



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**Facultat de Medicina
Departament de Medicina**

La ultrasonografia endobronquial per a l'estudi del mediastí

Memòria per a optar al grau de Doctor en Medicina i Cirurgia

Ignasi Garcia Olivé

Tesi dirigida per: Dr. Eduard Monsó i Molas
Dr. Joan Ruiz Manzano

Badalona, juliol 2010

ÍNDEX :

I. Resum	6
II. Justificació	7
III. Introducció	8
III.1. Anatomia del mediastí.....	8
III.2. Patologia del mediastí.....	10
III.3. Càncer de pulmó.....	12
III.4. Tècniques per a estudi del mediastí.....	17
III.4.1. Tècniques quirúrgiques.....	17
III.4.2. Tècniques endoscòpiques.....	21
IV. Hipòtesi i Objectius	24
V. Metodologia	28
V.1. Metodologia general.....	28
V.2. Metodologia específica de cada treball.....	36
VI. Publicacions	38
VI. Estudi I.	38
VI. Estudi II.	42
VI. Estudi III.	46
VII. Limitacions dels estudis	50
VIII. Discussió	51
IX. Conclusions	60
X. Bibliografia	62
XI. Agraïments	73
XII. Annex	74

ABREVIATURES

CPCNP	Carcinoma de pulmó de cèl·lula no petita
CT-PET	Computed tomography-positron emission tomography (tomografia computada-tomografia per emissió de positrons)
EGFR	Epidermal growth factor receptor (factor de creixement epidèrmic)
FBS	Fibrobroncoscòpia
PA	Punció-aspiració
PAAF	Punció-aspiració amb agulla fina
PCR	Polimerase chain reaction (reacció en cadena de la polimerasa)
PTB	Punció transbronquial
RIQ	Rang interquartílic
TEMLA	Transcervical extended mediastinal lymphadenectomy (limfadenectomia mediastínica transcervical ampliada)
TK	Tyrosin-kinase
USEB	Ultrasonografia endobronquial
VAMLA	Videoassisted mediastinoscopic lymphadenectomy (limfadenectomia mediastínica guiada per vídeo)
VAMS	Video-assisted mediastinoscopic surgery (cirurgia mediastinoscòpica guiada per vídeo)
VATS	Video-assisted thoracoscopy (toracoscòpia guiada per vídeo)

RELACIÓ DE FIGURES I TAULES

RELACIÓ DE FIGURES:

Figura 1.- Imatge obliqua de TC que mostra les subdivisions del mediastí: mediastí anterior (A), mig (B) i posterior (C)

Figura 2.- TC (A) i RM (B) de pacient amb quist broncogènic

Figura 3.- Supervivència en funció de la N clínica per als pacients sense metàstasis a distància (extret de Rusch et al (14)).

Figura 4.- Punció del gangli amb visió en temps real.

Figura 5.- Extrem distal del fibrobroncoscopi.

Figura 6.- Agulla a l'extrem proximal del catèter, que produeix pressió negativa mentre es punxiona el gangli.

Figura 7.- Després de la punció es diposita la mostra obtinguda sobre un portaobjectes (A). Posteriorment es tenyeix la mostra i s'observa al microscopi (B).

Figura 8.- Gangli normal.

Figura 9.- Carcinoma escamós.

Figura 10.- Adenocarcinoma.

Figura 11.- Carcinoma de cèl·lula petita.

Figura 12.- Cèl·lules bronquials.

Figura 13.- Mostra hemàtica.

RELACIÓ DE TAULES:

Taula 1.- Tumors del mediastí en funció de la seva localització.

Taula 2.- Classificació TNM del càncer de pulmó de cèl·lula no petita.

Taula 3.- Algoritme proposat per la ESTS per a l'estadiatge primari del mediastí quan no es disposa de TC-PET (adaptat de De Leyn et al (13)).

Taula 4.- Algoritme proposat per la ESTS per a l'estadiatge primari del mediastí quan es disposa de TC-PET (adaptat de De Leyn et al (13)).

Taula 5.- Classificació dels ganglis mediastítics, adaptat de Rusch et al (19).

I. RESUM

Objectiu: La present tesi es basa en tres articles que exploren les possibilitats de la punció guiada per ultrasonografia endobronquial (USEB) en el camp de l'estadiatge del càncer de pulmó, en el diagnòstic de la ocupació del mediastí i en l'obtenció de mostres on es pugui fer estudis genètics en els pacients amb càncer de pulmó.

Resultats: La USEB ha estat útil en l'estadiatge de la neoplàsia pulmonar, amb una sensibilitat molt elevada per a la detecció de ganglis malignes.

