaria. Es imposible resumir todo lo que he aprendido de vosotros. Carmen, gracias por descubrirme el “arte” de la broncoscopia y por enseñarme a “pasear por los bronquios”. Decir que he aprendido de ti, Dra. Puzo, es un orgullo y sinónimo de excelencia por dónde vaya. Gracias por compartir tus conocimientos y tu experiencia. Alfons, imposible pensar que esta tesis se hubiera podido escribir sin ti. Has sido mi mentor. La persona que confió en mí para llevar a cabo este proyecto y quién me animó a seguir a pesar de las múltiples dificultades. Es increíble tu capacidad de trabajo y la generosidad e ilusión con la que transmites tus conocimientos. Gracias.

Al estupendo equipo de enfermería, al de los inicios: Carmen Burgués y al actual *Brochoscopy Team*: Cristina, Maribel y Celia, por vuestra profesionalidad y ayuda en todas las fases del proyecto, ¡incluido el *copyright* de las fotos! A las *secres* de broncoscopia: Cristina, Pili y Maite porque programar una criobiopsia no era siempre fácil... ¡pero lo conseguían!

I would also like to take this opportunity to thank Dr. Jürgen Hetzel for training us to use the cryobiopsy technique and to allow me to do a stage in his department in the Universitäts Klinikum of Tübingen.

Al Dr. Rodríguez-Arias, José Manuel, qué decirte... has sido un constante estímulo hasta el final (¡y lo sigues siendo!). Me enseñaste a “ver” la enfermedad intersticial desde la clínica y la radiología, e incluso desde la histología... Los paseos a rayos contigo eran todo un lujo. Has vivido los momentos más duros del proyecto y te has alegrado de las metas conseguidas. Y, a día de hoy, la Playa de la Concha de San Sebastián, tu otro *legado*, sigue alegrándome las mañanas. A Diego, por su apoyo y por implicarme en el proyecto desde el principio. A los amigos y compañeros de la *sala de treball*; a los del principio: Carmen Puy y Ana Fortuna, *R grandes* y amigas. Y a los que vinieron después: Teresa, Txell, Anna Mola, Rebe y Oscar. Gracias a todos por compartir ciencia, horas de SPSS, estrés pre-congresos, consejos de tesis (¿verdad Ana?)... pero también ¡risas y cafés!

Gracias a Mercé Mayos, mi tutora en la época de residente, que guió mis primeros pasos en la neumología. Gracias a todos los adjuntos del Servicio de Neumología, a los que formaron parte del antiguo hospital y a los que llegaron al nuevo, todos ellos han contribuido en mi formación y tengo la suerte de poder seguir aprendiendo de ellos cada día. Gracias al personal de enfermería porque directa o indirectamente han participado en esta tesis. Recuerdo especialmente el “aterrizaje” en hospital de día: gracias Ludy por tu paciencia y tu cariño. Gracias al equipo de Cirugía Torácica, Pepe Belda y Eli Martínez por brindar su apoyo a la hora de iniciar el proyecto y su ayuda en el manejo de los pacientes. Al servicio de Anatomía Patológica, especialmente a Enrique Lerma y a Laura López por enseñarme la enfermedad intersticial desde el microscopio y a sus secretari@s, siempre dispuest@s a facilitarme laminillas, informes y demás material para que pudiera trabajar con ello. A la Dra. Ángeles Montero de Anatomía Patológica del Hospital Vall d’Hebron por su imprescindible ayuda y por embarcarse en este proyecto contagiando ilusión. Al equipo de radiología de tórax, Tomás Franquet y Ana Giménez por estar siempre dispuestos a explicarme la enfermedad intersticial desde sus ojos de radiólogos. Y a la Dra. Angels Gil de Bernabé del Servicio de Anestesiología por su imprescindible ayuda en el manejo anestésico de los pacientes.

Gracias a mi familia, mis padres, Manuel y Rafi, por apoyarme y animarme en los momentos difíciles. Gracias porque esta tesis es también fruto de vuestro esfuerzo. Gracias por vuestro cariño y por confiar siempre en mí, a veces más de

lo que yo misma hago. A mi hermana Azu porque su alegría y su capacidad de trabajo me animan a seguir con el mío y a mi hermano Víctor por contagiarme sus ganas de aprender y porque su música y El Sombrero de Color han sido la banda sonora de este camino. Gracias a Santi, Irene y Julieta por compartir risas en las reuniones familiares. Y gracias a mi otra familia, a los *NoPes* y, especialmente, a Ramon Maria y Manolita, por su apoyo incondicional y su cariño desde el principio.

Y, como no, gracias a mis amigas, a las de siempre: Esther, Elena, Pauli, Raquel, Paula F., Silvia y Marta, por los *findes* de risas, las Magdalenas, las acampadas y demás celebraciones... Gracias a *mi gente* de la facultad y a todos los amigos que han formado y forman parte de mi vida.

Y sobre todo, gracias a ti, Ramon, mi compañero de vida y mi referente. Tu confianza en mí, tu incansable apoyo, tus consejos... Todo el tiempo dedicado, en muchas ocasiones anteponiendo mis proyectos a los tuyos propios. Tengo mucho que aprender de ti y mucho que agradecerte. Te quiero. A nuestros hijos, a Sara porque su alegría y sus abrazos se han convertido en la mejor medicina. Y al pequeño Ramon, por su fuerza, por su luz y porque con tan sólo dos meses ya nos ha dado la primera lección de vida.

Y, por supuesto, gracias a todos los pacientes que han participado en los estudios, ellos son los verdaderos protagonistas de esta tesis.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	19
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	25
1. PRESENTACIÓN Y JUSTIFICACIÓN	31
2. INTRODUCCIÓN	37
2.1. Biopsia pulmonar transbronquial convencional	39
2.1.1. Indicaciones generales	40
2.1.1.a. Indicación en la enfermedad pulmonar intersticial difusa	42
2.1.1.b. Indicación en la patología neoplásica periférica	47
b.1. BPTB en el nódulo pulmonar solitario	47
2.1.1.c. Indicación en la enfermedad infecciosa	50
c.1. Paciente inmunocompetente	50
c.2. Paciente inmunodeprimido	51
2.1.1.d. Indicación en trasplante de pulmón	53
2.1.2. Complicaciones	55
2.1.2.a. Neumotórax	56
2.1.2.b. Hemorragia	57
2.1.3. Limitaciones	58
2.1.3.a. Número y tamaño de las muestras	58
2.1.3.b. Artefactos presentes en las muestras	59
2.1.3.c. Calidad de las muestras	59
2.2. Utilización de criosondas en broncoscopia: crioterapia, crio-recanalización y criobiopsia	60
2.2.1. Crioterapia	60
2.2.1.a. Historia de la crioterapia	61
2.2.1.b. Principio físico de la crioterapia	62
2.2.1.c. Mecanismo de acción y efectos biológicos de la crioterapia	63
c.1. Alteraciones celulares	63
c.2. Alteraciones tisulares y vasculares	65
c.3. Alteraciones inmunológicas	65
2.2.1.d. Agentes criogénicos y equipo	66
2.2.2. Crio-recanalización	68
2.2.3. Criobiopsia bronquial	68

2.2.4. Criobiopsia transbronquial	70
2.2.4.a. Consideraciones generales	70
2.2.4.b. Infraestructura y requerimientos de material	71
2.2.4.c. Preparación del paciente	73
2.2.4.d. Monitorización y sedación	74
2.2.4.e. Descripción de la técnica	74
2.2.4.f. Obtención y procesado de muestras	77
2.2.4.g. Cuidados, desinfección y esterilización del material	78
2.2.5. Indicaciones de la criobiopsia transbronquial	80
2.2.5.a. Criobiopsia transbronquial en la EPID	80
2.2.5.b. Criobiopsia transbronquial en el paciente Inmunodeprimido	81
2.2.5.c. Criobiopsia transbronquial en el trasplante pulmonar	82
2.2.5.d. Criobiopsia transbronquial en el nódulo pulmonar periférico	83
2.2.6. Contraindicaciones de la criobiopsia transbronquial	83
2.2.6.a. Absolutas	84
2.2.6.b. Relativas	84
3. HIPÓTESIS	87
4. OBJETIVOS	91
5. METODOLOGÍA Y RESULTADOS	95
5.1. ESTUDIO I: Utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial	97
5.1.1. Metodología del estudio I	97
5.1.1.a. Diseño del estudio y población	97
5.1.1.b. Protocolo clínico	98
5.1.1.c. Variables	98
5.1.2. Resultados del estudio I	98
5.2. ESTUDIO II: Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in interstitial lung disease: A randomized trial	101
5.2.1. Metodología del estudio II	101
5.2.1.a. Diseño del estudio y población	101
5.2.1.b. Protocolo clínico	102
5.2.1.c. Procesado de muestras y variables histológicas	103
5.2.1.d. Variables relativas a los procedimientos	105

5.2.1.e. Análisis estadístico	105
5.2.2. Resultados del estudio II	106
5.2.2.a. Rendimiento diagnóstico de los procedimientos	107
5.2.2.b. Características histológicas de las muestras	108
5.2.2.c. Análisis inmunohistoquímico de las muestras obtenidas con criosonda	110
5.2.2.d. Complicaciones de los procedimientos	111
6. DISCUSIÓN CONJUNTA	115
6.1. Viabilidad del uso de criosondas para realizar la BPTB y descripción de la técnica	117
6.2. Rendimiento diagnóstico y seguridad de la BPTB con criosonda	121
7. CONCLUSIONES	129
8. BIBLIOGRAFÍA	133
9. ANEXO I: COMPENDIO DE PUBLICACIONES	157
9.1. ESTUDIO I: Utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial	161
9.2. ESTUDIO II: Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in interstitial lung disease: A randomized trial	169
10. ANEXO II: ARTÍCULOS PUBLICADOS INCLUIDOS EN LA TESIS	179
11. ANEXO III: OTRAS PUBLICACIONES EN RELACIÓN CON LA TEMÁTICA DE LA TESIS	193

ABREVIATURAS

AEER	Asociación Española de Endoscopia Respiratoria
ALAT	Latin American Thoracic Association
ALK	Quinasa del linfoma anaplásico
aPTT	Tiempo de tromboplastina parcial activa
ATS	American Thoracic Society
BF	Broncofibroscopio
BPTB	Biopsia pulmonar transbronquial
CD1a	Clúster de diferenciación 1a
CO ₂	Dióxido de carbono
CPNM	Cáncer de pulmón no microcítico
DLVA	Difusión ajustada al volumen alveolar
DLCO	Difusión monóxido de carbono
EBUS	Ultrasonografía endobronquial
EGFR	Receptor del factor de crecimiento epidérmico
EPID	Enfermedad pulmonar intersticial difusa
EPOC	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
ERS	European Respiratory Society
FEV ₁	Volumen espiratorio forzado en 1 segundo
FPI	Fibrosis pulmonar idiopática
FUCAP	Fundació Catalana de Pneumologia
FVC	Capacidad vital forzada
HAP	Hipertensión arterial pulmonar
HMB-45	Antígeno monoclonal frente a la glucoproteína gp100 de los premelanosomas
INR	Ratio internacional normalizada
kg	Kilogramo
Ki67	Índice de proliferación expresado por MIB-1
LAM	Linfangioleiomiomatosis
LDCGB	Linfoma difuso de células grandes tipo B
mg	Miligramos
mm	Milímetros
mmHg	Milímetros de mercurio
N ₂	Nitrógeno

ABREVIATURAS

N ₂ O	Óxido nitroso
NII	Neumonía intersticial idiopática
NINE	Neumonía intersticial no específica
NIU	Neumonía intersticial usual
NPS	Nódulo pulmonar solitario
PAAF	Punción aspiración con aguja fina
Pan-CK	Pancitoqueratina
PaO ₂	Presión arterial de oxígeno
PAS	Ácido periódico de Schiff
PCNA	Antígeno nuclear de proliferación nuclear
SaO ₂	Saturación de oxígeno
SEPAR	Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica
SOCAP	Societat Catalana de Pneumologia
TAC	Tomografía axial computarizada
TACAR	Tomografía axial computarizada de alta resolución
TLC	Capacidad pulmonar total
VATS	Videocirugía toracoscópica
VBF	Videobroncofibroscopio
°C	Grados Celsius
α-SMA	Alfa actina músculo liso
ΔP	Incremento de presión
ΔT	Incremento de temperatura

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Clasificación de las enfermedades pulmonares difusas
- Tabla 2.** Clasificación de las Neumonías Intersticiales Idiopáticas
- Tabla 3.** Indicaciones de la crioterapia endobronquial
- Tabla 4.** Variables clínicas y funcionales de los pacientes estudiados
- Tabla 5.** Diagnóstico histopatológico y diagnóstico final tras revisión por un comité multidisciplinar
- Tabla 6.** Variables histológicas y calidad de las biopsias
- Tabla 7.** Complicaciones registradas durante los procedimientos distribuidas por grupos

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Algoritmo diagnóstico en la EPID
- Figura 2.** Algoritmo diagnóstico en la sospecha de fibrosis pulmonar idiopática (FPI)
- Figura 3.** Relación entre la masa tumoral y el bronquio
- Figura 4.** Diagnóstico diferencial para la biopsia transbronquial en la enfermedad intersticial difusa en función del estado inmunológico del paciente.
- Figura 5.** Colector-compresor de hielo seco utilizado por Hall-Edwards
- Figura 6.** Mecanismos de daño celular por congelación
- Figura 7.** Mecanismo de muerte celular inducida por frío
- Figura 8.** Agente criógeno a través del canal central de la sonda
- Figura 9.** Equipo de crioterapia de Erbokryo® y sonda flexible
- Figura 10.** Imagen de TAC torácica e imagen broncoscópica que muestra la criosonda
- Figura 11.** Infiltración difusa del corion por una proliferación linfoide de células grandes atípicas
- Figura 12.** Modelo animal porcino con ventilación mecánica y aspecto microscópico de BPTB obtenida con pinza convencional y con criosonda
- Figura 13.** Fotografías de la intubación del paciente mediante broncoscopio con tubo endotraqueal flexible
- Figura 14.** Fotografía de la colocación del balón de oclusión
- Figura 15.** Arco de fluoroscopia e imagen fluoroscópica de la criosonda en una zona periférica pulmonar antes de la realización de la criobiopsia

- Figura 16.** Imagen endoscópica del balón de oclusión paralelo a la criosonda
- Figura 17.** Extracción del broncoscopio con la criosonda y la muestra adherida en su extremo e imagen de criobiopsia
- Figura 18.** Esterilización de criosonda con el sistema Steris®
- Figura 19.** Imagen de corte coronal de TAC de tórax que muestra cambios radiológicos de distribución perilobular sugestivos de neumonía organizada
- Figura 20.** Imagen macroscópica de una muestra obtenida con criosonda
- Figura 21.** Imagen de microscopía óptica (2X) sobre corte histológico de biopsia pulmonar obtenida mediante criosonda
- Figura 22.** Diagrama de flujo que muestra la selección y la aleatorización de los pacientes y los principales hallazgos entre los grupos
- Figura 23.** Rendimiento diagnóstico del patrón histológico y del consenso multidisciplinar
- Figura 24.** Diámetro de las muestras obtenidas mediante las dos técnicas
- Figura 25.** Número de alveolos presentes en las muestras obtenidas mediante ambos métodos
- Figura 26.** Secciones microscópicas teñidas con HE, tricrómico de Masson y análisis inmunohistoquímico de las muestras

1. PRESENTACIÓN Y JUSTIFICACIÓN

La tesis doctoral que se presenta es el resultado del trabajo realizado en la Unidad de Broncoscopia del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona y del Instituto de Recerca Biomédica de Sant Pau (IIB Sant Pau) en el seno del programa de doctorado del Departamento de Medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona. Este trabajo se ha llevado a cabo bajo la dirección del Dr. Joaquín Sanchis Aldás y el Dr. Vicente Plaza Moral.

La línea de investigación desarrollada tiene como objetivo ampliar las herramientas diagnósticas actualmente disponibles en broncoscopia con la aplicación de una técnica innovadora basada en la utilización de sondas de crioterapia que permiten realizar la biopsia transbronquial de una forma ambulatoria y menos invasiva que otras alternativas actualmente disponibles como la biopsia quirúrgica.

El presente trabajo consta de dos fases cuyo fin fue demostrar la utilidad de la criosonda para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial. Para ello, en primer lugar, se presentan los resultados de una primera fase prospectiva que ha permitido valorar la viabilidad de la técnica y su aplicación en nuestro medio así como, la descripción de la metodología. En una segunda fase, se analizan los resultados de un ensayo clínico aleatorizado para evaluar el rendimiento diagnóstico del nuevo procedimiento en comparación con la técnica convencional.

Los resultados de estos estudios permiten la posibilidad de mejorar el manejo diagnóstico de los pacientes con determinadas patologías pulmonares, especialmente en el grupo de las enfermedades pulmonares difusas. Estas entidades constituyen un grupo de enfermedades respiratorias generalmente infradiagnosticadas que conllevan una importante morbilidad no sólo por sus manifestaciones clínicas, radiológicas y funcionales respiratorias sino porque, debido a que las principales alteraciones anatomopatológicas afectan a las estructuras alveolointersticiales, exigen realizar técnicas diagnósticas dirigidas a la obtención de parénquima pulmonar. Los hallazgos histológicos constituyen la clave de la diferenciación de las distintas patologías que afectan al intersticio pulmonar. El diagnóstico específico condiciona la actitud terapéutica y permite establecer un

pronóstico adecuado. A fin de evitar tratamientos empíricos innecesarios, es imprescindible mejorar los procedimientos para alcanzar la identificación correcta de estas patologías.

Hasta el momento, la técnica diagnóstica utilizada para la obtención de muestras pulmonares de una forma no quirúrgica es la biopsia pulmonar transbronquial con pinza convencional, pero tal y como se detalla en la presente exposición, el rendimiento diagnóstico de esta técnica es limitado. Actualmente, la búsqueda de tratamientos cada vez más específicos e individualizados y dirigidos a entidades concretas, hace necesario el desarrollo de técnicas diagnósticas que permitan un avance en el conocimiento y clasificación de estas enfermedades. En este sentido, a raíz de los resultados de los trabajos publicados, la biopsia pulmonar transbronquial con criosonda se ha comenzado a considerar un procedimiento más en el algoritmo diagnóstico de las enfermedades difusas y, como tal, recientemente, aparece descrito en el *Manual de Procedimientos en Biopsia Pulmonar para el diagnóstico de EPID* de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).

El trabajo realizado en esta tesis ha sido financiado con subvenciones concedidas por varios organismos oficiales como el Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III (PN de I+D+I 2008–2011, ISCIII-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, FEDER, Proyecto FIS, PI10/01006), de la Sociedad Española de Neumología (SEPAR), de la Societat Catalana de Pneumologia (SOCAP) y de la Fundació Catalana de Pneumologia (FUCAP).

Asimismo, los resultados obtenidos han sido objeto del reconocimiento de la European Respiratory Society (ERS) que otorgó la Interventional Pulmonology Travel Grant en 2013 y de la Asociación Española de Endoscopia Respiratoria (AEER) que concedió el Premio Antoni Castella.

Finalmente, el trabajo que se expone a continuación ha propiciado el inicio de estudios multicéntricos nacionales e internacionales y, actualmente, se encuentra incluido en el Programa Integrado de Investigación del Área de Técnicas y Trasplante de la SEPAR.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Biopsia pulmonar transbronquial convencional

El término de biopsia pulmonar transbronquial (BPTB), se refiere a la técnica endoscópica que permite obtener muestras de parénquima pulmonar mediante broncoscopia.

Los inicios de la biopsia transbronquial se remiten a 1953, cuando el Dr. Tsuboi describió un nuevo método diagnóstico para la exploración de lesiones pulmonares periféricas que consistía en un catéter bronquial con un extremo móvil a través del cual se podía introducir un instrumento diseñado especialmente para el acceso de estas lesiones (1).

La primera biopsia transbronquial fue realizada en 1963 por el Dr. Howard Andersen utilizando una pinza flexible de Holinger a través de un broncoscopio rígido (2). En su estudio, Andersen y colaboradores incluyeron 13 pacientes con enfermedad pulmonar difusa y en 11 de ellos esta técnica permitió obtener tejido pulmonar adecuado para establecer un diagnóstico. En 1967, Nordenström comunicó resultados favorables con biopsias obtenidas mediante una aguja a través de un catéter transbronquial de pacientes con sospecha de cáncer de pulmón de localización periférica (3).

La introducción del broncoscopio flexible por Sigheto Ikeda en 1968 posibilitó el examen de los bronquios subsegmentarios. Este avance dio lugar a que, en 1974, el Dr. Levin describiera la biopsia pulmonar transbronquial utilizando un broncoscopio flexible (4).

Posteriormente, se realizaron los primeros estudios enfocados a valorar el rendimiento diagnóstico de la técnica. En este sentido, Smith y colaboradores evaluaron 40 pacientes con enfermedad pulmonar difusa mediante la técnica guiada por control fluoroscópico (5). El diagnóstico anatomopatológico fue posible en 34 de los 40 pacientes, en 4 pacientes el resultado de la biopsia fue útil para el manejo clínico y en 2 pacientes los resultados fueron inespecíficos. Los autores no observaron complicaciones graves y únicamente describieron casos de hemorragia

ligera. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otro estudio clásico realizado en 85 pacientes con la misma orientación diagnóstica pero en los que técnica se llevó a cabo sin control fluoroscópico (6). A diferencia del anterior, en este último estudio además de los casos de sangrado ligero tras la biopsia, se produjeron dos casos de neumotórax.

Los resultados de estos y otros estudios orientados a la descripción de la biopsia pulmonar transbronquial y al análisis de su rendimiento diagnóstico, facilitaron que, en 1978, Zavala estandarizara la técnica, analizara el perfil de seguridad y estableciera las indicaciones y complicaciones (7). Algunas de las aportaciones más importantes del trabajo de Zavala que, actualmente, siguen vigentes fueron la explicación meticolosa de la forma de obtención de biopsias mediante una pinza introducida a través del canal de trabajo del broncoscopio flexible y la descripción del método de oclusión y aspiración mediante el propio broncoscopio para favorecer la formación de un coágulo y evitar el sangrado tras la biopsia.

2.1.1. Indicaciones generales

El análisis de muestras pulmonares es requerido para el diagnóstico de una gran variedad de enfermedades respiratorias. Las biopsias del parénquima pulmonar pueden ser obtenidas mediante diferentes técnicas entre las que se encuentran la biopsia pulmonar transbronquial, la punción aspiración con aguja fina (PAAF) guiada por tomografía axial computarizada (TAC) o mediante técnicas quirúrgicas como la videotoracoscopia y la biopsia quirúrgica abierta por toracotomía. La biopsia quirúrgica es la técnica de elección para el diagnóstico de algunas enfermedades, como las enfermedades pulmonares intersticiales difusas, aunque se trata de un método invasivo, que requiere anestesia general e ingreso hospitalario.

La BPTB tiene una amplia variedad de indicaciones, el porcentaje de complicaciones es bajo y puede ser realizada en régimen ambulatorio. Esta técnica proporciona muestras de parénquima pulmonar periférico mediante una pinza de biopsia introducida por el canal del broncoscopio flexible. Sin embargo, el rendimiento diagnóstico de la técnica es muy variable (5, 8, 9) y se encuentra

sujeto a limitaciones entre las que destacan el pequeño tamaño de las muestras obtenidas (10), la presencia de artefactos producidos por el aplastamiento o el efecto de la pinza sobre el tejido biopsiado (11).

La obtención de muestras pulmonares adecuadas es fundamental para obtener el diagnóstico de enfermedades pulmonares localizadas o difusas así como su clasificación posterior en procesos neoplásicos, enfermedades intersticiales, infecciones y enfermedades pulmonares de injerto contra huésped. Varias series de casos, han descrito el rendimiento diagnóstico de la BPTB en grupos heterogéneos de pacientes con una gran variedad de patologías (9, 12-15). En estos estudios, a pesar de la obtención de parénquima pulmonar en un elevado porcentaje de los casos, no fue posible establecer un diagnóstico de certeza, aunque los datos obtenidos de estos estudios se han de analizar con precaución ya que, en muchos de ellos, no se aplicaron criterios estrictos de evaluación histológica. Así, hallazgos no específicos en la biopsia transbronquial suelen ser poco útiles y pueden llevar a decisiones clínicas equivocadas.

Entre las patologías pulmonares en las que la biopsia pulmonar transbronquial puede permitir un diagnóstico específico se encuentran las enfermedades infecciosas (infecciones por *mycobacterium tuberculosis*, por micobacterias atípicas, por *pneumocystis jirovecii*, infecciones fúngicas y otras infecciones virales como la infección por *citomegalovirus*), enfermedades neoplásicas (neoplasias primarias pulmonares o metastásicas), el rechazo agudo en el trasplante pulmonar, los infiltrados difusos del paciente con ventilación mecánica y algunas enfermedades intersticiales difusas (16).

En cuanto a las enfermedades pulmonares intersticiales difusas, la BPTB permite establecer un porcentaje elevado de diagnósticos en patologías con afectación peribronquiolar como la sarcoidosis y la linfangitis carcinomatosa respecto a otras entidades como las vasculitis o la fibrosis pulmonar idiopática en las que es preciso disponer una mayor representatividad de tejido pulmonar de las áreas peribronquiales y subpleurales. En los siguientes apartados se realiza un análisis del rendimiento diagnóstico de la técnica distribuido por grupos de patologías.

2.1.1.a. Indicación en la enfermedad pulmonar intersticial difusa

Las enfermedades pulmonares intersticiales difusas (EPID) engloban un grupo heterogéneo de patologías que responden a múltiples factores etiológicos y con diferentes implicaciones pronósticas y terapéuticas. En la mayor parte de los casos, la dificultad para establecer un diagnóstico específico hace necesario un abordaje multidisciplinar y estructurado (17). En cuanto a su clasificación, estas entidades se distribuyen en tres grupos: el primer grupo en el que se engloban las neumonías intersticiales idiopáticas (NII), el segundo grupo constituido por enfermedades intersticiales de causa conocida o asociadas a entidades clínicas bien definidas como son las manifestaciones pulmonares de las enfermedades del colágeno, las asociadas a enfermedades hereditarias o las causadas por fármacos, polvos orgánicos y polvos inorgánicos. El tercer grupo corresponde a entidades clínicas idiopáticas pero con clínica e histología bien definidas (tabla 1). (17, 18).

Neumonías intersticiales idiopáticas
Fibrosis pulmonar idiopática Neumonía intersticial aguda Neumonía intersticial no específica Bronquiolitis respiratoria con enfermedad pulmonar intersticial (Bronquiolitis respiratoria/EPID) Neumonía intersticial descamativa Neumonía organizada criptogenética Neumonía intersticial linfocítica
De causa conocida o asociadas
Asociadas a enfermedades de colágeno Causadas por polvos inorgánicos (neumoconiosis) Inducidas por fármacos y radioterapia Causadas por polvos orgánicos (alveolitis alérgicas extrínsecas) Asociadas a enfermedades hereditarias (enfermedad de Hermansky-Pudlak, etc.)
Primarias o asociadas a otros procesos no bien definidos
Sarcoidosis Proteinosis alveolar Microlitiasis alveolar Linfangioleiomiomatosis Eosinofilias pulmonares Histiocitosis X (granulomatosis de células de Langerhans) Amiloidosis Otras EPID

Tabla 1. Clasificación de las enfermedades pulmonares difusas. *Adaptada de Xaubet A y col. (17)*

La clasificación de la EPID ha sido objeto de diferentes modificaciones. En 2002, el consenso ATS/ ERS (18) estableció una nueva clasificación de las NII que incluía siete entidades específicas basándose en los avances radiológicos y en un mejor conocimiento anatomopatológico de estas enfermedades. Asimismo, se introdujeron grandes cambios entre los que destaca la inclusión del consenso multidisciplinar en el algoritmo diagnóstico. Recientemente, la clasificación de las NII ha sido nuevamente modificada y, entre otros cambios, se introducen términos como la neumonía intersticial no específica idiopática y se incluyen enfermedades raras como la fibroelastosis pleuroparenquimatosa idiopática (tabla 2) (19).

CLASIFICACIÓN REVISADA DE LAS NEUMONÍAS INTERSTICIALES IDIOPÁTICAS: DIAGNÓSTICO MULTIDISCIPLINAR (ATS/ERS)
Neumonías intersticiales idiopáticas
Fibrosis pulmonar idiopática Neumonía intersticial no específica idiopática Bronquiolitis respiratoria-enfermedad pulmonar intersticial Neumonía intersticial descamativa Neumonía organizada criptogénica Neumonía intersticial aguda
Neumonías intersticiales idiopáticas raras
Neumonía intersticial linfoidea idiopática Fibroelastosis pleuroparenquimatosa idiopática
Neumonías intersticiales idiopáticas no clasificables*
*Las causas de las neumonías intersticiales no clasificables incluyen: 1. Datos clínicos, radiológicos o patológicos inadecuados y 2. Discordancias entre los datos clínicos, radiológicos y/o hallazgos patológicos que podrían observarse en las siguientes situaciones: a. Tratamientos previos que podrían alterar los hallazgos radiológicos o histológicos. b. Nuevas entidades o variantes inusuales de entidades descritas pero no caracterizadas adecuadamente según la normativa actual de la ATS/ ERS. c. Patrón radiológico o patológico que podría encontrarse en pacientes con neumonía intersticial idiopática.

Tabla 2. Clasificación de las Neumonías Intersticiales Idiopáticas. Revisión de la ATS/ ERS 2013. *Adaptada de Travis WD y col. (19)*

Esta modificación en la clasificación también ha comportado cambios en el algoritmo diagnóstico de la EPID. Así, aunque el diagnóstico de estas enfermedades requiere, en la mayoría de los casos, del estudio anatomopatológico de muestras pulmonares, el diagnóstico final se establece tras un consenso multidisciplinar. Hasta el año 2002, tras la valoración de una tomografía axial

computarizada de alta resolución (TACAR), se contemplaba la realización de una broncoscopia, con lavado broncolaveolar y/o biopsia pulmonar transbronquial, para diferenciar pacientes con la orientación diagnóstica de enfermedades pulmonares difusas de causa conocida, pacientes con la orientación de neumonía intersticial idiopática y pacientes con sospecha de otras enfermedades pulmonares difusas. De esta forma, la BPTB estaba indicada en todos los casos a excepción de los casos con un diagnóstico clínico y radiológico consistente con fibrosis pulmonar idiopática (FPI) (figura 1) (18).

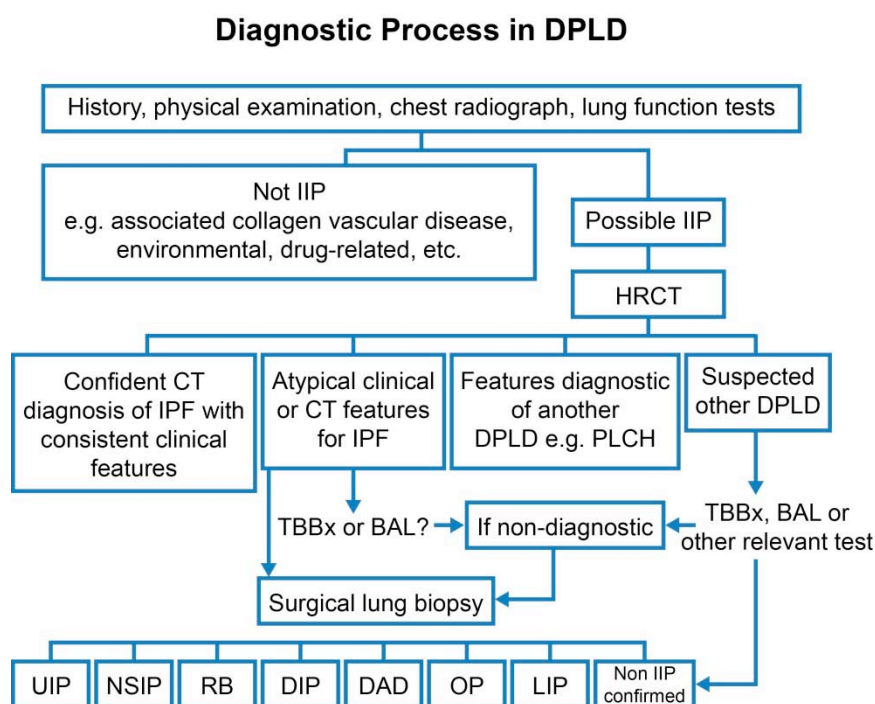


Figura 1. Algoritmo diagnóstico en la EPID (18).

En las últimas décadas se ha aceptado ampliamente que la técnica diagnóstica de elección para el diagnóstico de las NII es la biopsia quirúrgica. La reciente modificación de los criterios diagnósticos en las enfermedades pulmonares intersticiales difusas y, en concreto en la FPI, ha permitido reenfoque las posibilidades diagnósticas y otorgar un mayor valor a los hallazgos clínicos y radiológicos de estos pacientes (figura 2) (20). De esta forma, según el consenso actual de la ATS/ERS/JRS/ALAT, los cuatro hallazgos radiológicos típicos que permiten establecer un diagnóstico de certeza de NIU en la TACAR son los siguientes: afectación pulmonar con predominio basal y localización subpleural, presencia de reticulación, existencia de panalización y ausencia de hallazgos que

excluyan el patrón de neumonía intersticial usual (20, 21). Las guías actuales recomiendan que el diagnóstico definitivo de la FPI, si en la TACAR no se objetiva un patrón típico, debe ser establecido mediante una biopsia quirúrgica. La integración del patrón histopatológico con los hallazgos de la TACAR permitirá determinar si se trata de un patrón de NIU, posible NIU, probable NIU o una fibrosis no clasificable.

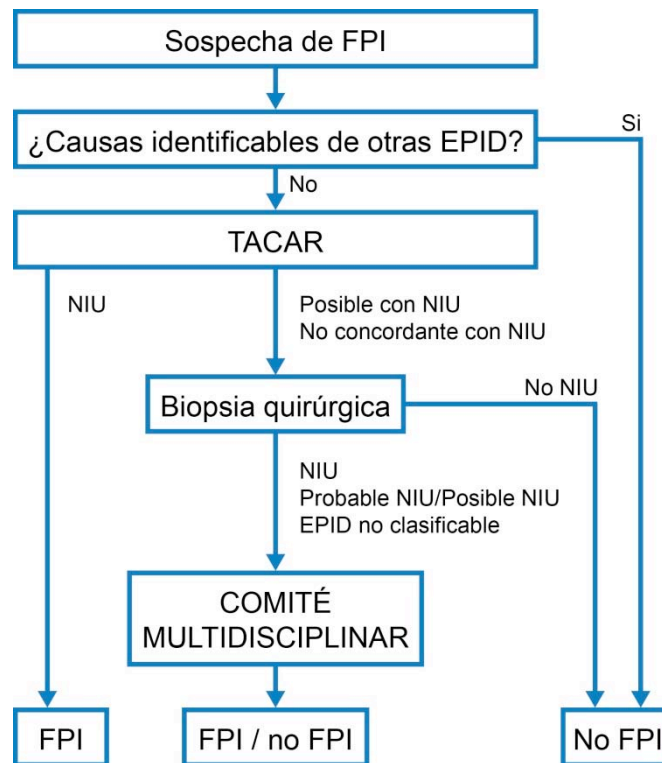


Figura 2. Algoritmo diagnóstico en la sospecha de fibrosis pulmonar idiopática (FPI) (20,21)

Sin embargo, en un número elevado de pacientes la enfermedad se encuentra avanzada o presentan comorbilidades que impiden la realización de una biopsia quirúrgica. En cuanto a las técnicas quirúrgicas, en estos pacientes la biopsia quirúrgica por videocirugía toracoscópica (VATS) se considera la técnica de elección frente a la biopsia quirúrgica por toracotomía, por su menor morbimortalidad (22). Aún así, la VATS presenta una tasa global de complicaciones precoces del 7% (23). Además, según las series publicadas, la tasa de mortalidad atribuible al procedimiento oscila entre el 0% y el 5,3% y se debe principalmente a insuficiencia respiratoria por una exacerbación aguda de la enfermedad (24, 25). Por otro lado, las limitaciones de establecer un diagnóstico únicamente con la información histológica son ampliamente conocidas. Así, uno de

los errores más comunes es la interpretación de muestras histológicas de áreas pulmonares no representativas de la patología en estudio o la variación inter-observador en el análisis de estas muestras (26). Este dato es especialmente importante en la diferenciación de entidades como la neumonía intersticial no específica (NINE) y la neumonía intersticial usual (NIU). Por ello, actualmente, se considera que el diagnóstico de estas enfermedades ha de establecerse de forma multidisciplinar sobre la base de la información clínica, radiológica e histológica (27).

La principal utilidad de la BPTB en las EPID es la de proporcionar un diagnóstico definitivo y evitar otros procedimientos más invasivos. En general, la BPTB está indicada en los pacientes en los que la información clínica y la radiológica sugieran una patología que pueda diagnosticarse mediante esta técnica. Clásicamente, la BPTB se ha indicado ante la sospecha de patología neoplásica de distribución difusa, infecciones, sarcoidosis, neumonitis por hipersensibilidad, neumonía organizada, neumonía eosinófila y en otras enfermedades intersticiales poco frecuentes como la proteinosis alveolar, la amiloidosis, la neumonía lipoidea, la linfangioleiomiomatosis y la histiocitosis de células de Langerhans. Sin embargo, el pequeño tamaño de las muestras obtenidas, la presencia de artefactos y, en ocasiones, la incapacidad de la técnica para obtener tejido periférico (28, 29) impiden realizar una correcta valoración histológica de la biopsia. Además, las enfermedades intersticiales difusas requieren, para su correcta clasificación, no sólo la identificación de hallazgos histológicos específicos sino una amplia valoración histológica por lo que se requieren muestras de un tamaño adecuado que representen diferentes áreas pulmonares. Así, las muestras obtenidas por BPTB que presentan tejido pulmonar normal, pared bronquial o únicamente tejido fibrótico deberían excluirse del análisis histopatológico de estas entidades.

En cuanto al rendimiento diagnóstico de la técnica, los estudios analizados que engloban grupos de pacientes con un amplio espectro de enfermedades pulmonares difusas concluyen que la BPTB podría permitir un diagnóstico específico en el 29 al 79% de los casos (7, 8). En estos estudios, el rendimiento diagnóstico más alto se alcanzó en las entidades con mayor afectación centrolobulillar.

2.1.1.b. Indicación en la patología neoplásica periférica

La sospecha del cáncer de pulmón se establece, habitualmente, a partir de una radiografía u otra técnica de imagen torácica anormal, asociada o no a la presencia de clínica sugestiva por la afectación local o sistémica del tumor (31). La broncoscopia flexible es la técnica más utilizada en el diagnóstico de la patología neoplásica de localización pulmonar. Endoscópicamente, el cáncer de pulmón puede ser visible o no durante la exploración. Los tumores endoscópicamente no visibles suelen presentarse en la radiografía de tórax como lesiones periféricas: nódulos, masas o infiltrados pulmonares. Según un metaanálisis en el que se revisaron 16 estudios que incluían pacientes con patología neoplásica de localización periférica, la combinación de diferentes técnicas broncoscópicas permitió establecer el diagnóstico en el 78% de los casos (32).

En este sentido, la BPTB, realizada como único procedimiento, es el método más útil y permite el diagnóstico en el 36 al 88 % de los casos, aunque este porcentaje aumenta de forma significativa si la BPTB se asocia a otros procedimientos como el cepillado bronquial, el broncoaspirado, el lavado broncoalveolar o la punción aspiración con aguja fina (32).

b.1. BPTB en el nódulo pulmonar solitario

El nódulo pulmonar solitario (NPS) se define como una opacidad radiológica intrapulmonar de forma más o menos redondeada no asociada a otras lesiones radiológicas pleuroparenquimatosas o mediastínicas relevantes (33-35). En las radiografías de tórax realizadas por cualquier motivo, se objetiva un nódulo pulmonar solitario en 0,09 al 0,2% de los casos (36) y esta incidencia aumenta si la exploración realizada es una TAC de tórax donde es posible encontrar un NPS hasta en el 51% de los pacientes fumadores de más de 50 años de edad (37).

En el NPS, la obtención de un diagnóstico histológico es uno de los retos actuales en endoscopia respiratoria. El objetivo es la correcta diferenciación entre patologías neoplásicas y otras entidades benignas con tal de evitar los riesgos de las técnicas diagnósticas y permitir la aplicación de un tratamiento adecuado y dirigido.

Las técnicas diagnósticas indicadas en la evaluación del NPS dependen, fundamentalmente, de la accesibilidad de la lesión y del riesgo de malignidad. En diferentes estudios (38-40), se han descrito las variables asociadas a malignidad. En cuanto a las variables dependientes del paciente destacan la edad, el hábito tabáquico y el antecedente de una neoplasia previa y, con respecto a las variables relacionadas con las características del nódulo, se han propuesto variables como la morfología (diámetro medio y tipo de borde) y la localización del nódulo pulmonar. Sin embargo, dada la elevada incidencia y prevalencia del cáncer de pulmón, cada vez es más aceptada la necesidad de obtener un diagnóstico histológico preciso de nódulos pulmonares de características indeterminadas (41). En este sentido se han desarrollado técnicas endoscópicas que permiten realizar una aproximación diagnóstica más precisa aunque la biopsia o la exéresis quirúrgica sigue siendo el método de elección en los casos de probabilidad de malignidad intermedia o alta.