També és una eina de diagnòstic útil en els pacients amb afectació mediastínica, el diagnòstic anatomopatològic dels quals no s'hagi assolit mitjançant exploracions no invasives ni broncoscòpia amb llum blanca, i permet evitar la realització de tècniques més invasives.

Les mostres de teixit maligne obtingudes per punció-aspiració guiada per USEB dels pacients amb carcinoma pulmonar de cèl·lula no petita són útils per a la detecció de mutacions de l'EGFR.

No hi ha hagut complicacions en cap dels procediments duts a terme per als treballs que conformen aquesta tesi.

Conclusió: La ultrasonografia endobronquial és una tècnica segura i útil per a l'estudi del mediastí

II. JUSTIFICACIÓ

La punció-aspiració (PA) guiada per ultrasonografia endobronquial (USEB) lineal en temps real és una tècnica de recent introducció que permet l'abordatge de tumors i ganglis mediastínics i ha demostrat la seva utilitat per a l'estudi de la neoplàsia broncopulmonar. El fet que és una prova poc invasiva i sense complicacions clínicament significatives ha fet d'aquesta tècnica una eina molt atractiva en l'estadiatge de la neoplàsia broncopulmonar, camp en què s'han focalitzat la majoria dels estudis realitzats fins al moment actual. Pocs autors han investigat la utilitat de la PA guiada per USEB lineal com a instrument de diagnòstic en el pacient amb patologia mediastínica, de causa bé neoplàsica o benigna.

De la mateixa manera, pocs treballs han estudiat la capacitat de la USEB amb PA per a obtenir mostres útils per a detectar-hi mutacions en els pacients amb càncer de pulmó. Aquesta capacitat seria important, atès que un gran nombre de pacients es troben en un estadi no quirúrgic en el moment del diagnòstic de la malaltia. La mutació que es pretén estudiar és la de l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR), ja que s'ha vist que la presència d'aquesta mutació determina una millor resposta als fàrmacs inhibidors de la tirosina-quinasa en els pacients amb carcinoma de cèl·lula no petita, sobretot els adenocarcinomes.

Finalment, no existeixen treballs en el camp de la ultrasonografia endobronquial que hagin estudiat si les característiques ultrasonogràfiques del ganglis poden predir malignitat.

L'objectiu del present treball és demostrar que la PA guiada per USEB en temps real és una eina útil per a l'estudi del mediastí, més enllà de la seva ja acceptada utilització per a l'estadiatge del càncer de pulmó.

III. INTRODUCCIÓ

III.1 Anatomia del mediastí

El mediastí es defineix com aquell espai que hi ha entre ambdós sacs pleurals. Està limitat per l'estèrnum per davant, i darrera té la columna vertebral. Cranialment acaba a l'obertura superior del tòrax, i caudalment hi ha el diafragma. El mediastí es divideix en mediastí superior, i en mediastí inferior. Alhora, aquest darrer es subdivideix en mediastí anterior, mig, i posterior. La separació entre el mediastí superior i inferior passa per un pla que passa a nivell de l'articulació manubrioesternal (ventralment) i de la cara inferior de la IV vèrtebra toràcica (dorsalment).

Dins el mediastí superior es troba: l'origen dels músculs esternohioideu i esternotiroideu i l'extrem inferior del múscul llarg del coll, la crossa de l'aorta, el tronc arterial braquiocefàlic, les arteries caròtides primitiva i subclàvia esquerra, els troncs venosos braquicefàlics i la meitat superior de la vena cava superior, la vena intercostal superior esquerra, els nervis vague, cardíac, frènic i laringi recurrent esquerra, i la porció superficial del plexe cardíac, la tràquea, l'esòfag, el conducte toràcic, les restes del timus, i els ganglis limfàtics paratraqueals, braquiocefàlics i alguns dels tràqueobronquials.

El mediastí anterior es troba entre el cos de l'estèrnum per davant i el pericardi per darrera. Conté teixit areolar, els lligaments esternopericàrdics, dos o tres ganglis limfàtics, algunes branques mediastíniques de l'artèria mamària interna i a vegades restes tímiques.

El mediastí mig és la part més gran del mediastí inferior. Dins seu hi ha el cor, el pericardi, l'aorta ascendent, la meitat inferior de la vena cava superior, la part terminal de la vena àzigos, la bifurcació traqueal, els dos bronquis, l'artèria pulmonar i la seva divisió en les branques dreta i esquerra, les venes pulmonars dretes i esquerres, els nervis frènics, la part profunda del plexe cardíac i alguns ganglis limfàtics tràqueobronquials.

El mediastí posterior està limitat ventralment per la bifurcació de la tràquea, els vasos pulmonars, el pericardi i per la part posterior de la cara superior del diafragma; dorsalment, per la columna vertebral des del marge inferior de la IV vèrtebra toràcica fins a la XII, i lateralment per la pleura mediastínica d'ambdós costats. Al seu interior trobem la porció descendent de l'aorta toràcica, les venes àzigos i hemiàzigos, els nervis vagues i esplàcnics, l'esòfag, el conducte toràcic i els ganglis limfàtics mediastínics posteriors (1).

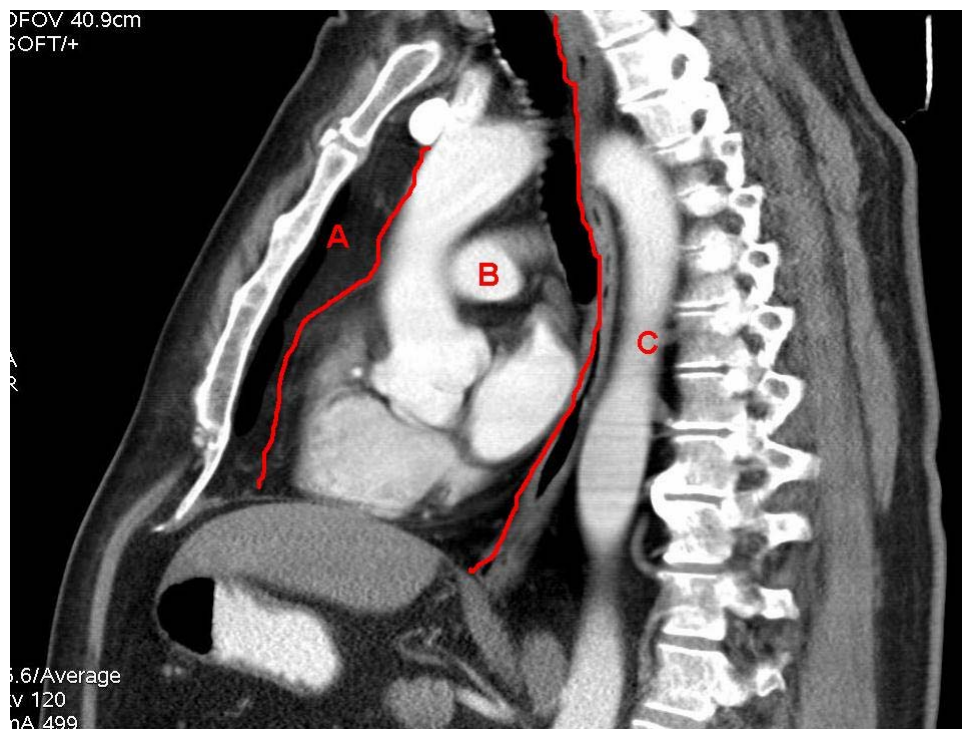


Figura 1.- Imatge obliqua de TC que mostra les subdivisions del mediastí: mediastí anterior (A), mig (B) i posterior (C)

III.2 Patologia del mediastí

Hi ha un gran nombre de patologies que poden produir afectació del mediastí, i la subdivisió abans esmentada és cabdal per al diagnòstic d'aquestes patologies (2,3) (Taula 1).

La probabilitat que aquesta afectació sigui d'etiologia maligna depèn bàsicament de tres factors: la localització de la massa (4,5); l'edat del pacient; i la presència o no de símptomes (5). Tot i que la majoria de les tumoracions mediastíniques són benignes, és més probable que les del compartiment anterior siguin malignes (4,5).

MEDIASTÍ ANTERIOR	MEDIASTÍ MIG
<ul style="list-style-type: none"> Neoplàsies tímiques Tumors de cèl·lules germinals <ul style="list-style-type: none"> Teratoma Seminoma Coriocarcinoma Limfoma <ul style="list-style-type: none"> Limfoma de Hodgkin Limfoma no Hodgkin Neoplàsies de tiroides Neoplàsies de paratiroides Tumors mesenquimatosos <ul style="list-style-type: none"> Lipoma Fibroma Limfangioma Hemangioma Mesotelioma Altres Hèrnia diafragmàtica (Morgagni) Carcinoma primari 	<ul style="list-style-type: none"> Limfadenopaties <ul style="list-style-type: none"> Inflamació reactiva i granulomatosa Metàstasis Malaltia de Castleman Limfoma Quists <ul style="list-style-type: none"> Pericàrdic De la duplicació de l'intestí <ul style="list-style-type: none"> Quist broncogènic Quist entèric Altres <ul style="list-style-type: none"> Engrandiments vasculars Hèrnia diafragmàtica (de hiatus)
	MEDIASTÍ POSTERIOR
	<ul style="list-style-type: none"> Tumors neurogènics Meningocele Lesions esofàgiques (carcinoma, diverticle) Hèrnia diafragmàtica (Bochdalek) Miscel·lània

Taula 1.- Tumoracions del mediastí en funció de la seva localització

Les manifestacions clíniques, quan n'hi ha, més habituals, són: tos (60%), dolor toràcic (30%), febre i/o calfreds (20%), i dispnea (16%) (3).