En cuanto a las técnicas diagnósticas, en términos generales, la punción transtorácica con aguja fina guiada (PAAF) guiada por TAC, ha demostrado una elevada sensibilidad (84-88%) y una gran especificidad (98-99%) para el diagnóstico de malignidad (42). Sin embargo, la sensibilidad de la técnica desciende al 50% en lesiones con tamaño inferior a 1 cm (0,5-0,7 cm) (43). Además, entre los inconvenientes de la técnica destacan la incapacidad de establecer un diagnóstico preciso en algunas entidades, como el linfoma (44), en las que es preciso el análisis de una muestra de biopsia, y la elevada incidencia de complicaciones, como el neumotórax, que ocurre hasta en un 25% de los casos (42).

En el nódulo pulmonar solitario, la BPTB presenta un rendimiento diagnóstico variable. En una revisión en la que se evaluó el rendimiento diagnóstico de diferentes técnicas en pacientes con NPS, la BPTB presentaba un rendimiento diagnóstico que oscilaba del 11 al 76% (45). Entre los factores que influyen en la probabilidad de obtener un diagnóstico mediante BPTB se encuentran: el número de muestras obtenidas, el tamaño de las mismas y la relación del nódulo pulmonar a estudio con un bronquio proximal. Así, el rendimiento diagnóstico de la BPTB en el cáncer de pulmón aumenta con el número de biopsias. En el estudio de Descombes y colaboradores (46), el

rendimiento diagnóstico de la BPTB fue del 21% cuando se obtuvieron de 1 a 3 muestras pulmonares mientras que este porcentaje se elevó al 78% cuando el rango de biopsias obtenidas fue de 6 a 10.

Otro de los factores que influyen en el rendimiento diagnóstico de la BPTB en la patología neoplásica es la relación del bronquio con el tumor. Esta relación fue descrita en 1965 por Tsuboi y colaboradores (1) al analizar, en 47 pacientes, muestras pulmonares obtenidas tras resección quirúrgica. En este estudio describieron cuatro tipos de relación del bronquio con la tumoración: el tipo I en el que bronquio es permeable y llega hasta el tumor, el tipo II; el bronquio se encuentra contenido dentro de la masa tumoral y la pared bronquial está obstruida por tejido tumoral, el tipo III; el bronquio se halla comprimido y estrechado por el tumor pero la mucosa bronquial no se encuentra infiltrada y el tipo IV en el que el bronquio está comprimido y su calibre reducido por la propia tumoración o por los ganglios linfáticos peribronquiales (figura 3). Los autores observaron que más del 60% de los tumores que presentaban un tamaño inferior a 3 cm de diámetro tenían únicamente un bronquio aferente mientras que si el tamaño del tumor era superior a 3 cm era posible identificar 3 o más bronquios en cerca del 60% de los casos.

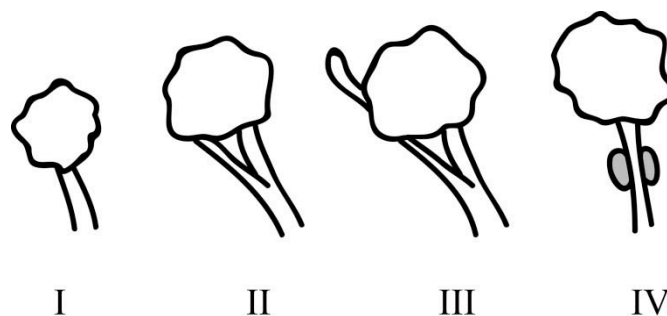


Figura 3. Relación entre la masa tumoral y el bronquio. *Adaptado de Tsuboi E y col. (1)*

El llamado “signo del bronquio” hace referencia a los bronquios que llegan a la masa tumoral o están contenidos en ella. Así, en ausencia de este signo, el rendimiento diagnóstico de la BPTB en lesiones periféricas es del 0-44% comparado con el 60-82% cuando este signo está presente (47-50).

La sensibilidad de la BPTB en la patología neoplásica también se ve afectada por el tamaño del tumor. En lesiones con un tamaño inferior 2 cm el rendimiento diagnóstico es del 34% mientras que, en lesiones con tamaño superior a 2 cm el rendimiento aumenta hasta el 63% (32). En este sentido, debido al escaso rendimiento de la BPTB en lesiones de pequeño tamaño, se han desarrollado varios sistemas de guía virtual como la broncoscopia virtual (51) y el navegador electromagnético (52) o sistemas que permiten la visualización directa como los broncoscopios ultrafinos (53) y las minisondas ecográficas (54) que facilitan la localización y la utilización de pinzas de biopsias para la obtención de muestras histológicas.

2.1.1.c. Indicación en la enfermedad infecciosa

c.1. Paciente inmunocompetente

Con frecuencia, la BPTB está indicada en la evaluación de procesos infecciosos que no se resuelven con tratamiento convencional o que presentan una lenta evolución. En estos casos las muestras obtenidas por BPTB pueden permitir confirmar el diagnóstico del proceso infeccioso o la evaluación de la presencia de otras entidades que pueden simular procesos infecciosos como neoplasias pulmonares (adenocarcinoma) o enfermedades intersticiales difusas, i.e. la neumonía organizada o la neumonitis por hipersensibilidad.

Con respecto a las infecciones por gérmenes específicos como *Mycobacterium tuberculosis*, la broncoscopia está indicada en pacientes con sospecha clínica y estudio del esputo negativo o ausencia de expectoración. La realización del broncoaspirado, del lavado broncoalveolar y de la BPTB permite aumentar el rendimiento diagnóstico. En concreto, en el 10-20% de estos pacientes, la BPTB constituye la única técnica que posibilita la obtención de muestras adecuadas para establecer un diagnóstico (55, 56).

En cuanto a las infecciones pulmonares por micobacterias atípicas, el diagnóstico de certeza es difícil de establecer ya que el aislamiento de estos gérmenes en muestras pulmonares puede corresponder a una contaminación o colonización del huésped y no a una verdadera infección. Por ello, las técnicas

broncoscópicas y, concretamente, la BPTB suelen ser requeridas para confirmar el diagnóstico en estos casos. De acuerdo con las guías actuales, en un contexto clínico adecuado, el diagnóstico de infección pulmonar por micobacterias atípicas requiere uno de los siguientes criterios microbiológicos: 1) cultivo positivo de, al menos, dos muestras independientes de esputo, 2) cultivo positivo de una muestra de broncoaspirado o lavado broncolaveolar, 3) biopsia transbronquial que confirme la presencia de inflamación granulomatosa, presencia de bacilos ácido alcohol resistentes y cultivo positivo para micobacterias atípicas (57).

Respecto a la infecciones por hongos, el diagnóstico es posible mediante broncoaspirado o lavado broncolaveolar en una gran mayoría de los casos por lo que no suele ser necesaria la realización de una BPTB aunque algunos estudios han objetivado un ligero incremento en el rendimiento diagnóstico cuando se realiza BPTB en estos pacientes (58).

c.2. Paciente inmunodeprimido

Los pacientes inmunodeprimidos presentan un amplio espectro de graves complicaciones relacionadas con infecciones pulmonares por gérmenes oportunistas. La realización de la broncoscopia y del lavado broncoalveolar proporciona información diagnóstica adecuada en un porcentaje elevado de casos con un número bajo de complicaciones relacionadas con el procedimiento. En estos pacientes, el valor diagnóstico del lavado broncoalveolar está bien establecido pero el papel de la BPTB en estos casos está sujeto a controversia (59, 60).

La BPTB permite una aproximación diagnóstica en el 15 al 68% de los pacientes con infiltrados pulmonares difusos pero las posibles complicaciones relacionadas con el procedimiento limitan su utilidad en los pacientes inmunodeprimidos (16). En muchos casos, la BPTB no puede llevarse a cabo por motivos de seguridad. En este sentido, varios autores han desestimado la realización de BPTB en la mayoría de pacientes inmunodeprimidos incluidos en los estudios (61, 62).

Además, en los pacientes inmunodeprimidos con infiltrados pulmonares se observan hallazgos anatomopatológicos poco relevantes como la inflamación no específica y la presencia de fibrosis. Es necesario interpretar estos hallazgos con precaución ya que la presencia de hallazgos inespecíficos en las muestras de BPTB tienen un elevado valor predictivo negativo para procesos susceptibles de tratamiento (63). Por ello, la biopsia quirúrgica ha de ser contemplada en los casos en los que la BPTB no es diagnóstica y los tratamientos empíricos iniciados fallan. El rendimiento diagnóstico de la biopsia quirúrgica varía del 46% al 85% en los pacientes inmunodeprimidos con infiltrados pulmonares difusos. En estos pacientes la biopsia quirúrgica ha demostrado la presencia de hallazgos histológicos compatibles con enfermedades no infecciosas como neoplasias, linfoma y neumonía organizada que podrían ser tratadas con terapias adecuadas (64). Leslie y colaboradores (30) han propuesto un algoritmo de diagnóstico diferencial del BPTB basándose en el estatus inmunológico del paciente (figura 4).

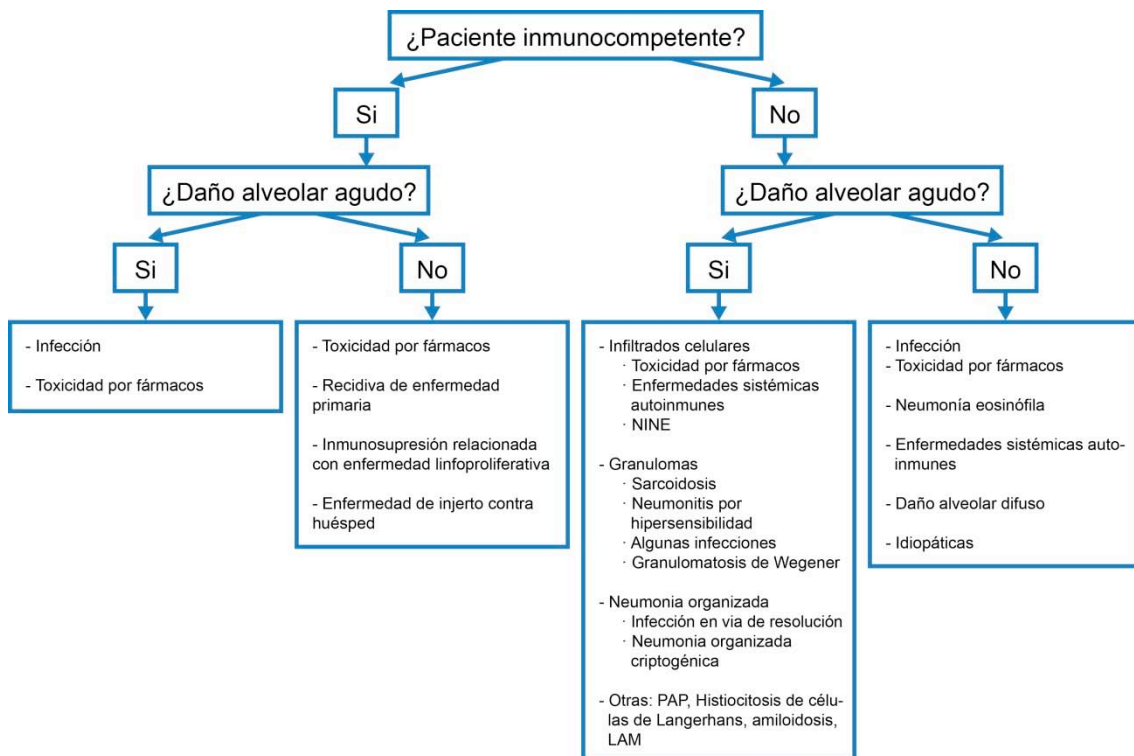


Figura 4. Diagnóstico diferencial para la biopsia transbronquial en la enfermedad intersticial difusa en función del estado inmunológico del paciente. PAP: Proteinosis alveolar pulmonar, LAM: Linfangioleiomiomatosis. *Adaptado de Leslie y col. (30)*

Entre los pacientes inmunodeprimidos, merecen una mención especial los pacientes con trasplante de células madre hematopoyéticas. En esta población, la aparición de infiltrados pulmonares difusos supone un problema diagnóstico y terapéutico. Las complicaciones más frecuentes son las de etiología infecciosa por gérmenes oportunistas y las de causa no infecciosa entre las que destacan la enfermedad de injerto contra huésped, la hemorragia alveolar difusa, la bronquiolitis obliterante y el edema pulmonar. Estas complicaciones contribuyen a aumentar la morbilidad y mortalidad después del trasplante (65-69). Existe controversia en cuanto a los procedimientos diagnósticos indicados en este grupo de pacientes. Los resultados de estudios previos en los que se ha evaluado el papel de la broncoscopia flexible y el empleo de los diferentes procedimientos diagnósticos como el lavado broncoalveolar, el cepillado protegido y la BPTB, no resultan concluyentes. Según los estudios analizados, el rendimiento diagnóstico de las técnicas broncoscópicas es variable y oscila entre el 31-74% (61, 70-73) por lo que algunos autores recomiendan el inicio de tratamientos empíricos basados en fármacos antimicrobianos de amplio espectro (74, 75). Gilbert y colaboradores (69) evaluaron el rendimiento diagnóstico de la broncoscopia flexible en 144 pacientes con infiltrados pulmonares en los que se había realizado un trasplante de células madre hematopoyéticas. Se obtuvieron resultados positivos en el 52,5% de los casos y el rendimiento de la BPTB fue del 81,8%. El análisis histológico de las muestras obtenidas mediante BPTB permitió el diagnóstico de casos de neumonía intersticial no específica y de enfermedad de injerto contra huésped, entre otras entidades. Tras la broncoscopia, se introdujeron modificaciones en el tratamiento en el 44% de los pacientes. Estas modificaciones incluían el cambio de fármacos antifúngicos y el inicio de corticoesteroides. Por lo que, a la vista de sus resultados, los autores recomiendan la utilización de la broncoscopia flexible y los diferentes procedimientos diagnósticos para obtener muestras pulmonares en los pacientes con trasplante de células madre hematopoyéticas que presentan infiltrados pulmonares.

2.1.1.d. Indicación en el trasplante de pulmón

El trasplante pulmonar está actualmente establecido como un tratamiento eficaz para un grupo seleccionados de pacientes con enfermedad pulmonar en estado avanzado y sin un tratamiento alternativo (76). La supervivencia

postrasplante en nuestro país es similar a la publicada en el registro internacional (77, 78). La mejora en la técnica quirúrgica y los avances en el manejo perioperatorio y en la inmunosupresión han permitido mejorar la supervivencia a corto y medio plazo, pero la posibilidad de complicaciones a largo plazo sigue condicionando la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes. En este sentido, la incidencia de infecciones en el trasplante pulmonar es elevada y causa común de morbimortalidad (79). Aunque la terapia postrasplante incluye los fármacos necesarios para evitar o posponer el desarrollo de las infecciones más frecuentes, es posible que estos pacientes presenten alguna complicación infecciosa en los primeros meses postrasplante. Por ello, el estudio de los infiltrados pulmonares de etiología desconocida y la identificación de los microorganismos es fundamental para realizar una terapia adecuada. En estos casos, es necesario el estudio del parénquima pulmonar para establecer el diagnóstico diferencial con otras complicaciones como el rechazo agudo.

La BPTB se considera el mejor método diagnóstico en el seguimiento a largo plazo de los pacientes con trasplante de pulmón (80) y es el procedimiento de elección en la sospecha del rechazo agudo del injerto (81). Esto es debido a que en la patología aguda del trasplante pulmonar existe una gran dificultad clínica en la diferenciación de un rechazo agudo del injerto de una infección oportunista. Por ello, es fundamental el correcto análisis histopatológico en estos pacientes.

En relación al rechazo agudo, el hallazgo histológico más representativo es la observación de infiltrados linfocitarios perivasculares y su gravedad se clasifica según el consenso de la sociedad internacional de trasplante cardiaco y pulmonar (82). Sin embargo, aunque el papel de la BPTB en el diagnóstico del rechazo agudo está bien establecido, la sensibilidad de la técnica entre los diferentes estudios difiere ampliamente (80, 83, 84). La BPTB también está indicada en el seguimiento de los pacientes después del tratamiento de un rechazo agudo ya que algunos estudios han demostrado la persistencia de hallazgos compatibles con rechazo en un 26% de los pacientes a pesar de realizar un tratamiento adecuado (85).

Otra de las indicaciones de la BPTB en estos pacientes es la sospecha de una disfunción crónica del injerto. La observación del rechazo celular agudo y la

bronquiolitis linfocítica son factores de riesgo para el desarrollo del síndrome de bronquiolitis obliterante (86-90). La prevalencia del síndrome de bronquiolitis obliterante en los pacientes trasplantados es del 50% a los 5 años postrasplante y está asociada a un aumento de mortalidad. Los criterios diagnósticos de la bronquiolitis obliterante están bien definidos (82) aunque la inmunopatología de este síndrome sigue siendo desconocida. La obstrucción total o parcial de la luz bronquiolar se debe a la presencia de un depósito de tejido conectivo denso, hialino y eosinófilo en la submucosa de la pequeña vía aérea. Asimismo, es habitual la presencia de histiocitos espumosos en los espacios aéreos distales. Estos hallazgos pueden ser observados en las muestras obtenidas mediante BPTB incluso en pacientes asintomáticos (91).

Existe cierto grado de controversia en cuanto al papel de la BPTB para el control y diagnóstico de complicaciones en pacientes trasplantados asintomáticos. Sin embargo, varios estudios han presentado datos favorables a la realización de broncoscopia y BPTB como seguimiento de estos pacientes en los que demostraban la presencia de hallazgos histológicos específicos de rechazo agudo o infección por citomegalovirus en un porcentaje elevado de pacientes asintomáticos estables (92).

2.1.2. Complicaciones

La BPTB es un método diagnóstico generalmente seguro aunque, como toda técnica diagnóstica, ocasionalmente puede producir complicaciones graves, sobre todo en los pacientes con comorbilidad elevada.

Así, los pacientes con insuficiencia renal grave tienen más riesgo de presentar un sangrado tras la BPTB, los pacientes con enfermedades cardiovasculares pueden presentar trastornos del ritmo cardiaco, en los pacientes de edad avanzada la utilización de fármacos sedantes puede contribuir a una excesiva depresión del sistema nervioso central y en los pacientes inmunodeprimidos existe un mayor riesgo de hemorragia o de desarrollar una infección respiratoria.

Por ello, es imprescindible una correcta selección del paciente y la realización de exploraciones complementarias adecuadas y orientadas a valorar los riesgos y contraindicaciones de la BPTB.

Las dos complicaciones más frecuentes son el neumotórax y la hemorragia.

2.1.2.a. Neumotórax

El riesgo de producir un neumotórax tras la realización de una BPTB es del 1-6% según los estudios (46, 93, 94). Aproximadamente, en el 3,5 % de los casos se produce un neumotórax grave que requiere colocación de tubo de drenaje (95). Sin embargo, este porcentaje aumenta cuando la BPTB se indica en algunas situaciones especiales como pacientes con síndrome de distrés respiratorio agudo con ventilación mecánica, en los que el riesgo de neumotórax supera el 30% (96). Otros factores como el fallo del control de la tos, la indicación de la BPTB en pacientes con patología intersticial fibrótica o el enfisema bulloso también aumentan el riesgo de producir neumotórax.

La utilización de la fluoroscopia para realizar la BPTB puede ser útil para guiar la pinza de biopsia y evitar el neumotórax aunque no existen estudios concluyentes en este sentido (97). De todas formas, el uso de la fluoroscopia permite la detección del neumotórax tras la realización de la técnica aunque, en algunos casos, es posible que esta complicación se desarrolle varias horas después de haberse realizado la BPTB (93). Se recomienda la realización de una radiografía de tórax una o dos horas después del procedimiento para excluir la existencia de neumotórax (98) aunque en pacientes asintomáticos el neumotórax es muy infrecuente y de pequeño tamaño (99).

Actualmente contamos con herramientas como la ecografía con sonda lineal que presenta mayor sensibilidad que la fluoroscopia y la radiología convencional en la detección del neumotórax precoz y/o de escasa entidad (100) lo que permite confirmar o descartar esta complicación inmediatamente después de la BPTB, sin necesidad de irradiación ni desplazamiento del paciente del gabinete de broncoscopia.

2.1.2.b. Hemorragia

No se dispone de un consenso acerca de la clasificación de la gravedad del sangrado. La cuantificación del sangrado es un problema complejo ya que el material hemorrágico aspirado, es una mezcla de la anestesia tópica administrada, suero, secreciones respiratorias y sangre. Ante la dificultad de cuantificar el volumen hemático, existe una tendencia a clasificar la hemoptisis en grave y no grave, definiéndose como grave toda aquella que, por las características del sangrado, conlleve riesgo vital y obligue a adoptar medidas terapéuticas urgentes. En general, los factores que determinan el carácter grave de una hemorragia son la repercusión hemodinámica y respiratoria, el volumen total del sangrado, la velocidad de la hemorragia y la capacidad funcional previa del paciente.

La incidencia de sangrado tras una BPTB varía del 0 al 26% según las series. La presencia de sangrado grave se objetiva en el 1,6 al 4,4% de los pacientes con enfermedad pulmonar difusa (9, 101). La valoración de factores de coagulación correctos, una cifra adecuada de plaquetas y la retirada de fármacos anticoagulantes y antiagregantes, tal y como aconsejan las guías clínicas generales para el manejo preoperatorio de los pacientes, evitan situaciones de riesgo y una correcta indicación de la BPTB.

De forma general, el sangrado que ocurre tras una BPTB puede ser manejado y controlado en la sala de broncoscopia. Las maniobras endoscópicas dirigidas a un correcto control de la hemorragia son la oclusión y aspiración continua mediante el broncoscopio en el bronquio segmentario donde se ha producido la biopsia. Esta maniobra, descrita por Zavala en 1978 (102), resulta útil para mantener aislado el bronquio y facilitar la formación de un coágulo. Se han descrito otras técnicas como la instilación endobronquial de sustancias procoagulantes (103) y/o la instilación de suero salino frío y adrenalina diluida (98) aunque existe escasa evidencia sobre su indicación y efectividad. La observación de sangrados más graves o el escaso control con las maniobras locales obliga a plantear otras opciones como la colocación de un balón de oclusión, la intubación selectiva o la realización de una broncoscopia rígida.

Algunos autores han observado mayor número de hemorragias tras la realización de la BPTB en los pacientes con trasplante pulmonar (83). Diette y colaboradores (104) compararon 38 broncoscopias realizadas a pacientes con trasplante pulmonar y 659 realizadas en otros pacientes, observando mayor volumen de sangrado en los pacientes trasplantados de pulmón. En este estudio, la hemorragia fue independiente de alteraciones de coagulación, del número de plaquetas, del tratamiento inmunosupresor o de tratamientos antiagregantes. Posiblemente algunas características hemodinámicas de estos pacientes, como el mayor flujo sanguíneo que recibe el injerto unilateral o el edema postrasplante, puedan explicar un mayor sangrado tras la realización de la BPTB (105).

2.1.3. Limitaciones

De forma general, las principales limitaciones de la BPTB convencional son las circunstancias que limitan el análisis histológico de las biopsias tales como, el número de las muestras obtenidas, el tamaño de los fragmentos, la ausencia o escasa cantidad de parénquima pulmonar o las alteraciones producidas tras la obtención y manipulación de las muestras. Además, en el caso de las enfermedades pulmonares difusas la heterogeneidad de la afectación pulmonar también puede dificultar la correcta interpretación de los hallazgos observados.

2.1.3.a. Número y tamaño de las muestras

Algunos autores han analizado la relación entre el número de muestras obtenidas y el rendimiento diagnóstico en las diferentes patologías que cursan con una afectación difusa del parénquima (46). Sin embargo, la información referente a este punto es muy limitada y no hay un acuerdo sobre la cantidad de biopsias a obtener. En la EPID se considera adecuada la obtención de 4-6 biopsias pulmonares aunque algunos autores no han observado un aumento del rendimiento diagnóstico a partir de la obtención de la tercera muestra (10, 106). En cuanto al tamaño, las BPTB obtenidas con pinza convencional presentan un diámetro de 1 a 3 mm, hecho que también dificulta la interpretación de los hallazgos histológicos en los procesos difusos (106). Loube y colaboradores (107) realizaron un estudio prospectivo con el objetivo de valorar el rendimiento diagnóstico de la BPTB utilizando dos pinzas de biopsia de diferente tamaño. En

las muestras obtenidas con las pinzas de mayor tamaño, los autores observaron diferencias significativas en el diámetro de las muestras y en la cantidad de tejido alveolar presente lo que permitió objetivar hallazgos histológicos específicos en un mayor número de las muestras sin un aumento del sangrado.

Respecto a los pacientes con trasplante de pulmón, existe una gran variabilidad en el número de muestras que se considera adecuado para el estudio de las complicaciones pulmonares. En los pacientes con rechazo agudo, algunos autores han observado que la sensibilidad de la técnica alcanza el 72% cuando se analizan, al menos, 10 fragmentos (92). Sin embargo, los resultados obtenidos en el estudio de Tazelaar y colaboradores (108) realizado en un modelo animal, indican que son necesarios al menos cinco fragmentos de tejido pulmonar para diagnosticar un rechazo leve y tres fragmentos de tejido para diagnosticar un rechazo más grave alcanzando una sensibilidad del 92%.

Actualmente, en los pacientes postrasplante, se recomienda la realización de 5-10 fragmentos de tejido con 100 espacios alveolares que incluyan pared bronquiolar para la correcta evaluación e interpretación de las muestras (82).

2.1.3.b. Artefactos presentes en las muestras

En algunas ocasiones, la biopsia obtenida contiene material no válido para el diagnóstico. Así, la presencia de pared bronquial o de cartílago en más de la mitad de la muestra, los coágulos, las atelectasias y otros artefactos producidos por el aplastamiento de la pinza sobre el tejido dificultan o imposibilitan la interpretación de las muestras (11). En estudios previos, se ha propuesto la utilización del *signo de flotación* para determinar la presencia de tejido alveolar en el momento de la obtención de la biopsia (109). Sin embargo, este signo, que hace referencia a la capacidad de flotación de las muestras cuando son introducidas en formaldehído, no ha sido confirmado por otros autores (106).

2.1.3.c. Calidad de las muestras

Existen pocos datos acerca de la valoración de calidad de las muestras. Histológicamente, en las biopsias obtenidas de otros órganos, como en la biopsia

renal se considera adecuada la presencia de 5 o más glomérulos. En la patología pulmonar, el número de alveolos que ha de estar presente en una biopsia transbronquial no está bien establecido. En un estudio realizado con el objetivo de determinar qué biopsias pulmonares se consideran adecuadas, se objetivó una asociación significativa entre el número de alveolos y la capacidad de establecer un diagnóstico. Así, las muestras con más de 20 alveolos permitían una mayor utilidad diagnóstica en procesos difusos debidos a infecciones pulmonares frente a las muestras que presentaban entre 4 y 19 espacios alveolares (10).

2.2. Utilización de criosondas en broncoscopia: crioterapia, crio-recanalización y criobiopsia

2.2.1. Crioterapia

El concepto de crioterapia en broncoscopia hace referencia a la aplicación de frío para la destrucción, mediante congelación, de tejido endobronquial. Las principales indicaciones han sido la exéresis de tumores endoluminales exofíticos y el tratamiento del carcinoma *in situ*, entre otras (tabla 3) (110).

1. Tumores malignos:
<ul style="list-style-type: none"> - Con criterios de irsecabilidad y de inoperabilidad - Recidivas después de cirugías - Tumores intraluminales con poco componente extrínseco - Tratamiento en pacientes que rechacen la cirugía - Desobstrucción bronquial previa a la realización de radioterapia externa
2. Tumores benignos de crecimiento endobronquial con excepción de lipoma, fibroma y traqueopatía osteocondroplástica
3. Tumor carcinoide , sólo en casos con alto riesgo quirúrgico o ante negativas del paciente a seguir tratamiento quirúrgico
4. Granulomas y estenosis no fibróticas traqueales y bronquiales, incluyéndose las estenosis sobre suturas de trasplantes de pulmón
5. Tumor <i>in situ</i>
6. Cuerpos extraños porosos
7. Biopsia diagnóstica de tumoraciones sangrantes
8. Crioanalgesia sobre nervios intercostales

Tabla 3. Indicaciones de la crioterapia endobronquial. *Adaptada de Villegas FR y col. (110).*

2.2.1.a. Historia de la crioterapia

Los efectos analgésicos, antiinflamatorios y vasoconstrictores del frío son bien conocidos desde hace siglos y su aplicación como agente terapéutico se ha utilizado para detener la hemorragia y controlar el dolor y la inflamación. En 1595, Johanes Costeus publica *De Igniis Medicinae Presidis* en el cual menciona el empleo del hielo para aliviar el dolor de la incisión quirúrgica. En el siglo XVII aparece la primera cita en un documento científico médico en el libro *De Nivis Usu Medico* sobre el efecto anestésico del hielo. El uso de este tipo de terapia no se generalizó hasta que, a comienzos del siglo XIX, Dominique-Jean Larrey, cirujano de Napoleón, describe amputaciones de miembros sin dolor aplicando hielo y nieve a los heridos durante la retirada de las tropas de Moscú, tras la batalla de Eylau en 1807.

En 1851, James Arnott (111) demostró el papel de la utilización de las bajas temperaturas en la destrucción de tumores y presenta un nuevo método de congelación utilizando una mezcla de hielo y sal capaz de alcanzar temperaturas de -20° C. El punto clave de la evolución de la crioterapia fue la capacidad de enfriar gases y el desarrollo de métodos de almacenaje y manipulación (figura 5). Así, el aire líquido (-190° C) fue empleado por el Dr. Campbell White quién describe sus primeros resultados en 1889 en el tratamiento de patologías como el lupus y el herpes. Posteriormente, en 1925, apareció el primer catéter para la aplicación de crioterapia permitiendo su utilización en variedad de lesiones con diferentes aplicaciones en ginecología, dermatología y neurología (112). En 1968, Gage publicó el primer caso de tumor endobronquial tratado endoscópicamente con crioterapia (113). Más recientemente, en la década de 1970 en la Clínica Mayo, se inició el uso de criosondas para el tratamiento de lesiones tumorales obstructivas traqueobronquiales (114-118).

Actualmente, la crioterapia se utiliza con éxito en varias especialidades con el objetivo de tratar el tejido mediante la inducción de necrosis o la exéresis de tumores y otras lesiones. No obstante, en neumología, esta técnica quedó cuestionada por la introducción del láser Nd:YAG que alcanzaba el mismo objetivo en una sola sesión de tratamiento (119-121). Por este motivo, en algunas unidades

de broncoscopia intervencionista la crioterapia quedó relegada a un segundo plano en beneficio de técnicas como el láser y el electrocauterio (122).



Figura 5. Colector-compresor de hielo seco utilizado por Hall-Edwards (1911).

2.2.1.b. Principio físico de la crioterapia

El principio físico que define la aplicación de una determinada temperatura a través de una sonda es el principio denominado en física efecto de Joule-Thomson o efecto de Joule-Kelvin y se trata del proceso en el cual la temperatura de un sistema disminuye o aumenta al permitir que el sistema se expanda libremente manteniendo la entalpía constante. Fue descrito por James Prescott Joule y William Thomson quienes, en 1852, establecieron el efecto modificando un experimento previo en el que un gas se expandía manteniendo constante su energía interna.

La relación entre temperatura, presión y volumen de un gas se puede describir gracias a las leyes de los gases. Para una presión constante, un gas tendrá una temperatura de inversión de Joule-Thomson (Kelvin), sobre la cual al expandirse el gas causa un aumento de temperatura, y por debajo, la expansión del gas causa un enfriamiento. En la mayoría de los gases, a presión atmosférica esta temperatura es bastante alta, mucho mayor que la temperatura ambiental, y

por ello los gases se enfrían al expandirse. El incremento de temperatura (ΔT) con respecto al incremento de presión (ΔP) en un proceso de Joule-Thomson es el coeficiente de Joule-Thomson. Cuando un gas fluye desde un recipiente con una presión inicial constante hasta otro con menor presión, la energía de interacción de las partículas del gas se modifica, y con ello el contenido de energía del gas. A temperatura ambiente, el trabajo realizado en contra de las interacciones durante la expansión produce, en casi todos los gases, una disminución de la temperatura.

2.2.1.c. Mecanismo de acción y efectos biológicos de la crioterapia

Los efectos de la crioterapia son debidos a la acción que produce el frío extremo a nivel molecular, celular, estructural y tisular. La temperatura necesaria para producir la destrucción celular oscila entre -20 y -50°C y ha de ser aplicada a una velocidad determinada. Así, el poder destructor de una fuente de frío es proporcional a la temperatura alcanzada y a la velocidad con la que se consigue. Congelando a -40°C a una velocidad de descenso de 100°C por minuto se llega a una destrucción del 90% del volumen de tejido congelado.

c.1. Alteraciones celulares

A nivel celular, la acción del frío extremo produce la congelación de una parte del agua extracelular, lo que conlleva a un aumento de la osmolaridad por concentración de los solutos en el agua extracelular que se traduce en una deshidratación y desnaturalización celular. La temperatura de congelación teórica de las células suspendidas en una solución salina de ClNa $0,15\text{ mol/L}$ es de $-0,6^{\circ}\text{C}$.

Por una parte, se forman cristales de agua sin solutos, los cuales son desplazados y se disuelven en agua que permanece sin congelarse. Ésta es cada vez menor, con lo cual su presión osmótica se eleva, alcanzando una concentración de ClNa superior a 2 mol/L , obligando a salir agua del interior de la célula hacia el espacio extracelular. El pH disminuye por debajo de 4, con daño importante a proteínas, lipoproteínas y enzimas. La temperatura a la cual cristaliza todo el sistema, juntos el solvente y el soluto, se conoce como temperatura eutéctica, alcanzándose en ese momento una concentración de ClNa de un 31%.

Además, el daño que ocasiona la congelación también es causado por la formación de los cristales de hielo. La velocidad de congelación determina dónde se desarrollan los cristales de hielo y, por tanto, el mecanismo de muerte celular. Si el proceso de congelación se produce de forma lenta, el hielo se forma en el espacio extracelular, induciendo la salida de líquido al espacio extracelular, la contracción celular y, en último término, la muerte por aumento de la concentración iónica intracelular. Si el proceso de congelación se efectúa rápidamente, se desarrollan cristales intracelulares, y éstos tienen un efecto mecánico sobre las membranas celulares y las organelas intracelulares, resultando en el daño y muerte celular (123).

Así, los factores que determinan la lesión celular son la cristalización extracelular que produce compresión y deformación de la célula, la cristalización intracelular, la deshidratación celular y el colapso, el incremento de la concentración intracelular de solutos, la desnaturalización de las membranas y el shock térmico (124).

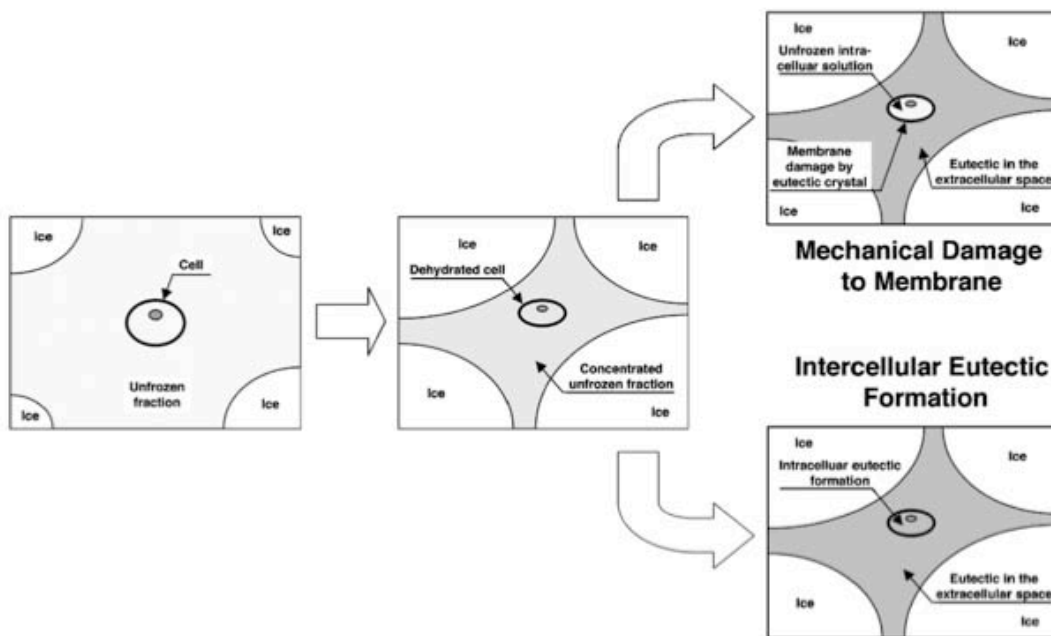


Figura 6. Mecanismos de daño celular por congelación. Han B y col. (123)

c.2. Alteraciones tisulares y vasculares

Por otro lado, a nivel tisular, la isquemia también está implicada en el mecanismo de destrucción celular. La congelación conduce a la desnaturalización de los complejos lípido-proteína y produce daños en la microcirculación. Tras el ciclo de congelación, se producen fenómenos de vasoconstricción y, al estar dañadas las membranas celulares, se produce un aumento de la permeabilidad capilar, disminución del flujo sanguíneo, agregación plaquetaria y trombosis intravascular que da lugar a la formación de microtrombos en capilares y arteriolas produciendo isquemia secundaria y destrucción tisular. La sensibilidad de la célula dependerá de factores como el umbral de congelación y descongelación, la temperatura alcanzada y la repetición de ciclos de congelación-deshielo.

A nivel microscópico, no se observan alteraciones histológicas de un modo inmediato. Sin embargo, a los 5 días se observa necrosis y un infiltrado eosinófilo en un radio de 3 a 4 mm alrededor del punto de congelación. Posteriormente la zona de necrosis disminuye progresivamente de tamaño y, en el caso de lesiones bronquiales, se inicia el revestimiento superficial por epitelio ciliado que resulta de apariencia casi normal a las 6 semanas del tratamiento.

Los efectos macroscópicos de la crioterapia tienen lugar varios días después, en forma de escaras en la vía aérea que se expulsarán con la tos o con la extracción mediante pinzas.

Los tejidos presentan distinta criosensibilidad, según el contenido de agua en las células, siendo los más favorables para este tratamiento el tejido de granulación, lesiones mucosas y neoplasias malignas. El cartílago, tejido fibroso y la grasa son crio-resistentes.

c.3. Alteraciones inmunológicas

De forma experimental, en modelos animales con tumores tratados con crioterapia, se ha objetivado una mayor citotoxicidad antitumoral de los linfocitos como respuesta a los efectos de la congelación sobre las células (125, 126)

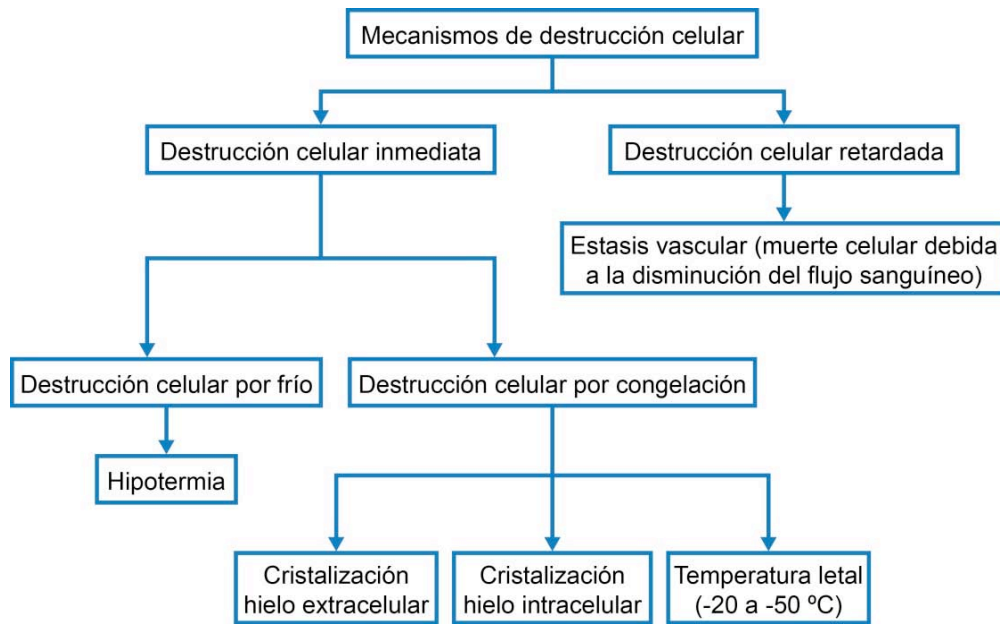


Figura 7. Mecanismo de muerte celular inducida por frío.

2.2.1.d. Agentes criógenos y equipo

Las sustancias criógenas más conocidas son las sustancias clorofluorocarbonadas utilizadas en refrigeración industrial, el dióxido de carbono (CO₂), el nitrógeno líquido (N₂) y el óxido nitroso (N₂O). Actualmente, se ha limitado el uso de los fluorocarbonados por actuar en circuito abierto y por su efecto negativo sobre la capa de ozono. El N₂ líquido tiene capacidad para producir temperaturas de -196° C pero su acción es lenta. Entre las sustancias criógenas, el óxido nitroso es el más usado en neumología por su fácil manipulación, almacenamiento y por su capacidad para generar de forma rápida temperaturas de hasta -89° C en el extremo de la crio sonda, lo que permite una aplicación precisa (figura 8).