Quan se sospita una massa mediastínica, el primer pas és sol·licitar una radiografia simple de tòrax (front i perfil). Per a aconseguir una millor caracterització de la massa el següent pas serà realitzar una tomografia computada (TC) de tòrax, que a més ens servirà per a conèixer si hi ha afectació de les estructures veïnes, i també per a identificar les lesions quístiques, vasculars, i de parts toves (6). La ressonància magnètica (RM) també és útil a l'hora d'estudiar el mediastí. Bàsicament és útil per a confirmar el caràcter quístic d'una lesió sòlida a la TC, i també pot suggerir els diagnòstics d'hemangioma, teratoma o hematopoesi extramedul·lar a partir de la presència de greix intralesional. A més, és la tècnica d'elecció per a l'estudi dels tumors neurogènics, perquè pot veure el nombre de lesions, l'extensió intraespinal, i la longitud cràneocaudal, i en aquells pacients a qui no es pugui administrar contrast iodat (7).

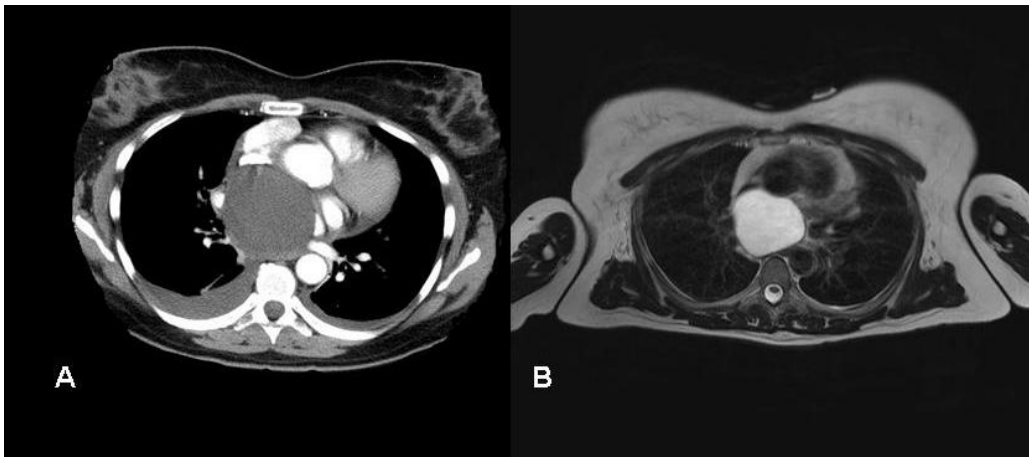


Figura 2.- TC (A) i RM (B) de pacient amb quist broncogènic

III.3 Càncer de pulmó

El càncer de pulmó és, en el moment actual, la causa més freqüent de mortalitat per malaltia neoplàsica als països desenvolupats, i provoca més morts que la combinació dels altres tres tipus de càncer més habituals: colon, mama i pròstata (8).

Bàsicament, dins dels tumors de tipus epitelials malignes hi ha dos tipus de càncer, i són el de cèl·lula petita o microcític (un 15% aproximadament dels càncers de pulmó), i el carcinoma pulmonar de cèl·lula no petita (CPCNP) (el 85% que manca). El CPCNP es pot dividir en tres subtipus histològics principals: el carcinoma escatós, l'adenocarcinoma i el carcinoma de cèl·lules grans. Fora d'aquests dos grans grups, també hi ha altres tumors menys freqüents, que són els carcinomes amb elements pleomòrfics, sarcomatoides o sarcomatosos, els carcinoïdes (típics i atípics), els carcinomes de tipus glàndula salivar, i els carcinomes inclassificats (9). Aquests tumors menys freqüents, però, no s'estudien en la present tesi.