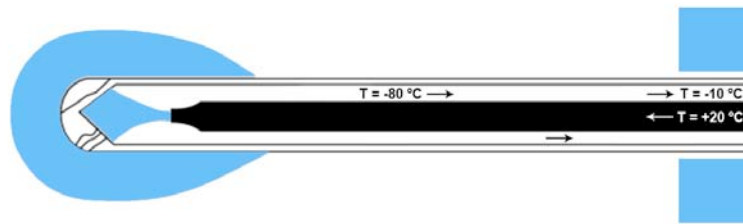


Figura 8. El agente criogénico fluye a través del canal central de la sonda y, por el efecto de Joule-Thomson, la disminución de temperatura del gas produce congelación en el extremo distal.

Clásicamente, la aplicación de crioterapia en lesiones endobronquiales se realizaba mediante broncoscopia rígida, por lo que las primeras sondas fueron rígidas o semi-rígidas (124). Sin embargo, el diseño de sondas flexibles de menor diámetro ha permitido la aplicación de la crioterapia a través del broncoscopio flexible, lo que ha ampliado su uso e indicaciones. En el momento actual, el equipo Erbokryo[®] CA de ERBE (Tübingen, Germany) permite la conexión de criosondas rígidas y flexibles de diferentes longitudes y diámetros (figura 9). Este equipo puede utilizarse con diferentes sustancias criogénicas (NO₂ o CO₂) y los nuevos modelos incorporan opciones hasta ahora no disponibles como la selección del tiempo de congelación.

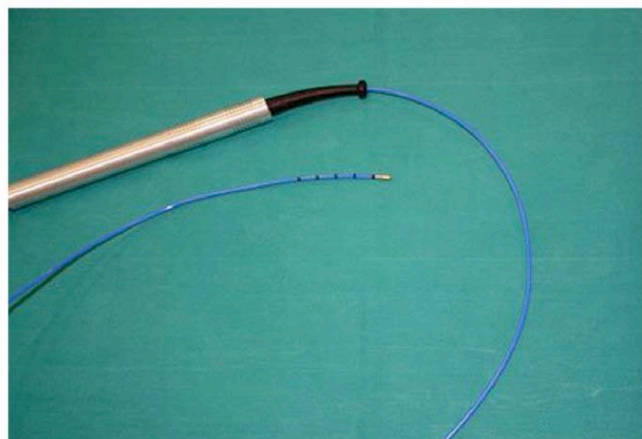


Figura 9. Equipo de crioterapia de Erbokryo[®] CA (modelo 10448-000. ERBE Electromedizin, Tübingen, Germany) y sonda flexible de 2,4 mm de diámetro y 900 mm de longitud (modelo 20416-032. ERBE Electromedizin, Tübingen, Germany).

2.2.2. Crio-recanalización

La necesidad de aplicar varios ciclos de congelación-descongelación por fracciones de tiempo que oscilaban entre los 15 y 25 segundos con las sondas de crioterapia rígidas y hasta 2 minutos con las sondas semi-rígidas, contraindicaban este procedimiento en los casos de obstrucción aguda de la vía aérea. En una revisión realizada sobre esta técnica, los autores aconsejaban que este tipo de lesiones debieran ser tratadas con técnicas más adecuadas y rápidas como el láser o electrocauterio a través de un broncoscopio rígido (125,126).

Sin embargo, la publicación del estudio de Hetzel y colaboradores (127) permitió la modificación de este concepto. Los autores describieron la técnica de crio-recanalización en 60 pacientes con tumoración endobronquial y ocupación endoluminal importante. Utilizaron criosondas flexibles de 2,3 mm de diámetro y 780 mm de longitud y aplicaron tiempos de congelación de, aproximadamente, 5 segundos

después de los cuales la criosonda era retirada con parte del tumor adherido en su extremo. El 83% de los pacientes incluidos fueron tratados con éxito sin evidenciar un aumento de complicaciones como la hemorragia grave o la perforación de la pared bronquial. No fueron requeridas broncoscopias adicionales para la extracción de tejido necrótico residual.

2.2.3. Criobiopsia bronquial

La modificación en las sondas de crioterapia permitió aumentar el poder y la velocidad de congelación de las criosondas incrementando así la tracción sobre el tejido. Varios estudios han evaluado la capacidad de exéresis en tumores endobronquiales de estas nuevas sondas observando una rápida recanalización de la vía aérea y un aumento del rendimiento diagnóstico comparado con la obtención de material mediante pinzas convencionales (127-130). Además, en los casos de tumores endobronquiales, los estudios que han evaluado el material histológico obtenido mediante criosondas observaron que se trataba de muestras de mayor tamaño que las obtenidas con pinza convencional y con una histología bien preservada, lo que facilitaba el diagnóstico histológico y la aplicación con éxito de las técnicas de inmunohistoquímica (131). En este sentido, nuestro grupo ha

descrito la utilización de criosondas en tumores de difícil diagnóstico como el linfoma difuso de células grandes tipo B (LDCGB) con afectación endobronquial (132). El LDCGB es un tipo histológico agresivo de linfoma no hodgkiniano (LNH) y su localización pulmonar es infrecuente, constituyendo menos del 1% de los casos (133, 134). Además, la afectación endobronquial supone un hallazgo excepcional que, por sus implicaciones terapéuticas y pronósticas, requiere la obtención de muestras tisulares para llevar a cabo un estudio histológico e inmunohistoquímico completo. En este caso, a pesar de realizar varias biopsias con pinzas convencionales, el diagnóstico específico pudo ser establecido tras el análisis de las muestras obtenidas con criosonda (figura 10).

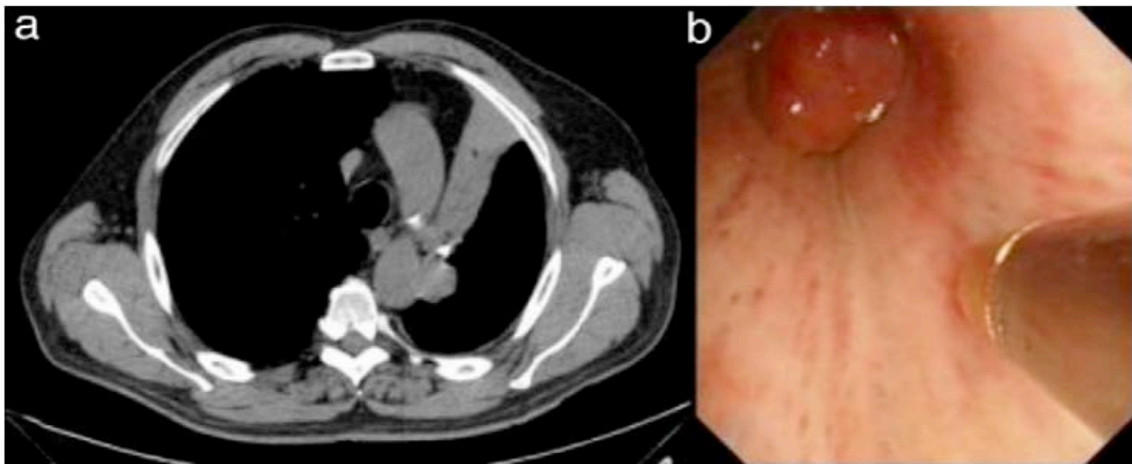


Figura 10. a) Imagen de TAC torácica en la que se observa la estenosis del bronquio principal izquierdo y las adenopatías ipsilaterales que condicionan un colapso del lóbulo superior izquierdo. b) Imagen bronoscópica que muestra la criosonda y la lesión endobronquial en el bronquio principal izquierdo.

El examen histológico de las muestras permitió objetivar una infiltración difusa del corion por una proliferación linfoide de células grandes atípicas con numerosas mitosis sin infiltración del epitelio bronquial. Además, se realizaron técnicas inmunohistoquímicas que mostraron una población neoplásica CD20 positiva, con coexpresión de bcl-6 y CD10 y un índice proliferativo (ki-67) del 70% (figura 11).

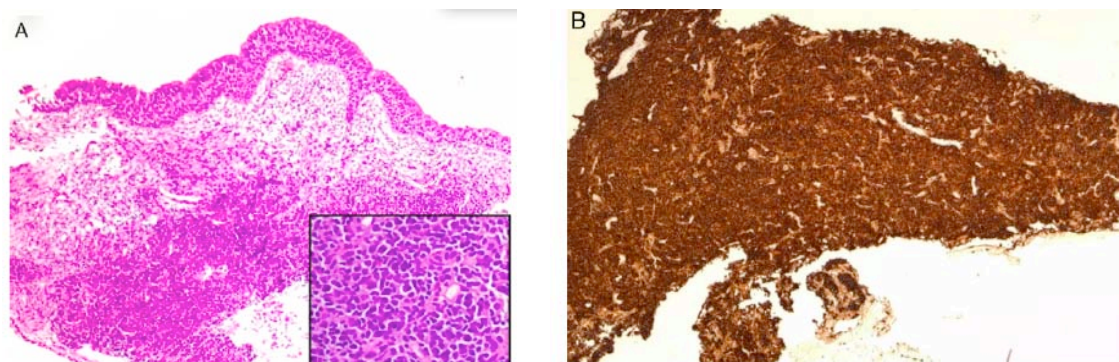


Figura 11. a) Infiltración difusa del corion por una proliferación linfoide de células grandes atípicas con numerosas mitosis sin infiltración del epitelio bronquial. b) Las células linfoides atípicas resultaron intensamente positivas para CD20.

Recientemente, los resultados de un ensayo multicéntrico y aleatorizado realizado en 563 pacientes con tumores endobronquiales ha demostrado que la utilización de criosondas para la obtención de biopsias bronquiales aumenta el rendimiento diagnóstico del 85,1% al 95% cuando se utilizan pinzas de biopsia convencional o criosondas, respectivamente sin que aumente el número de complicaciones en la comparación entre los grupos (135).

2.2.4. Criobiopsia transbronquial

2.2.4.a. Consideraciones generales

Los resultados de los estudios anteriormente descritos han posibilitado plantear la utilización de criosondas para la realización de la BPTB como alternativa al método convencional en el estudio de las enfermedades pulmonares difusas con el objetivo de mejorar el rendimiento diagnóstico de la BPTB. Se han presentado resultados sobre el empleo de criosondas para la realización de BPTB que indican una mejora en la eficacia diagnóstica de la técnica (136, 137) aunque, hasta el momento, no se disponía de ensayos clínicos aleatorizados que permitieran afirmar que la criobiopsia transbronquial aumentara el rendimiento diagnóstico de la técnica.

De forma preliminar a los estudios presentados en esta tesis, nuestro grupo llevó a cabo un análisis comparativo de la BPTB con pinza convencional y con criosonda en un modelo animal porcino sometido a ventilación mecánica. A pesar

de las limitaciones de este modelo, esta primera aproximación a la técnica permitió comprobar la calidad histológica de las muestras obtenidas con criosonda y la ausencia de complicaciones (figura 12).

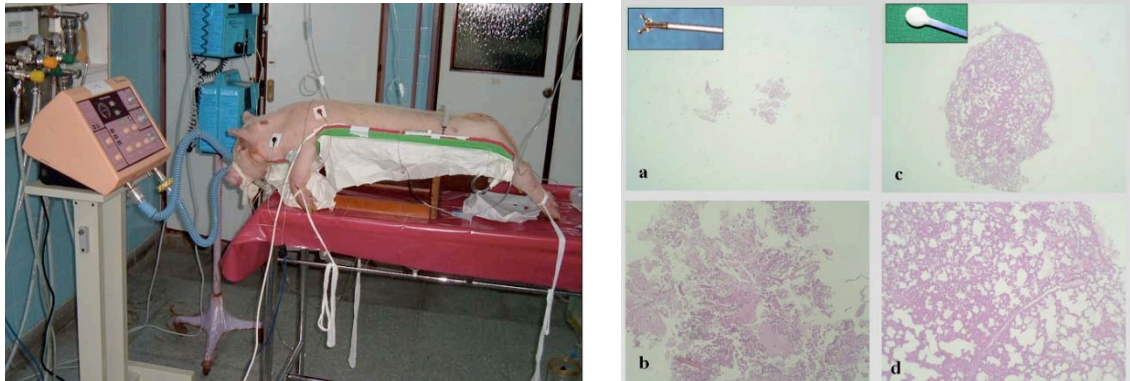


Figura 12. a) Modelo animal porcino con ventilación mecánica. a y b) Aspecto microscópico a diferentes aumentos de una muestra de BPTB obtenida con pinza convencional. c y d) Aspecto microscópico de una muestra de BPTB obtenida con criosonda.

2.2.4.b. Infraestructura y requerimientos de material

La Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) establece la infraestructura necesaria y la organización de una unidad de endoscopia respiratoria para llevar a cabo cualquier procedimiento en broncoscopia (138). De esta forma, de manera similar a otras técnicas broncoscópicas, la BPTB con criosonda debe llevarse a cabo en una unidad de endoscopia respiratoria aunque podría realizarse en otras unidades como unidades de cuidados intensivos o quirófano. Idealmente, se debería contar con un equipo de fluoroscopia, lo que nos permite realizar la técnica con mayor seguridad orientando la sonda hacia las regiones donde exista alteración radiológica. Además, el control fluoroscópico nos permite visualizar un posible efecto adverso (neumotórax, hemorragia importante) y actuar de forma rápida en el caso de precisar otras intervenciones. En esta misma línea, se aconseja disponer de ecógrafo con sonda lineal que permite visualizar de una forma rápida la presencia de neumotórax tras la exploración.

La técnica se realiza con carácter ambulatorio, pero es aconsejable disponer de una sala de recuperación post-broncoscopia con toma de oxígeno y

vacío, además de personal de enfermería que controle de forma sistemática la monitorización del paciente (pulsioximetría arterial, presión arterial, frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria). El periodo de observación posterior a la broncoscopia no debería ser inferior a 1 hora.

A parte del instrumental y equipamiento básico de cualquier unidad de endoscopia respiratoria, para la realización de la BPTB con criosonda es necesario disponer de:

- **Broncoscopio o videobroncoscopio flexible:** con canal de trabajo terapéutico si utilizamos la sonda de crioterapia de 2,4 mm de diámetro. Es posible utilizar un broncoscopio con canal convencional si la sonda disponible es la de 1,9 mm de diámetro. La criobiopsia transbronquial con broncoscopio rígido también ha sido descrita (139).
- **Equipo de crioterapia:** Erbokryo[®] CA (ERBE Elektromedizin, Tübingen, Germany). En algunos países se está comercializando un nuevo equipo de crioterapia: Erbecryo[®] 2 que, a diferencia del anterior modelo, permite ajustar y visualizar diferentes niveles de congelación y dispone de una función de temporizador.
- **Sondas de crioterapia:** se trata de sondas reutilizables, aunque se debería disponer de, al menos, dos. Existen varios modelos en función del grosor de la sonda y de la longitud. La mayoría de los estudios publicados hasta el momento se basan en los resultados obtenidos con las sondas de 2,4 mm y de 1,9 mm de diámetro de grosor y 900 mm de longitud (ERBE Elektromedizin, Tübingen, Germany).
- **Tubo endotraqueal:** en nuestra práctica clínica utilizamos un tubo endotraqueal flexible y anillado (Bronchoflex 7.5 mm, Rüschi, Teleflex Medical, Durham, NC, USA). Sin embargo, en la literatura se describen otras alternativas (139).
- **Balón de oclusión o sistema de oclusión** similar para el control del posible sangrado. Se han descrito resultados óptimos con la utilización de un balón de Fogarty y del bloqueador bronquial de Ardnt (COOK Medical INC, Bloomington, USA) (140).

2.2.4.c. Preparación del paciente

La evaluación clínica individual de cada paciente es imprescindible antes de la realización de una criobiopsia transbronquial. En cuanto al riesgo de la sedación, es preciso realizar una valoración previa del paciente que incluya los antecedentes patológicos, alergias, tratamiento farmacológico habitual (posibilidad de efecto sedante sinérgico), hora de última ingesta (riesgo aumentado de aspiración pulmonar si han transcurrido menos de 6 horas desde última ingesta) y la valoración de la vía aérea mediante la escala de Mallampati. La American Society of Anesthesiology (ASA) establece una clasificación del riesgo anestésico en función del estado físico y de la presencia y tipo de patologías, siendo mayor el riesgo cuanto mayor ASA tengan (141).

Los procedimientos para la evaluación de los pacientes incluyen un TAC de tórax para la selección de las áreas donde se ha de llevar a cabo la criobiopsia. Otras exploraciones complementarias deben ser realizadas para detectar contraindicaciones o factores de riesgo: análisis sanguíneo completo que incluya un estudio hematológico, bioquímico con función renal y hepática y pruebas de coagulación. En este sentido, la detección de una insuficiencia renal grave con cifras de uremia elevada puede contribuir a producir sangrado tras la realización de la BPTB. La uremia afecta a la función plaquetaria mediante la inducción de alteraciones bioquímicas que alteran la capacidad de agregación e interacción con las paredes de los vasos sanguíneos (16).

Si existe sospecha de la presencia de hipertensión arterial pulmonar, se ha de realizar un ecocardiograma. La evaluación de la función pulmonar mediante espirometría, determinación de volúmenes pulmonares, difusión de monóxido de carbono y gasometría arterial es útil en la valoración de posibles complicaciones.

De la misma forma que en otras técnicas broncoscópicas, el paciente ha de firmar un consentimiento informado previamente a la exploración. En general, los riesgos no difieren de los producidos tras una BPTB convencional pero la realización de la intubación orotraqueal y de la sedación profunda requiere un consentimiento específico.

2.2.4.d. Monitorización y sedación

La monitorización de la técnica se realiza de acuerdo a las guías clínicas para procedimientos que precisan sedación moderada o profunda (142). Se recomienda de forma rutinaria el registro de la presión arterial y de la frecuencia respiratoria, la pulsioximetría continua, la monitorización del CO₂ y el registro electrocardiográfico.

Previamente al inicio del procedimiento, es necesario el adecuado control de la tos con lidocaína tópica (2-4%) en solución, en spray o en gel. La sedación endovenosa se puede realizar siguiendo diferentes estrategias. Los fármacos más ampliamente utilizados son las benzodiazepinas de vida media corta con efecto amnésico como el midazolam, los anestésicos de corta duración como el propofol y los opioides como el fentanilo por su efecto analgésico y antitusivo. Nuestro grupo utiliza midazolam (0,05-0,1 mg/kg), remifentanilo (0,05-0,1 µg/kg⁻¹/h⁻¹) y propofol (3-6 mg/kg⁻¹/h⁻¹) en perfusión para conseguir una sedación adecuada, mejorar la tolerancia de la exploración y reducir las complicaciones. Además, es necesario contar con un anestesista para llevar a cabo ventilación convencional, ventilación de alta frecuencia (jet) o unipulmonar, en caso necesario.

2.2.4.e. Descripción de la técnica

La técnica de la biopsia transbronquial con criosonda, llamada también criobiopsia transbronquial, es similar a la biopsia transbronquial con pinzas convencionales.

La diferencia principal entre las dos técnicas es la necesidad de intubación que se realiza mediante control broncoscópico utilizando un tubo endotraqueal flexible (Bronchoflex 7,5 mm, Rüschi, Teleflex Medical, Durham, NC, USA). Por este motivo los pacientes requieren sedación profunda aunque no es necesario la utilización de fármacos relajantes musculares por lo que el paciente puede permanecer en respiración espontánea o ser ventilados en el momento que lo requieran (figura 13).



Figura 13. Fotografías de la intubación del paciente mediante broncoscopio con tubo endotraqueal flexible (Bronchoflex 7,5 mm, Rüschi, Teleflex Medical, Durham, NC, USA).

La intubación es necesaria debido al tamaño de las biopsias obtenidas mediante criobiopsia, que exceden el diámetro del canal de trabajo del broncoscopio. Tras la intubación y, a través del canal lateral del tubo endotraqueal, se coloca un balón de oclusión (143) a la entrada de los bronquios segmentarios donde se realizará la criobiopsia con el fin de controlar un posible sangrado en la zona biopsiada (figura 14).

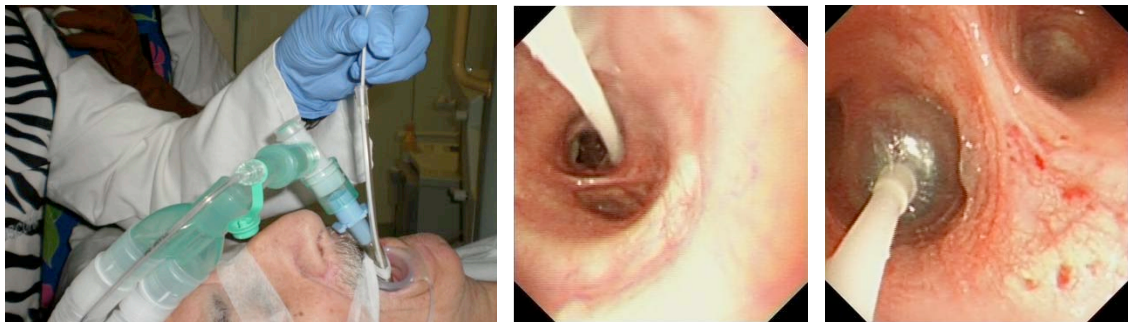


Figura 14. a) Fotografía de la colocación del balón de oclusión a través del canal lateral del tubo endotraqueal. b) Imagen endoscópica del balón no insuflado y c) Imagen endoscópica del balón insuflado y comprobación del sellado correcto en el bronquio segmentario.

De esta forma, el tubo endotraqueal permite la extracción del broncoscopio y la criosonda con la muestra adherida al extremo de la misma tantas veces como el número de biopsias necesarias, sin incrementar el riesgo de lesión de la vía aérea superior o la pérdida de la muestra tras el paso de la criosonda a través de la laringe. Sin embargo, otros autores han realizado el procedimiento mediante mascarilla laríngea o broncoscopio rígido (139, 144) sin que hayan objetivado complicaciones o dificultades por ello.

A través del tubo endobronquial se efectúa la exploración endoscópica del árbol bronquial mediante un videobroncoscopio y se realizan, si es necesario, otras exploraciones complementarias como la PAAF de adenopatías o el lavado broncoalveolar de acuerdo con la información radiológica del TAC de tórax.

De forma similar a la técnica empleada para la realización de las biopsias transbronquiales con pinza convencional, se coloca el broncoscopio hasta visualizar la entrada del bronquio segmentario. En este momento, la criosonda se introduce a través del canal de trabajo del broncoscopio y se controla su avance hacia las áreas periféricas pulmonares mediante fluoroscopia (figura 15).

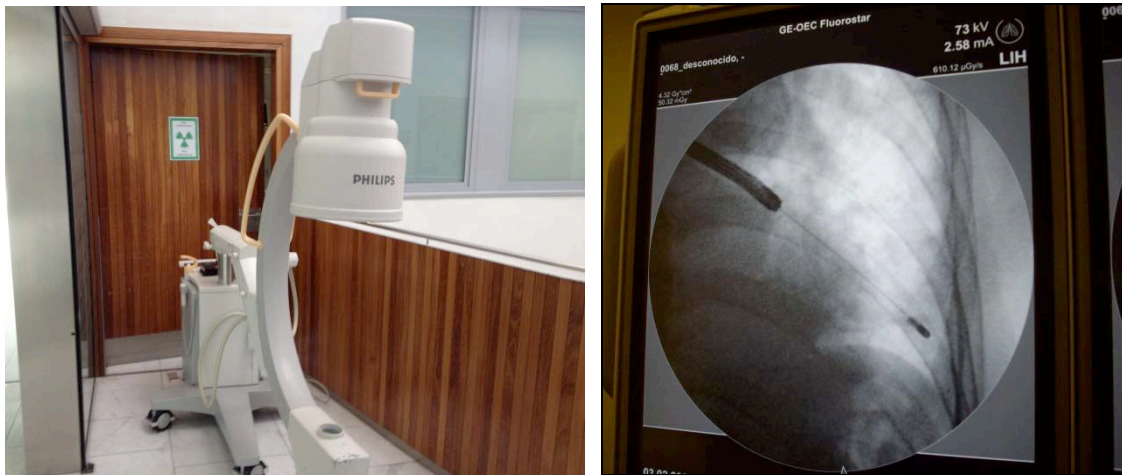


Figura 15. a) Arco de fluoroscopia utilizado (Philips) b) Imagen fluoroscópica de la criosonda en una zona periférica pulmonar antes de la realización de la criobiopsia.

En el momento en el que la criosonda encuentra resistencia, se retira aproximadamente 1-1,5 cm y se procede a la aplicación de frío durante 3 o 4 segundos, tras los cuales se retira junto con el broncoscopio, la sonda con el fragmento pulmonar congelado y adherido en su extremo. Inmediatamente tras la realización de la biopsia se insufla el balón de oclusión hasta la comprobación endoscópica de la ausencia de sangrado (figura 16).

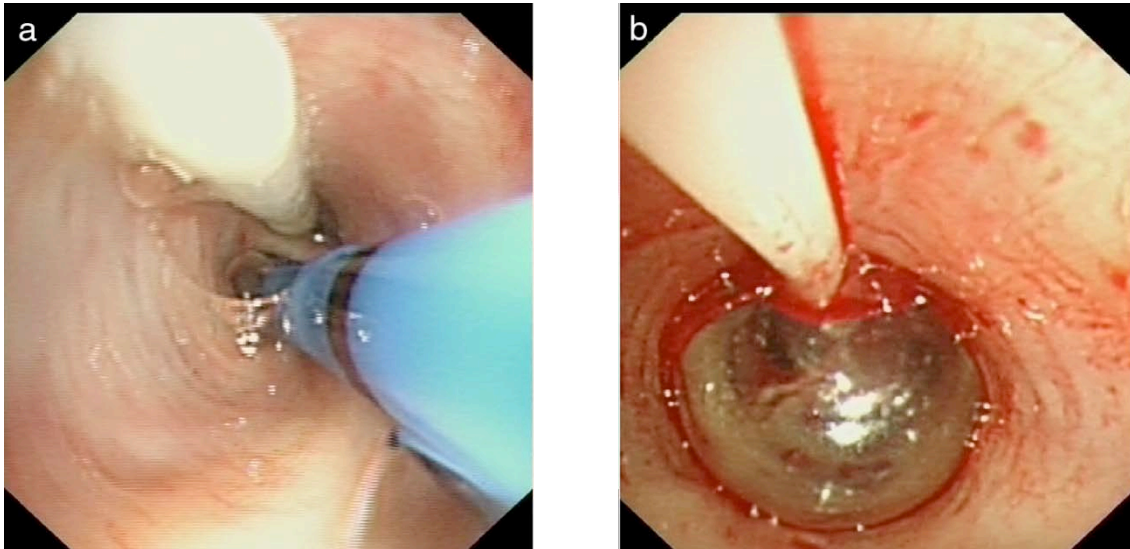


Figura 16. a) Imagen endoscópica del balón de oclusión paralelo a la criosonda colocado en la entrada de un bronquio segmentario pulmonar del lóbulo inferior derecho. b) Imagen endoscópica del balón de oclusión insuflado tras la realización de una biopsia pulmonar transbronquial.

En cuanto a la criosonda utilizada, varios autores han utilizado la criosonda flexible con un diámetro de 2,4 mm y una longitud de 900 mm (modelo 20416-032, ERBE Elektromedizin, Tübingen, Germany) aunque la criosonda con diámetro de 1,9 mm puede ser utilizada de la misma forma para realizar biopsias transbronquiales.

2.2.4.f. Obtención y procesado de muestras

A diferencia de las muestras obtenidas con pinza convencional, en el momento de la extracción, la criobiopsia queda adherida a la criosonda durante unos segundos hasta que aumenta la temperatura en el extremo y permite la separación de la muestra (figura 17). De forma general, y tal y como se procesan las biopsias transbronquiales con pinza, la criobiopsia es introducida en un recipiente hermético correctamente identificado que contiene formol tamponado u otro reactivo para facilitar la fijación posterior de las muestras. Se ha de evitar la exposición al aire de las biopsias el menor tiempo posible para no desecar el tejido. Se aconseja agitar suavemente la muestra sumergida para disminuir el colapso de la biopsia (145). En los casos en lo que sea necesaria la obtención de biopsias para el estudio microbiológico, las muestras han de ser introducidas en un recipiente estéril con suero.

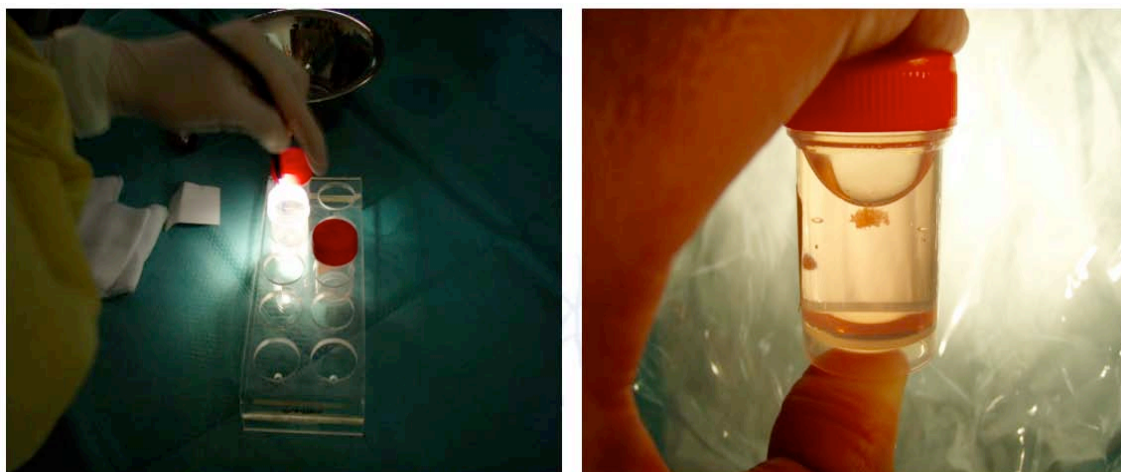


Figura 17. a) Extracción del broncoscopio con la criosonda y la muestra adherida en su extremo. b) Imagen de una muestra obtenida con criosonda en el interior de un recipiente con formol.

2.2.4.g. Cuidados, desinfección y esterilización del material

La limpieza, desinfección y esterilización del broncoscopio y la criosonda se realiza de acuerdo a las recomendaciones generales para este tipo de materiales. Varias guías (98, 146) han establecido las medidas necesarias para el cuidado de los materiales utilizados en una unidad de endoscopia respiratoria. Los broncofibroscopios (BF), videobroncofibroscopios (VBF), criosondas y todos sus accesorios son instrumentos frágiles, delicados en su manejo y costosos en su reparación. Ello implica que su manipulación deba hacerse de forma cuidadosa y por personal experto en su manejo (147).

EL sistema de clasificación propuesto por el Dr. Spaulding (148) divide los dispositivos médicos en categorías, en función del riesgo de infección relacionado con su uso. Este sistema de clasificación está ampliamente aceptado y según esta clasificación, el material utilizado en broncoscopia se puede clasificar en dos categorías:

- **Material crítico:** es el que penetra en tejidos, cavidades estériles o en el territorio vascular. Este material debe ser de un solo uso o someterse a un proceso de esterilización después de su utilización. En este apartado se

incluyen, entre otros materiales, las pinzas de biopsia y las sondas de crioterapia.

- Material semicrítico: es el que contacta con mucosas, cavidades no estériles o piel no intacta. Este material se ha de someter a un proceso de desinfección de alto nivel después de cada uso. En este apartado se incluyen los BF y VBF con la válvula de succión y la válvula de biopsia reutilizables.

La limpieza y desinfección del broncoscopio y sus accesorios es la recomendada para el material semicrítico y se puede llevar a cabo por dos métodos: por inmersión o mediante máquinas automáticas. Los productos con capacidad de realizar una desinfección de alto nivel son los productos a base de glutaraldehído, ácido peracético y peróxido de hidrógeno.

Por otro lado, la criosonda, se considera material crítico ya que penetra en el tejido pulmonar por lo que este material ha de ser esterilizado. Para ello, se utiliza el método químico mediante el sistema Steris®, que es un procesador automático que utiliza el ácido peracético (figura 18). Previamente, se ha de tener la precaución de tapar la conexión de la criosonda para que no penetre el producto en el circuito.



Figura 18. Esterilización de criosonda con el sistema Steris®.

2.2.5. Indicaciones de la criobiopsia transbronquial

2.2.5.a. Criobiopsia transbronquial en la EPID

El estudio de las enfermedades pulmonares difusas es una indicación habitual para la realización de la BPTB. El uso de criosondas para obtener tejido periférico puede ser útil en estos pacientes y podría permitir establecer nuevos algoritmos diagnósticos para el estudio de la EPID. Una valoración multidisciplinar en la que participen clínicos, radiólogos y patólogos expertos en el diagnóstico y tratamiento de la EPID consigue aumentar la precisión diagnóstica y, en el momento actual, es una recomendación ampliamente aceptada para establecer el diagnóstico (21, 149). El diagnóstico basado en la decisión multidisciplinar incluye la integración de la información clínica, el examen físico, las pruebas de función pulmonar, los análisis sanguíneos y la información radiológica, especialmente de la TACAR. Aun así, una elevada proporción de pacientes requiere del análisis histológico de una muestra de tejido pulmonar para establecer un diagnóstico concordante con la información del resto de exploraciones. Algunos autores han defendido la utilidad de la BPTB en estas entidades basándose en la posibilidad de identificar en la biopsia hallazgos compatibles con el patrón histológico de NIU (150, 151). Sin embargo, debido a la importante limitación a la hora de observar la distribución del patrón histológico por el pequeño tamaño de las muestras, son muchos los autores que han cuestionado el rendimiento de la BPTB con pinza convencional para establecer el diagnóstico en algunas de estas enfermedades intersticiales, especialmente en el caso de la NIU (29, 152). En este sentido, las biopsias realizadas con criosonda han permitido obtener un número elevado de patrones histológicos diagnósticos así como patrones compatibles con la información clínica y radiológica de cada caso sin observarse un aumento de complicaciones. Recientemente, en un estudio realizado en 69 pacientes con EPID, la BPTB con criosonda permitió un diagnóstico específico en 52 pacientes (76%) incluyendo 36 casos con patrón de NIU. En este estudio, la criobiopsia permitió establecer otros diagnósticos como NINE (formas fibróticas y celulares), neumonía intersticial descamativa, neumonía organizada, neumonía eosinófila, daño alveolar difuso y neumonitis por hipersensibilidad (153).

Asimismo, nuestro grupo presentó uno de los primeros casos de neumonía organizada producido por el virus Influenza A (H1N1) diagnosticado con criosonda (154) (figura 19).

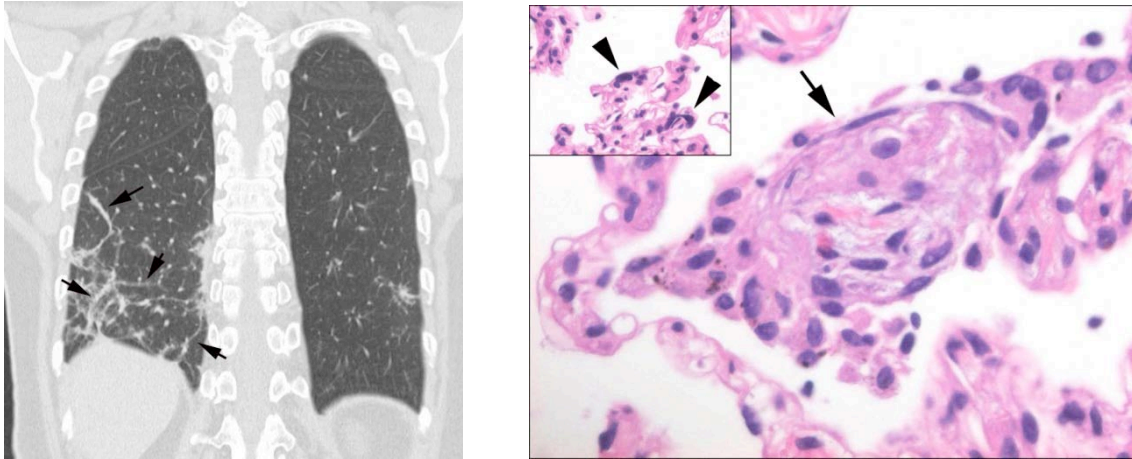


Figura 19. a) Imagen de un corte coronal del TAC de tórax que muestra cambios radiológicos de distribución perilobular sugestivos de neumonía organizada. b) Imagen de microscopia óptica que muestra una proliferación polipoidea de tejido de granulación en el interior de los alveolos (flecha negra) e imagen de la inclusión viral y cambios citopáticos en el interior de las células alveolares (flechas rojas).

2.2.5.b. Criobiopsia transbronquial en el paciente inmunodeprimido

En los pacientes inmunodeprimidos, el diagnóstico diferencial de los infiltrados pulmonares difusos incluye los procesos infecciosos por gérmenes oportunistas, la toxicidad farmacológica, la neumonitis por radiación y otras enfermedades no infecciosas. Existen pocos datos acerca del rendimiento diagnóstico de la criobiopsia en estos pacientes. Recientemente, Fruchter y colaboradores han evaluado la eficacia y la seguridad de la criobiopsia en pacientes inmunodeprimidos con infiltrados pulmonares difusos (155). En este estudio, no se observaron complicaciones graves y el análisis histológico de las muestras obtenidas mediante criosonda permitió establecer varios diagnósticos específicos, lo que proporcionó una información útil para llevar a cabo un manejo específico en el 80% de los pacientes incluidos. Sin embargo, estas conclusiones deberían ser interpretadas con cautela ya que, hasta la fecha, no se disponen de otros estudios que valoren el rendimiento diagnóstico de esta técnica en pacientes inmunodeprimidos.

2.2.5.c. Criobiopsia transbronquial en el trasplante pulmonar

En los pacientes con trasplante pulmonar, la obtención de parénquima pulmonar para su análisis tiene como objetivo principal la identificación de hallazgos compatibles con el rechazo pulmonar agudo y/o crónico así como el diagnóstico específico de enfermedades infecciosas. La realización de la BPTB con criosonda parece viable para el estudio del rechazo pulmonar en estos pacientes y, en los estudios realizados, se han analizado los datos sobre seguridad sin observarse un incremento de las complicaciones con respecto la BPTB convencional (139, 144).

Yarmus y colaboradores (139) realizaron un estudio en 17 pacientes con trasplante pulmonar en los que la BPTB se llevó a cabo con pinza de biopsia convencional y criosonda de forma secuencial. En este estudio, un paciente desarrolló un neumotórax pero, por las características del diseño (las dos técnicas se realizaron en el mismo paciente), los autores no fueron capaces de atribuir esta complicación a una u otra técnica. Las muestras obtenidas mediante criosonda fueron significativamente más grandes que las obtenidas con pinza y no se observaron diferencias en cuanto al sangrado entre las dos técnicas broncoscópicas.

En otro estudio reciente, en el que se evaluó de forma retrospectiva el rendimiento diagnóstico y las complicaciones de la BPTB con criosonda en pacientes con trasplante pulmonar comparado con un grupo control, los autores concluyen que el aumento en el tamaño y la mejora en la calidad de las biopsias obtenidas con criosonda implica un aumento en el número de diagnósticos específicos tales como el rechazo agudo y el daño alveolar agudo (144).

Sin embargo, no se han realizado estudios prospectivos y aleatorizados destinados a confirmar la utilidad clínica y el rendimiento diagnóstico en los pacientes con trasplante pulmonar.

2.2.5.d. Criobiopsia transbronquial en el nódulo pulmonar periférico

La detección de nódulos pulmonares ha aumentado en los últimos años (156). Debido a las limitaciones en el rendimiento diagnóstico de las técnicas broncoscópicas anteriormente descritas, se están desarrollando procedimientos endoscópicos alternativos para la obtención de material histológico en los nódulos pulmonares periféricos. Entre estas técnicas, la ultrasonografía endobronquial con sonda radial para la guía de una criosonda ha permitido llevar a cabo biopsias transbronquiales de lesiones periféricas (157). En un estudio, realizado en 39 pacientes con nódulos pulmonares periféricos, se localizó el nódulo pulmonar mediante ultrasonografía endobronquial con sonda radial y se aleatorizó el orden de los métodos de biopsia; criosonda y pinza de biopsia convencional. En este estudio, el rendimiento diagnóstico general fue del 60.5%. La biopsia mediante pinza convencional permitió establecer el diagnóstico en 19 casos mientras que utilizando la criosonda el diagnóstico se logró en 23 casos. Los autores concluyen que la biopsia transbronquial con criosonda guiada por EBUS es segura y es útil para obtener biopsias de mayor tamaño que con las pinzas convencionales.

2.2.6. Contraindicaciones de la criobiopsia transbronquial

No existen contraindicaciones especiales para la realización de la BPTB con criosonda por lo que se pueden solapar a las descritas clásicamente para la BPTB convencional (158).