El consum de tabac es relaciona amb l'aparició de qualssevol d'aquests subtipus, però sobretot està associat amb el carcinoma microcític i el de cèl·lules escatoses. L'adenocarcinoma és el més freqüent en aquells pacients amb neoplàsia de pulmó sense antecedent de tabaquisme, tot i que cal deixar clar que és més habitual en fumadors que en no fumadors. Per a expressar el grau d'extensió anatòmica en el CPCNP s'utilitza el TNM (Taula 2) (10). El carcinoma microcític es classifica en funció de si existeix malaltia extratoràcica, i per aquest motiu d'ara en endavant, quan parlem de l'estadiatge mediastínic ens referirem solament al CPCNP.

L'estadificació de la neoplàsia de pulmó segons el TNM és el principal factor pronòstic i, malauradament, en el moment del diagnòstic la malaltia es troba en una fase avançada en més de la meitat dels pacients, i és poc probable poder dur a terme un tractament curatiu.

Globalment la supervivència del càncer de pulmó als 5 anys es situa entre el 6 i el 14% en el cas dels homes i entre el 7 i el 18% en el de les dones (11). Una de les causes possibles d'aquesta baixa taxa de supervivència pot ser el fet que és una neoplàsia asimptomàtica a les fases inicials. La resecció quirúrgica és el

tractament més efectiu per als tumors localitzats però, malauradament, menys de la meitat dels càncers de pulmó es diagnostiquen en aquests estadis més inicials. Una altra possible causa d'aquesta baixa supervivència poden ésser l'alt nombre de comorbiditats associades a l'antecedent de tabaquisme, com la malaltia pulmonar obstructiva crònica o les malalties cardiovasculars (12).

Descriptors	Definicions
I	<u>Tumor primari</u>
T0	Absència de tumor primari
T1	Tumor ≤ 3cm, envoltat de pulmó o pleura visceral, distal a bronqui lobar
T1a	Tumor ≤ 2cm
T1b	Tumor >2 però ≤ 3cm
T2	Tumor >3 però ≤ 7cm o bé: envaeix pleura visceral, afecta bronqui principal a ≥ 2 cm de carina, atelèctasi o pneumonitis obstructiva que no afecta tot el pulmó
T2a	Tumor > 3 però ≤ 5 cm
T2b	Tumor >5 però ≤ 7 cm
T3	Tumor > 7 cm; o bé invasió de paret toràctica, diafragma, nervi frènic, pleura mediastínic o pericardi parietal; o bé tumor a bronqui principal < 2 cm de carina; o bé atelèctasi/pneumonitis obstructiva de tot el pulmó; o bé nòduls tumorals al mateix lòbul
T4	Tumor de qualsevol mida que envaeixi; cor, grans vasos, tràquea, nervi laringi recurrent, esòfag, cos vertebral, o carina; o bé nòduls tumorals a un altre lòbul del mateix pulmó
N	<u>Ganglis limfàtics regionals</u>
N0	No hi ha metàstasis ganglionars
N1	Metàstasis a ganglis limfàtics; peribronquials i/o perihiliars i ganglis intrapulmonars, ipsilaterals, inclosa afectació per extensió directa
N2	Metàstasis a ganglis mediastínic ipsilaterals i/o subcarinals
N3	Metàstasis a ganglis mediastínic o hiliars contralaterals, escalens ipsi o contralaterals, o ganglis supraclaviculars
M	<u>Metàstasis a distància</u>
M0	No hi ha metàstasis a distància
M1a	Nòduls tumorals a lòbul contralateral; o bé tumor amb nòduls pleurals o disseminació pleural maligna
M1b	Metàstasis a distància

Taula 2.- Classificació TNM del càncer de pulmó de cèl·lula no petita (adaptat de Detterbeck et al (10))

Estadiatge mediastínic en el càncer de pulmó no microcític

El correcte estadiatge mediastínic és fonamental en els pacient amb càncer de pulmó no microcític, i és el més important, de cara al pronòstic i al tractament, si no hi ha metàstasis a distància (13,14).