Así, las contraindicaciones generales incluyen la insuficiencia respiratoria grave, la arritmia cardíaca no controlada, el infarto agudo de miocardio, la hemoptisis masiva y la coagulopatía no corregida. La presencia de hipertensión arterial pulmonar (HAP) se ha considerado clásicamente como una contraindicación para la realización de BPTB debido al mayor riesgo de sangrado (98) aunque varios estudios han realizado BPTB con pinza convencional en pacientes con HAP leve-moderada no han evidenciado un aumento de esta u otras complicaciones (159, 160). De todas formas, no se han realizado estudios dirigidos a la evaluación de las posibles complicaciones de la BPTB con criosonda en estos pacientes.

Los pacientes con trombocitopenia ($< 50.000/\text{mm}^3$) deberían recibir una transfusión de plaquetas antes del procedimiento (161). Otras alteraciones en el número de plaquetas (>1 millón/ mm^3) podrían también incrementar el riesgo de sangrado. En cuanto a los fármacos antiagregantes, no es necesario la retirada de la aspirina si la dosis no supera los 100 mg/ día (162). Sin embargo, dosis mayores (300 mg/día) y la administración de otros fármacos como el clopidogrel y la ticlopidina deben interrumpirse entre 5 y 7 días antes del procedimiento (163). Los fármacos anticoagulantes requieren recomendaciones específicas: la warfarina se ha de suspender 3 días antes, la heparina de bajo peso molecular 12 horas antes y la suspensión de la heparina fraccionada ha de hacerse entre 4 y 6 horas antes de la criobiopsia. Una ratio internacional normalizada (INR) menor de 1,5 y un tiempo de tromboplastina parcial activa (aPTT) menor de 50 segundos son seguros (164).

2.2.6.a. Absolutas

- Falta de consentimiento del paciente o sus familiares.
- Ausencia de un endoscopista adecuadamente entrenado de acuerdo con las normas en vigencia y acreditado por las autoridades académicas y/o sanitarias pertinentes.
- Ausencia de material y personal para enfrentar las situaciones de emergencia, fundamentalmente paro cardiorrespiratorio, neumotórax o sangrado mayor de la vía aérea.
- Hipoxemia intensa ($\text{PaO}_2 < 60$ mmHg y/o $\text{SaO}_2 < 80\%$) pese a la administración de altas fracciones inspiradas de oxígeno, similares a las que podrían utilizarse durante el procedimiento.
- Alteraciones de la coagulación que no pueden ser corregidas.
- Infarto de miocardio reciente o angina inestable.

2.2.6.b. Relativas

- Falta de cooperación del paciente.
- Arritmia cardíaca inestable.
- Hipertensión pulmonar.

3. HIPÓTESIS

- La realización de la biopsia pulmonar transbronquial con criosonda podría ser una técnica viable y de fácil implantación en las unidades de endoscopia respiratoria.
- La biopsia pulmonar transbronquial con criosonda permitiría obtener especímenes tisulares de gran tamaño e histología bien preservada que, en el estudio de las enfermedades pulmonares difusas, podrían incrementar el rendimiento diagnóstico de la biopsia transbronquial sin aumentar las complicaciones.
- La aplicación de técnicas de inmunohistoquímica en las biopsias obtenidas con criosonda permitirían demostrar la ausencia de artefactos producidos por el mecanismo de obtención de las muestras (congelación) y podrían contribuir a la diferenciación de las distintas patologías que afectan al intersticio pulmonar.

4. OBJETIVOS

Objetivos principales:

1. Valorar la viabilidad de la técnica en una unidad de endoscopia respiratoria y describir la metodología empleada en la realización de la biopsia pulmonar transbronquial con crisonda.
2. Determinar la rentabilidad diagnóstica de las BPTB obtenidas mediante criosondas frente a las obtenidas con pinzas biopsia convencional en pacientes con enfermedad pulmonar difusa.

Objetivos secundarios:

1. Analizar las características histológicas de las BPTB mediante criosondas en comparación con las obtenidas mediante pinzas convencionales en pacientes diagnosticados de enfermedad pulmonar difusa.
2. Evaluar la seguridad y las complicaciones de la técnica en relación con las BPTB realizadas con pinzas convencionales.
3. Estudiar el papel de las técnicas de inmunohistoquímica en las BPTB obtenidas mediante crisonda.

5. METODOLOGÍA Y RESULTADOS

5.1. ESTUDIO I: Utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial



5.1.1. Metodología del estudio I

Este estudio fue realizado con el objetivo de valorar la viabilidad de la técnica de criobiopsia transbronquial y su implantación en nuestro medio.

Se describió la metodología empleada y se analizaron los primeros resultados histológicos y de seguridad obtenidos de su aplicación en pacientes con enfermedad pulmonar difusa.

5.1.1.a. Diseño del estudio y población

Se realizó un estudio prospectivo en el que se incluyó pacientes con indicación de BPTB para el estudio de una enfermedad pulmonar difusa. Los pacientes seleccionados se evaluaron en consultas externas de neumología. Todos ellos disponían de hemograma con estudio de coagulación, ecocardiografía, TACAR y estudio de la función pulmonar, que incluía espirometría, determinación de volúmenes pulmonares y difusión de monóxido de carbono.

La técnica no se había realizado con anterioridad en nuestro centro ni en otros centros de ámbito nacional, por lo que la evaluación de la viabilidad se llevó a cabo en un quirófano que permitía una actuación rápida y dirigida en caso de producirse complicaciones.

5.1.1.b. Protocolo clínico

Para llevar a cabo el estudio, se trasladó el videobroncoscopio (BF 260-T, Olympus), procesador de imagen y el resto del equipo de broncoscopia necesario a un quirófano convencional. La monitorización y la sedación del paciente eran realizadas por un anestesiólogo. El procedimiento se llevó a cabo tal y como se describe en el apartado 2.2.4.e (Descripción de la técnica) con la diferencia que, en este primer estudio, no se utilizó un balón de oclusión tras la realización de la biopsia. De tal forma que, tras la obtención de la muestra un segundo broncoscopista se dirigía a la zona de biopsia y comprobaba la ausencia de sangrado o, en caso de hemorragia, realizaba aspiración continua y oclusión del bronquio segmentario.

5.1.1.c. Variables

Se registró la duración del procedimiento, así como las complicaciones observadas: hemorragia, neumotórax e insuficiencia respiratoria aguda. Además de la descripción de las alteraciones histológicas, el anatomopatólogo evaluó las siguientes características de la muestra: tamaño, número de espacios alveolares, porcentaje de parénquima viable para el estudio histológico y porcentaje de parénquima pulmonar sin artefactos.

Según la aproximación diagnóstica que el patólogo establecía a partir de los hallazgos observados, las muestras se clasificaban en diagnóstico de certeza, diagnóstico de probabilidad, muestra no diagnóstica y material insuficiente.

5.1.2. Resultados del estudio I

Se incluyeron 10 pacientes con indicación de BPTB para el estudio de una enfermedad pulmonar difusa. Las características funcionales y antropométricas de los pacientes se muestran en la tabla 4. En cada paciente se obtuvieron entre 2 y 4 biopsias pulmonares transbronquiales con crisonda bajo control fluoroscópico y en todos los casos se realizó lavado broncoalveolar previo a la obtención de las biopsias. La duración media del procedimiento fue de 35 ± 11 minutos. Todos los pacientes fueron extubados y dados de alta a su domicilio. La estancia media hasta el alta domiciliaria fue de 156 ± 40 minutos. Ninguno de los pacientes requirió ingreso hospitalario.

Como complicaciones inmediatas, registradas durante el procedimiento, el 20% de los pacientes presentó sangrado grado ligero y en el 40% se objetivó sangrado grado moderado. Ningún paciente presentó hemorragia grave que obligara a suspender el procedimiento ni precisó medidas médicas o quirúrgicas adicionales. Ningún paciente presentó neumotórax ni insuficiencia respiratoria aguda tras la realización de la BPTB con criosonda. No se detectaron otras complicaciones 24 horas después del procedimiento.

Las biopsias obtenidas presentaban un área media de 9,5 mm² (rango entre 3 y 25 mm²) y un diámetro medio de 3,1 mm (rango entre 2,2 y 5 mm). El número medio de espacios alveolares conservados fue de 29,6 (rango entre 3 y 100). Según la escala utilizada para la valoración histológica de la muestra, el 60% de las muestras presentaron un porcentaje igual o superior al 75% de parénquima pulmonar libre de artefactos, el 50% de las muestras mostraron entre el 75 y 100% de parénquima viable para estudio histológico y únicamente en dos casos se obtuvo escasa representación de parénquima pulmonar, siendo el resto de la muestra pared bronquial.

En cuanto a los diagnósticos histológicos observados: 2 casos presentaron hallazgos compatibles con neumonía intersticial no específica, 3 casos alveolitis alérgica extrínseca y en 5 pacientes las alteraciones observadas no permitieron un diagnóstico histológico concreto por tratarse de cambios inespecíficos.

Edad (años)	64±8,4
Sexo (varón/mujer)	6/4
FVC (% pred.)	73±21,1
FEV ₁	80±20,1
FEV ₁ /FVC	81±7,4
TLC (% pred.)	78±12,3
DLCO (% pred.)	56±12,1
DLCO/VA (% pred.)	79±17,3

Los datos se presentan como media ± desviación estándar, o número de pacientes en el caso del sexo. DLCO/VA: capacidad de difusión de monóxido de carbono ajustada al volumen alveolar; DLCO: capacidad de difusión del monóxido de carbono; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada; TLC: capacidad pulmonar total.

Tabla 4. Variables clínicas y funcionales de los pacientes estudiados.

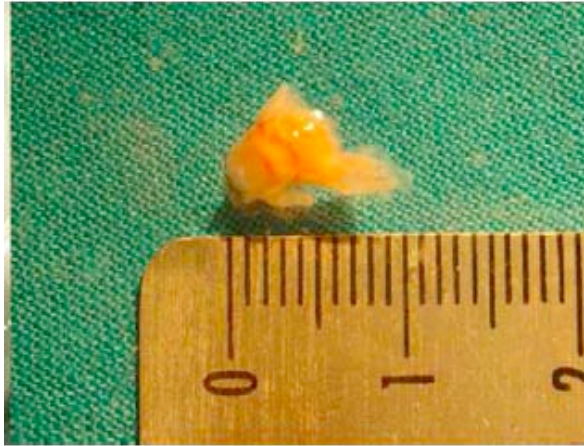


Figura 20. Imagen macroscópica de una muestra obtenida con criosonda.

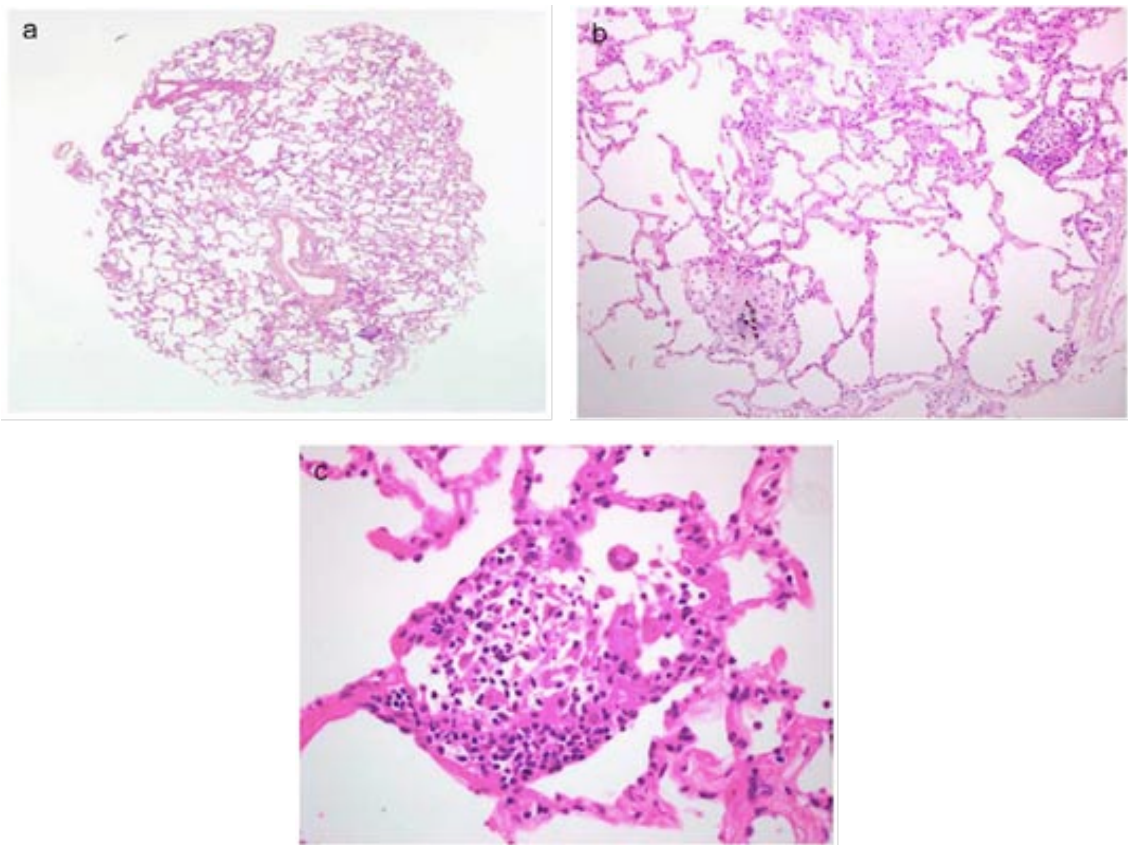
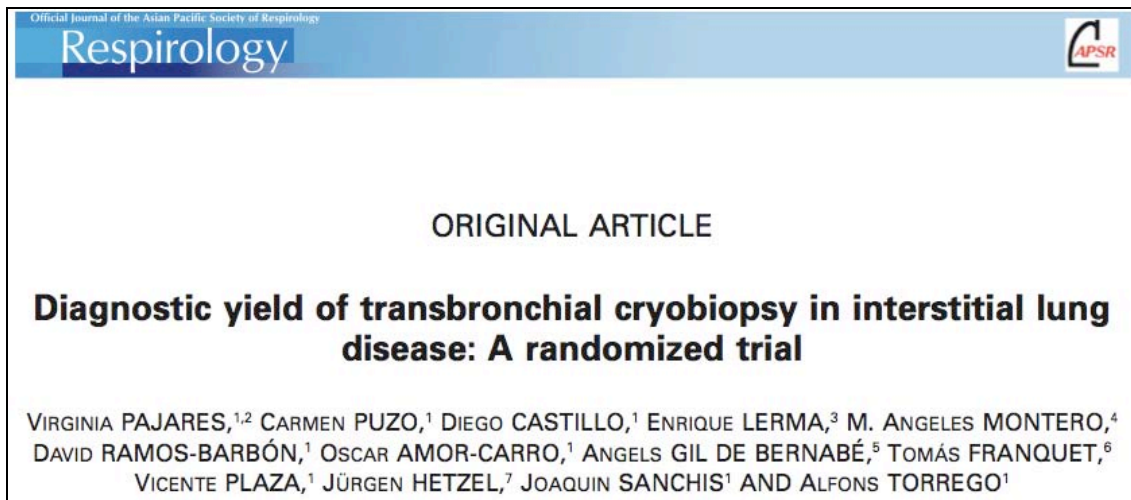


Figura 21. a) Imagen de microscopía óptica (2X) sobre corte histológico de biopsia pulmonar obtenida mediante criosonda. Tinción hematoxilina-eosina. Obsérvese la presencia de numerosos espacios alveolares, así como estructuras bronquiales y alveolares. El paciente fue diagnosticado de una alveolitis alérgica extrínseca. b) Imagen microscópica a mayor aumento del mismo caso (20X). Obsérvese el grado de conservación de las estructuras alveolares, así como la presencia de infiltrados mononucleares intersticiales leves y granulomas no caseificantes. c) Imagen microscópica (40X) donde se identifica un granuloma no caseificante.

5.2. ESTUDIO II: Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in interstitial lung disease: A randomized trial



5.2.1. Metodología del estudio II

Este estudio se realizó con el fin de valorar el rendimiento diagnóstico de la biopsia pulmonar con criosonda en comparación con el método convencional en el grupo de las enfermedades pulmonares intersticiales difusas.

5.2.1.a. Diseño del estudio y población

Se diseñó un ensayo clínico prospectivo, aleatorizado y simple ciego que incluyó pacientes con sospecha de enfermedad intersticial difusa. Se incluyeron pacientes con una edad comprendida entre 18 y 80 años que presentaban criterios clínicos y radiológicos de enfermedad pulmonar difusa y con indicación de biopsia pulmonar transbronquial. Todos los pacientes incluidos firmaron el consentimiento informado.

Se excluyeron los pacientes que presentaban hallazgos radiológicos típicos de patrón de NIU en la TACAR según el consenso actual ATS/ERS/JRS/ALAT (20). Otros criterios de exclusión fueron el uso de tratamiento anticoagulante no corregido, presencia de alteraciones de la coagulación, alteración ventilatoria grave y pacientes con patología cardíaca inestable.

El estudio se llevó a cabo en el Servicio de Neumología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona) y se realizó siguiendo las recomendaciones éticas internacionales para investigación y ensayos clínicos recogidas en la Declaración de Helsinki. El Comité Ético de Investigación Clínica del centro analizó y aprobó su realización.

5.2.1.b. Protocolo clínico

Los pacientes fueron aleatorizados y distribuidos en dos grupos en función del método asignado para la realización de la BPTB: criosonda o pinza convencional. Para la aleatorización de los pacientes, se escribió, mediante sintaxis del SPSS versión 16 para Windows (IBM Corp., Armonk, New York), un programa específico para este estudio, de tal forma que el resultado fuera equilibrado entre ambos grupos. Se asignó un tamaño de bloque de 10 casos. Con la información del listado se prepararon sobres individuales, para permitir la apertura de la asignación de forma individual. La secuencia de asignación aleatoria fue generada por el Servicio de Epidemiología Clínica y Salud Pública del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

En los pacientes del grupo convencional, la BPTB se realizó con pinza de biopsia: Biopsy Forceps Boston[®] Ref. 1556 y Olympus[®] Ref. FB-19E y en los pacientes del grupo criosonda se utilizó una criosonda flexible. La criosonda utilizada era una sonda flexible con un diámetro de 2,4 mm y una longitud de 900 mm (Ref. 20416-032) y conectada al equipo de crioterapia (Erbokryo[®] CA).

En ambos grupos se registró la saturación de oxihemoglobina, la presión arterial, la frecuencia cardíaca y respiratoria. En el grupo criosonda, por las características de la técnica, además se realizó un registro electrocardiográfico y capnográfico. La anestesia local de la vía aérea superior se realizó con la instilación de lidocaína tópica al 2%. Los procedimientos eran realizados con sedación endovenosa; en el grupo convencional la sedación se llevó a cabo con midazolam y en el grupo criosonda los fármacos utilizados fueron midazolam, remifentanilo y propofol. En el grupo criosonda, la BPTB se realizó según el protocolo descrito anteriormente y en el grupo convencional la técnica se realizó de la forma habitual y siguiendo las recomendaciones generales. La principal diferencia entre las

técnicas consistió en que en el grupo criosonda era necesario intubar al paciente con un tubo flexible y anillado (Broncoflex 7,5 mm, Rüschi®, Teleflex Medical, Durham, USA) para permitir la extracción conjunta del broncoscopio y la criosonda, lo que exigía una sedación profunda de los pacientes de este grupo.

Independientemente del método asignado, se planificó obtener un mínimo de tres biopsias de las zonas pulmonares afectadas que eran localizadas según la orientación radiológica. Del mismo modo, la biopsia transbronquial fue guiada por fluoroscopia y dirigida a las zonas de mayor afectación radiológica. Una vez realizados los procedimientos, el paciente permaneció bajo observación y, si no se evidenciaban complicaciones, era remitido a su domicilio o lugar de procedencia. El paciente disponía de un número de contacto para cualquier eventualidad y el investigador establecía contacto telefónico con el paciente a las 24 horas del procedimiento.

5.2.1.c. Procesado de muestras y variables histológicas

Tras la obtención de las biopsias pulmonares mediante pinzas de biopsia convencional o criosonda, el procesado de las muestras se realizó de la siguiente manera:

- Dos de las biopsias extraídas fueron remitidas al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau dónde se procedió a su fijación en formaldehído al 4% e inclusión en parafina. Para el estudio histológico se realizaron cortes de 4 a 5 μm de tamaño que se colocaron en un portaobjetos. Se procedió a eliminar la parafina de las secciones y posteriormente, se realizaron las tinciones de las muestras con hematoxilina-eosina, Tricrómico de Masson para la identificación del colágeno, tinción de Orceína para la detección de fibras elásticas y, cuando la sospecha clínica así lo indicaba, se procedía a realizar técnicas específicas para la detección de microorganismos como Plata de Metenamina, PAS, tinción Gram y tinción de Ziehl Neelsen.
- Una tercera muestra era remitida a la Unidad de Investigación Respiratoria del Instituto de Recerca Biomédica del Hospital de Sant Pau (IIB Sant Pau)

para su análisis de inmunofluorescencia e inmunohistoquímico. Inmediatamente tras su extracción, la muestra era introducida en un medio criosolidificable (OCT-Compound, Tissue- Tek 4583, Bayer) y debidamente identificada en un criomolde de plástico. Para su congelación se realizó inmersión en un medio altamente criogénico (nitrógeno líquido).

La aplicación de técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia se realizaron sobre secciones de tejido a partir del material de las biopsias pulmonares obtenidas con criosonda con el objetivo de valorar la presencia de daño celular en el tejido obtenido mediante este procedimiento. Para ello, las secciones fueron desparafinadas en xileno, etanol y tampón Tris salino (TBS). Se estabilizaron las membranas en 0,2% de Triton X-100 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) y fueron bloqueadas con 5% de suero de caballo (Vector Laboratories, Southgate, Peterborough, UK). Las muestras se incubaron con un anticuerpo monoclonal de ratón para α -SMA (clon 1A1; Sigma Aldrich, a una concentración de 2 μ g/ml) o con antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA; clone Ab-1; Calbiochem. Merk Chemicals, Darmstadt, Hesse, Germany) a una concentración de 2,5 μ g/ml). Para la tinción inmunohistoquímica del antígeno nuclear de proliferación celular las secciones fueron procesadas mediante el equipo 2100 Antigen Retriever® (Electron Microscopy Sciences, Hatfield, Pennsylvania).

El análisis histológico se realizó por dos patólogos independientes de dos centros hospitalarios diferentes que eran ciegos al tipo de técnica utilizada para la obtención de las muestras pulmonares.

La valoración de la calidad de las muestras fue establecida mediante las siguientes variables:

- Tamaño (diámetro y área).
- Número de espacios alveolares.
- Porcentaje de parénquima preservado. Para realizar este cálculo, se dividió el parénquima en cuartiles y se evaluó el porcentaje de parénquima pulmonar libre de artefactos. Se consideró artefacto la presencia de atelectasia, fragmentación del tejido y coágulos presentes en la muestra.

Según la valoración histológica de los patólogos, las muestras se distribuían en los siguientes patrones: diagnóstico: definido por la presencia de hallazgos histológicos característicos o compatibles de una enfermedad y no diagnóstico: definido por la presencia de cambios histológicos mínimos no sugestivos de ningún patrón.

Asimismo, el diagnóstico final se estableció tras la valoración multidisciplinar y el consenso de los clínicos, radiólogos y patólogos que participaron en el estudio.

5.2.1.d. Variables relativas a los procedimientos

Se registró el tiempo empleado en su realización y las complicaciones observadas: hemorragia y neumotórax. La clasificación de la hemorragia se realizó mediante una escala modificada donde el grado 0: ausencia de sangrado, el grado 1: presencia de restos hemáticos que no requerían maniobras endoscópicas adicionales, el grado 2: sangrado que requería algún procedimiento endoscópico como succión y oclusión o hinchado del balón de oclusión y el grado 3: sangrado importante no controlado endoscópicamente que causa inestabilidad hemodinámica y/o respiratoria o que requiere medidas quirúrgicas o ingreso en una unidad de cuidados intensivos.

En cuanto al neumotórax, se registró el número total de pacientes que presentaron esta complicación tras los procedimientos y la necesidad de colocación de tubo de drenaje.

5.2.1.e. Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el paquete estadístico de SPSS, versión 16 para Windows (IBM Corp., Armonk, New York). En el análisis descriptivo, los resultados se mostraron como media y desviación estándar para variables cuantitativas y como valor absoluto y porcentaje para variables cualitativas.

El objetivo principal del estudio fue la evaluación del rendimiento diagnóstico de la BPTB con criosonda en comparación con la BPTB con criosonda. El rendimiento diagnóstico se calculó para cada técnica diagnóstica, se aceptó un error alfa del 5% y un error beta del 20% y se fijó el porcentaje de pérdidas en un

10%. Se calculó una diferencia mínima del 32% entre los grupos en la obtención de un diagnóstico histológico. El tamaño del grupo se calculó en 80 pacientes. Se utilizó una tabla de contingencia para la comparación del rendimiento diagnóstico entre ambas técnicas. La inferencia sobre la tabla de contingencia se llevó a cabo mediante el test de Chi-cuadrado.

El análisis del resto de las variables secundarias, en el caso de las variables cualitativas se realizó mediante el test de Chi-cuadrado y para la comparación de variables cuantitativas se utilizó la prueba de t de Student (o U de Mann-Withney en caso de no poder asumir normalidad).

La aproximación utilizada en todos los test fue bilateral y el nivel de significación del 5 %.

5.2.2. Resultados del estudio II

Se valoraron 80 individuos de los que se aleatorizaron un total de 77 pacientes, 38 pacientes fueron incluidos en el grupo convencional y 39 en el grupo criosonda. El diagrama de flujo y los principales hallazgos se resumen en la figura 22.

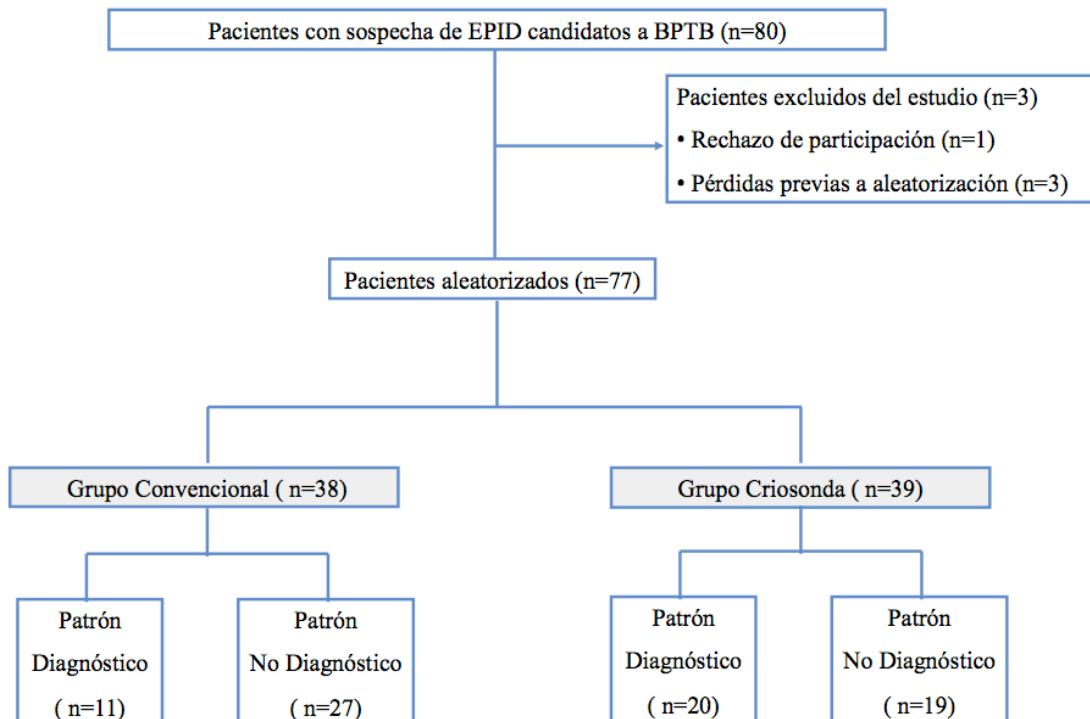


Figura 22. Diagrama de flujo que muestra la selección y la aleatorización de los pacientes y los principales hallazgos de los grupos (diagnóstico final tras consenso multidisciplinar).

5.2.2.a. Rendimiento diagnóstico de los procedimientos

La BPTB con criosonda permitió establecer un diagnóstico histológico en el 74,4% de los pacientes mientras que la BPTB con pinzas convencionales obtuvo un diagnóstico histológico en el 34,1% de los pacientes ($p < 0,001$). El rendimiento diagnóstico de las técnicas fue establecido tras la valoración de la información clínica, radiológica e histológica de cada caso por un comité multidisciplinar. En el grupo criosonda, el rendimiento diagnóstico resultó superior que en el grupo convencional (51,4% *versus* 29,1%, respectivamente) ($p = 0,038$).

El 24,3% de las muestras obtenidas en el grupo convencional presentaron un tamaño insuficiente para el estudio histológico (< 1 mm), no observándose ninguna muestra de estas características en el grupo criosonda ($p = 0,001$).

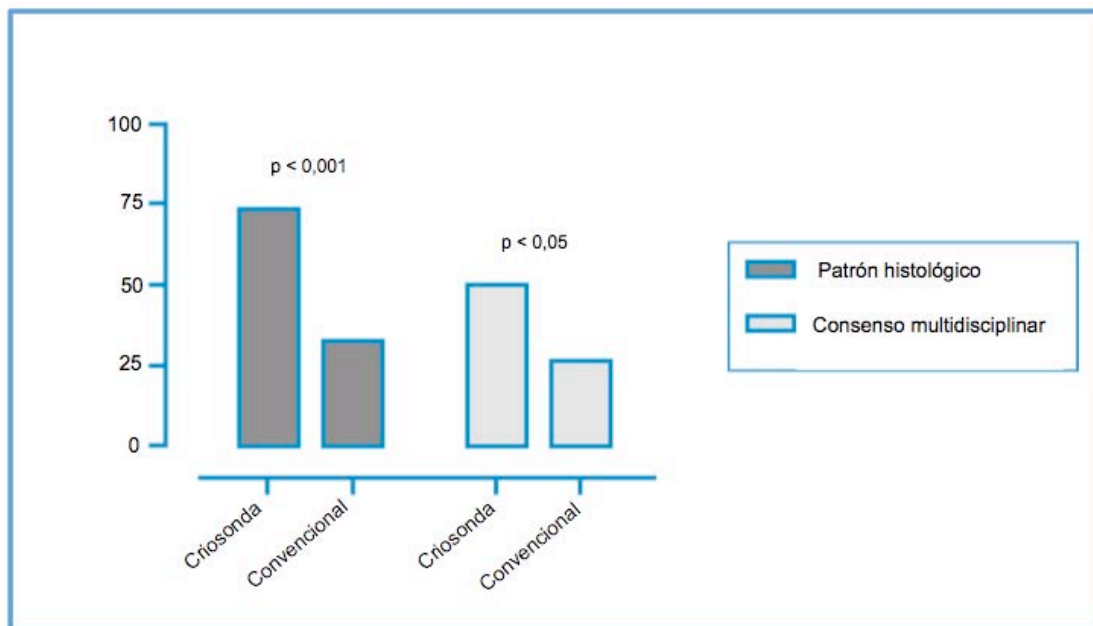


Figura 23. Rendimiento diagnóstico del patrón histológico y del consenso multidisciplinar.

Los patrones histológicos y los diagnósticos finales tras la valoración multidisciplinar se muestran en la tabla 5.

Histopathologic diagnosis				Multidisciplinary diagnosis			
Histopathologic diagnosis	Cryoprobe group n (%)	Conventional-forceps group n (%)	P-value	Diagnostic consensus	Cryoprobe group n (%)	Conventional-forceps group n (%)	P-value
• Nonspecific interstitial pneumonia	12 (30.8)	1 (2.6)		• Nonspecific interstitial pneumonia	10 (25.7)	0	
• Diffuse alveolar damage	1 (2.6)	2 (5.3)		• Acute alveolar injury	1 (2.6)	0	
• Organizing pneumonia	3 (7.7)	3 (8)		• Infection	0	2 (5.3)	
• Sarcoidosis	1 (2.6)	2 (5.1)		• Organizing pneumonia	3 (7.7)	3 (8)	
• Bronchiolitis-associated DILD	2 (5.1)	1 (2.6)		• Sarcoidosis	1 (2.6)	2 (5.3)	
• Hypersensitivity pneumonitis	3 (7.7)	0		• Respiratory-bronchiolitis associated DILD	2 (5.1)	1 (2.6)	
• Eosinophilic pneumonia	0	2 (5.3)		• Hypersensitivity pneumonitis	3 (7.7)	0	
• Adenocarcinoma	0	1 (2.6)		• Eosinophilic pneumonia	0	2 (5.3)	
• Usual interstitial pneumonia	7 (17.9)	1 (2.6)		• Adenocarcinoma	0	1 (2.6)	
Total	29 (74.4)	13 (34.1)	<0.001	Total	20 (51.4)	11 (29.1)	0.038

Data are presented as number of subjects and percentage.
DILD, diffuse interstitial lung disease.

Tabla 5. Diagnóstico histopatológico y diagnóstico final tras revisión por un comité multidisciplinar.

5.2.2.b. Características histológicas de las muestras

Se evaluaron 266 muestras pulmonares, de las que 126 eran muestras obtenidas con pinza de biopsia convencional y 140 con criosonda. No hubo diferencias significativas en el número de biopsias realizadas con cada método.

Las muestras obtenidas con pinzas de biopsia convencional presentaron un diámetro medio de $1,8 \pm 1$ mm frente a $4,1 \pm 1,5$ mm de las muestras obtenidas con criosonda ($p < 0,001$) (figura 24). El área tisular también presentó valores significativamente inferiores en las muestras del grupo criosonda con respecto al grupo convencional ($3,3 \pm 4,1$ mm² versus $14,7 \pm 11$ mm², $p < 0,001$) (figura 25). Todas las muestras obtenidas mediante BPTB con criosonda presentaron un área superior o igual a 3 mm² mientras que cuando la BPTB se obtuvo con pinza convencional este dato se redujo al 45,9% de los casos ($p < 0,001$).

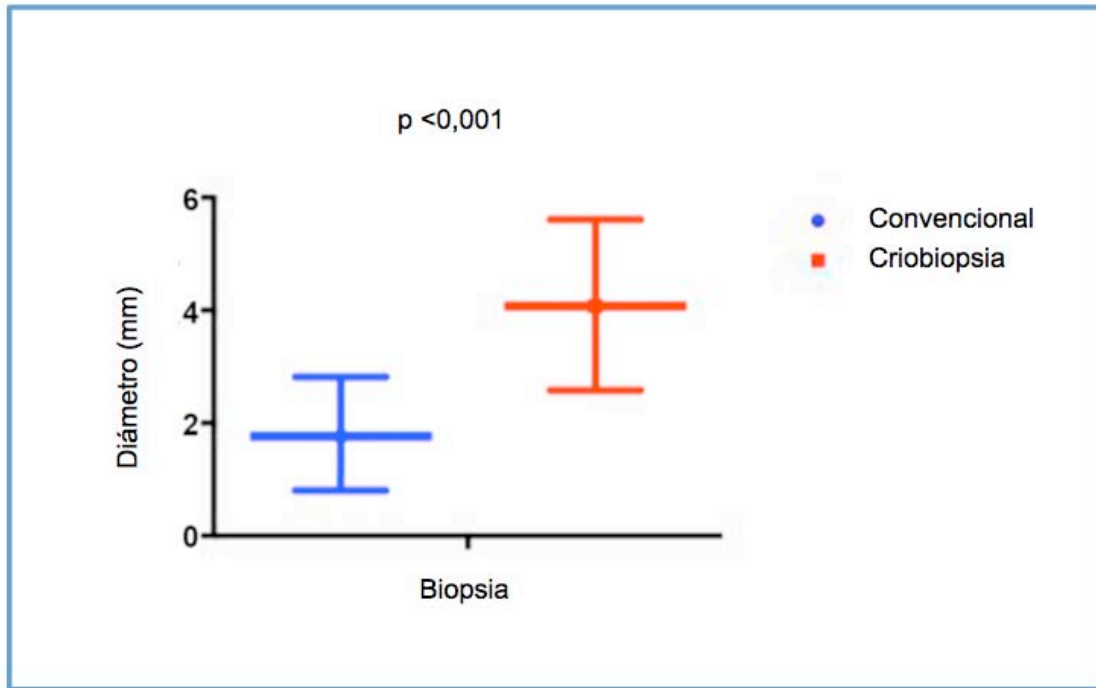


Figura 24. Diámetro de las muestras obtenidas mediante las dos técnicas.

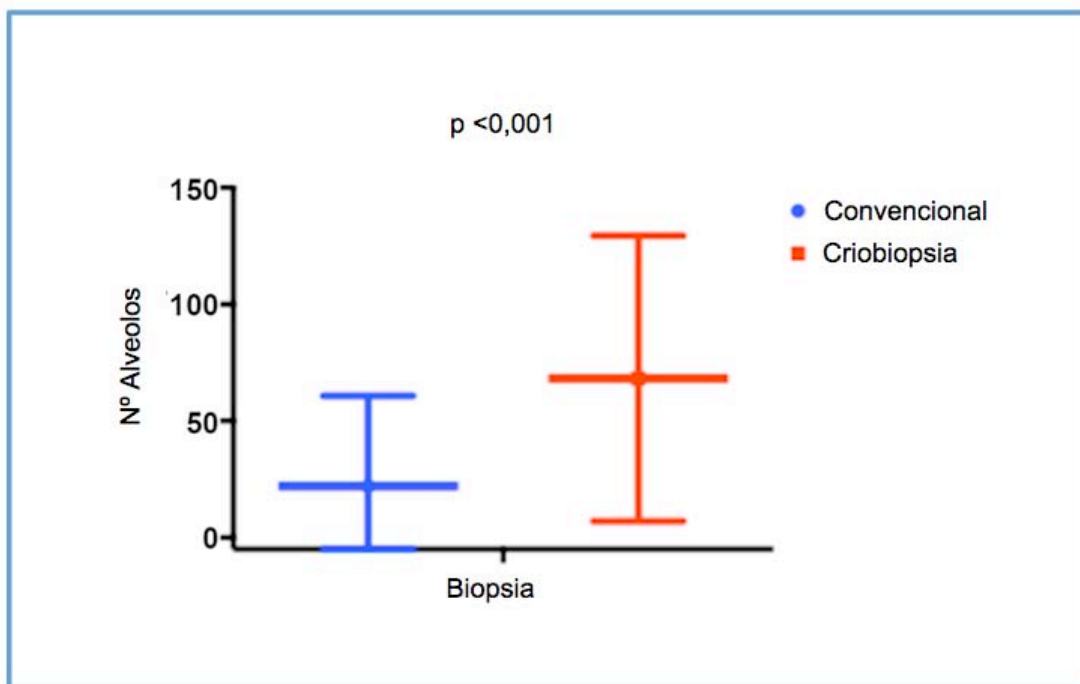


Figura 25. Número de alveolos presentes en las muestras obtenidas mediante ambos métodos.

El grado de conservación de las muestras se valoró por la presencia de parénquima pulmonar con representación alveolar libre de artefactos. El 66,6% de

las biopsias obtenidas con criosonda presentaron un porcentaje de parénquima libre de artefactos mayor o igual al 75%. Las características histológicas de los grupos se presentan en la tabla 6.

Variabes	Grupo Criosonda	Grupo Convencional	p-valor
Nº total de muestras	140	126	0.342
Nº de muestras por procedimiento	3.7 ± 0.9	3.5 ± 1.2	0.44
Diámetro (mm)	4.1 ± 1.5	1.8 ± 1	< 0.001
Area (mm ²)	14.7 ± 11	3.3 ± 4.1	< 0.001
Nº de alveolos	68.2 ± 61.2	22.0 ± 39.8	< 0.001
Presencia de tejido pleural	5 (3.6%)	3 (2.4%)	0.711
Presencia de pared bronquial	12 (8.6%)	10 (7.9%)	0.802
Área libre de artefactos (%) *	66.6	31.6	0.012
Los datos se presentan como media ± desviación estándar y número total de muestras (%). *Porcentaje de muestras que presentan ≥ del 75% del parénquima libre de artefactos.			

Tabla 6. Variables histológicas y calidad de las biopsias.

5.2.2.c. Análisis inmunohistoquímico de las muestras obtenidas con criosonda.

Las muestras obtenidas con criosonda mostraron una arquitectura tisular preservada y no se observaron artefactos secundarios a la congelación. El análisis de las secciones de biopsias obtenidas con criosonda demostró una alta calidad para las tinciones convencionales histopatológicas como la tinción con hematoxilina-eosina y con tricrómico de Masson. Además, también fue posible la detección inmunohistoquímica de antígenos citoplásmicos y nucleares como α-SMA y PCNA respectivamente (figura 26).

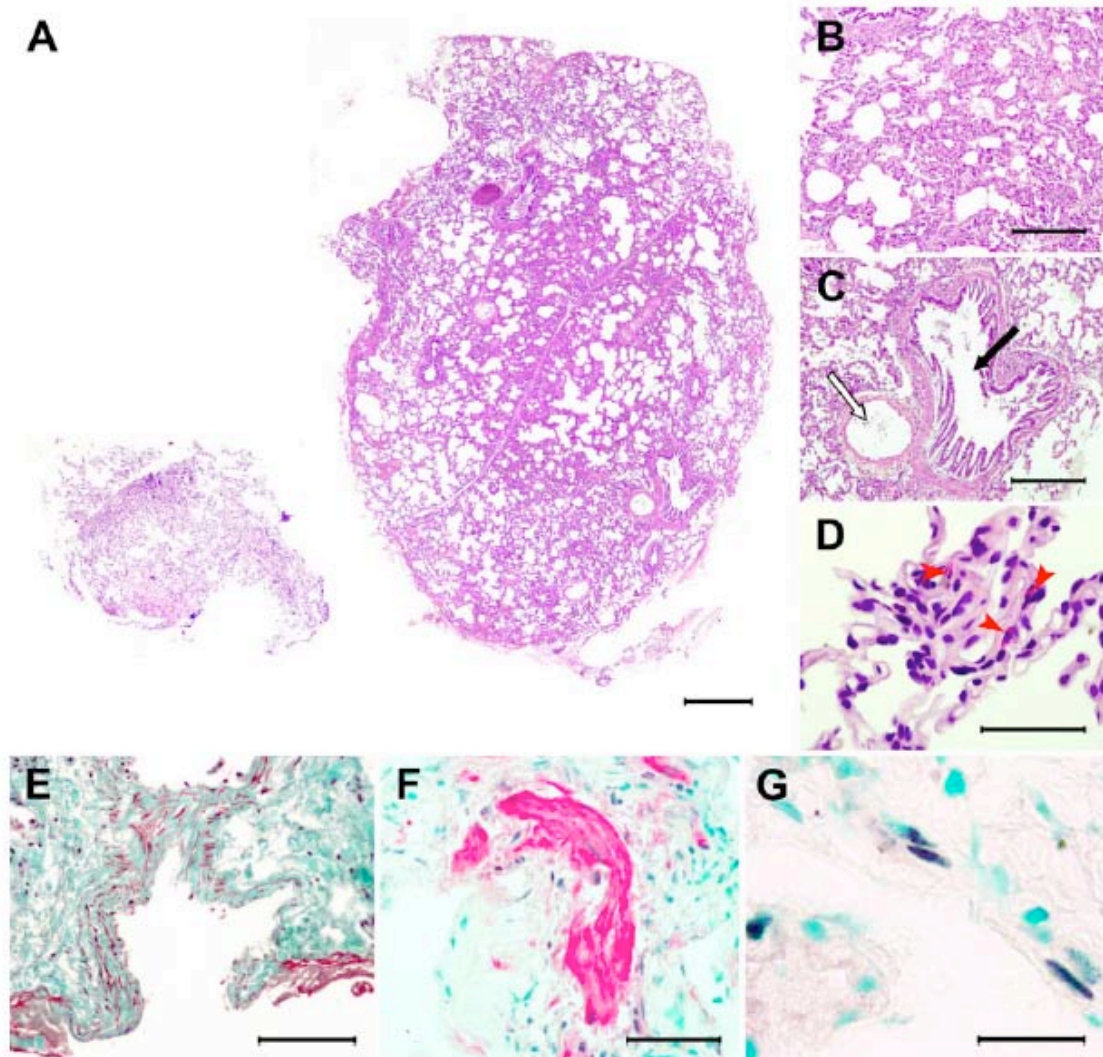


Figura 26. Secciones microscópicas teñidas con HE (A-D) y tricrómico de Masson (E). En (A) se muestran secciones tisulares completas de una biopsia transbronquial con pinza convencional (izquierda) y con criosonda (derecha). La criobiopsia permite examinar un elevado número de alveolos (A, B). Bronquiolo (C, flecha negra) y vaso acompañante (flecha blanca) también están presentes en la muestra obtenida con criosonda. Se objetivan otros detalles histopatológicos como un infiltrado eosinófilo (D, flechas). El tricrómico de Masson revela un extenso depósito de matriz extracelular (E). El análisis inmunohistoquímico permitió una clara definición de células positivas para α -SMA (F, rojo) and PCNA (G, azul oscuro). Escala: 500 μ m (A); 200 μ m (B, C); 50 μ m (D, F); 100 μ m (E); 20 μ m (G).

5.2.2.d. Complicaciones de los procedimientos

Las complicaciones registradas se muestran en la tabla 7. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el número de complicaciones generales de los pacientes en los que se realizó la BPTB con

pinzas convencionales y los pacientes en los que se llevó a cabo con criosonda ($p=0,346$). En el grupo convencional se observó un número inferior de hemorragias grado 2 en relación con el grupo criosonda (34,2% *versus* 56,4%) aunque este dato no resultó significativo ni clínicamente relevante. En ninguno de los grupos se observaron hemorragias graves que precisaran medidas endoscópicas ni quirúrgicas adicionales. No se observaron diferencias entre los grupos en los parámetros de coagulación ($p=0,09$) ni en el recuento de plaquetas ($p=0,68$).

Se produjeron dos neumotórax en el grupo convencional y tres en el grupo criosonda. Los tres casos de neumotórax del grupo criosonda requirieron colocación de tubo de drenaje pleural mientras que en el grupo convencional la colocación del tubo de drenaje sólo fue necesaria en uno de los casos.

Complicaciones	Grupo Criosonda n (%)	Grupo Convencional n (%)	p-valor
Hemorragia			
Grado 0	5 (12.8)	8 (21.1)	0.068
Grado 1	12 (30.8)	17 (44.7)	
Grado 2	22 (56.4)	13 (34.2)	
Grado 3	0 (0)	0 (0)	
Neumotórax	3 (7.7)	2 (5.2)	0.999
Datos presentados como número total (%).			

Tabla 7. Complicaciones registradas durante los procedimientos distribuidas por grupos.

6. DISCUSIÓN CONJUNTA

La biopsia pulmonar transbronquial es una técnica broncoscópica indicada en el estudio de las enfermedades pulmonares difusas. Estudios previos, que evaluaron el rendimiento diagnóstico de este procedimiento, ponen de manifiesto la variabilidad en la capacidad de obtener un diagnóstico histológico cuando las muestras son obtenidas con una pinza convencional (5-9). Esta variabilidad es debida, entre otros factores, al pequeño tamaño de las biopsias (106, 107) y a la presencia de artefactos que alteran la calidad de las muestras (11).

Los dos trabajos presentados en esta tesis evalúan la utilización de criosondas para la obtención de parénquima pulmonar como una alternativa diagnóstica a la biopsia pulmonar transbronquial convencional. Ambos estudios se llevaron a cabo en pacientes con sospecha de enfermedad intersticial difusa.

6.1. Viabilidad del uso de criosondas para realizar la BPTB y descripción de la técnica

La utilización de sondas de crioterapia flexibles, con mayor poder y velocidad de congelación que las sondas rígidas, ha permitido la obtención de muestras tisulares de un tamaño superior a las obtenidas mediante el método convencional. Esto se debe a las recientes modificaciones técnicas de las sondas que dan lugar a una mayor estabilidad del agente criogénico en el canal de las mismas. Las características anteriormente mencionadas condicionan un incremento de la tracción sobre el tejido y permiten aumentar el rendimiento terapéutico del procedimiento. Así, en cuanto a la eficacia de la crioterapia con la nueva generación de sondas flexibles, Hetzel y colaboradores (127), demostraron su viabilidad en la exéresis completa de tumores endobronquiales que presentaban una ocupación endoluminal importante sin un aumento de las complicaciones. Hasta la publicación de este estudio, la utilización de criosondas en broncoscopia estaba orientada a la exéresis de tumores endobronquiales de pequeño tamaño o al tratamiento de lesiones superficiales en la mucosa bronquial como el carcinoma *in situ*, respondiendo, principalmente, a un objetivo terapéutico (124). Estos resultados establecieron la base para que Schumann y colaboradores (128) demostraran que las biopsias endobronquiales obtenidas con criosonda eran

óptimas para el análisis histológico. En su estudio, los autores incluyeron 55 pacientes en los que la biopsia fue realizada, de forma consecutiva, mediante pinza convencional y criosonda y objetivaron que el área de las criobiopsias era significativamente superior al área de las muestras obtenidas con pinza convencional. La calidad histológica, valorada mediante un análisis de imagen cuantitativo, también resultó superior en las muestras obtenidas con criosonda. En un estudio posterior, Hetzel y colaboradores (131) confirmaron la viabilidad de las técnicas de inmunohistoquímica de las criobiopsias. En su estudio, se utilizaron con éxito anticuerpos monoclonales contra el factor de transcripción tiroideo (TTF-1), pancitoqueratina (Pan-CK), citoqueratina 7, citoqueratina 20, proteína CDX2, calretinina, vimentina, cromogranina y sinaptofisina. Este análisis permitió confirmar el diagnóstico de tumores de diferentes estirpes celulares. Los resultados de este estudio resultan interesantes ya que, en ocasiones, es difícil establecer el diagnóstico de un tumor pulmonar primario y/o diferenciarlo de un tumor metastásico (165, 166). En los últimos años se han producido múltiples avances en el abordaje del cáncer de pulmón y, en concreto, en el cáncer de pulmón no microcítico (CPNM). La determinación de técnicas de inmunohistoquímica es fundamental para conseguir un diagnóstico correcto. Así, los anticuerpos dirigidos contra TTF-1 resultan positivos en los adenocarcinomas mientras que los carcinomas de células escamosas son positivos para la expresión de la proteína p63 (166, 167). En esta línea, la identificación de alteraciones moleculares como mutaciones y amplificaciones génicas está permitiendo seleccionar e individualizar el tratamiento en algunos subgrupos de pacientes con enfermedad avanzada. Entre estas dianas destacan la mutación de KRAS, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y los reordenamientos de la quinasa del linfoma anaplásico (ALK). En la práctica clínica habitual, la determinación de mutaciones implica cambios en la actitud terapéutica ya que, en función de la mutación objetivada, los pacientes presentan diferentes respuestas al tratamiento (168). En estos casos, es fundamental disponer de tejido suficiente para la realización de técnicas de inmunohistoquímica y determinaciones moleculares por lo que, en muchas ocasiones con los procedimientos convencionales, es necesario repetir las exploraciones para obtener biopsias adicionales que permitan aplicar las técnicas adecuadas (169-172).

En cuanto al uso de criosondas en la BPTB, nuestro estudio: *Utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial* es el primer estudio realizado de forma prospectiva en pacientes con sospecha de enfermedad intersticial difusa con la finalidad principal de evaluar la viabilidad, describir la metodología de la obtención de las muestras y analizar la seguridad de la técnica.

Con el objetivo de determinar la viabilidad de la técnica en nuestro medio, el estudio se llevó a cabo en el ámbito quirúrgico. Este hecho podría suponer un incremento de la complejidad y de los costes derivados de la técnica. Sin embargo, uno de los objetivos principales de este primer trabajo fue la valoración de la seguridad y, debido a la escasa literatura existente, se decidió realizar el procedimiento en las condiciones de mayor seguridad posible, optimizando la monitorización y el control del paciente. Además, a pesar de que el procedimiento se realizó en un quirófano, la técnica continuó conservando el carácter ambulatorio por lo que, tal y como ocurre en el caso de la BPTB con pinzas convencionales, el paciente no precisó ingreso hospitalario.

En el estudio se describe la metodología de la técnica y las herramientas necesarias para llevarla a cabo. Una diferencia con respecto al procedimiento convencional es la necesidad de intubación orotraqueal. Esto facilita la entrada y salida del videobroncoscopio con la criosonda y la muestra adherida en su extremo, ya que el tamaño de la muestra no permite el paso a través del canal de trabajo del broncoscopio. Metodológicamente, esta forma de obtención de las muestras es similar a la descrita por otros autores (127, 128, 131, 135, 136). Sin embargo, en el estudio realizado por Yarmus y colaboradores (139) la biopsia con criosonda fue llevada a cabo mediante broncoscopio rígido en 10 procedimientos y en otros 11 procedimientos se utilizó mascarilla laríngea en lugar de intubación orotraqueal. Asimismo, Fruchter y colaboradores (144) describen la biopsia transbronquial con criosonda en 41 pacientes sin necesidad de IOT ni mascarilla laríngea. En nuestro estudio, tal y como describen Babiak y colaboradores (136), se utilizó un tubo endotraqueal ya que, además de facilitar la técnica, evitaba la posibilidad de producir lesiones y traumatismos en la mucosa orotraqueal.

La intubación orotraqueal implica diferencias en el nivel de sedación. Actualmente, en el ámbito de la neumología intervencionista, son numerosos los

procedimientos broncoscópicos que requieren una sedación más profunda y se han descrito protocolos de las técnicas anestésicas para llevarlos a cabo (174, 175). En este sentido, la introducción de nuevas tecnologías y la realización de procedimientos más complejos en las unidades de endoscopia respiratoria hacen cada vez más frecuente la presencia de un anestesiólogo y/o de personal de enfermería especializado en el manejo de la sedación (175). En nuestro estudio, y de forma concordante con los estudios realizados, la biopsia pulmonar transbronquial con criosonda requirió el uso de fármacos que condicionaban un mayor nivel de sedación, como el remifentanilo y el propofol, por lo que no fue posible usar el signo clásico de dolor en punta de costado como signo de irritación pleural. En nuestra experiencia, resultó útil el control fluoroscópico para comprobar la localización de la sonda a 1 y 2 cm de la pleura visceral.

El estudio de Babiak y colaboradores (136) fue uno de los primeros trabajos en publicar datos relativos a la calidad de las muestras y a las complicaciones en pacientes con enfermedad intersticial difusa. Los autores describen muestras obtenidas con pinza con un área media de 5,82 mm² frente a los 15,11 mm² del área media de las muestras obtenidas con criosonda. En este estudio las complicaciones observadas fueron relativamente bajas, el 4,87% de los pacientes presentaron neumotórax y no se observó ningún sangrado grave. Sin embargo, no es posible extraer resultados definitivos en cuanto a seguridad de la técnica teniendo en cuenta que ambos procedimientos fueron realizados en el mismo paciente.

En el estudio que realizamos, ningún paciente presentó neumotórax ni sangrado grave. El hecho de no observar sangrados significativos podría estar en relación con la meticulosa selección de los pacientes en el que se excluyeron pacientes con mayor riesgo. Los efectos hemostáticos producidos por el frío como la vasoconstricción y la microtrombosis capilar en la zona de contacto de la criosonda también podrían contribuir a retrasar y disminuir el volumen de los sangrados secundarios a la realización de este procedimiento.

Según los estudios citados, el sangrado que se produce tras la realización de la biopsia con criosonda, es un sangrado ligero o moderado que no requiere maniobras endoscópicas adicionales, aunque debido a la dificultad de visualizar de

forma inmediata la hemorragia producida, se están comenzando a describir y proponer metodologías que permiten la colocación de balones de oclusión o catéteres para aumentar la seguridad y poder controlar de forma inmediata una eventual complicación (140). Nuestra publicación anexada en esta tesis: *Utilización de un balón de oclusión en la realización de las biopsias pulmonares transbronquiales con criosonda* describe, de forma detallada, esta modificación de la metodología inicial.

Con respecto al neumotórax, en general oscila entre el 1 y el 10% excepto en el estudio de Casoni y colaboradores (153) en el que esta complicación se produce en el 29% de los casos debido a las características de los pacientes incluidos (pacientes con neumopatía intersticial y patrón fibrótico) y a la obtención de un mayor número de biopsias subpleurales (< 1 cm).

Desde el punto de vista metodológico, nuestro estudio confirma que la utilización de criosondas para realizar la BPTB es un procedimiento técnicamente viable y que se realiza de forma similar a la técnica convencional por lo que no necesita un periodo de aprendizaje largo.

6.2. Rendimiento diagnóstico y seguridad de la BPTB con criosonda

El segundo estudio: *Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in interstitial lung disease: a randomized trial* es el primer estudio prospectivo que demuestra que, en los pacientes con sospecha de EPID, la realización de la BPTB mediante criosonda aumenta el rendimiento diagnóstico sin un aumento significativo de las complicaciones. La principal utilidad de la BPTB en la EPID es obtener muestras adecuadas que permitan establecer un diagnóstico específico y evitar, de esta forma, la repetición de exploraciones complementarias y la realización de otros procedimientos más complejos como la biopsia quirúrgica. Varios autores han cuestionado el papel de la BPTB con pinza convencional en el diagnóstico de algunas enfermedades intersticiales, especialmente en el caso de la neumonía intersticial usual (NIU) (12, 29, 152). En el año 2002, fue publicado el consenso de la ATS/ERS con la clasificación de las NII que ha sido actualizada recientemente (18, 19). Esta guía recomienda un algoritmo diagnóstico donde la BPTB es una

alternativa únicamente en casos seleccionados de pacientes siendo la biopsia quirúrgica la técnica de elección.

En cuanto a las patologías intersticiales difusas que presentan un patrón fibrótico, la histología es el elemento clave en el diagnóstico multidisciplinar cuando los datos clínicos y radiológicos no permiten establecer un diagnóstico preciso. En este grupo de patologías, la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) es la entidad más frecuente y de peor pronóstico (19). Esta entidad se caracteriza por la presencia de un patrón histológico de NIU en un contexto clínico adecuado. Se han definido los hallazgos radiológicos típicos que permiten el diagnóstico mediante una TACAR. Otras entidades que pueden presentar un patrón histológico de NIU son algunas enfermedades sistémicas, las formas fibróticas de neumonía intersticial no usual, la alveolitis alérgica extrínseca en fase crónica, la neumonitis por fármacos o algunas fibrosis familiares, entre otras. En estas entidades resulta crucial establecer un diagnóstico adecuado debido a las diferencias en el pronóstico en relación a la FPI y a la posibilidad de iniciar tratamientos específicos. Es por ello que el hallazgo de un patrón de NIU en la biopsia no debe interpretarse como FPI sino que se ha de integrar de forma adecuada, la información de la TACAR, la clínica y los hallazgos histopatológicos (19, 21). Hasta el momento, en los casos en los que no es posible establecer un diagnóstico, las guías clínicas recomiendan la realización de una biopsia quirúrgica. Existen pocos datos que avalen el papel de la criobiopsia en el diagnóstico de patologías intersticiales con un patrón fibrótico. Recientemente, Casoni y colaboradores (153) han realizado un estudio en el que incluyeron 69 pacientes que presentaban hallazgos clínicos y radiológicos de neumopatía intersticial difusa con patrón fibrótico. En este estudio el análisis histológico de las muestras obtenidas con criosonda permitió establecer un diagnóstico específico en el 76% de los pacientes y de ellos en el 32% de los casos se objetivó un patrón típico de NIU y en el 30% un patrón de posible NIU. Estos resultados coinciden con el estudio realizado por Kropski y colaboradores (177) que evaluaron el papel de la criobiopsia en 25 pacientes con enfermedad intersticial difusa. El rendimiento diagnóstico de las biopsias obtenidas con criosonda fue del 80% y, en 7 de los 25 casos estudiados, las biopsias mostraron un patrón histológico compatible con NIU.

En nuestro estudio el rendimiento diagnóstico de la BPTB con criosonda fue del 74,4% con respecto al 34,1% cuando la BPTB era realizada con pinza convencional. En cuanto a los diagnósticos específicos es interesante destacar que en el 30,8% de los casos del grupo criosonda fue posible establecer el diagnóstico de neumonía intersticial no específica basándose en el hallazgo de un infiltrado crónico celular con afectación homogénea en las biopsias obtenidas con criosonda mientras que en el grupo convencional este diagnóstico sólo fue posible en 1 caso (2,6%). Sin embargo, observamos que en el 17,9% de los casos que mostraron un patrón histológico de NIU en la biopsia obtenida con criosonda, el comité multidisciplinar no fue capaz de establecer un diagnóstico específico final. Este dato que, resulta contrario a los resultados publicados en estudios recientes (153, 177), puede explicarse por los exigentes criterios de inclusión. En el estudio presentado, se excluyeron pacientes con un patrón radiológico claro de NIU y de posible NIU. Así, a pesar de la observación de un patrón histológico de NIU, los datos clínicos y radiológicos no permitieron establecer un diagnóstico final de consenso y fue preciso realizar otros procedimientos.

En general, el incremento en el rendimiento diagnóstico de la criobiopsia se atribuye a la obtención de muestras de mayor tamaño y con una calidad histológica superior a la observada en las biopsias transbronquiales obtenidas mediante pinza convencional. El tamaño, el número de biopsias realizadas y la presencia de artefactos como la hemorragia intraalveolar son características relacionadas clásicamente con el rendimiento diagnóstico de la BPTB. Las biopsias pulmonares obtenidas con pinzas convencionales pueden presentar artefactos secundarios al efecto de la compresión del forceps sobre el tejido y artefactos secundarios al procesado de las muestras. Estos artefactos, descritos por Kendall y colaboradores (11), empeoran la calidad de las muestras obtenidas y pueden dificultar la correcta interpretación histológica de las mismas.

En nuestra serie, las biopsias pulmonares transbronquiales obtenidas con criosonda mostraron un mayor porcentaje de parénquima libre de artefactos (atelectasias, coágulos y fragmentación del tejido). Así, el 66% de las criobiopsias presentaron más del 75% de parénquima pulmonar sin artefactos en comparación con el 30% de las muestras obtenidas de forma convencional. Este resultado se encuentra en relación con la diferente forma de obtención de las muestras, que en

el caso de la biopsia pulmonar transbronquial con criosonda, permite la rápida congelación del tejido y la extracción de la muestra por tracción, por lo que no se observan artefactos secundarios a la compresión del tejido. Además, es destacable que la preservación de las muestras fue confirmada con la aplicación de técnicas de inmunohistoquímica que demostraron una óptima calidad en la detección de antígenos citoplásmicos y nucleares, incluyendo la detección del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA).

Otra de las limitaciones de la BPTB convencional en el logro de un diagnóstico histológico preciso, es el reducido tamaño de la muestra. En un estudio realizado por Curley y colaboradores (106) en el que se analizaron 170 muestras obtenidas mediante BPTB, se observó que el 50% de las biopsias tenían un tamaño menor a 3 mm, lo que condicionaba, además, la presencia de un número reducido de espacios alveolares (menos de 20 espacios alveolares en el 48% de las muestras). En nuestra serie se analizaron 266 biopsias pulmonares de las que 140 correspondían a biopsias obtenidas con criosonda. El diámetro y el área tisular del grupo de criosonda resultó significativamente superior con respecto al grupo convencional. Ninguna de las muestras obtenidas mediante criobiopsia presentó un tamaño inadecuado y todas fueron viables para el estudio histológico. Asimismo, el número medio de alveolos presentes en las muestras obtenidas con criosonda fue de 68,2 en comparación con los 22 espacios alveolares de las muestras convencionales. Estos datos se encuentran en consonancia con los resultados de los estudios realizados hasta el momento que, tras el análisis anatomopatológico e inmunohistológico de los especímenes tisulares obtenidos con criosondas, han objetivado que las biopsias con criosonda son superiores en tamaño y en calidad respecto a las obtenidas mediante pinzas de biopsia convencional (128, 131, 136).

En relación con la seguridad, los efectos adversos descritos más frecuentes asociados a la realización de la BPTB con pinza convencional son la hemorragia grave y el neumotórax. Respecto a la hemorragia, la presencia de un sangrado leve o moderado tras la BPTB es habitual y ha sido descrita en múltiples estudios (46, 93, 94, 178). Zavala y colaboradores (102) establecieron recomendaciones y propusieron intervenciones endoscópicas como la oclusión y succión del bronquio segmentario dónde se había realizado la biopsia pulmonar transbronquial con

pinza convencional. Por otro lado, en la literatura no existe un criterio único para cuantificar la cantidad del sangrado producido tras la realización de la biopsia pulmonar transbronquial. Debido a que uno de los objetivos del estudio fue establecer la seguridad del procedimiento, se diseñó un protocolo en el se clasificó de forma estricta las hemorragias, considerándose moderada cualquier hemorragia que precisara de oclusión del bronquio segmentario. En nuestra serie, el perfil de seguridad de los dos procedimientos fue similar y no se observaron complicaciones graves en ninguno de los grupos. La presencia de un mayor número de casos con sangrado moderado en el grupo de BPTB con criosonda no resultó clínicamente relevante ni condicionó la obtención de menor número de biopsias. Además, de la misma forma que con la técnica convencional, la utilización de un balón de oclusión en el segmento pulmonar donde se realizó la BPTB, permitió un mejor control del sangrado. No se observaron diferencias significativas en cuanto al número de neumotórax producidos. A excepción de los casos en los que se produjeron complicaciones, la realización de esta nueva técnica no requirió la hospitalización del paciente y se llevó a cabo con carácter ambulatorio en una unidad de endoscopia respiratoria convencional. En la literatura, existen todavía pocos datos acerca de la seguridad de la BPTB con criosonda aunque nuestros datos están en consonancia con los resultados de los últimos estudios publicados en los que se incluyen pacientes con patologías pulmonares graves; inmunodeprimidos y con trasplante pulmonar (139, 155).

A pesar de que la BPTB con criosonda requiere algunas modificaciones con respecto a la técnica convencional, estas modificaciones no suponen un gran incremento de complejidad ni prolongan la duración de la exploración. Por otro lado, es posible que el aumento del rendimiento diagnóstico conlleve una reducción en el gasto hospitalario ya que evita realizar y/o repetir otras exploraciones complementarias. Sin embargo, no es posible obtener datos concluyentes al respecto ya que el análisis económico no fue objeto de estudio en este trabajo.

En resumen, las importantes implicaciones pronósticas y terapéuticas de los pacientes con enfermedad pulmonar intersticial difusa otorgan un máximo interés al hecho de intentar obtener un diagnóstico específico. Por ello, la utilización de criosondas para realizar la biopsia transbronquial junto con la interacción entre el

clínico, el radiólogo y el patólogo, permiten mejorar la estrategia diagnóstica en los pacientes con enfermedad intersticial difusa.

Finalmente, cabe destacar que, los resultados de los estudios presentados han contribuido a la incorporación de esta técnica en el algoritmo diagnóstico de las enfermedades difusas y, como tal, aparece descrito en el capítulo de *Utilización de criosondas en la biopsia pulmonar transbronquial: beneficios y seguridad* del *Manual de procedimientos en biopsia pulmonar para el diagnóstico de EPID* de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (179).

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. La utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial resulta una técnica viable en nuestro medio. La técnica se realiza de forma similar al método convencional y en régimen ambulatorio, hechos que facilitan su implantación en las unidades de endoscopia respiratoria.
2. En el diagnóstico de las enfermedades pulmonares intersticiales difusas, la biopsia transbronquial con criosonda ha permitido establecer un mayor número de diagnósticos histológicos lo que supone un aumento del rendimiento diagnóstico de la técnica con respecto a la biopsia pulmonar transbronquial con pinza convencional.
3. La evaluación de las características histológicas de la biopsia pulmonar transbronquial con criosonda permite afirmar que las muestras obtenidas presentan un mayor diámetro y área tisular, un mayor número de espacios alveolares y un parénquima mejor preservado que las biopsias obtenidas con pinza convencional.
4. El análisis histológico de las muestras obtenidas con criosonda demuestra una excelente calidad para las tinciones convencionales histopatológicas como la tinción con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson y permite la aplicación de técnicas de inmunohistoquímica para la detección de antígenos citoplásmicos y nucleares como α -SMA y PCNA. Por lo tanto, las criobiopsias muestran una arquitectura tisular preservada y no presentan artefactos secundarios a la congelación.
5. La realización de la biopsia pulmonar transbronquial con criosonda presenta un perfil similar respecto a la seguridad y al número de complicaciones con respecto al método convencional.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Tsuboi E, Ikeda S, Tajima M, Shimosato Y, Ishikawa S. Transbronchial biopsy smear for diagnosis of peripheral pulmonary carcinomas. *Cancer*. 1967;20(5):687-98.
2. Andersen HA, Harrison EG, Jr. Transbronchoscopic lung biopsy in diffuse pulmonary disease. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1965 ;74(4):1113-9.
3. Nordenström B. Transthoracic needle biopsy. *N Engl J Med* 1967;276(19):1081-2.
4. Levin DC, Wicks AB, Ellis JH, Jr. Transbronchial lung biopsy via the fiberoptic bronchoscope. *Am Rev Respir Dis*. 1974;110(1):4-12.
5. Smith CW, Murray GF, Wilcox BR, Starek PJ, Delany DJ. The role of transbronchial lung biopsy in diffuse pulmonary disease. *Ann Thorac Surg*. 1977;24(1):54-8.
6. Clark RA, Gray PB, Townshend RH, Howard P. Transbronchial lung biopsy: A review of 85 cases. *Thorax*. 1977;32(5):546-9.
7. Zavala DC. Diagnostic fiberoptic bronchoscopy: Techniques and results of biopsy in 600 patients. *Chest*. 1975;68(1):12-9.
8. Poletti V, Patelli M, Ferracini R, Simonetti M, Spiga L. Transbronchial lung biopsy in infiltrative lung disease. The importance of the pathologic approach. *Sarcoidosis*. 1988;5(1):43-50.
9. Mitchell DM, Emerson CJ, Collins JV, Stableforth DE. Transbronchial lung biopsy with the fiberoptic bronchoscope: analysis of results in 433 patients. *Br J Dis Chest*. 1981;75(3):258-62.

10. Fraire AE, Cooper SP, Greenberg SD, Rowland LP, Langston C. Transbronchial lung biopsy. Histopathologic and morphometric assessment of diagnostic utility. *Chest*. 1992;102(3):748-52.
11. Kendall DM, Gal AA. Interpretation of tissue artifacts in transbronchial lung biopsy specimens. *Ann Diagn Pathol*. 2003;7(1):20-4.
12. Andersen HA. Transbronchoscopic lung biopsy for diffuse pulmonary diseases. Results in 939 patients. *Chest*. 1978;73(5 Suppl):734-6.
13. Ellis JH, Jr. Transbronchial lung biopsy via the fiberoptic bronchoscope. Experience with 107 consecutive cases and comparison with bronchial brushing. *Chest*. 1975;68(4):524-32.
14. Hanson RR, Zavala DC, Rhodes ML, Keim LW, Smith JD. Transbronchial biopsy via flexible fiberoptic bronchoscope; results in 164 patients. *Am Rev Respir Dis*. 1976;114(1):67-72.
15. Leuenberger P, Zellweger JP, Vejdovsky R, Favez G. Histologic and cytologic examination of bronchus and transbronchial lung biopsies at different stages of intrathoracic sarcoidosis. *Schweiz Med Wochenschr*. 1981;111(3):98-101.
16. Jain P, Sandur S, Meli Y, Arroliga AC, Stoller JK, Mehta AC. Role of flexible bronchoscopy in immunocompromised patients with lung infiltrates. *Chest*. 2004;125(2):712-22.
17. Xaubet A, Ancochea J, Blanquer R, Montero C, Morell F, Rodriguez Becerra E, et al. Diagnosis and treatment of diffuse interstitial lung diseases. *Arch Bronconeumol*. 2003;39(12):580-600.
18. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. This joint statement of the American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) was adopted by the ATS board of directors, June 2001

and by the ERS Executive Committee, June 2001. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165(2):277-304.

19. Travis WD, Costabel U, Hansell DM, King TE, Jr., Lynch DA, Nicholson AG, et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: Update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(6):733-48.

20. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183(6):788-824.

21. Xaubet A, Ancochea J, Bollo E, Fernandez-Fabrellas E, Franquet T, Molina-Molina M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. Sociedad Espanola de Neumologia y Cirugia Toracica (SEPAR) Research Group on Diffuse Pulmonary Diseases. *Arch Bronconeumol.* 2013;49(8):343-53.

22. Escobar I GF, Ureña A, Huerta L. Biopsia pulmonar quirúrgica por VATS: cómo obtener mejor rentabilidad diagnóstica. En: Molina M, Bachs A, editores. *Manual de procedimientos en biopsia pulmonar para el diagnóstico de EPID.* SEPAR; 2011 (25):31-43.

23. Kreider ME, Hansen-Flaschen J, Ahmad NN, Rossman MD, Kaiser LR, Kucharczuk JC, et al. Complications of video-assisted thoracoscopic lung biopsy in patients with interstitial lung disease. *Ann Thorac Surg.* 2007;83(3):1140-4.

24. Lee YC, Wu CT, Hsu HH, Huang PM, Chang YL. Surgical lung biopsy for diffuse pulmonary disease: experience of 196 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2005;129(5):984-90.

25. Kondoh Y, Taniguchi H, Kitaichi M, Yokoi T, Johkoh T, Oishi T, et al. Acute exacerbation of interstitial pneumonia following surgical lung biopsy. *Respir Med.* 2006;100(10):1753-9.

26. Nicholson AG, Addis BJ, Bharucha H, Clelland CA, Corrin B, Gibbs AR, et al. Inter-observer variation between pathologists in diffuse parenchymal lung disease. *Thorax*. 2004;59(6):500-5.
27. Bradley B, Branley HM, Egan JJ, Greaves MS, Hansell DM, Harrison NK, et al. Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and the Irish Thoracic Society. *Thorax*. 2008;63 Suppl 5:v1-58.
28. Fechner RE, Greenberg SD, Wilson RK, Stevens PM. Evaluation of transbronchial biopsy of the lung. *Am J Clin Pathol*. 1977;68(1):17-20.
29. Wall CP, Gaensler EA, Carrington CB, Hayes JA. Comparison of transbronchial and open biopsies in chronic infiltrative lung diseases. *Am Rev Respir Dis*. 1981;123(3):280-5.
30. Leslie KO, Gruden JF, Parish JM, Scholand MB. Transbronchial biopsy interpretation in the patient with diffuse parenchymal lung disease. *Arch Pathol Lab Med*. 2007;131(3):407-23.
31. Schreiber G, McCrory DC. Performance characteristics of different modalities for diagnosis of suspected lung cancer: summary of published evidence. *Chest*. 2003;123(1):115s-28s.
32. Rivera MP, Mehta AC. Initial diagnosis of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2007;132(3):131s-48s.
33. Ost D, Fein AM, Feinsilver SH. Clinical practice. The solitary pulmonary nodule. *New Engl J Med*. 2003;348(25):2535-42.
34. Tan BB, Flaherty KR, Kazerooni EA, Iannettoni MD. The solitary pulmonary nodule. *Chest*. 2003;123(1):89-96.
35. Tang AW, Moss HA, Robertson RJ. The solitary pulmonary nodule. *Eur J Radiol*. 2003;45(1):69-77.

36. Holin SM, Dwork RE, Glaser S, Rikli AE, Stocklen JB. Solitary pulmonary nodules found in a community-wide chest roentgenographic survey; a five-year follow-up study. *Am Rev Tuberc.* 1959;79(4):427-39.
37. Swensen SJ, Jett JR, Midthun DE, Hartman TE. Computed tomographic screening for lung cancer: home run or foul ball? *Mayo Clin Proc.* 2003;78(9):1187-8.
38. Cummings SR, Lillington GA, Richard RJ. Estimating the probability of malignancy in solitary pulmonary nodules. A Bayesian approach. *Am Rev Respir Dis.* 1986;134(3):449-52.
39. Gurney JW, Lyddon DM, McKay JA. Determining the likelihood of malignancy in solitary pulmonary nodules with Bayesian analysis. *Radiology.* 1993;186(2):415-22.
40. Swensen SJ, Silverstein MD, Ilstrup DM, Schleck CD, Edell ES. The probability of malignancy in solitary pulmonary nodules. Application to small radiologically indeterminate nodules. *Arch Intern Med.* 1997;157(8):849-55.
41. Congregado Loscertales M, Giron Arjona JC, Jimenez Merchan R, Arroyo Tristan A, Arenas Linares C, Ayarra Jarne J, et al. Usefulness of video-assisted thoracoscopy for the diagnosis of solitary pulmonary nodules. *Arch Bronconeumol.* 2002;38(9):415-20.
42. Lacasse Y, Wong E, Guyatt GH, Cook DJ. Transthoracic needle aspiration biopsy for the diagnosis of localised pulmonary lesions: a meta-analysis. *Thorax.* 1999;54(10):884-93.
43. Wallace MJ, Krishnamurthy S, Broemeling LD, Gupta S, Ahrar K, Morello FA, Jr., et al. CT-guided percutaneous fine-needle aspiration biopsy of small (< or =1-cm) pulmonary lesions. *Radiology.* 2002;225(3):823-8.
44. Goralnik CH, O'Connell DM, el Yousef SJ, Haaga JR. CT-guided cutting-needle biopsies of selected chest lesions. *Am J Roentgenol.* 1988;151(5):903-7.

45. Mazzone P, Jain P, Arroliga AC, Matthay RA. Bronchoscopy and needle biopsy techniques for diagnosis and staging of lung cancer. *Clin Chest Med.* 2002;23(1):137-58, ix.
46. Descombes E, Gardiol D, Leuenberger P. Transbronchial lung biopsy: an analysis of 530 cases with reference to the number of samples. *Monaldi Arch Chest Dis.* 1997;52(4):324-9.
47. Gaeta M, Barone M, Russi EG, Volta S, Casablanca G, Romeo P, et al. Carcinomatous solitary pulmonary nodules: evaluation of the tumor-bronchi relationship with thin-section CT. *Radiology.* 1993;187(2):535-9.
48. Gaeta M, Pandolfo I, Volta S, Russi EG, Bartiromo G, Girone G, et al. Bronchus sign on CT in peripheral carcinoma of the lung: value in predicting results of transbronchial biopsy. *Am J Roentgenol.* 1991;157(6):1181-5.
49. Gaeta M, Russi EG, La Spada F, Barone M, Casablanca G, Pandolfo I. Small bronchogenic carcinomas presenting as solitary pulmonary nodules. Bioptic approach guided by CT-positive bronchus sign. *Chest.* 1992;102(4):1167-70.
50. Bilaceroglu S, Kumcuoglu Z, Alper H, Osma E, Cagirici U, Gunel O, et al. CT bronchus sign-guided bronchoscopic multiple diagnostic procedures in carcinomatous solitary pulmonary nodules and masses. *Respiration.* 1998;65(1):49-55.
51. Asano F, Matsuno Y, Shinagawa N, Yamazaki K, Suzuki T, Ishida T, et al. A virtual bronchoscopic navigation system for pulmonary peripheral lesions. *Chest.* 2006;130(2):559-66.
52. Schwarz Y, Greif J, Becker HD, Ernst A, Mehta A. Real-time electromagnetic navigation bronchoscopy to peripheral lung lesions using overlaid CT images: the first human study. *Chest.* 2006;129(4):988-94.

53. Rooney CP, Wolf K, McLennan G. Ultrathin bronchoscopy as an adjunct to standard bronchoscopy in the diagnosis of peripheral lung lesions. A preliminary report. *Respiration*. 2002;69(1):63-8.
54. Herth FJ, Ernst A, Becker HD. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial lung biopsy in solitary pulmonary nodules and peripheral lesions. *Eur Respir J*. 2002;20(4):972-4.
55. Wong CF, Yew WW, Chan CY, Au LY, Cheung SW, Cheng AF. Rapid diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis via fiberoptic bronchoscopy: utility of polymerase chain reaction in bronchial aspirates as an adjunct to transbronchial biopsies. *Respir Med*. 1998;92(6):815-9.
56. Salzman SH, Schindel ML, Aranda CP, Smith RL, Lewis ML. The role of bronchoscopy in the diagnosis of pulmonary tuberculosis in patients at risk for HIV infection. *Chest*. 1992;102(1):143-6.
57. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(4):367-416.
58. DiTomaso JP, Ampel NM, Sobonya RE, Bloom JW. Bronchoscopic diagnosis of pulmonary coccidioidomycosis. Comparison of cytology, culture, and transbronchial biopsy. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1994;18(2):83-7.
59. Sobonya RE, Barbee RA, Wiens J, Trego D. Detection of fungi and other pathogens in immunocompromised patients by bronchoalveolar lavage in an area endemic for coccidioidomycosis. *Chest*. 1990;97(6):1349-55.
60. Patel RG, Patel B, Petrini MF, Carter RR, 3rd, Griffith J. Clinical presentation, radiographic findings, and diagnostic methods of pulmonary blastomycosis: a review of 100 consecutive cases. *South Med J*. 1999;92(3):289-95.

61. Peikert T, Rana S, Edell ES. Safety, diagnostic yield, and therapeutic implications of flexible bronchoscopy in patients with febrile neutropenia and pulmonary infiltrates. *Mayo Clin Proc.* 2005;80(11):1414-20.
62. Dunagan DP, Baker AM, Hurd DD, Haponik EF. Bronchoscopic evaluation of pulmonary infiltrates following bone marrow transplantation. *Chest.* 1997;111(1):135-41.
63. Nishio JN, Lynch JP, 3rd. Fiberoptic bronchoscopy in the immunocompromised host: the significance of a "nonspecific" transbronchial biopsy. *Am Rev Respir Dis.* 1980;121(2):307-12.
64. Santamauro JT, Mangino DA, Stover DE. The lung in the immunocompromised host: diagnostic methods. *Respiration.* 1999;66(6):481-90.
65. Soubani AO, Miller KB, Hassoun PM. Pulmonary complications of bone marrow transplantation. *Chest.* 1996;109(4):1066-77.
66. Sharma S, Nadrous HF, Peters SG, Tefferi A, Litzow MR, Aubry MC, et al. Pulmonary complications in adult blood and marrow transplant recipients: autopsy findings. *Chest.* 2005;128(3):1385-92.
67. Roychowdhury M, Pambuccian SE, Aslan DL, Jessurun J, Rose AG, Manivel JC, et al. Pulmonary complications after bone marrow transplantation: an autopsy study from a large transplantation center. *Arch Pathol Lab Med.* 2005;129(3):366-71.
68. Burger CD. Utility of positive bronchoalveolar lavage in predicting respiratory failure after hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis. *Transplant Proc.* 2007;39(5):1623-5.
69. Gilbert CR, Lerner A, Baram M, Awsare BK. Utility of flexible bronchoscopy in the evaluation of pulmonary infiltrates in the hematopoietic stem cell transplant population - a single center fourteen year experience. *Arch Bronconeumol.* 2013;49(5):189-95.