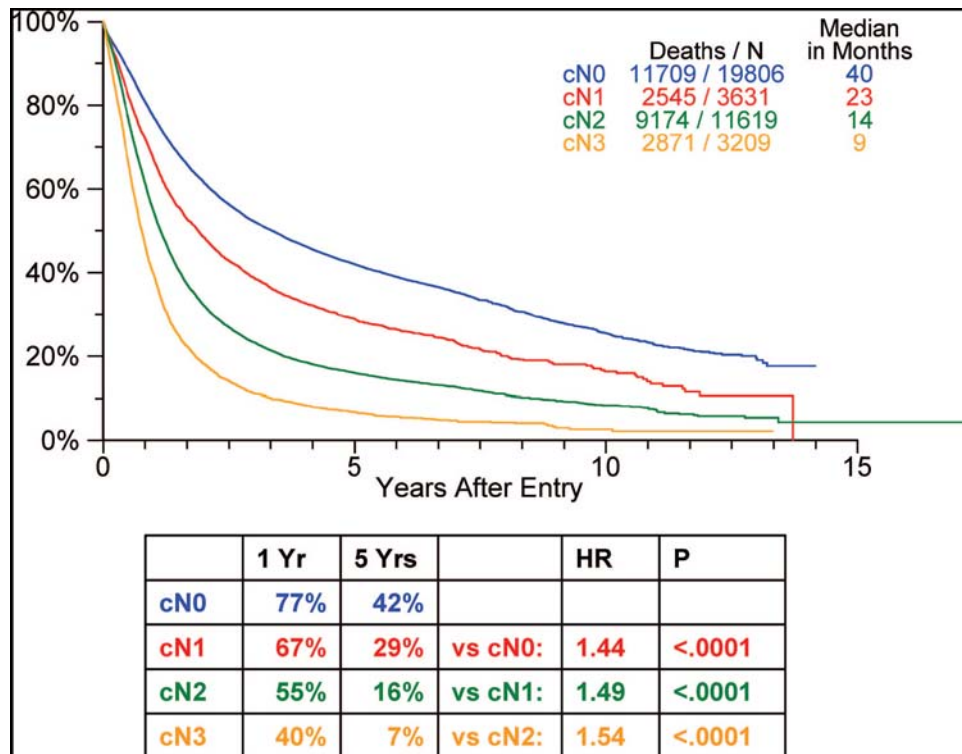
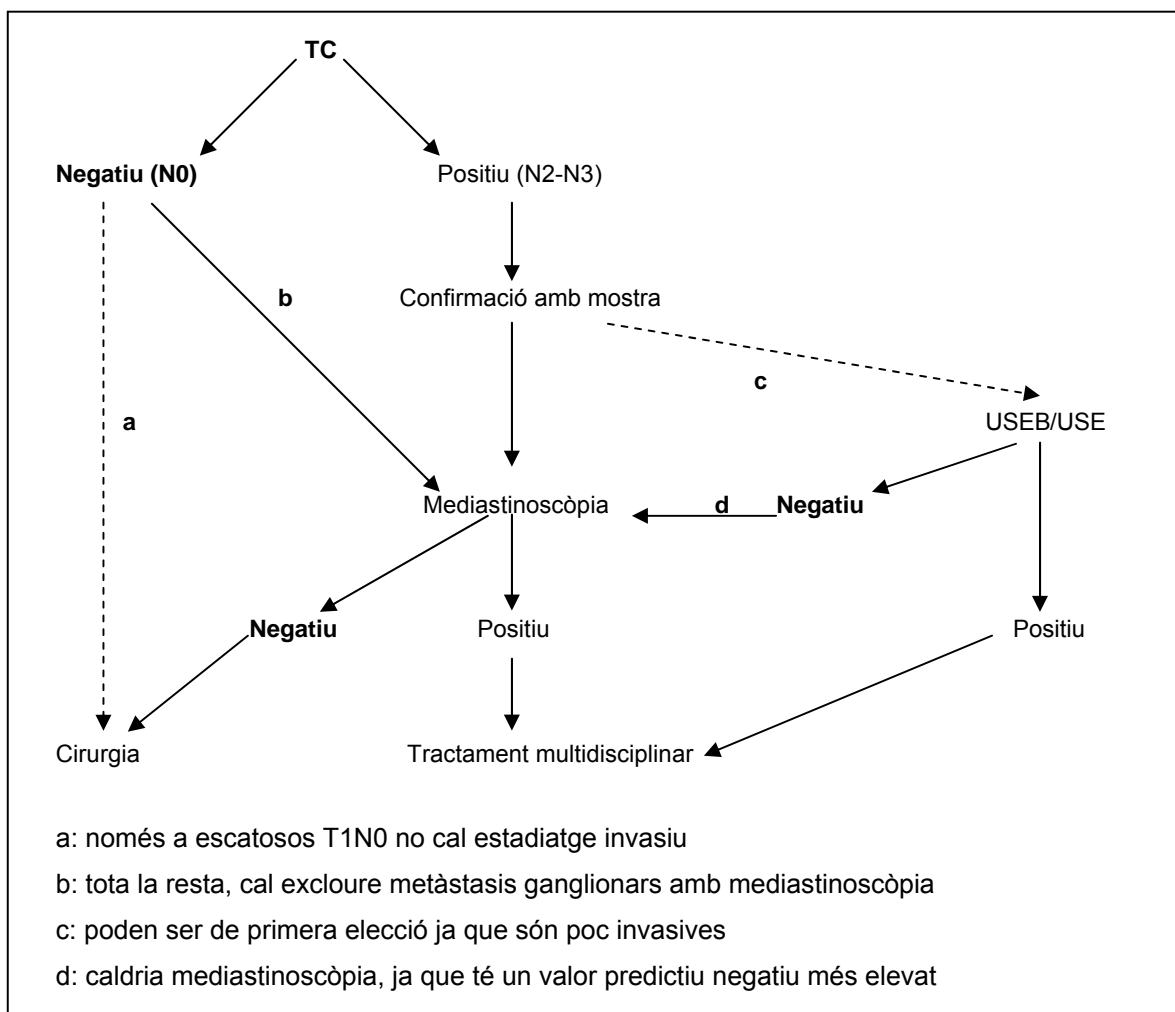