70. Hofmeister CC, Czerlanis C, Forsythe S, Stiff PJ. Retrospective utility of bronchoscopy after hematopoietic stem cell transplant. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38(10):693-8.
71. Ramila E, Sureda A, Martino R, Santamaria A, Franquet T, Puzo C, et al. Bronchoscopy guided by high-resolution computed tomography for the diagnosis of pulmonary infections in patients with hematologic malignancies and normal plain chest X-ray. *Haematologica.* 2000;85(9):961-6.
72. Azoulay E, Mokart D, Rabbat A, Pene F, Kouatchet A, Bruneel F, et al. Diagnostic bronchoscopy in hematology and oncology patients with acute respiratory failure: prospective multicenter data. *Crit Care Med.* 2008;36(1):100-7.
73. Soubani AO, Qureshi MA, Baynes RD. Flexible bronchoscopy in the diagnosis of pulmonary infiltrates following autologous peripheral stem cell transplantation for advanced breast cancer. *Bone Marrow Transplant.* 2001;28(10):981-5.
74. Yen KT, Lee AS, Krowka MJ, Burger CD. Pulmonary complications in bone marrow transplantation: a practical approach to diagnosis and treatment. *Clin Chest Med.* 2004;25(1):189-201.
75. Ninane V. Bronchoscopic invasive diagnostic techniques in the cancer patient. *Curr Opin Oncol.* 2001;13(4):236-41.
76. Orens JB, Estenne M, Arcasoy S, Conte JV, Corris P, Egan JJ, et al. International guidelines for the selection of lung transplant candidates: 2006 update-a consensus report from the Pulmonary Scientific Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2006;25(7):745-55.
77. Coll E, Santos F, Ussetti P, Canela M, Borro JM, De La Torre M, et al. The Spanish Lung Transplant Registry: first report of results (2006-2010). *Arch Bronconeumol.* 2013;49(2):70-8.

78. Christie JD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Dipchand AI, Dobbels F, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: 29th adult lung and heart-lung transplant report-2012. *J Heart Lung Transplant.* 2012;31(10):1073-86.
79. Speich R, van der Bij W. Epidemiology and management of infections after lung transplantation. *Clin Infect Dis.* 2001;33 (1):58-65.
80. Trulock EP. Flexible bronchoscopy in lung transplantation. *Clin Chest Med.* 1999;20(1):77-87.
81. Higenbottam T, Stewart S, Penketh A, Wallwork J. Transbronchial lung biopsy for the diagnosis of rejection in heart-lung transplant patients. *Transplantation.* 1988;46(4):532-9.
82. Yousem SA, Berry GJ, Cagle PT, Chamberlain D, Husain AN, Hruban RH, et al. Revision of the 1990 working formulation for the classification of pulmonary allograft rejection: Lung Rejection Study Group. *J Heart Lung Transplant.* 1996;15(1 Pt 1):1-15.
83. Scott JP, Fradet G, Smyth RL, Mullins P, Pratt A, Clelland CA, et al. Prospective study of transbronchial biopsies in the management of heart-lung and single lung transplant patients. *J Heart Lung Transplant.* 1991;10(5):626-36.
84. Pomerance A, Madden B, Burke MM, Yacoub MH. Transbronchial biopsy in heart and lung transplantation: clinicopathologic correlations. *J Heart Lung Transplant.* 1995;14(4):761-73.
85. Aboyoum CL, Tamm M, Chhajed PN, Hopkins P, Malouf MA, Rainer S, et al. Diagnostic value of follow-up transbronchial lung biopsy after lung rejection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164(3):460-3.
86. Todd JL, Palmer SM. Bronchiolitis obliterans syndrome: the final frontier for lung transplantation. *Chest.* 2011;140(2):502-8.

87. Burton CM, Iversen M, Carlsen J, Mortensen J, Andersen CB, Steinbruchel D, et al. Acute cellular rejection is a risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome independent of post-transplant baseline FEV1. *J Heart Lung Transplant.* 2009;28(9):888-93.
88. Hopkins PM, Aboyoum CL, Chhajed PN, Malouf MA, Plit ML, Rainer SP, et al. Association of minimal rejection in lung transplant recipients with obliterative bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170(9):1022-6.
89. Sharples LD, McNeil K, Stewart S, Wallwork J. Risk factors for bronchiolitis obliterans: a systematic review of recent publications. *J Heart Lung Transplant.* 2002;21(2):271-81.
90. Khalifah AP, Hachem RR, Chakinala MM, Yusen RD, Aloush A, Patterson GA, et al. Minimal acute rejection after lung transplantation: a risk for bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant.* 2005;5(8):2022-30.
91. Reynaud-Gaubert M, Thomas P, Badier M, Cau P, Giudicelli R, Fuentes P. Early detection of airway involvement in obliterative bronchiolitis after lung transplantation. Functional and bronchoalveolar lavage cell findings. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(6):1924-9.
92. Trulock EP, Ettinger NA, Brunt EM, Pasque MK, Kaiser LR, Cooper JD. The role of transbronchial lung biopsy in the treatment of lung transplant recipients. An analysis of 200 consecutive procedures. *Chest.* 1992;102(4):1049-54.
93. Ahmad M, Livingston DR, Golish JA, Mehta AC, Wiedemann HP. The safety of outpatient transbronchial biopsy. *Chest.* 1986;90(3):403-5.
94. Pereira W, Jr., Kovnat DM, Snider GL. A prospective cooperative study of complications following flexible fiberoptic bronchoscopy. *Chest.* 1978;73(6):813-6.
95. Pue CA, Pacht ER. Complications of fiberoptic bronchoscopy at a university hospital. *Chest.* 1995;107(2):430-2.

96. Bulpa PA, Dive AM, Mertens L, Delos MA, Jamart J, Evrard PA, et al. Combined bronchoalveolar lavage and transbronchial lung biopsy: safety and yield in ventilated patients. *Eur Respir J*. 2003;21(3):489-94.
97. de Fenoyl O, Capron F, Lebeau B, Rochemaure J. Transbronchial biopsy without fluoroscopy: a five year experience in outpatients. *Thorax*. 1989;44(11):956-9.
98. British Thoracic Society guidelines on diagnostic flexible bronchoscopy. *Thorax*. 2001;56(1):1-21.
99. Izbicki G, Shitrit D, Yarmolovsky A, Bendayan D, Miller G, Fink G, et al. Is routine chest radiography after transbronchial biopsy necessary?: A prospective study of 350 cases. *Chest*. 2006;129(6):1561-4.
100. Reissig A, Kroegel C. Accuracy of transthoracic sonography in excluding post-interventional pneumothorax and hydropneumothorax. Comparison to chest radiography. *Eur J Radiol*. 2005;53(3):463-70.
101. Hue SH. Complications in transbronchial lung biopsy. *Korean J Intern Med*. 1987;2(2):209-13.
102. Zavala DC. Transbronchial biopsy in diffuse lung disease. *Chest*. 1978;73(5):727-33.
103. de Gracia J, de la Rosa D, Catalan E, Alvarez A, Bravo C, Morell F. Use of endoscopic fibrinogen-thrombin in the treatment of severe hemoptysis. *Respir Med*. 2003;97(7):790-5.
104. Diette GB, Wiener CM, White P, Jr. The higher risk of bleeding in lung transplant recipients from bronchoscopy is independent of traditional bleeding risks: results of a prospective cohort study. *Chest*. 1999;115(2):397-402.

105. Pablo A. Broncoscopia en el trasplante pulmonar. En: Díaz-Agero P, Flandes J, editores. Broncoscopia diagnóstica y terapéutica. Monografías Neumomadrid. Madrid; 2007; p. 175-88.
106. Curley FJ, Johal JS, Burke ME, Fraire AE. Transbronchial lung biopsy: can specimen quality be predicted at the time of biopsy? *Chest*. 1998;113(4):1037-41.
107. Loube DI, Johnson JE, Wiener D, Anders GT, Blanton HM, Hayes JA. The effect of forceps size on the adequacy of specimens obtained by transbronchial biopsy. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148(5):1411-3.
108. Tazelaar HD, Nilsson FN, Rinaldi M, Murtaugh P, McDougall JC, McGregor CG. The sensitivity of transbronchial biopsy for the diagnosis of acute lung rejection. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1993;105(4):674-8.
109. Anders GT, Linville KC, Johnson JE, Blanton HM. Evaluation of the float sign for determining adequacy of specimens obtained with transbronchial biopsy. *Am Rev Respir Dis*. 1991;144(6):1406-7.
110. Villegas FR, Escobar JA, Callol LM. Técnicas de resección de la vía aérea. En: Díaz-Agero P, Flandes J, editores. Broncoscopia diagnóstica y terapéutica. Monografías Neumomadrid. Madrid; 2007; p. 117-36.
111. Arnott J. On the treatment of cancer through the regulated application of an anaesthetic temperature. In: Churchill J, editor. London;1851. p. 32.
112. Rowbotham GF, Haigh AL, Leslie WG. Cooling cannula for use in the treatment of cerebral neoplasms. *Lancet*. 1959;1(7062):12-5.
113. Gage AA. Cryotherapy for cancer. In: Rand R, Rinfret R, Rinfret A, Von Leden H, editores. Cryosurgery: Springfield, Charles C. Thomas; 1968. p. 376-87.
114. Mathur PN, Wolf KM, Busk MF, Briete WM, Datzman M. Fiberoptic bronchoscopic cryotherapy in the management of tracheobronchial obstruction. *Chest*. 1996;110(3):718-23.

115. Carpenter RJ, 3rd, Neel HB, 3rd, Sanderson DR. Cryosurgery of bronchopulmonary structures. An approach to lesions inaccessible to the rigid bronchoscope. *Chest*. 1977;72(3):279-84.
116. Sanderson DR, Neel HB, 3rd, Fontana RS. Bronchoscopic cryotherapy. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1981;90(4):354-8.
117. Gorenstein A, Neel HB, 3rd, Sanderson DR. Transbronchoscopic cryosurgery of respiratory structures: experimental and clinical studies. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1976;85(5):670-8.
118. Neel HB, 3rd, Farrell KH, DeSanto LW, Payne WS, Sanderson DR. Cryosurgery of respiratory structures. Cryonecrosis of trachea and bronchus. *Laryngoscope*. 1973;83(7):1062-71.
119. Eichenhorn MS, Kvale PA, Miks VM, Seydel HG, Horowitz B, Radke JR. Initial combination therapy with YAG laser photoresection and irradiation for inoperable non-small cell carcinoma of the lung. A preliminary report. *Chest*. 1986;89(6):782-5.
120. Desai SJ, Mehta AC, VanderBrug Medendorp S, Golish JA, Ahmad M. Survival experience following Nd:YAG laser photoresection for primary bronchogenic carcinoma. *Chest*. 1988;94(5):939-44.
121. Dumon JF, Shapshay S, Bourcereau J, Cavaliere S, Meric B, Garbi N, et al. Principles for safety in application of neodymium-YAG laser in bronchology. *Chest*. 1984;86(2):163-8.
122. Cosano Povedano A. Old methods, new applications. *Arch Bronconeumol*. 2010;46(3):109-10.
123. Han B, Bischof JC. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. *Cryobiology*. 2004;48(1):8-21.

124. Díaz JP, Rodríguez AN. Crioterapia. En: Díaz JP, Rodríguez AN, editores. *Neumología Intervencionista*. Barcelona: Gea Edicions; 2000; p. 59-73.
125. Vergnon JM, Huber RM, Moghissi K. Place of cryotherapy, brachytherapy and photodynamic therapy in therapeutic bronchoscopy of lung cancers. *Eur Respir J*. 2006;28(1):200-18.
126. Homasson JP. Cryotherapy in pulmonology today and tomorrow. *Eur Respir J*. 1989;2(9):799-801.
127. Hetzel M, Hetzel J, Schumann C, Marx N, Babiak A. Cryorecanalization: a new approach for the immediate management of acute airway obstruction. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2004;127(5):1427-31.
128. Schumann C, Hetzel J, Babiak AJ, Merk T, Wibmer T, Moller P, et al. Cryoprobe biopsy increases the diagnostic yield in endobronchial tumor lesions. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010;140(2):417-21.
129. Schumann C, Hetzel M, Babiak AJ, Hetzel J, Merk T, Wibmer T, et al. Endobronchial tumor debulking with a flexible cryoprobe for immediate treatment of malignant stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010;139(4):997-1000.
130. Schumann C, Kropf C, Wibmer T, Merk T, Kruger S. Therapy of exophytic bronchial tumorous stenosis by flexible cryoprobe. *Eur Respir J*. 2006;28(6):1286-7; author reply 7.
131. Hetzel J, Hetzel M, Hasel C, Moeller P, Babiak A. Old meets modern: the use of traditional cryoprobes in the age of molecular biology. *Respiration*. 2008;76(2):193-7.
132. Pajares V, Torrego A, Granell M, Szafranska J, Mozos A, Puzo C. Recurrent endobronchial diffuse large B-cell lymphoma. Diagnosed by cryoprobe. *Arch Bronconeumol*. 2013;49(5):210-2.

133. Clagett OT, Allen TH, Payne WS, Woolner LB. The surgical treatment of pulmonary neoplasms:a 10-year experience. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1964;48:391-400.
134. L'Hoste RJ, Jr., Filippa DA, Lieberman PH, Bretsky S. Primary pulmonary lymphomas. A clinicopathologic analysis of 36 cases. *Cancer.* 1984;54(7):1397-406.
135. Hetzel J, Eberhardt R, Herth FJ, Petermann C, Reichle G, Freitag L, et al. Cryobiopsy increases the diagnostic yield of endobronchial biopsy: a multicentre trial. *Eur Respir J.* 2012;39(3):685-90.
136. Babiak A, Hetzel J, Krishna G, Fritz P, Moeller P, Balli T, et al. Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. *Respiration.* 2009;78(2):203-8.
137. Pajares V, Torrego A, Puzo C, Lerma E, Gil De Bernabe MA, Franquet T. Transbronchial lung biopsy using cryoprobes. *Arch Bronconeumol.* 2010;46(3):111-5.
138. Flandes J, Alfageme I. Recursos humanos, físicos, de material y terapéuticos. En: Flandes J, Ortega A, editores. *Necesidades y organización de una unidad de endoscopia respiratoria. Manual SEPAR de procedimientos.* Barcelona; 2008; p. 9-19.
139. Yarmus L, Akulian J, Gilbert C, Illei P, Shah P, Merlo C, et al. Cryoprobe transbronchial lung biopsy in patients after lung transplantation: a pilot safety study. *Chest.* 2013;143(3):621-6.
140. Sastre JA, Cordovilla R, Jimenez MF, Lopez T. Management of a transbronchial cryobiopsy using the i-gel airway and the Arndt endobronchial blocker. *Can J Anaesth.* 2014.

141. Mak PH, Campbell RC, Irwin MG. The ASA Physical Status Classification: inter-observer consistency. *American Society of Anesthesiologists. Anaesth Intensive Care.* 2002;30(5):633-40.
142. Sarkiss M. Anesthesia for bronchoscopy and interventional pulmonology: from moderate sedation to jet ventilation. *Curr Opin Pulm Med.* 2011;17(4):274-8.
143. Pajares Ruiz V, Torrego Fernandez A, Puzo Ardanuy C, Gil de Bernabe A. Use of an occlusion balloon in transbronchial lung cryobiopsy. *Arch Bronconeumol.* 2014;50(7):309-10.
144. Fruchter O, Fridel L, Rosengarten D, Raviv Y, Rosanov V, Kramer MR. Transbronchial cryo-biopsy in lung transplantation patients: first report. *Respirology.* 2013;18(4):669-73.
145. Castro MC , Torrego A. Broncoscopia estándar. En: Cordovilla R, Macián V, editores. Plan de calidad para la toma y procesado de las muestras endoscópicas. Manual SEPAR de procedimientos; 2013 (28);p. 9-28.
146. Quadrelli S, Grynblat P, Defranchi H, Downey D, de la Canal A, Perrone R, et al. Consensus guidelines for respiratory endoscopy issued by the Argentine Society of Bronchoesophagology. *Arch Bronconeumol.* 1998;34(4):207-20.
147. Burgués C, Puzo C, Carrillo B, Sastre A. Limpieza, desinfección y esterilización del instrumental de broncoscopia. En: Puente Maeztu, editor. Procedimientos de pruebas funcionales. Manual SEPAR de procedimientos. Madrid: Luzán 5; 2002. p. 4-13.
148. Spaulding EH. Fiberoptic endoscopes: disinfection or sterilization? Microbiological aspects of the dilemma. *Same Day Surg.* 1978;2(3):35-9.
149. Flaherty KR, Andrei AC, King TE, Jr., Raghu G, Colby TV, Wells A, et al. Idiopathic interstitial pneumonia: do community and academic physicians agree on diagnosis? *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175(10):1054-60.

150. Tomassetti S, Cavazza A, Colby TV, Ryu JH, Nanni O, Scarpi E, et al. Transbronchial biopsy is useful in predicting UIP pattern. *Respir Res.* 2012;13:96.
151. Berbescu EA, Katzenstein AL, Snow JL, Zisman DA. Transbronchial biopsy in usual interstitial pneumonia. *Chest.* 2006;129(5):1126-31.
152. Churg A. Transbronchial biopsy: nothing to fear. *Am J Surg Pathol.* 2001;25(6):820-2.
153. Casoni GL, Tomassetti S, Cavazza A, Colby TV, Dubini A, Ryu JH, et al. Transbronchial lung cryobiopsy in the diagnosis of fibrotic interstitial lung diseases. *PloS one.* 2014;9(2):e86716.
154. Torrego A, Pajares V, Mola A, Lerma E, Franquet T. Influenza A (H1N1) organising pneumonia. *BMJ Case Rep.* 2010;27.
155. Fruchter O, Fridel L, Rosengarten D, Rahman NA, Kramer MR. Transbronchial cryobiopsy in immunocompromised patients with pulmonary infiltrates: a pilot study. *Lung.* 2013;191(6):619-24.
156. Aberle DR, Adams AM, Berg CD, Black WC, Clapp JD, Fagerstrom RM, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med.* 2011;365(5):395-409.
157. Schuhmann M, Bostanci K, Bugalho A, Warth A, Schnabel PA, Herth FJ, et al. Endobronchial ultrasound-guided cryobiopsies in peripheral pulmonary lesions: a feasibility study. *Eur Respir J.* 2014;43(1):233-9.
158. Sokolowski JW, Jr., Burgher LW, Jones FL, Jr., Patterson JR, Selecky PA. Guidelines for thoracentesis and needle biopsy of the pleura. This position paper of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, June 1988. *Am Rev Respir Dis.* 1989;140(1):257-8.

159. Diaz-Guzman E, Vadi S, Minai OA, Gildea TR, Mehta AC. Safety of diagnostic bronchoscopy in patients with pulmonary hypertension. *Respiration*. 2009;77(3):292-7.
160. Bollo E, Xaubet A. Biopsia pulmonar transbronquial: cuándo, quién y cómo. En: Molina M, Basch A, editores. *Manual de procedimientos en biopsia pulmonar para el diagnóstico de EPID*. SEPAR; 2011(25); p. 9-19.
161. Wahidi MM, Rocha AT, Hollingsworth JW, Govert JA, Feller-Kopman D, Ernst A. Contraindications and safety of transbronchial lung biopsy via flexible bronchoscopy. A survey of pulmonologists and review of the literature. *Respiration*. 2005;72(3):285-95.
162. Herth FJ, Becker HD, Ernst A. Aspirin does not increase bleeding complications after transbronchial biopsy. *Chest*. 2002;122(4):1461-4.
163. Ernst A, Eberhardt R, Wahidi M, Becker HD, Herth FJ. Effect of routine clopidogrel use on bleeding complications after transbronchial biopsy in humans. *Chest*. 2006;129(3):734-7.
165. Jain P, Hadique S, Metha AC. Transbronchial lung biopsy. In: Metha AC, Jain P, editors. *Interventional Bronchoscopy: a clinical guide*. Respiratory Medicine. New York: Springer; 2013; p.15-44.
165. Raab SS, Berg LC, Swanson PE, Wick MR. Adenocarcinoma in the lung in patients with breast cancer. A prospective analysis of the discriminatory value of immunohistology. *Am J Clin Pathol*. 1993;100(1):27-35.
166. Bedrossian CW, Bonsib S, Moran C. Differential diagnosis between mesothelioma and adenocarcinoma: a multimodal approach based on ultrastructure and immunocytochemistry. *Semin Diagn Pathol*. 1992;9(2):124-40.
167. Garrido P, de Castro J, Concha A, Felip E, Isla D, Lopez-Rios F, et al. Guidelines for biomarker testing in advanced non-small-cell lung cancer. A national

consensus of the Spanish Society of Medical Oncology (SEOM) and the Spanish Society of Pathology (SEAP). *Clin Transl Oncol.* 2012;14(5):338-49.

168. Mukhopadhyay S, Katzenstein AL. Subclassification of non-small cell lung carcinomas lacking morphologic differentiation on biopsy specimens: Utility of an immunohistochemical panel containing TTF-1, napsin A, p63, and CK5/6. *Am J Surg Pathol.* 2011;35(1):15-25.

169. Taus A, Vollmer I, Arriola E. Activating and resistance mutations of the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene and non-small cell lung cancer: a clinical reality. *Arch Bronconeumol.* 2011;47(2):103-5.

170. Yoon HJ, Lee HY, Lee KS, Choi YL, Ahn MJ, Park K, et al. Repeat biopsy for mutational analysis of non-small cell lung cancers resistant to previous chemotherapy: adequacy and complications. *Radiology.* 2012;265(3):939-48.

171. Bosc C, Ferretti GR, Cadranel J, Audigier-Valette C, Besse B, Barlesi F, et al. Rebiopsy during disease progression in patients treated by TKI for oncogene-addicted NSCLC. *Target Oncol.* 2014.

172. Hata A, Katakami N, Yoshioka H, Takeshita J, Tanaka K, Nanjo S, et al. Rebiopsy of non-small cell lung cancer patients with acquired resistance to epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor: Comparison between T790M mutation-positive and mutation-negative populations. *Cancer.* 2013;119(24):4325-32.

173. Moldvay J, Papay J, Kovalszky I, Balazs G, Puskas R, Losonczy G. Gefitinib treatment in lung cancer - rebiopsy, retreatment, remission. *Magy Onkol.* 2014;58(2):133-7.

174. Pawlowski J. Anesthetic considerations for interventional pulmonary procedures. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2013;26(1):6-12.

175. Abdelmalak BB, Gildea TR, Doyle DJ. Anesthesia for bronchoscopy. *Curr Pharm Des.* 2012;18(38):6314-24.

176. Wahidi MM, Herth FJ, Ernst A. State of the art: interventional pulmonology. *Chest*. 2007;131(1):261-74.
177. Kropski JA, Pritchett JM, Mason WR, Sivarajan L, Gleaves LA, Johnson JE, et al. Bronchoscopic cryobiopsy for the diagnosis of diffuse parenchymal lung disease. *PloS one*. 2013;8(11):e78674.
178. Herf SM. Complications of Transbronchial Lung Biopsies. *Chest*. 1978;73(5):759.
179. Pajares V, Torrego A. Utilización de criosondas en la biopsia pulmonar transbronquial: beneficios y seguridad. En: Molina M, Basch A, editores. Manual de procedimientos en biopsia pulmonar para el diagnóstico de EPID. Manual SEPAR de Procedimientos; 2011(25); p. 20-30.

ANEXO I:
COMPENDIO DE PUBLICACIONES

9. ANEXO I. COMPENDIO DE PUBLICACIONES

9.1. ESTUDIO I:

- **Pajares V**, Torrego A, Puzo C, Lerma E, Gil de Bernabé MA, Franquet T. Utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial. Arch Bronconeumol. 2010;46(3):111-5

9.1. ESTUDIO II:

- **Pajares V**, Puzo C, Castillo D, Lerma E, Montero A, Ramos D, Amor O, Gil de Bernabé MA, Franquet T, Plaza V, Hetzel J, Sanchis J, Torrego A. Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in diffuse lung disease: a randomised trial. Respirology. 2014;19(6):900-6

ESTUDIO I:

Pajares V, Torrego A, Puzo C, Lerma E, Gil de Bernabé MA, Franquet T.
Utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial.
Arch Bronconeumol. 2010;46(3):111-5.



Original

Utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial

Virginia Pajares^{a,*}, Alfons Torrego^a, Carmen Puzo^a, Enrique Lerma^b,
Maria Àngels Gil De Bernabé^c y Tomás Franquet^d

^a Unidad de Broncología, Departamento de Neumología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universidad Autónoma de Barcelona (UAB), Barcelona, España

^b Servicio de Anatomía Patológica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

^c Servicio de Anestesiología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

^d Servicio de Radiodiagnóstico, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 12 de mayo de 2009

Aceptado el 26 de septiembre de 2009

On-line el 25 de noviembre de 2009

Palabras clave:

Biopsia pulmonar transbronquial

Criosonda

Criobiopsia

Enfermedad pulmonar intersticial difusa

RESUMEN

Introducción: La biopsia pulmonar transbronquial (BPTB) es una técnica broncoscópica indicada en el estudio de las enfermedades pulmonares difusas, cuyo rendimiento diagnóstico es variable debido, en parte, al pequeño tamaño de las muestras obtenidas. La utilización de criosondas en la práctica de la BPTB podría permitir obtener muestras tisulares de mayor tamaño y mejor calidad. El presente trabajo tiene como objetivos describir la metodología de la técnica y su implantación en nuestro centro, así como analizar los resultados de seguridad e histológicos en los primeros pacientes.

Pacientes y métodos: Se incluyó a 10 pacientes tributarios de BPTB para estudio de neumopatía difusa. De un modo equiparable al método convencional, la criosonda (Erbokryo CA[®], Erbe, Alemania) se introduce a través del videobroncoscopio y se dirige hacia regiones pulmonares periféricas, donde la aplicación de frío permite obtener una muestra de tejido pulmonar congelado que queda adherido al extremo de la criosonda. Se registraron la duración del procedimiento y las complicaciones durante éste, y se evaluó la calidad de las muestras obtenidas.

Resultados: La duración media (\pm desviación estándar) del procedimiento fue de 35 ± 11 min. Las muestras presentaban un área media de $9,5 \text{ mm}^2$ (rango: $3\text{--}25 \text{ mm}^2$), con un número medio de espacios alveolares conservados de 29,6. Ningún paciente presentó neumotórax. En 6 de los 10 pacientes se registró hemorragia tras la biopsia, que en ningún caso obligó a interrumpir el procedimiento.

Conclusiones: La utilización de criosondas es viable para la realización de la BPTB y en el futuro podría mejorar el rendimiento de la técnica convencional.

© 2009 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Transbronchial Lung Biopsy Using Cryoprobes

ABSTRACT

Keywords:

Transbronchial lung biopsy

Cryoprobe

Cryobiopsy

Interstitial lung disease

Background and objectives: Transbronchial lung biopsy (TBLB) is a bronchoscopy procedure used to obtain peripheral lung tissue. Small size samples and artefacts lead to variable, and usually poor, diagnostic yield. The use of cryoprobes may enable larger size and better quality biopsy samples to be obtained. The purpose of this study was to evaluate the feasibility of TBLB with cryoprobes and analyse the histological quality of samples obtained.

Patients and methods: We selected 10 patients with interstitial lung disease who were suitable for TBLB. A cryoprobe (Erbokryo CA[®], Erbe, Germany) was introduced through the bronchoscope work channel. Then, under fluoroscopic control, the cryoprobe was placed in an area of the peripheral lung previously selected according to CT findings. A temperature of -89.5°C was applied for 3 s and the cryoprobe and bronchoscope were removed with the frozen lung sample attached to the probe. The procedure was

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: vpajares@santpau.cat (V. Pajares).

performed under sedation and the patient was intubated to allow bronchoscope and cryoprobe removal. Safety, duration of the procedure and histological findings has been evaluated.

Results: There were 10 patients (64 ± 8 years, 6 males). Procedure length was 35 min. The specimen area was 9.5 mm^2 (range 3 to 25 mm^2) and the mean number of alveolar spaces was 29.62. No pneumothorax was registered. 6/10 patients had mild post-biopsy bleeding controlled with standard bronchoscopy measures.

Conclusions: The use of cryoprobes for TBLB may become an alternative technique to increase diagnostic yield.

© 2009 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Las enfermedades pulmonares difusas engloban un grupo heterogéneo de afecciones con diferentes implicaciones pronósticas y terapéuticas que hacen necesario su diagnóstico histológico específico en la mayor parte de los casos¹. En el estudio de dichas enfermedades, la biopsia pulmonar transbronquial (BPTB) mediante broncoscopia flexible, descrita por Levin et al² en 1974, es la técnica broncoscópica de primera elección para la obtención de parénquima pulmonar^{3,4}. Sin embargo, el análisis histológico de las muestras obtenidas mediante BPTB no permite, en muchas ocasiones, un diagnóstico definitivo, de modo que son necesarios procedimientos quirúrgicos más cruentos y costosos para alcanzar el diagnóstico. Entre otros factores, la variabilidad en el rendimiento diagnóstico de la BPTB se debe al pequeño tamaño de las biopsias obtenidas y a las alteraciones producidas por la presión de la pinza de biopsia sobre el tejido, hechos que limitan su correcto análisis anatomopatológico.

Por otra parte, la crioterapia es un procedimiento aplicado en broncoscopia desde hace años, cuya indicación principal es el tratamiento y exéresis de lesiones endobronquiales, especialmente en casos de obstrucción bronquial⁵. En estudios en que se ha evaluado el material histológico obtenido mediante criosondas en casos de tumores endobronquiales, se ha encontrado que se trataba de muestras de mayor tamaño que las obtenidas con pinzas convencionales^{6,7}. Este dato ha permitido plantear la posibilidad de utilizar criosondas para la realización de la BPTB, como alternativa novedosa y superior al método clásico, en el estudio de las enfermedades pulmonares difusas, lo que podría aumentar el rendimiento diagnóstico sin incrementar los riesgos, además de evitar los costes de la opción quirúrgica. Sin embargo, la información disponible sobre esta técnica es todavía muy limitada y, según nuestro conocimiento, no hay ningún centro en nuestro país que la utilice.

En el presente artículo se describen la metodología empleada en la realización de la BPTB con criosondas y su implantación en nuestro hospital, y se analizan los primeros resultados histológicos y de seguridad obtenidos de su aplicación en pacientes con enfermedad pulmonar difusa.

Pacientes y métodos

Se trata de un estudio prospectivo en el que se incluyó a 10 pacientes con indicación de BPTB para el estudio de una enfermedad pulmonar difusa. Los pacientes seleccionados se evaluaron en consultas externas de Neumología. Todos ellos disponían de hemograma con estudio de coagulación, ecocardiografía, tomografía computarizada de tórax de alta resolución y estudio de la función pulmonar, que incluía espirometría, determinación de volúmenes pulmonares y difusión de monóxido de carbono. El protocolo del estudio recibió la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital de Sant Pau (Barcelona) antes de su inicio, y todos los pacientes firmaron el consentimiento informado.

El procedimiento se llevó a cabo en un quirófano convencional. La monitorización y la sedación del paciente eran realizadas por un anestesiólogo. Se registraron la saturación de oxihemoglobina, la presión arterial, la frecuencia cardíaca y respiratoria, así como electrocardiograma y capnografía. La anestesia local de la vía aérea superior se realizaba con la instilación de lidocaína tópica. Los fármacos utilizados para la sedación fueron remifentanilo ($0,05\text{--}0,1 \mu\text{g}/\text{kg}^{-1}/\text{h}^{-1}$) y propofol ($3\text{--}6 \text{ mg}/\text{kg}^{-1}/\text{h}^{-1}$) en perfusión. Se intubaba al paciente bajo control broncoscópico con un tubo flexible y anillado (Bronchoflex 7,5 mm, Rüsch[®]) que permitía mantener ventilación espontánea y realizar ventilación de alta frecuencia si se precisaba. A través del tubo endotraqueal se efectuaba la exploración endoscópica del árbol bronquial mediante un videobroncoscopio (BF 260-T, Olympus[®]) y se procedía a practicar el lavado broncoalveolar en la zona seleccionada de acuerdo con la información de la tomografía computarizada de tórax. Posteriormente, bajo control fluoroscópico y dirigido a la zona pulmonar previamente seleccionada, se procedía a la realización de biopsias transbronquiales mediante una criosonda (fig. 1).

La criosonda utilizada es una sonda flexible con un diámetro de 2,4 mm y una longitud de 900 mm, que se conecta al equipo de crioterapia (Erbokryo[®] CA, Erbe, Alemania).

La congelación del tejido sobre el que se aplica la sonda es, según el principio de Joule-Thomson, resultado de la descompresión del gas (óxido nitroso) en el extremo de la misma. El contacto de la sonda con el tejido presenta un alto poder de congelación (-89°C) que, por las características de la sonda, resulta estable a la tracción.

De forma similar a la técnica empleada para la realización de biopsias transbronquiales, la criosonda se introducía a través del canal de trabajo del broncoscopio flexible. La aplicación de frío se realizaba durante 3 s, tras los cuales se retiraba, junto con el

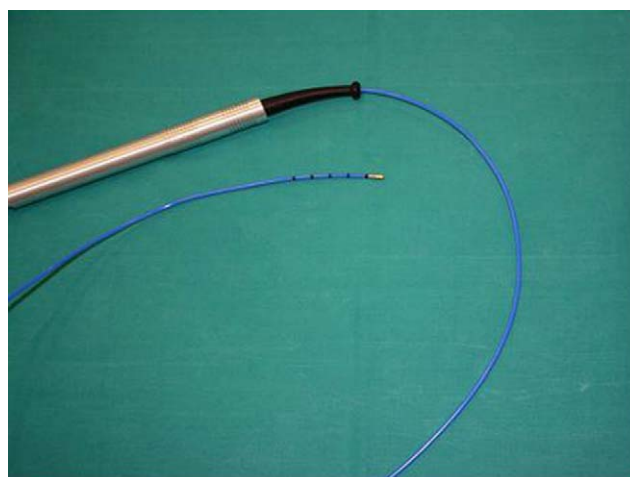


Figura 1. Instrumental utilizado para la realización de criobiopsias: criosonda flexible (Erbokryo[®] CA, Erbe, Alemania), de 2,4 mm de diámetro y 900 mm de longitud.

videobroncoscopio, la sonda con el fragmento pulmonar congelado que había quedado adherido a su extremo. Las muestras se remitieron al Servicio de Anatomía Patológica en una solución de formaldehído. Se intentó obtener un mínimo de 2 biopsias en cada paciente, aunque el número podía variar según la tolerancia, la aparición de complicaciones o el criterio del broncoscopista.

Se registró la duración del procedimiento, así como las complicaciones observadas: hemorragia, neumotórax e insuficiencia respiratoria aguda (presión arterial de oxígeno <60 mmHg y/o presión arterial de anhídrido carbónico >45 mmHg tras la intervención). La hemorragia pulmonar se clasificó, de acuerdo con su gravedad, en: grado I, hemorragia muy leve en que no se precisan maniobras endoscópicas; grado II, hemorragia moderada que cede en menos de 3 min tras realizar maniobras endoscópicas (oclusión-coloapso bronquial y/o instilación de suero frío), y grado III, hemorragia grave que no es posible controlar endoscópicamente, provoca inestabilidad hemodinámica o respiratoria y obliga a interrumpir el procedimiento.

Además de la descripción habitual de las alteraciones histológicas, el anatomopatólogo evaluó las siguientes características de la muestra: tamaño (diámetro y área), número de espacios alveolares, porcentaje de parénquima viable para estudio histológico—definido como el porcentaje de representación de estructuras alveolares en la muestra—y porcentaje de parénquima preservado—esto es, porcentaje de parénquima pulmonar sin artefactos. Para la evaluación histológica de las muestras se utilizó una escala de puntuación según cuartiles empleada en estudios previos⁶. Según la aproximación diagnóstica que el anatomopatólogo establecía a partir de los hallazgos observados, las muestras se clasificaban en diagnóstico de certeza, diagnóstico de probabilidad, muestra no diagnóstica y material insuficiente. Tras el procedimiento, el paciente era extubado y se mantenía en observación durante un período de 2–3 h, tras el cual, si no se objetivaban complicaciones, se le daba de alta. A las 24 h de realizarse el procedimiento se efectuaba un control telefónico

para recoger posibles síntomas o complicaciones posteriores derivadas del procedimiento.

El estudio se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones éticas internacionales para investigación y ensayos clínicos recogidas en la Declaración de Helsinki, y el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona) analizó y aprobó su realización.

El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS (versión 14) para Windows[®].

Resultados

Se realizó BPTB con criosondas a 10 pacientes con enfermedad pulmonar intersticial difusa, cuyas características funcionales y antropométricas se recogen en la tabla 1. En cada paciente se obtuvieron entre 2 y 4 biopsias pulmonares transbronquiales con criosonda bajo control fluoroscópico, y en todos los casos se realizó lavado broncoalveolar previo a la obtención de las biopsias. La duración media (\pm desviación estándar) del procedimiento fue de 35 ± 11 min. Todos los pacientes fueron extubados y dados de alta a su domicilio. La estancia media hasta el alta domiciliaria fue de 156 ± 40 min. Ningún paciente requirió ingreso hospitalario.

Como complicaciones inmediatas, registradas durante el procedimiento, el 20% de los pacientes presentó hemorragia de grado I y en el 40% se objetivó hemorragia de grado II. Ningún paciente presentó hemorragia grave que obligara a suspender el procedimiento ni precisó medidas médicas o quirúrgicas adicionales. Ningún paciente presentó neumotórax ni insuficiencia respiratoria aguda tras la realización de la BPTB con criosonda. No se detectaron otras complicaciones 24 h después del procedimiento.

De los 10 pacientes incluidos en el estudio, se analizaron 20 muestras (2 por paciente), que evaluó un anatomopatólogo según el protocolo establecido. Las biopsias obtenidas presentaban un área media de $9,5 \text{ mm}^2$ (rango: $3\text{--}25 \text{ mm}^2$) y un diámetro medio de $3,1 \text{ mm}$ (rango: $2,2\text{--}5 \text{ mm}$). El número medio de espacios alveolares conservados fue de $29,6$ (rango: $3\text{--}100$). Según la escala utilizada para la valoración histológica de la muestra, el 60% de las muestras presentó un porcentaje igual o superior al 75% de parénquima pulmonar sin artefactos, el 50% mostró entre el 75 y el 100% de parénquima viable para estudio histológico y únicamente en 2 casos se obtuvo escasa representación de parénquima pulmonar, siendo el resto de la muestra pared bronquial. En cuanto a los diagnósticos histológicos observados, 2 casos presentaron hallazgos indicativos de neumonía intersticial no específica, 3 casos alveolitis alérgica extrínseca y en 5 pacientes las alteraciones observadas no permitieron un diagnóstico histológico concreto por tratarse de cambios inespecíficos.

Tabla 1
Variables clínicas y funcionales de los 10 pacientes estudiados

Edad (años)	$64 \pm 8,4$
Sexo (varón/mujer)	6/4
FVC (% pred.)	$73 \pm 21,1$
FEV ₁ (% pred.)	$80 \pm 20,1$
FEV ₁ /FVC	$81 \pm 7,4$
TLC (% pred.)	$78 \pm 12,3$
DLCO (% pred.)	$56 \pm 12,1$
DLCO/VA (% pred.)	$79 \pm 17,3$

Los datos se presentan como media \pm desviación estándar, o número de pacientes en el caso del sexo. DLCO/VA: capacidad de difusión de monóxido de carbono ajustada al volumen alveolar; DLCO: capacidad de difusión del monóxido de carbono; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; FVC: capacidad vital forzada; TLC: capacidad pulmonar total.



Figura 2. Fotografías de una de las muestras pulmonares obtenidas mediante biopsia transbronquial con criosonda.

Discusión

Los resultados obtenidos permiten afirmar que la BPTB con criosondas es una técnica viable para la obtención de muestras de parénquima pulmonar, con un número de complicaciones relativamente bajo y sin un aparente incremento de los efectos adversos asociados a este procedimiento. En la actualidad, las sondas de crioterapia presentan mayor poder y velocidad de congelación, características que aumentan la tracción de la sonda sobre el tejido. Estas modificaciones han permitido incrementar la eficacia terapéutica de este procedimiento para la extracción de tumores endobronquiales, con un alto porcentaje de éxitos en la exéresis y recanalización bronquial. Además, en estudios anteriores, el análisis anatomopatológico e inmunohistológico de las muestras tisulares obtenidas con criosondas objetivó que se trataba de biopsias superiores en tamaño y calidad a las obtenidas mediante pinzas de biopsia convencional⁶⁻⁸.

El presente trabajo es el primero que analiza de forma prospectiva la seguridad y la viabilidad de esta técnica en pacientes con sospecha de enfermedad intersticial.

Respecto a la viabilidad, nuestros resultados muestran que el uso de criosondas para la realización de la BPTB, al efectuarse ésta de forma similar al procedimiento convencional, no parece aumentar la dificultad de su aplicación ni prolongar el tiempo que se requiere para llevarla a cabo.

En este sentido, una limitación de nuestro estudio que cabe resaltar es el hecho de que las BPTB con criosondas se efectuaron en un quirófano, lo que supone un incremento de la complejidad y de los costes derivados de la técnica. Sin embargo, puesto que uno de los objetivos principales del estudio fue la valoración de la seguridad, y actualmente se dispone de escasa información en cuanto a este dato, era necesario realizar el procedimiento en las condiciones de mayor seguridad posible, optimizando la monitorización y control del paciente, lo que permitía resolver cualquier eventualidad relacionada con la aplicación del procedimiento. Sin embargo, los autores opinan que, con la experiencia adecuada, el procedimiento podría realizarse en un gabinete de broncoscopia convencional correctamente dotado⁹.

En el caso de la BPTB con pinza convencional, varios autores han registrado las complicaciones secundarias, siendo la hemorragia y el neumotórax los dos efectos adversos más frecuentes (oscilan entre el 1 y el 5%, respectivamente)¹⁰⁻¹². En nuestro estudio, ningún paciente presentó neumotórax ni hemorragia grave. El hecho de no haber observado hemorragias significativas podría guardar relación con la meticulosa selección de los pacientes, excluyendo a aquéllos con mayor riesgo de presentarla (alteraciones de los factores de coagulación y presencia de hipertensión arterial pulmonar), aunque también es posible pensar en los efectos hemostáticos producidos por el frío (vasoconstricción y microtrombosis capilar en la zona de contacto de la criosonda), lo que podría contribuir a disminuir el número y el volumen de la hemorragia.

En cuanto a la BPTB con criosondas, existen pocos datos acerca de los posibles efectos adversos de esta técnica. En un estudio reciente realizado en pacientes con enfermedad pulmonar difusa a quienes se efectuó BPTB utilizando pinzas de biopsia convencional y criosondas, se registró un 4% de neumotórax y no se observó ninguna hemorragia grave¹³. Sin embargo, no es posible extraer conclusiones definitivas sobre la seguridad, ya que ambos procedimientos se llevaban a cabo en el mismo paciente, de modo que no era posible establecer si las complicaciones observadas, aunque escasas, eran atribuibles a uno u otro método.

Nuestros resultados apuntan a que es un procedimiento técnicamente viable que no parece incrementar el número de efectos adversos, aunque serán necesarios estudios más amplios y comparativos con el método convencional para poder extraer conclusiones sobre la seguridad de la técnica. Además, a pesar de

que el procedimiento se llevó a cabo en un quirófano, la técnica continúa conservando el carácter ambulatorio, por lo que, tal y como ocurre en el caso de la BPTB con pinzas convencionales, el paciente no precisa ingreso hospitalario.

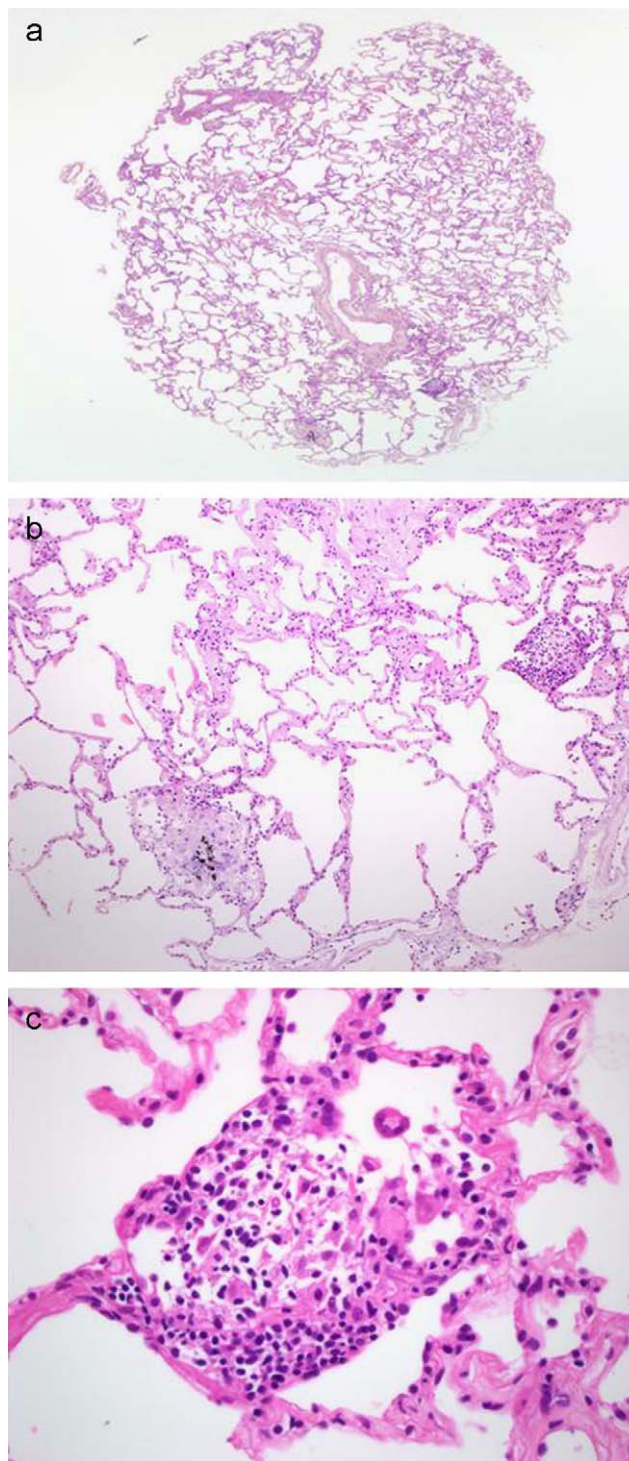


Figura 3. a) Imagen de microscopía óptica ($\times 2$) sobre corte histológico de biopsia pulmonar obtenida mediante criosonda. Tinción hematoxilina-eosina. Obsérvese la presencia de numerosos espacios alveolares, así como estructuras bronquiales y alveolares. El paciente fue diagnosticado de una alveolitis alérgica extrínseca. b) Imagen microscópica a mayor aumento del mismo caso ($\times 20$). Obsérvese el grado de conservación de las estructuras alveolares, así como la presencia de infiltrados mononucleares intersticiales leves y granulomas no caseificantes. c) Imagen microscópica ($\times 40$) donde se identifica un granuloma no caseificante.

Otra diferencia con respecto al procedimiento convencional es la necesidad de intubación orotraqueal para realizar la técnica, por lo que el paciente requiere una sedación profunda. Esto facilita la entrada y salida del videobroncoscopio con la criosonda y la muestra adherida en su extremo, ya que el tamaño de la muestra no permite el paso a través del canal de trabajo del videobroncoscopio. En este punto, y puesto que el paciente se encuentra sedado, no es posible usar la aparición de dolor en punta de costado como signo de irritación pleural y riesgo de neumotórax^{14,15}, de manera que es importante controlar por fluoroscopia que la sonda quede a 1–2 cm de la pleura visceral para minimizar el riesgo de neumotórax. Por otro lado, la sedación durante la broncoscopia proporciona mayor bienestar y mejor tolerancia¹⁶.

Una de las limitaciones de la BPTB convencional en el logro de un diagnóstico histológico preciso es el reducido tamaño de la muestra. Así, en un estudio realizado por Curley et al¹⁷ en el que se analizaron 170 muestras obtenidas mediante BPTB, se observó que el 50% de las biopsias tenía un tamaño menor de 3 mm, lo que condicionaba, además, la presencia de un número reducido de espacios alveolares (menos de 20 espacios alveolares en el 48% de las muestras). Estos datos, junto a la presencia de artefactos producidos por el efecto de las pinzas de biopsia sobre el tejido (aplastamiento, hemorragia intraalveolar), dificultan el análisis histológico posterior de las muestras y confieren una gran variabilidad en el rendimiento diagnóstico de la BPTB. En este punto, la BPTB mediante criosondas se plantea como una alternativa en el diagnóstico de las enfermedades pulmonares difusas, ya que las muestras obtenidas mediante esta nueva técnica parecen superiores en tamaño y calidad a las obtenidas mediante pinzas de biopsia convencional (fig. 2). A escala microscópica, las biopsias obtenidas mediante criosonda no presentan artefactos ni alteraciones secundarios al efecto de la congelación sobre el tejido (fig. 3). La explicación de este hallazgo podría ser la rapidez con que la nueva generación de criosondas induce la congelación. De esta forma, tampoco se objetivan las alteraciones clásicas que se producen en las muestras obtenidas mediante pinzas de biopsia.

Nuestra experiencia indica que la utilización de criosondas puede suponer una mejora y optimización de la BPTB. Las importantes implicaciones pronósticas y terapéuticas otorgan un máximo interés al hecho de intentar obtener un diagnóstico específico en los casos de enfermedades pulmonares difusas, a menudo complejas, en las que la interacción entre el clínico, el radiólogo y el anatomopatólogo es fundamental¹⁸. De todos modos, es necesario realizar estudios prospectivos, comparativos y aleatorizados para averiguar si esta novedosa modalidad supone un verdadero incremento del rendimiento diagnóstico y permite reducir el número de biopsias quirúrgicas.

Agradecimientos

A Carmen Burgués por su indispensable ayuda en la realización de los procedimientos endoscópicos. A los Dres. José Manuel

Rodríguez-Arias y Diego Castillo por su apoyo y ayuda en la selección y manejo de los pacientes con enfermedad pulmonar difusa. Al Dr. Vicente Plaza por el constante estímulo científico durante el desarrollo del estudio.

Financiación

Estudio financiado con la ayuda de la BECA SOCAP 2008.

Conflicto de intereses

Los autores del presente manuscrito no tienen ninguna relación financiera ni personal que pueda provocar conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Xaubet A, Ancochea J, Blanquer R, Montero C, Morell F, Rodríguez Becerra E, et al. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades pulmonares intersticiales difusas. Arch Bronconeumol. 2003;39:580–600.
2. Levin DC, Wicks AB, Ellis JH. Transbronchial lung biopsy via the fiberoptic bronchoscope. Am Rev Respir Dis. 1974;110:4–12.
3. American Thoracic Society/European Respiratory Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161:646–64.
4. Prakash UBS, Offord KP, Stubbs SE. Bronchoscopy in North America: the ACCP survey. Chest. 1991;100:1668–75.
5. Gorestein A, Neel III HB, Sanderson DR. Transbronchoscopic cryosurgery of respiratory structures: experimental and clinical studies. Ann Otol Rhinol Laryngol. 1976;85:670–8.
6. Hetzel J, Hetzel M, Hasel C, Moeller P, Babiak A. Old meets modern: the use of traditional cryoprobes in the age of molecular biology. Respiration. 2008;76:193–7.
7. Schumann C, Mattfeldt T, Hetzel M, Hetzel J, Lepper P. Improving the diagnostic yield of endobronchial biopsies by flexible cryoprobe in lung cancer—comparison of forceps and cryoprobe technique. Eur Respir J. 2004;24:491.
8. Hetzel M, Hetzel J, Schumann C, Marx N, Babiak A. Cryorecanalization: a new approach for the immediate management of acute airway obstruction. J Thorac Cardiovasc Surg. 2004;127:1427–31.
9. Flandes J, Alfageme I. Recursos humanos, físicos, de material y terapéuticos. En: Necesidades y organización de una unidad de endoscopia respiratoria. Manual SEPAR de procedimientos. Madrid: Luzán Ediciones; 2002. p. 9–19.
10. Pereira W, Kovnat DM, Snider GL. A prospective cooperative study of complications following flexible fiberoptic bronchoscopy. Chest. 1976;69:747–51.
11. Herf SM, Suratt PM, Arora NS. Deaths and complications associated with transbronchial lung biopsy. Am Rev Respir Dis. 1977;115:708–11.
12. Strange C, Heffner JE, Collins BS, Brown FM, Sahn SA. Pulmonary haemorrhage and air embolism complicating transbronchial biopsy in pulmonary amyloidosis. Chest. 1987;93:367–8.
13. Babiak A, Hetzel J, Krishna G, Fritz P, Moeller P, Balli T, et al. Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. Respiration. 2009;77:1–6.
14. Fenoyl O, Capron F, Lebeau B, Rochemaure J. Transbronchial biopsy without fluoroscopy: a five year experience in outpatients. Thorax. 1989;44:956–9.
15. Zavala DC. Transbronchial biopsy in diffuse lung disease. Chest. 1978;73:727–33.
16. Williams TJ, Bowie PE. Midazolam sedation to produce complete amnesia for bronchoscopy: 2 years experience at a district general hospital. Respir Med. 1999;93:361–5.
17. Curley FJ, Johal JS, Burke ME, Fraire AE. Transbronchial lung biopsy: can specimen quality be predicted at the time of biopsy?. Chest. 1998;113:1037–41.
18. Leslie KO, Gruden JF, Parish JM, Scholand MB. Transbronchial biopsy interpretation in the patient with diffuse parenchymal lung disease. Arch Pathol Lab Med. 2007;131:407–23.

ESTUDIO II:

Pajares V, Puzo C, Castillo D, Lerma E, Montero A, Ramos D, Amor O, Gil de Bernabé MA, Franquet T, Plaza V, Hetzel J, Sanchis J, Torrego A. Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in diffuse lung disease: a randomised trial. *Respirology*. 2014;19(6):900-6.

ORIGINAL ARTICLE

Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in interstitial lung disease: A randomized trial

VIRGINIA PAJARES,^{1,2} CARMEN PUZO,¹ DIEGO CASTILLO,¹ ENRIQUE LERMA,³ M. ANGELES MONTERO,⁴ DAVID RAMOS-BARBÓN,¹ OSCAR AMOR-CARRO,¹ ANGELS GIL DE BERNABÉ,⁵ TOMÁS FRANQUET,⁶ VICENTE PLAZA,¹ JÜRGEN HETZEL,⁷ JOAQUIN SANCHIS¹ AND ALFONS TORREGO¹

Departments of ¹Respiratory Medicine, Biomedical Research Institute Sant Pau (IIB Sant Pau), ³Pathology, ⁵Anaesthesiology and ⁶Radiology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, and ²Department of Medicine, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain, ⁴Department of Histopathology, Royal Brompton & Harefield NHS Trust, London, UK, and ⁷Department of Internal Medicine 2, University of Tübingen, Tübingen, Germany

ABSTRACT

Background and objective: Transbronchial lung biopsy (TBLB) is required for evaluation in selected patients with interstitial lung disease (ILD). The diagnostic yield of histopathologic assessment is variable and is influenced by factors such as the size of samples and the presence of crush artefacts left by conventional biopsy forceps. We compared the diagnostic yield and safety of TBLB with cryoprobe sampling versus conventional forceps sampling.

Methods: This randomized clinical trial analysed data for 77 patients undergoing TBLB for evaluation of ILD; patients were assigned to either a conventional-forceps group or a cryoprobe group. Two pathologists assessed the tissue samples and agreed on histopathologic diagnoses. We also compared the duration of procedures, complications and sample-quality variables.

Results: The most frequent diagnosis observed in the cryoprobe group was non-specific interstitial pneumonia. Histopathologic diagnoses were identified in more cases in the cryoprobe group (74.4%) than in the conventional-forceps group (34.1%) ($P < 0.001$), and the diagnostic yield was higher in the cryoprobe group (51.3% vs 29.1% in the conventional forceps group; $P = 0.038$). A larger mean area of tissue was harvested by cryoprobe ($14.7 \pm 11 \text{ mm}^2$) than by conventional forceps ($3.3 \pm 4.1 \text{ mm}^2$) ($P < 0.001$). More grade 2 bleeding (not statistically significant) occurred in the cryoprobe group (56.4%) than in the conventional-forceps group (34.2%). No differences in other complications were observed.

Conclusions: TBLB by cryoprobe is safe and potentially useful in the diagnosis of ILD. Larger multisite randomized trials are required to confirm the potential benefits of this procedure.

Clinical trial registration at ClinicalTrials.gov: NCT01064609.

Correspondence: Virginia Pajares, Department of Respiratory Medicine, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, C/ Sant Antoni M^a Claret, 167, 08025 Barcelona, Spain. Email: vpajares@santpau.cat

Received 24 October 2013; invited to revise 24 November 2013 and 24 January 2014; revised 15 January and 14 February 2014; accepted 25 March 2014 (Associate Editor: Yuben Moodley).

SUMMARY AT A GLANCE

The diagnostic yield of transbronchial lung biopsy in interstitial lung disease is variable. This is the first randomized trial to demonstrate that the yield of transbronchial lung biopsy is higher with cryoprobes than with conventional forceps in patients with interstitial lung diseases requiring a bronchoscopic procedure for diagnosis.

Key words: bronchoscopy, cryobiopsy, cryoprobe, interstitial lung disease, transbronchial lung biopsy.

Abbreviations: HRCT, high-resolution computed tomography; HSCSP, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau; ILD, interstitial lung disease; NSIP, nonspecific interstitial pneumonia; PCNA, proliferating cell nuclear antigen; TBLB, transbronchial lung biopsy; UIP, usual interstitial pneumonia.

INTRODUCTION

Transbronchial lung biopsy (TBLB) using a flexible bronchoscope was described by Levin *et al.*¹ in 1974 and has since been widely used for obtaining lung samples for histologic evaluation.² The diagnostic yield of histopathologic assessment is variable,³⁻⁵ however, and is influenced by such factors as the size of samples harvested⁶ and the presence of crush artefacts left by conventional biopsy forceps.⁷ Furthermore, we have found that small size and the presence of artefacts make it difficult to run immunohistochemistry assays that can be useful for quantifying fibroblasts and cytokines as markers of cell damage in the alveolar epithelium.^{8,9}

Cryoprobes—used initially for therapeutic purposes—have also been useful to harvest larger samples and improve diagnostic yield in endobronchial procedures.¹⁰ In that setting, cryobiopsies have also proven to have excellent tissue quality for

immunohistochemistry.¹¹ Although the main application of cryoprobes is for the destruction of endobronchial tumours,¹² the newer generation probes freeze tissue rapidly and provide greater traction, making them attractive tools for use in diagnostic procedures. TBLB by cryoprobe seems feasible for harvesting lung parenchyma^{13,14} but no randomized trials have yet confirmed the clinical utility of this procedure.

The present study was therefore designed to determine the diagnostic yield of TBLB by cryoprobe in comparison with conventional forceps in patients with clinical and radiographic findings of interstitial lung disease (ILD). We also compared the quality of the samples for histologic analysis and the safety of the two techniques. In the cryoprobe group, we explored the viability of samples for immunohistochemical assays.

METHODS

The study was conducted in the respiratory medicine department of Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (HSCSP) in Barcelona. The stipulations of the Declaration of Helsinki for human research in clinical trials were followed, and the study was reviewed and approved by the Clinical Research Ethics Committee of HSCSP (approval number: EC/08/086/2764 (ps)). The study was registered at ClinicalTrials.gov (identifier number NCT01064609).

Study design

This randomized controlled trial of two trans-bronchial biopsy techniques enrolled patients who had clinical and radiographic features of ILD (either acute or chronic) and who were scheduled for TBLB in accordance with the British Thoracic Society guidelines.¹⁵ Patients with images typical of usual interstitial pneumonia (UIP) and honeycombing pattern in high-resolution computed tomography (HRCT) were excluded, according to the same guidelines. Other exclusion criteria were use of anticoagulation therapy or presence of a coagulation disorder (thrombocytopenia < 50 000 cells/mm³ or abnormal platelet counts >1 million cells/mm³ international normalized ratio > 1.5, and activated partial thromboplastin time >50 s), hypoxaemia (pO₂ < 60 mm Hg), severe respiratory impairment (forced expiratory volume in 1 s < 50%, total lung capacity < 50%, diffusing capacity of carbon monoxide < 50% of reference) and unstable heart disease (uncontrolled cardiac arrhythmia, active myocardial ischaemia).

Clinical protocols

Patients were randomized to two groups to undergo TBLB with either conventional forceps or a cryoprobe by means of sealed, numbered envelopes with group assignments prepared by the department of clinical epidemiology of HSCSP. SPSS software was used to generate the randomized numbers.

In the conventional-forceps group, we used biopsy forceps (model 1556, Boston Scientific, Natick, MA, USA or FB-1556E, Olympus Medical Systems Corp, Tokyo, Japan). In the cryoprobe group, we used a flexible cryoprobe with a diameter of 2.4 mm and a length of 900 mm (model 20416-032, Erbokryo CA, Erbe, Germany).

The upper airway was anaesthetized with topical 2% lidocaine; intravenous sedation was provided throughout the procedure with midazolam in the conventional-forceps group or midazolam, remifentanyl and propofol in the cryoprobe group. The endoscopic procedures were managed similarly in both groups. The only between-group procedural difference was the insertion of an endotracheal tube (Bronchoflex 7.5 mm, Rusch, Teleflex Medical, Durham, NC, USA) in the cryoprobe group. This tube enabled us to remove the bronchoscope and cryoprobe together, along with the sampled tissue, using a technique that has been described elsewhere.^{11,13,14} The patients in the cryoprobe group therefore required deeper sedation, although they continued to breathe spontaneously.

All samples were harvested through a flexible bronchoscope (BF 260-T, Olympus) during procedures that included endoscopic exploration and other diagnostic tests as required. In all patients in both groups, at least three samples were taken from several bronchial segments and lobes in affected parts of the lung that had previously been identified by HRCT. All bronchoscopies were performed under fluoroscopic guidance to help lung segment selection. In the test group, the cryoprobe was placed into the bronchial segment and applied for 3–4 s.

Procedure variables included duration of the biopsy procedure and complications (bleeding and pneumothorax). Severity of bleeding was classified on an adapted scale¹⁶ (grade 0, no bleeding; grade 1, bleeding requiring suction to clear but no other endoscopic procedures; grade 2, bleeding requiring endoscopic procedures (bronchial occlusion-collapse and/or instillation of ice-cold saline); grade 3, severe bleeding not controlled endoscopically, causing haemodynamic or respiratory instability, requiring surgical interventions or admission to the intensive care unit). Patients were kept under observation for several hours after the bronchoscopic procedure in both groups. They were discharged home or to their usual place of residence if no complications occurred.

Tissue sample processing

Both the conventional and cryoprobe biopsies were fixed in 4% paraformaldehyde and paraffin embedded; 4-µm sections were processed for the staining protocol (HE, Masson's trichrome to identify collagen, and Orcein stain for elastic fibre detection). Two pathologists blinded to sampling method from two different hospitals evaluated the samples independently. Tissue quality variables recorded were tissue sample size (diameter and area), number of alveolar spaces sampled and percentage of the artefact-free tissue in each sample. Signs of atelectasis, tissue sample fragmentation and clots were considered

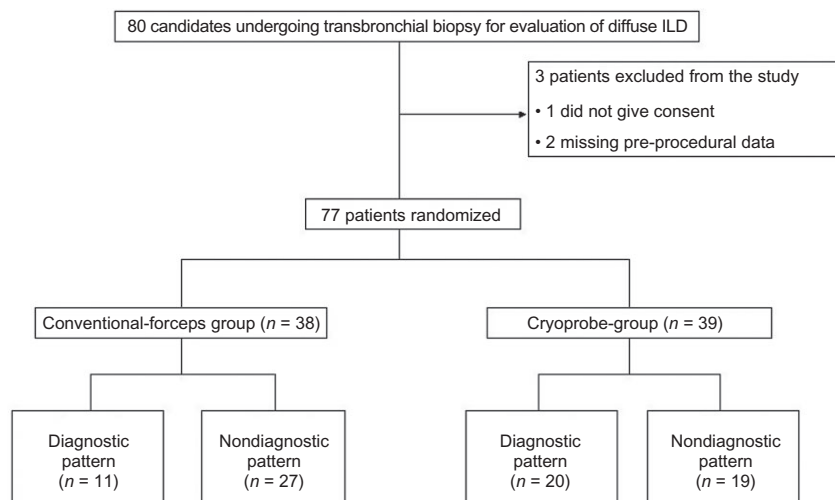


Figure 1 Flow chart of patient enrolment and findings.

artefacts; the pathologist noted them and then recorded how much of each sample was free of such artefacts. Next, the pathologists came to a consensus concerning a histologic classification of ILD.^{17,18} Finally, every case was discussed in a multidisciplinary committee that included expert radiologists, clinicians and the pathologists; at this time, the samples were classified as providing a diagnostic pattern or not (i.e. having a 'nondiagnostic pattern').

Immunohistochemistry was performed on cryoprobe samples to confirm that freezing the tissue had not caused cell damage that made them nonviable for these assays. The sections were deparaffinized in xylene, ethanol and Tris-buffered saline. Membranes were stabilized in 0.2% Triton X-100 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and blocked with 5% normal horse serum (Vector Laboratories, Peterborough, UK). The specimens were then incubated with mouse monoclonal antibody to α -smooth muscle actin (clone 1A4; Sigma-Aldrich; working concentration, 2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}$) or proliferating cell nuclear antigen (PCNA) (clone Ab-1; Calbiochem, Merck Chemicals, Darmstadt, Germany). For PCNA immunostaining, the sections were processed for high temperature epitope unmasking with commercially available equipment (2100 Antigen Retriever, Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA, USA) and retrieval buffer.

Statistical analysis

SPSS version 16 for Windows (IBM Corp., Armonk, NY, USA) was used for randomization and all analyses. Results are expressed as mean \pm standard deviation for quantitative variables and as number and percentage for qualitative variables.

Sample size was calculated assuming an alpha error of 5%, a beta error of 20% and a 10% loss of data; we calculated that 80 patients should be enrolled to fulfil these conditions and detect at least a 32% between-method difference in the rates of histologic diagnosis.

A contingency table was constructed and inferences were tested by the chi-squared test (qualitative variables), the *t*-test (normally distributed quantitative

Table 1 Patient characteristics at baseline

Variable	Cryoprobe group (n = 39)	Conventional-forceps group (n = 38)
Age (years)	60.3 \pm 10.3	64.7 \pm 11.5
Gender (males/females)	20/19	16/22
FVC L	2.9 \pm 0.9	2.5 \pm 0.6
FVC % ref	78.2 \pm 15.2	75.1 \pm 17.2
FEV ₁ L	2.31 \pm 0.8	1.9 \pm 0.5
FEV ₁ % ref	82.9 \pm 17.6	78.5 \pm 18.6
FEV ₁ /FVC % ref	77.1 \pm 8.5	75.9 \pm 8.6
TLC % ref	88.1 \pm 18.7	89.5 \pm 18.9
DLco % ref	67.5 \pm 19.8	64.5 \pm 19.5
PaO ₂ mm Hg	83.4 \pm 12	78.6 \pm 11.9
INR	1 \pm 0.7	1.2 \pm 0.5
Platelets $\times 10^9$ cells \cdot L	249.5 \pm 59.4	258 \pm 98

Data are presented as mean \pm SD except for gender.

% ref, percentage of reference value; DLco, carbon monoxide diffusing capacity of the lung; FEV₁, forced expiratory volume in 1 s; FVC, forced vital capacity; INR, international normalized ratio; PaO₂, partial pressure of oxygen in arterial blood; TLC, total lung capacity.

variables) or the Mann-Whitney *U*-test (non-normally distributed quantitative variables). All comparisons were two-tailed and the level of significance was 0.05.

RESULTS

We recruited 80 candidates between February 2010 and January 2013; two patients were initially excluded because they did not meet all selection criteria (pre-procedural tests were omitted) and one patient did not sign the consent form (Fig. 1). A total of 77 patients were randomized, 38 to the conventional-forceps group and 39 to the cryoprobe group. The baseline characteristics of each group were similar (Table 1).

Table 2 Histopathologic diagnosis and diagnostic yield after multidisciplinary review

Histopathologic diagnosis	Histopathologic diagnosis			Diagnostic consensus	Multidisciplinary diagnosis		
	Cryoprobe group <i>n</i> (%)	Conventional-forceps group <i>n</i> (%)	<i>P</i> -value		Cryoprobe group <i>n</i> (%)	Conventional-forceps group <i>n</i> (%)	<i>P</i> -value
• Nonspecific interstitial pneumonia	12 (30.8)	1 (2.6)		• Nonspecific interstitial pneumonia	10 (25.7)	0	
• Diffuse alveolar damage	1 (2.6)	2 (5.3)		• Acute alveolar injury	1 (2.6)	0	
• Organizing pneumonia	3 (7.7)	3 (8)		• Infection	0	2 (5.3)	
• Sarcoidosis	1 (2.6)	2 (5.1)		• Organizing pneumonia	3 (7.7)	3 (8)	
• Bronchiolitis-associated DILD	2 (5.1)	1 (2.6)		• Sarcoidosis	1 (2.6)	2 (5.3)	
• Hypersensitivity pneumonitis	3 (7.7)	0		• Respiratory-bronchiolitis associated DILD	2 (5.1)	1 (2.6)	
• Eosinophilic pneumonia	0	2 (5.3)		• Hypersensitivity pneumonitis	3 (7.7)	0	
• Adenocarcinoma	0	1 (2.6)		• Eosinophilic pneumonia	0	2 (5.3)	
• Usual interstitial pneumonia	7 (17.9)	1 (2.6)		• Adenocarcinoma	0	1 (2.6)	
Total	29 (74.4)	13 (34.1)	<0.001	Total	20 (51.4)	11 (29.1)	0.038

Data are presented as number of subjects and percentage.
DILD, diffuse interstitial lung disease.

A total of 266 lung tissue samples were harvested (126 with conventional forceps and 140 with the cryoprobe) and evaluated. The between-group difference in number of samples was not significant.

The mean duration of procedures was also similar (30.5 ± 7.6 min in the cryoprobe group and 32.5 ± 8.6 min in the conventional-forceps group, $P = 0.294$).

Diagnostic yield

The histopathologic diagnoses for all patients are shown in Table 2, by group. More samples that provided a histologic diagnosis were submitted for cryoprobe group patients (29 of 39; 74.4%) than for conventional-forceps group patients (13 of 38; 34.1%) ($P < 0.001$). Table 2 also shows the final diagnoses reached by the multidisciplinary committee after review of histologic, clinical and radiologic features. The diagnostic yield in the cryoprobe group was higher than in the conventional-forceps group (51.4% vs 29.1%, respectively) ($P = 0.038$).

Inadequate sample material for histology (< 1 mm) was obtained from 24.3% of patients in the conventional-forceps group but from none in the cryoprobe group ($P = 0.001$).

Secondary outcome measures: sample quality and procedure feasibility

Tissue samples were significantly larger in the cryoprobe group than in the conventional-forceps group.

Table 3 Histologic variables and quality of biopsies

Variable	Cryoprobe group	Conventional-forceps group	<i>P</i> -value
Total no. of samples	140	126	0.342
No. of samples per procedure	3.7 ± 0.9	3.5 ± 1.2	0.44
Diameter mm	4.1 ± 1.5	1.8 ± 1	<0.001
Area mm ²	14.7 ± 11	3.3 ± 4.1	<0.001
No. alveoli sampled	68.2 ± 61.2	22.0 ± 39.8	<0.001
Presence of pleural tissue	5 (3.6%)	3 (2.4%)	0.711
Presence of bronchus wall	12 (8.6%)	10 (7.9%)	0.802
75% artefact-free (% of total sampled area)	66.6	31.6	0.012

Data are presented as mean \pm SD, total number (%) of samples, or percentage of total area sampled that was 75% artefact-free area.

Tissue quality assessment showed that alveolar sampling was greater and artefacts were fewer in the cryoprobe group (Table 3).

Immunohistochemical processing demonstrated that tissue architecture was well preserved in the cryobiopsies and all were viable for the immunohistochemical detection of cytoplasmic and nuclear

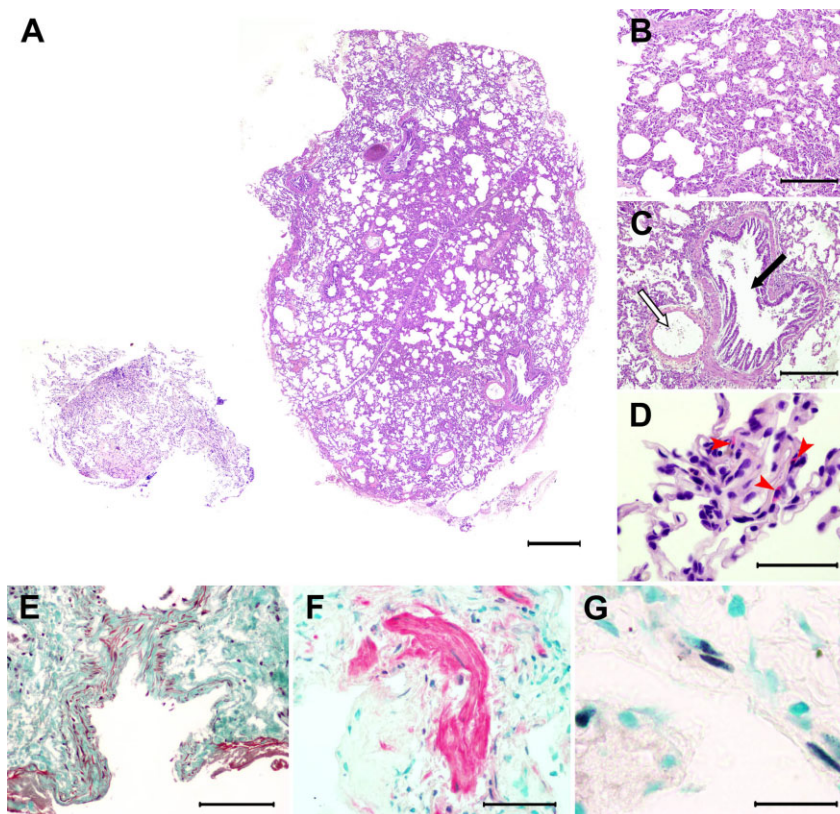


Figure 2 Four-micrometre sections were stained with HE (A-D) and Masson's trichrome (E). In (A), complete tissue sections from a conventional-forceps biopsy (left) and a cryobiopsy (right) were mapped through consecutive microscopic fields and reconstructed. The cryobiopsy preserved the lung parenchyma structure and allowed us to examine a large sampling of alveoli (A,B). Small airways (C, black arrow) and accompanying vessels (white arrow) were also sampled and preserved, and fine histopathologic details, such as infiltrating eosinophils in the parenchyma, were readily visible (D, arrows). Masson's trichrome revealed extensive extracellular matrix deposition (E). Immunostaining provided clear definition of cells positive for α -smooth muscle actin cells comprising myocytes and myofibroblasts (F, red staining) and PCNA (G, dark-purple staining). Nuclear counterstain in (F) and (G) is methyl green. Scale bars: 500 μ m in (A); 200 μ m in (B,C); 50 μ m in (D,F); 100 μ m in (E); 20 μ m in (G).

Table 4 Complications during transbronchial lung biopsy

Complications	Cryoprobe group <i>n</i> (%)	Conventional-forceps group <i>n</i> (%)	<i>P</i> -value
Bleeding			0.068
Grade 0	5 (12.8)	8 (21.1)	
Grade 1	12 (30.8)	17 (44.7)	
Grade 2	22 (56.4)	13 (34.2)	
Grade 3	0 (0)	0 (0)	
Pneumothorax	3 (7.7)	2 (5.2)	0.999

Data are presented as number (%).

antigens (α -smooth muscle actin and PCNA, respectively) (Fig. 2). No freeze artefacts were observed, nor were technical difficulties experienced.

Complications

The complication rates in the two groups did not differ significantly (Table 4). Overall, a trend towards fewer cases of grade 2 bleeding was seen in the conventional-forceps group (34.2% vs 56.4% in the cryoprobe group), but the difference was not statistically or clinically significant. Two patients in the

conventional-forceps group and three in the cryoprobe group developed pneumothorax. The complications were unrelated to the number of biopsies harvested and did not prolong the procedures in either group; nor were additional endoscopic procedures or surgical repair required to control bleeding in either group. All differences were nonsignificant.

Five patients (two patients in the conventional-forceps group and three in the cryoprobe group) required hospitalization for pneumothorax.

DISCUSSION

Diffuse lung disease is a common indication for TBLB. This trial, designed to compare the diagnostic yields of two TBLB procedures, demonstrates that a cryoprobe is useful for sampling the lung for ILD diagnosis in the types of patients considered candidates for this procedure according to current guidelines.¹⁵

In our study, the most frequent histologic diagnosis observed in the cryoprobe group was nonspecific interstitial pneumonia (NSIP). The higher diagnostic yield of cryobiopsy we observed is attributable to the larger size of the samples harvested and their higher quality in comparison with samples removed with conventional forceps. The small size of conventional samples, which contain few alveolar spaces, is an observation that has been reported by other authors, who have also remarked on the difficulty of interpreting the histologic features observed when artefacts

are present.^{7,19} Although cryoprobes might be expected to cause freeze artefacts in tissue, we found higher percentages of artefact-free tissue in cryoprobe samples than in conventional-forceps samples, consistent with previous reports.^{10,11} We also emphasize that cryobiopsy and subsequent fixation of the samples for immunohistochemistry gave excellent results in this study: we recorded high-quality detection of both cytoplasmic and nuclear antigens, including PCNA, a difficult epitope to unmask. The utility of immunohistochemical data available from these samples suggests new possibilities for TBLB cryoprobe-harvested samples in both research and clinical practice.

Although TBLB has an established place in the diagnosis of ILD in certain circumstances,¹⁵ the yield of this technique when performed with conventional forceps has come under question in the context of some diffuse lung diseases.²⁰ The yield of TBLB has been higher when central or centrilobular involvement has been found radiologically and lower in predominantly peripheral processes such as UIP.¹⁸ Joint American–European guidelines²¹ recommend surgical lung biopsy as the technique of first choice for diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis, and patients with images typical of UIP and honeycombing pattern in HRCT were therefore excluded from our study. A confident diagnosis of NSIP is also sometimes based on a surgical biopsy,¹⁵ particularly in the fibrotic subgroup. Consistent with guidelines, we observed the characteristic histopathologic pattern of chronic inflammatory infiltrates (cellular) more often in the cryoprobe group. However, interestingly, the multidisciplinary committee was able to establish the diagnosis of NSIP based on histopathologic features in cryoprobe-biopsied patients in combination with the clinical and HRCT features. When the fibrotic pattern was identified at biopsy, however, the multidisciplinary team was still unable to reach a diagnosis. Although some diagnoses could be ruled out in these cases, it was necessary to perform surgical biopsy.

The complications previously described for TBLB with forceps are severe bleeding and pneumothorax, which have been reported to occur in about 1% and 5%, respectively, of previous series.^{22–24} Few studies have evaluated complications of TBLB by cryoprobe. We recently reported that no cases of pneumothorax or severe bleeding occurred in a study of 10 patients.¹⁴

The safety profile was similar with both tools in the present study, in which no serious complications occurred in either group. More common grade 2 bleeding in the cryoprobe group was not clinically or statistically significant, and it did not result in the harvesting of fewer samples. All bleeding could be controlled with the usual endoscopic manoeuvres (suction or occlusion). Our observations are consistent with those of authors who have used cryoprobes for removing endobronchial lesions.²⁵ Recently, other teams reported using a cryoprobe to safely obtain samples after lung transplantation; significantly, larger specimens were harvested with this method than with forceps.^{26,27} However, those teams performed the procedures with each of the tools in the

same patients and they were therefore unable to attribute the complications to a specific technique. Finally, it is also noteworthy that most of the procedures in our study could be completed within the context of our conventional outpatient bronchology service: hospitalization was only required for the five patients who developed pneumothorax.

Our study has certain limitations. First, because we randomized the patients to one procedure or the other, we were unable to compare histologic diagnosis by technique patient by patient; however, this design did allow us to establish the safety of the technique and identify complications in each group. Second, immunohistochemistry was only performed on cryoprobe-harvested samples. The reason for this decision was that our aim was to demonstrate that these rapidly frozen samples would be useful for immunohistochemistry and would not contain damaged alveoli due to freezing. Third, the number of biopsies taken is a limitation, but published studies vary as to the number of samples harvested and the optimal number for diagnosing ILD has not been established. One group concluded that diagnostic yield does not increase significantly after the third sample,¹⁹ but others have recommended that at least five or six specimens should be taken.²⁸ We took at least three samples (range, three to six) from several bronchial segments in the affected parts of the lung previously identified by HRCT. Finally, although the study was randomized in design and the pathologists were formally blinded as to sampling technique, the blinding could have been ineffective given the size differences in samples. However, they were required to record tissue quality variables according to an objective, pre-established protocol.

In summary, our results confirm that cryoprobe TBLB is safe and potentially useful in the diagnosis of ILD in patients selected according to current guidelines.¹⁵ Histologic diagnostic yield is higher when the cryoprobe is used, attributable to the larger, higher-quality samples harvested although, larger multicentre randomized trials of TBLB cryobiopsy are required to confirm the benefits and safety profile we observed for this technique. Multidisciplinary cooperation between clinicians, radiologists and pathologists remains essential for analysing the findings of TBLB procedures.