Figura 3.- Supervivència en funció de la N clínica per als pacients sense metàstasis a distància (extret de Rusch et al (14)).

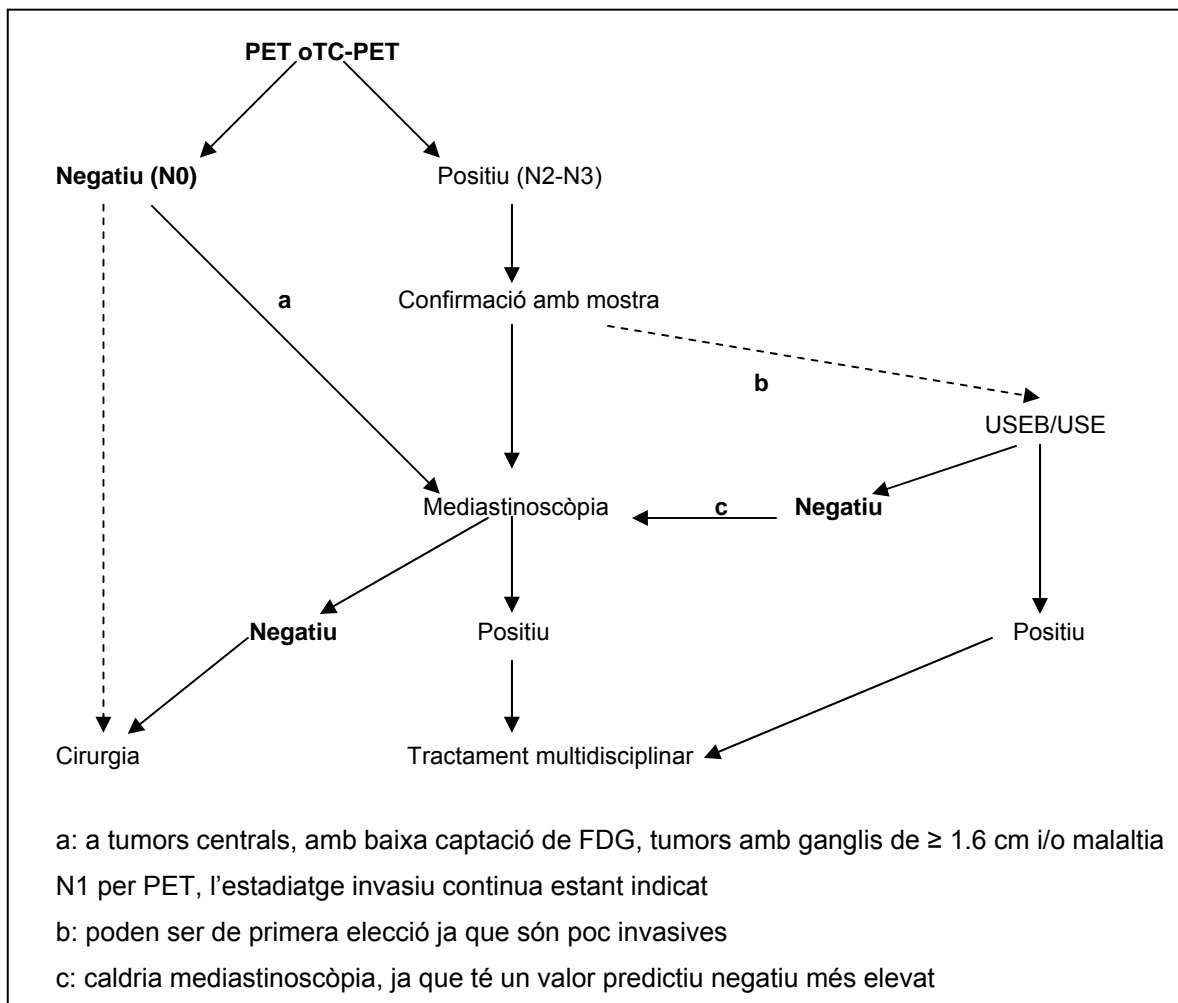
A la darrera edició de la classificació TNM no s'ha fet canvis pel que fa a la N respecte la classificació anterior (12).