Acknowledgements

The authors thank Dr Jose Manuel Rodriguez-Arias for his support and help in selecting patients, Dr Ana Giménez for her help in interpreting imaging studies, registered nurses Cristina Burrel and Carmen Burgués for their participation in the study and assistance during the endoscopic procedures, Dr Ignasi Gich for his help with statistical analysis, Dr Martin Hetzel and Dr Alexander Babiak for their support in training us to use the cryoprobe technique, and Mary Ellen Kerans for her translation of a version of the manuscript. This trial was funded by the European Respiratory Society (Interventional Pulmonology Travel Grant 2013), Spanish Government (PN de I+D+I 2008–2011, ISCIII-Subdirección General de Evaluación y Fomento de la Investigación, FEDER, Project FIS, PI10/01006), the Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (SEPAR 2009), the Catalan Foundation for Pulmonology (FUCAP 2010) the Catalan

Society for Pulmonology (SOCAP 2008), and the Spanish Association of Respiratory Endoscopy (AEER 2008).

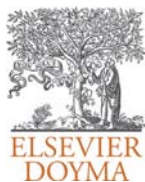
REFERENCES

- Levin DC, Wicks AB, Ellis JH. Transbronchial lung biopsy via the fiberoptic bronchoscope. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1974; **110**: 4–12.
- Ensminger SA, Prakash UBS. Is bronchoscopic lung biopsy helpful in the management of patients with diffuse lung disease? *Eur. Respir. J.* 2006; **28**: 1081–4.
- Poletti V, Patelli M, Ferracini R, Simonetti M, Spiga L. Transbronchial lung biopsy in infiltrative lung disease: the importance of the pathologic approach. *Sarcoidosis* 1988; **5**: 43–50.
- Michell DM, Emerson CJ, Collins JV, Stableforth DE. Transbronchial lung biopsy with the fiberoptic bronchoscope: analysis of results in 433 patients. *Br. J. Dis. Chest* 1981; **75**: 258–62.
- Smith CW, Murray GF, Wilcox BR, Starek PJ, Delany DJ. The role of transbronchial lung biopsy in diffuse pulmonary disease. *Ann. Thorac. Surg.* 1977; **24**: 54–8.
- Fraire AE, Cooper SP, Greenberg SD, Rowland LP, Langston C. Transbronchial lung biopsy: histopathologic and morphometric assessment of diagnostic utility. *Chest* 1992; **102**: 748–52.
- Kendall DM, Gal AA. Interpretation of tissue artifacts in transbronchial lung biopsy specimens. *Ann. Diagn. Pathol.* 2003; **7**: 20–4.
- Giaid A, Michel RP, Stewart DJ, Sheppard M, Corrin B, Hamid Q. Expression of endothelin-1 in lungs of patients with cryptogenic fibrosin alveolitis. *Lancet* 1993; **341**: 1550–4.
- Pardo J, Panizo A, Sola I, Queipo F, Martinez-Peñuela A, Carias R. Prognostic value of clinical, morphologic and immunohistochemical factors in patients with bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *Hum. Pathol.* 2013; **44**: 718–24.
- Schumann C, Hetzel J, Babiak AJ, Merk T, Wibmer T, Möller P, Lepper PM, Hetzel M. Cryoprobe biopsy increases the diagnostic yield in endobronchial tumor lesions. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2010; **140**: 417–21.
- Hetzel J, Hetzel M, Hasel C, Moeller P, Babiak A. Old meets modern: the use of traditional cryoprobes in the age of molecular biology. *Respiration* 2008; **76**: 193–7.
- Vergnon JM, Huber RM, Moghissi K. Place of cryotherapy, brachytherapy and photodynamic therapy in therapeutic bronchoscopy of lung cancers. *Eur. Respir. J.* 2006; **28**: 200–18.
- Babiak A, Hetzel J, Krishna G, Fritz P, Moeller P, Balli T, Hetzel M. Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. *Respiration* 2009; **77**: 1–6.
- Pajares V, Torrego A, Puzo C, Lerma E, Gil de Bernabé MA, Franquet T. Transbronchial lung biopsy using cryoprobes. *Arch. Bronconeumol.* 2010; **46**: 111–15.
- Wells A, Hirani N, on behalf of the British Thoracic Society Interstitial Lung Disease Guideline Group. Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and Irish Thoracic Society. *Thorax* 2008; **63**: v1–58.
- Ernst A, Eberhardt R, Wahidi M, Becker HD, Herth FJ. Effect of routine clopidogrel use on bleeding complications after transbronchial biopsy in humans. *Chest* 2006; **129**: 734–7.
- Leslie KO. My approach to interstitial lung disease using clinical, radiological and histopathological patterns. *J. Clin. Pathol.* 2009; **62**: 387–401.
- Leslie KO, Gruden JF, Parish JM, Scholand MB. Transbronchial biopsy interpretation in the patient with diffuse parenchymal lung disease. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2007; **131**: 407–23.
- Curley FJ, Johal JS, Burke ME, Fraire AE. Transbronchial lung biopsy: can specimen quality be predicted at the time of biopsy? *Chest* 1998; **113**: 1037–41.
- Churg A. Transbronchial biopsy: nothing to fear. *Am. J. Surg. Pathol.* 2001; **25**: 820–2.
- ATS/ERS/JRS/ALAT Committee On Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; **183**: 788–824.
- Pereira W, Kovnat DM, Snider GL. A prospective cooperative study of complications following flexible fiberoptic bronchoscopy. *Chest* 1976; **69**: 747–51.
- Herf SM, Suratt PM, Arora NS. Deaths and complications associated with transbronchial lung biopsy. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1977; **115**: 708–11.
- Strange C, Heffner JE, Collins BS, Brown FM, Sahn SA. Pulmonary haemorrhage and air embolism complicating transbronchial biopsy in pulmonary amyloidosis. *Chest* 1987; **93**: 367–8.
- Hetzel J, Eberhardt R, Herth FJ, Petermann C, Reichle G, Freitag L, Dobbertin I, Franke KJ, Stanzel F, Beyer T *et al.* Cryobiopsy increases the diagnostic yield of endobronchial biopsy: a multicentre trial. *Eur. Respir. J.* 2012; **39**: 685–90.
- Yarmus L, Akulian J, Gilbert C, Illei P, Shah P, Merlo C, Orens J, Feller-Kopman D. Cryoprobe transbronchial lung biopsy in lung transplant patients: a safety pilot. *Chest* 2013; **143**: 621–6.
- Fruchter O, Fridel L, Rosengarten D, Raviv Y, Rosanov V, Kramer MR. Transbronchial cryo-biopsy in lung transplantation patients: first report. *Respirology* 2013; **18**: 669–73.
- Descombes E, Gardiol D, Leuenberger P. Transbronchial lung biopsy: an analysis of 530 cases with reference to the number of samples. *Monaldi. Arch. Chest Dis.* 1997; **52**: 324–9.

ANEXO II:
ARTÍCULOS PUBLICADOS INCLUIDOS EN LA TESIS

10. ANEXO II. ARTÍCULOS PUBLICADOS INCLUIDOS EN LA TESIS

- **Pajares V**, Torrego A, Puzo C, Gil de Bernabé A. Utilización de un balón de oclusión en la realización de biopsias pulmonares transbronquiales con criosonda. Arch Bronconeumol 2014;50(7):309-10.
- Torrego A, **Pajares V**. Transbronquial cryobiopsy in diffuse lung disease. Curr Respir Care Rep 2014 Mar; 3: 7-12.



Carta al Director

Utilización de un balón de oclusión en la realización de biopsias pulmonares transbronquiales con criosonda

Use of an occlusion balloon in transbronchial lung cryobiopsy

Sr. Director:

Con el objetivo de mejorar el rendimiento diagnóstico de la biopsia pulmonar transbronquial, se han comenzado a utilizar sondas de crioterapia para la obtención de muestras pulmonares. Los estudios que han evaluado el material histológico obtenido mediante criosonda en casos de tumores endobronquiales han observado que se trata de muestras de mayor tamaño que las obtenidas con pinza convencional y con una histología mejor preservada^{1,2}. Estos datos han posibilitado plantear la utilización de criosondas para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial como alternativa al método convencional en el estudio de las enfermedades pulmonares difusas y los resultados sugieren una mejora en la eficacia diagnóstica de la técnica³. De la misma forma, se han realizado estudios descriptivos orientados a analizar la viabilidad y la seguridad de la técnica sin que se haya evidenciado un incremento de los efectos adversos, incluso en pacientes con trasplante pulmonar⁴.

En este punto, los autores hemos analizado los datos de 77 pacientes con sospecha de enfermedad intersticial difusa, que fueron aleatorizados para la realización de la biopsia pulmonar transbronquial con criosonda (39 pacientes) o con pinza convencional (38 pacientes). Se observó que un mayor número de pacientes presentó un sangrado moderado en el grupo de criobiopsia con respecto al grupo convencional (56,4 versus 34,2%, $p = 0,068$)

aunque clínicamente el sangrado no resultó relevante, los pacientes no requirieron otras actuaciones médicas ni quirúrgicas ni se prolongó el tiempo de exploración. En cuanto a la clasificación del sangrado, se consideró moderada cualquier hemorragia que precisara succión y oclusión del bronquio segmentario.

Una de las características de esta nueva técnica es que, debido al tamaño de las biopsias obtenidas, es necesario retirar el broncoscopio con la muestra adherida al extremo de la sonda por lo que, a diferencia del método convencional, la visión endoscópica del árbol bronquial se pierde durante unos segundos. La introducción nuevamente del broncoscopio y las maniobras de oclusión del bronquio segmentario dónde se ha realizado la biopsia con criosonda pueden verse dificultadas por la presencia de sangrado. En este sentido, el objetivo de la utilización de un balón de oclusión no es la reducción de la cantidad de sangrado, sino proporcionar un mejor control de la hemorragia, si la hubiera. Este dato supone una modificación de la técnica descrita anteriormente por nuestro grupo⁵.

De esta forma, previamente al comienzo del procedimiento, introducimos un balón de oclusión (Modelo B5-2C®. Olympus Medical Systems Corp, Tokyo, Japón) por el canal lateral del tubo endotraqueal (Referencia 104100. Broncoflex® 7,5 mm, Rûsch, Teleflex Medical, Durham, EE. UU.) y lo colocamos a la entrada del segmento pulmonar dónde se realizará la biopsia pulmonar transbronquial. Inmediatamente tras la realización de la biopsia insuflamos el balón de oclusión hasta la comprobación endoscópica de la ausencia de sangrado.

En conclusión, la utilización de un balón hemostático de forma preventiva permite limitar el sangrado a la zona ocluida en caso de hemorragia. No repercute directamente en la disminución de la intensidad de la posible hemorragia pero facilita su control endoscópico (fig. 1).

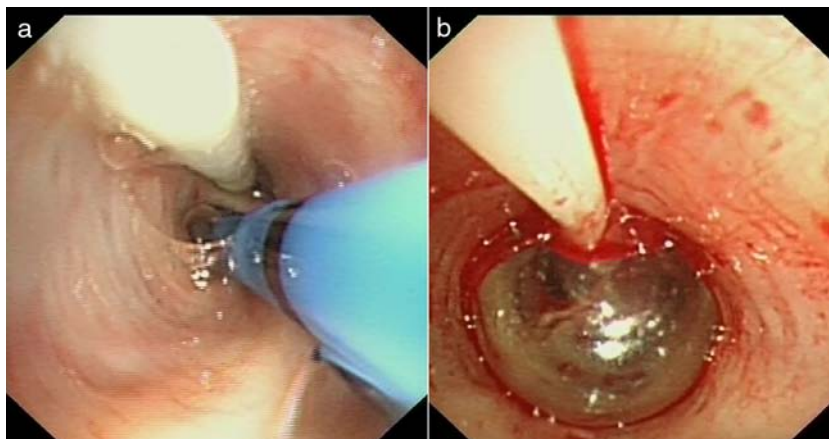


Figura 1. a) Imagen endoscópica de la colocación del balón de oclusión paralelo a la criosonda en la entrada de un bronquio segmentario pulmonar del lóbulo inferior derecho (LID). b) Imagen endoscópica del balón de oclusión insuflado tras la realización de una biopsia pulmonar transbronquial.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Bibliografía

1. Hetzel J, Hetzel M, Hasel C, Moeller P, Babiak A. Old meets modern: The use of traditional cryoprobes in the age of molecular biology. *Respiration*. 2008;76:193–7.
2. Hetzel J, Eberhardt R, Herth FJ, Petermann C, Reichle G, Freitag L, et al. Cryobiopsy increases the diagnostic yield of endobronchial biopsy: A multicentre trial. *Eur Respir J*. 2012;39:685–90.
3. Babiak A, Hetzel J, Krishna G, Fritz P, Moeller P, Balli T, et al. Transbronchial cryobiopsy: A new tool for lung biopsies. *Respiration*. 2009;77:1–6.
4. Yarmus L, Akulian J, Gilbert C, Illei P, Shah P, Merlo C, et al. Cryoprobe transbronchial lung biopsy in lung transplant patients: A safety pilot. *Chest*. 2013;143:621–6.

5. Pajares V, Torrego A, Puzo C, Lerma E, Gil de Bernabé MA, Franquet T. Transbronchial lung biopsy using cryoprobes. *Arch Bronconeumol*. 2010;46:111–5.

Virginia Pajares Ruiz^{a,*}, Alfons Torrego Fernández^a,
Carmen Puzo Ardanuy^a y Angels Gil de Bernabé^b

^a Servicio de Neumología, Departamento de Medicina, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España

^b Servicio de Anestesiología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: vpajares@santpau.cat (V. Pajares Ruiz).

Transbronchial cryobiopsy in diffuse lung disease

Alfons Torrego · Virginia Pajares

Published online: 18 January 2014
© Springer Science+Business Media New York 2013

Abstract Transbronchial biopsy is required for evaluation of some patients with interstitial lung disease (ILD). The diagnostic success of histopathologic assessment is variable, and affected by such factors as specimen size and the presence of crush artifact attributable to the use of conventional biopsy forceps. Use of cryoprobes to perform transbronchial biopsy enables larger and better quality samples to be obtained compared with conventional methods. The safety profile of transbronchial cryobiopsy is similar to that of transbronchial biopsy with forceps. Diagnostic success of histopathology seems higher when the cryoprobe is used although multidisciplinary agreement with close interaction between clinicians, radiologist, and pathologist is essential to assess the utility of this transbronchial procedure. Larger multisite randomized trials are required to confirm the potential benefits of transbronchial cryobiopsy.

Keywords Bronchoscopy · Cryobiopsy · Cryoprobe · Interstitial lung disease · Transbronchial lung biopsy

Introduction

Transbronchial biopsy is routinely required for evaluation of interstitial lung disease (ILD) [1, 2]. The diagnostic success of histopathologic assessment is variable [3–5], and limited by the small size of the samples harvested [6] and the presence of crush artifacts left by conventional biopsy forceps [7]. Such artifacts may not only limit visual assessment but also preclude immunohistochemistry assays that can be useful for quantifying fibroblasts and cytokines as markers of cell damage in the alveolar epithelium.

Cryoprobes—used initially to freeze tissue for therapeutic purposes—have also been used in endobronchial procedures to obtain larger samples and improve diagnosis [8]; in that setting, cryobiopsies have also proved to furnish tissue of excellent quality for immunohistochemistry [9]. Although the main application of cryoprobes is for removal of endobronchial tumors [10], newer-generation probes freeze tissue rapidly, making them attractive for use in diagnostic procedures. Transbronchial cryobiopsy seems feasible for study of ILD, and may be associated with greater diagnostic success according to recent studies [11, 12].

Indications of transbronchial cryobiopsy in patients with diffuse lung infiltrates

Cryobiopsy in interstitial lung disease

Diffuse lung disease is a common indication for transbronchial lung biopsy. Use of cryoprobes to obtain parenchymal tissue can be useful for these patients. This finding may enable establishment of new diagnostic algorithms for ILD, after essential analysis of clinical, radiological, and histological information by a multidisciplinary team [13]. Although transbronchial biopsy has a place in the diagnostic evaluation of ILD, the diagnostic success of this technique when performed with conventional forceps has been disappointing in the context of some diffuse lung diseases [14]. The most common diseases for which specific diagnosis is possible by use of transbronchial biopsy with forceps are sarcoidosis, eosinophilic pneumonia, organizing pneumonia, lymphangitic carcinomatosis, pulmonary alveolar proteinosis, Langerhans cell histiocytosis, alveolar microlithiasis, lymphangioleiomyomatosis, and amyloidosis. Observation of typical histological findings for these diseases is sufficient to establish a diagnosis, and the histopathological patterns for diffuse parenchymal diseases described by Leslie et al. [15] are useful. However, the absence of typical histological findings does not exclude diagnosis.

A. Torrego (✉) · V. Pajares
Department of Respiratory Medicine, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, C/ Sant Antoni M^a Claret, 167, CP: 08025 Barcelona, Spain
e-mail: atorrego@santpau.cat

Current guidelines recommend surgical lung biopsy as the first sampling option for diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis [16]. Patients with typical imaging findings of usual interstitial pneumonia (UIP) and honeycombing in high-resolution computed tomography of the chest (HRCT) should not undergo transbronchial biopsy. A confident diagnosis of nonspecific interstitial pneumonia (NSIP) also requires a surgical biopsy [17], especially in the fibrotic subgroup. Our data suggest greater clinical usefulness of cryobiopsy in comparison with conventional forceps when the histological pattern obtained is submitted to a multidisciplinary committee [18].

Cryobiopsy for lung-transplant patients

Transbronchial biopsies are performed for lung transplant patients to identify histological features of acute rejection or lymphocytic bronchiolitis compatible with diagnosis of bronchiolitis obliterans syndrome. Such biopsies can be helpful in ruling out alternative diagnoses, including infection [19].

Two recent studies showed that transbronchial cryobiopsy is a feasible and safe procedure for this group of subjects [20, 21]. Yarmus et al. [20] performed transbronchial lung biopsy with a cryoprobe and transbronchial lung biopsy with conventional forceps for 17 lung-transplant patients. One patient had a pneumothorax but the authors were unable to attribute it to either biopsy technique. No difference in bleeding was seen and the size of the sample was substantially larger when transbronchial cryobiopsy was performed. Recently, Fruchter et al. [21], in a retrospective study, evaluated complications and the diagnostic success of transbronchial cryobiopsy performed for 40 transplant patients compared with 40 controls who underwent conventional transbronchial biopsy. The increased size and quality of biopsy samples in the transbronchial cryobiopsy group led to a substantial increase in the percentage of alveolated tissue, and this enabled histological detection of acute rejection, pneumonitis, and diffuse alveolar damage. However, no prospective randomized trials have been conducted to evaluate the clinical usefulness and diagnostic success of this procedure for transplant patients.

Cryobiopsy for immunocompromised patients

The differential diagnosis of diffuse infiltrates for immunocompromised patients includes infection, medication-related adverse effects, radiation toxicity, and others. For these patients, the diagnostic success of conventional transbronchial biopsy is variable (15–68 %) [22–30].

Fruchter et al. [31] evaluated the efficacy and safety of transbronchial cryobiopsy among immunocompromised patients. In his study, no major complications were observed and the cryobiopsy samples enabled such specific diagnosis as noncaseating granulomatous inflammation, acute interstitial pneumonitis, nonspecific interstitial pneumonia, diffuse

alveolar damage, organizing pneumonia, and pulmonary cryptococcal pneumonia. The diagnostic information provided by cryobiopsies had clinical implications for 80 % of patients. However, this preliminary finding is still inconclusive and should be validated by future studies comparing cryobiopsy with other sampling techniques in prospective randomized trials.

Patient preparation for transbronchial cryobiopsy

Individual clinical examination is essential before transbronchial cryobiopsy. Thorough pre-procedure evaluation of patients should include HRCT. Complete lung function evaluation including spirometry, plethysmography, and diffusion studies is useful. On the basis of clinical assessment other laboratory tests should be performed, including complete blood count, biochemistry with liver enzymes, and renal function and coagulation studies, to identify patients at high risk of bleeding during the procedure [32]. Echocardiography is recommended when pulmonary hypertension is suspected.

Transbronchial biopsies with a cryoprobe should be performed with caution for patients with severe hypoxemia, severe ventilatory impairment, emphysema, uncontrolled cardiac arrhythmias, active myocardial ischemia, massive hemoptysis, and/or an uncorrectable bleeding diathesis or coagulopathy. An individual risk–benefit assessment should be performed on a case-by-case basis before cryobiopsy.

Transbronchial cryobiopsy technique

The technique of transbronchial cryobiopsy is similar to that of transbronchial biopsy with conventional forceps. Adequate control of coughing by use of topical anesthesia (e.g. lignocaine 2 %) and intravenous sedation is necessary to optimize the procedure and patient tolerance, and to minimize complications. Patients are intubated under bronchoscopic control by use of a flexible endotracheal tube. Because the size of biopsy samples obtained by use of cryoprobes exceeds the diameter of the working channel of a flexible bronchoscope, intubation is necessary to enable removal of both cryoprobe and the bronchoscope [9, 11, 12] without increasing risk of upper airway injury and without the risk of tissue becoming detached as the cryoprobe passes through the larynx. A laryngeal mask or rigid bronchoscope are alternatives to endotracheal intubation with a flexible tube [20, 21]. Endobronchial blockers are used preemptively and placed in the segmental bronchus before transbronchial cryobiopsy. After cryobiopsy, the biopsied segment is isolated with the blocker to control bleeding. Endoscopic investigation of the airways is performed and, if necessary, other diagnostic procedures, for example bronchoalveolar lavage, are performed in

the selected area. In all cases the flexible bronchoscope is wedged in the segmental bronchus and the cryoprobe is then introduced through the working channel. Fluoroscopy is recommended although not mandatory. The cryoprobe is advanced distally through the segmental bronchus until resistance is met. The cryoprobe is then withdrawn approximately 1 cm and cold is applied for 3–4 seconds. The cryoprobe, with the frozen sample attached to the tip, is subsequently removed in toto with the bronchoscope. The tissue is frozen on the basis of the Joule–Thomson principle, using gas (nitrous oxide) decompression at the tip of the probe. Contact of the probe with the tissue results in rapid freezing ($-89\text{ }^{\circ}\text{C}$) which, because of the characteristics of the probe, is stable under traction.

Several authors have used a flexible cryoprobe of diameter 2.4 mm and length 900 mm (model 20416–032; Erbokryo CA, Germany) but a cryoprobe with a diameter of 1.9 mm can be used to perform transbronchial cryobiopsies [20].

Diagnostic success of transbronchial cryobiopsy

Use of cryoprobes to perform transbronchial biopsy enables larger and better quality samples to be obtained compared with those from conventional biopsy methods. Diagnostic success seems higher when the cryoprobe is used. In a retrospective study, patients with interstitial lung disease were evaluated and transbronchial lung biopsies were performed using both cryoprobes and forceps [11]. In that study, diagnostic success was not the primary outcome but a significant number of cryobiopsies led to a definitive diagnosis.

We performed a study of patients undergoing transbronchial lung biopsy for evaluation of interstitial lung disease [18]. Seventy-seven patients were assigned to either a conventional-forceps group or a cryoprobe group. A total of 266 lung tissue samples were obtained (126 with conventional forceps and 140 with the cryoprobe) and evaluated. More samples for which a histopathological pattern was observed were submitted for cryoprobe-group patients (29 of 39; 74.4 %) than for conventional-forceps-group patients (13 of 38; 34.2 %) ($p<0.001$). Diagnostic success in the cryoprobe group was higher than in the conventional-forceps group (51.3 % versus 29 %, respectively; $p=0.038$). Diagnosis of nonspecific interstitial pneumonia, acute alveolar injury, infection, organizing pneumonia, sarcoidosis, bronchiolitis-associated DILD, hypersensitivity pneumonitis, and eosinophilic pneumonia was established by use of transbronchial cryobiopsy. Inadequate samples ($<1\text{ mm}$) were obtained from 24.3 % of patients in the conventional-forceps group. All samples from the cryoprobe group were considered adequate for histologic analysis ($p=0.001$).

Larger multisite randomized trials are required to confirm the potential benefits this single-center trial has

identified, including comparison with surgical biopsy as the current recommended method, and to investigate possible economic benefits.

Number and location of cryobiopsies

The optimum number of samples for diagnosis of ILD by use of a cryoprobe has not been established. Curley et al. [33] concluded that diagnostic success does not increase significantly after the third or fourth sample. Similarly, Berbescu et al. [34] were able to determine a histological pattern compatible with normal interstitial pneumonia by using from one to five samples. Other studies [35] recommend that at least five or six specimens should be obtained. In general, four to six biopsy samples are adequate for most patients with diffuse lung disease. Samples obtained with cryoprobes are significantly larger and, in our experience, at least three samples (range three to six) should be taken from several bronchial segments in affected parts of the lung that have previously been identified by computed tomography. Performing the procedure under fluoroscopic guidance is also helpful and may reduce the risk of pneumothorax. Transbronchial cryobiopsy can be successfully performed without fluoroscopic guidance [36].

Sample quality and procedure feasibility

The larger size of the cryobiopsy samples obtained and their higher quality in comparison with samples obtained by use of conventional forceps has been related to a greater diagnostic success (Fig. 1). The small size of conventional samples with few alveolar spaces in them precludes interpretation of histologic patterns [7, 33]. The usual size of tissue fragments obtained with conventional transbronchial forceps varies from 1 to 3 mm. Several authors have observed that tissue samples obtained by use of cryoprobes are significantly larger than those obtained by use of conventional forceps [9, 11, 12]. In addition, assessments of tissue quality have shown that cryobiopsy yields more alveolated parenchyma per biopsy and fewer artifacts. We found that the mean area of tissue samples harvested by cryoprobe and conventional forceps were, respectively, $14.7\pm 11\text{ mm}^2$ and $3.3\pm 4.1\text{ mm}^2$ ($p<0.001$) [18].

There is no consensus regarding the number of alveoli required to enable diagnosis of diffuse interstitial lung diseases [36]. One study, proposed that transbronchial biopsy samples should contain 20 or more alveoli [6]. We have analyzed the number of alveoli in our specimens. For samples obtained with cryoprobes the median number of alveoli was 68.2 ± 61.2 , which compared favorably with samples obtained

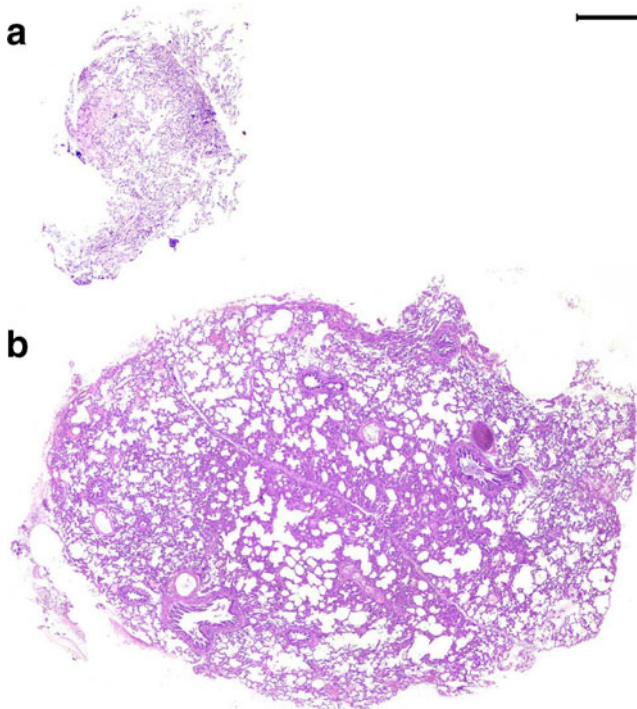


Fig. 1 Four-micrometer sections were stained with hematoxylin and eosin. Complete tissue sections from a conventional-forceps biopsy (**a**) and a cryobiopsy (**b**) were mapped by use of consecutive microscopic fields and reconstructed. The cryobiopsy preserved the lung parenchyma structure and enabled us to examine a larger sample of alveoli. Scale bars: 500 μ m

by use of conventional forceps (22.0 ± 39.8). This difference is statistically significant [18].

Cryoprobes might be expected to cause damage by freezing of cells and tissue structure, but we found more artifact-free tissue in our cryoprobe samples than in conventional samples, consistent with previous reports [8, 9]. The lack of artifacts from freezing may be attributable to the rapid freezing and higher traction of the new generation of cryoprobes. Moreover, cryobiopsy and subsequent fixation of the samples for immunohistochemistry gave excellent results in several studies. Immunohistochemical processing has demonstrated that tissue structure is well preserved in cryobiopsies. We recorded high-quality detection of both cytoplasmic and nuclear antigens, including proliferating cell nuclear antigen, a difficult epitope to identify.

Risks

Severe bleeding and pneumothorax are the most feared side-effects of conventional transbronchial biopsies, and have been reported to occur in approximately 1–6 % and 2–9 %, respectively [37–39]. Bleeding is the main factor preventing larger or more numerous biopsy samples being obtained. Studies assessing complications associated with transbronchial biopsy

have recommended classic endoscopic maneuvers, for example suction or occlusion of a segmental bronchus [40]. These maneuvers are often undertaken as preventive measures.

Few studies have evaluated complications of TBLB with a cryoprobe. We found no cases of pneumothorax or severe bleeding in a study of ten patients [12]. Although the safety profiles of both biopsy procedures seem similar, and no serious complications have been reported to date, a tendency to greater incidence of moderate bleeding has been reported with cryobiopsies. In our study, a trend toward fewer cases of moderate bleeding was seen in the conventional-forceps group (34.2 % versus 56.4 % in the cryoprobe group). Given the difficulty of quantifying bleeding, we were very strict about defining it as moderate if suction and occlusion of the segmental bronchus were required. Bleeding in the cryobiopsy group did not prove clinically significant and the patients did not require additional medical or surgical intervention to control the bleeding. Furthermore, procedure time was not prolonged. Our results and interpretation are consistent with those of authors who have studied 593 patients sampled with conventional forceps or cryoprobe to diagnose endobronchial lesions [41]. Recently, other studies have demonstrated that cryoprobes used for patients post lung transplantation is safe and provides significantly larger specimens [20, 21] but the procedures were performed on the same patient.

Nevertheless, a risk of bleeding associated with cryobiopsies does exist. For this reason we strongly recommend use of a bronchial blocker when a transbronchial cryobiopsy is performed.

Pneumothorax has been reported for 4 % of patients undergoing cryobiopsy [11]. However, it is not possible to draw definitive conclusions about the risk of pneumothorax as a result of transbronchial cryobiopsy because both procedures were performed on the same patient. In our study, two patients in the conventional-forceps group and three in the cryoprobe group developed pneumothorax. A chest tube was placed in one patient in the conventional group and in two patients in the cryobiopsy group.

Follow-up post cryobiopsy

Patients undergoing cryobiopsy should remain monitored in a recovery room for at least 1–2 hours. Immediate X-ray fluoroscopy examination is advisable at the end of the procedure [36]. Transthoracic ultrasound is also useful for evaluation of a wide range of peripheral parenchymal, pleural, and chest wall diseases, and use of chest ultrasound for diagnosis of pneumothorax has been established [42]. Studies have shown that routine use of chest radiographs after transbronchial biopsy is not cost-effective for asymptomatic patients [43, 44]. A chest X-ray should be performed for patients with chest pain or unexplained hypoxia, to rule out pneumothorax (Fig. 1).

Conclusions

Transbronchial cryobiopsy is feasible and has a reasonable safety profile. It may be potentially useful in the diagnosis of diffuse lung diseases when a transbronchial biopsy is indicated. The diagnostic success of this technique is better than with conventional forceps, probably because larger, higher-quality samples are obtained with the cryoprobe. No significant differences in adverse events have been reported. Large multicenter randomized trials are required to confirm the potential benefits, cost-efficacy, and safety profile of transbronchial cryobiopsy in ILD.

Compliance with Ethics Guidelines

Conflict of interest Alfons Torrego and Virginia Pajares declare that they have no conflicts of interest.

Human and Animal Rights and Informed Consent This article does not contain any studies with human or animal subjects performed by any of the authors.

References

- American Thoracic Society. Medical Section of American Lung Association. Guidelines for fiberoptic bronchoscopy in adults. *Am Rev Respir Dis.* 1987;136:1066.
- Prakash UBS, Offord KP, Stubbs SE. Bronchoscopy in North America: the ACCP survey. *Chest.* 1991;100:1668–75.
- Poletti V, Patelli M, Ferracini R, Simonetti M, Spiga L. Transbronchial lung biopsy in infiltrative lung disease: the importance of the pathologic approach. *Sarcoidosis.* 1998;5:43–50.
- Michell DM, Emerson CJ, Collins JV, Stableforth DE. Transbronchial lung biopsy with the fiberoptic bronchoscope: analysis of results in 433 patients. *Br J Dis Chest.* 1981;75:258–62.
- Smith CW, Murray GF, Wilcox BR, Starek PJ, Delany DJ. The role of transbronchial lung biopsy in diffuse pulmonary disease. *Ann Thorac Surg.* 1977;24:54–8.
- Fraire AE, Cooper SP, Greenberg SD, Rowland LP, Langston C. Transbronchial lung biopsy: histopathologic and morphometric assessment of diagnostic utility. *Chest.* 1992;102:748–52.
- Kendall DM, Gal AA. Interpretation of tissue artifacts in transbronchial lung biopsy specimens. *Am Diagn Pathol.* 2003;7:20–4.
- Schumann C, Hetzel J, Babiak AJ, Merk T, Wibmer T, Möller P, et al. Cryoprobe biopsy increases the diagnostic yield in endobronchial tumor lesions. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010;140:417–21.
- Hetzel J, Hetzel M, Hasel C, Moeller P, Babiak A. Old meets modern: the use of traditional cryoprobes in the age of molecular biology. *Respiration.* 2008;76:193–7.
- Vergnon JM, Huber RM, Moghissi K. Place of cryotherapy, brachytherapy and photodynamic therapy in therapeutic bronchoscopy of lung cancers. *Eur Respir J.* 2006;28:200–18.
- Babiak A, Hetzel J, Krishna G, Fritz P, Moeller P, Balli T, et al. Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. *Respiration.* 2009;77:1–6.
- Pajares V, Torrego A, Puzo C, Lerma E, Gil de Bernabé MA, Franquet T. Transbronchial lung biopsy using cryoprobes. *Arch Bronconeumol.* 2010;46:111–5.
- Leslie KO, Gruden JF, Parish JM, Scholand MB. Transbronchial biopsy interpretation in the patient with diffuse parenchymal lung disease. *Arch Pathol Lab Med.* 2007;131:407–23.
- Chung A. Transbronchial biopsy: nothing to fear. *Am J Surg Pathol.* 2001;25:820–2.
- Leslie KO. My approach to interstitial lung disease using clinical, radiological and histopathological patterns. *J Clin Pathol.* 2009;62:387–401.
- ATS/ ERS/ JRS/ ALAT Committee On Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183(6):788–824.
- Wells A, Hirani N, on behalf of the British Thoracic Society Interstitial Lung Disease Guideline Group. Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and Irish Thoracic Society. *Thorax.* 2008;63(5):v1–58.
- Pajares V, Puzo C, Castillo D, Lerma E, Montero M, Ramos-Barbón D, Amor-Carro O, Gil de Bernabé A, Franquet T, Plaza V, Hetzel J, Sanchis J, Torrego A. Diagnostic Yield Of Transbronchial Cryobiopsy In Interstitial Lung Disease: A Randomised Trial. (abstract A3573 ajrcm-conference.2013.187.1). Presented at the American Thoracic Society International Conference. Philadelphia, USA; May 17–22, 2013.
- Stover DE, Zaman MB, Hajdu SI, Lange M, Gold J, Armstrong D. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates in the immunosuppressed host. *Ann Intern Med.* 1984;101(1):1–7.
- Yarmus L, Akulian J, Gilbert C, Illei P, Shah P, Merlo C, et al. Cryoprobe transbronchial lung biopsy in lung transplant patients: a safety pilot. *Chest.* 2013;143(3):621–6.
- Fruchter O, Fridel L, Rosengarten D, Raviv Y, Rosanov V, Kramer MR. Transbronchial cryo-biopsy in lung transplantation patients: first report. *Respirology.* 2013;18(4):669–73.
- Jain P, Sandur S, Meli Y, Arroliga AC, Stoller JK, Mehta AC. Role of flexible bronchoscopy in immunocompromised patients with lung infiltrates. *Chest.* 2004;125:712–22.
- Eriksson B-M, Dahl H, Wang F-Z, et al. Diagnosis of pulmonary infections in immunocompromised patients by fiberoptic bronchoscopy with bronchoalveolar lavage and serology. *Scand J Infect Dis.* 1996;28:479–85.
- Cazzadori A, Di Perri G, Todeschini G, et al. Transbronchial biopsy in the diagnosis of pulmonary infiltrates in immunocompromised patients. *Chest.* 1995;107:101–6.
- Puska S, Hutcheon MA, Hyland RH. Usefulness of transbronchial biopsy in immunosuppressed patients with pulmonary infiltrates. *Thorax.* 1983;38:146–50.
- Springmeyer SC, Silvestri RC, Sale GE, et al. The role of transbronchial biopsy for the diagnosis of diffuse pneumonias in immunocompromised marrow transplant recipients. *Am Rev Respir Dis.* 1982;126:763–5.
- Feldman NT, Pennington JE, Ehrie MG. Transbronchial lung biopsy in the compromised host. *JAMA.* 1977;238:1377–9.
- Nishio JN, Lynch III JP. Fiberoptic bronchoscopy in the immunocompromised host: the significance of a nonspecific transbronchial biopsy. *Am Rev Respir Dis.* 1980;121:307–12.
- Shelhamer JH, Towes GB, Masur H, et al. Respiratory disease in the immunosuppressed patient. *Ann Intern Med.* 1992;117:415–31.
- Mulabecirovic A, Gaulhofer P, Auner HW, et al. Pulmonary infiltrates in patients with hematological malignancies: transbronchial lung biopsy increases the diagnostic yield with respect to neoplastic and toxic pneumonitis. *Ann Hematol.* 2004;83:420–2.
- Fruchter O, Fridel L, Rosengarten D, Rahman NA, Kramer MR. Transbronchial cryobiopsy in immunocompromised patients with pulmonary infiltrates: A pilot study. *Lung* 2013, In press.

32. Wahidi MM, Rocha AT, Hollingsworth JW, Govert JA, Feller-Kopman D, Ernst A. Contraindications and safety of transbronchial lung biopsy via flexible bronchoscopy. A survey of pulmonologist and review of the literature. *Respir*. 2005;72(3):285–95.
33. Curley FJ, Johal JS, Burke ME, Fraire AE. Transbronchial lung biopsy: can specimen quality be predicted at the time of biopsy? *Chest*. 1998;113:1037–41.
34. Berbescu EA, Katzenstein AL, Snow JL, Zisman DA. Transbronchial biopsy in usual interstitial pneumonia. *Chest*. 2006;129:1126–31.
35. Descombes E, Gardiol D, Leuenberger P. Transbronchial lung biopsy: an analysis of 530 cases with reference to the number of samples. *Monaldi Arch Chest Dis*. 1997;52:324–9.
36. Jain P, Hadique S, Metha AC. In: Metha AC, Jain P, editors. *Transbronchial lung biopsy*. In *Interventional Bronchoscopy: A clinical guide*. New York: Springer; 2013. p. 15–44.
37. Pereira W, Kovnat DM, Snider GL. A prospective cooperative study of complications following flexible fiberoptic bronchoscopy. *Chest*. 1976;69:747–51.
38. Herf SM, Suratt PM, Arora NS. Deaths and complications associated with transbronchial lung biopsy. *Am Rev Respir Dis*. 1977;115:708–11.
39. Strange C, Heffner JE, Collins BS, Brown FM, Sahn SA. Pulmonary haemorrhage and air embolism complicating transbronchial biopsy in pulmonary amyloidosis. *Chest*. 1987;93:367–8.
40. Zavala DC. Pulmonary hemorrhage in fiberoptic transbronchial biopsy. *Chest*. 1976;70(5):584–8.
41. Hetzel J, Eberhardt R, Herth FJ, Petermann C, Reichle G, Freitag L, et al. Cryobiopsy increases the diagnostic yield of endobronchial biopsy: a multicentre trial. *Eur Respir J*. 2012;39:685–90.
42. Jalli R, Sefidbakht S, Jafari SH. Value of ultrasound in diagnosis of pneumothorax: a prospective study. *Emerg Radiol*. 2013;20(2):131–4.
43. Izbicki G, Shitrit D, Yarmolovsky A, Bendayan D, Miller G, Fink G. Is routine chest radiography after transbronchial biopsy necessary?: A prospective study of 350 cases. *Chest*. 2006;129(6):1561–4.
44. Frazier WD, Pope TL, Findley LJ. Pneumothorax following transbronchial biopsy. Low diagnostic yield with routine chest roentgenograms. *Chest*. 1990;97:539–40.

**ANEXO III:
OTRAS PUBLICACIONES EN RELACIÓN
CON LA TEMÁTICA DE LA TESIS**

11. ANEXO III. OTRAS PUBLICACIONES EN RELACIÓN CON LA TEMÁTICA DE LA TESIS

- **Pajares V**, Torrego A. Utilización de criosondas en la biopsia pulmonar transbronquial: beneficios y seguridad. En: Molina M, Basch A, editores. Manual de procedimientos en biopsia pulmonar para el diagnóstico de EPID. Manual SEPAR de Procedimientos; 2011(25); p. 20-30.
- **Pajares V**, Torrego A, Granell M, Szafranska J, Mozos A, Puzo C. Recurrent Endobronchial Diffuse Large B-cell Lymphoma. Diagnosed by cryoprobe. Arch Bronconeumol. 2013;49(5):210-2.
- Torrego A, **Pajares V**, Mola A, Lerma E, Franquet T. Influenza A(H1N1) organising pneumonia. BMJ Case Rep. 2010 Apr 27;2010.