Algoritme per a l'estadiatge del càncer de pulmó

La Societat Europea de Cirurgia Toràcica (European Society of Thoracic Surgery, ESTS) proposa els següents algorismes (13), en funció de si es disposa o no de TC-PET:



Taula 3.- Algoritme proposat per la ESTS per a l'estadiatge primari del mediastí quan no es disposa de TC-PET (adaptat de De Leyn et al (13))



Taula 4.- Algorisme proposat per la ESTS per a l'estadiatge primari del mediastí quan es disposa de TC-PET (adaptat de De Leyn et al (13)).

Biologia molecular del càncer de pulmó

Els orígens moleculars del càncer de pulmó es basen en interaccions complexes entre l'ambient i la susceptibilitat genètica de l'hoste. El càncer de pulmó, per tant, evoluciona a través de canvis genètic i epigenètics, incloent-hi vies de senyalització que han perdut la regulació, que són objectius potencials per a la quimioprevenció i quimioteràpia (15).

Les noves tècniques d'estudi genètic poden revolucionar l'actuació clínica sobre alguns tipus de càncer, identificant-ne els marcadors moleculars de risc,

facilitant-ne la detecció precoç, i determinant-ne la sensibilitat als diferents fàrmacs disponibles (15,16,17).

La recerca sobre possibles dianes terapèutiques a nivell molecular ha facilitat l'aparició de fàrmacs inhibidors de l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR) i del *vascular epidermal growth factor receptor* (VEGFR) que són, respectivament, l'erlotinib i el bevacizumab, que han demostrat ser útils en pacients amb CPCNP (15,16).

Tot i que no estan tant estudiades com les mutacions de l'EGFR, en el CPCNP n'existeixen moltes altres que també disposen de potencials inhibidors. Aquest és el cas de l'ALK, MET, PDGFR, ROS, ERBB2, BRAF, PIK3CA, MEK1. Per a KRAS en el moment actual no es disposa de cap inhibidor que hagi demostrat activitat per al seu ús terapèutic (17).

III.4 Tècniques per a estudi del mediastí

Malgrat els importants avenços que han aparegut al camp de les tècniques d'imatge (TC i CT-PET) per al diagnòstic de les metàstasis ganglionars mediastíniques, l'anàlisi del teixit continua essent fonamental en els pacients amb CPCNP. En aquest sentit, disposem de les tècniques de punció-aspiració i de les tècniques quirúrgiques. Aquestes darreres, a dia d'avui, continuen sent el patró de referència.

Per a entendre millor les avantatges i les limitacions de cada tècnica, cal tenir ben present la situació dins del mediastí de cada una de les estacions ganglionars (Taula 5).

III.4.1 Tècniques quirúrgiques

Mediastinoscòpia cervical

La mediastinoscòpia cervical, inicialment descrita per Carlens l'any 1959 (18), es va utilitzar inicialment com a eina diagnòstica però, a mesura que ha

augmentat la consciència de la importància de l'estadiatge mediastínic s'ha convertit en el patró or en l'estadiatge mediastínic pre-quirúrgic. La intervenció

Zona supraclavicular		
1	Cervicals baixos, supraclaviculars i externals	
Ganglis mediastínic superiors		
2R	Paratraqueals superiors drets	
2L	Paratraqueals superiors esquerres	
3a	Prevasculars	
3p	Retrotraqueals	
4R	Paratraqueals inferiors drets	
4L	Paratraqueals inferiors esquerres	
Ganglis de l'aorta		
5	Subaòrtics (finestra aortopulmonar)	ZONA AORTOPULMONAR
6	Para-aòrtic (aorta ascendent o frènic)	
Ganglis mediastínic inferiors		
7	Subcarinal	ZONA SUBCARINAL
8	Paraesofàgics (sota de carina)	ZONA INFERIOR
9	Lligament pulmonar	
Ganglis N1		
10	Hiliars	ZONA HILIAR/INTERLOBAR
11	Interlobars	
12	Lobars	
13	Segmentaris	ZONA PERIFÈRICA
14	Subsegmentaris	

Taula 5.- Classificació dels ganglis mediastínic, adaptat de Rusch et al (19).

es realitza sota anestèsia general i el pacient pot marxar fins i tot el mateix dia de la intervenció. Mitjançant aquesta tècnica es poden examinar les àrees paratraqueals (2R i 2L), les pretraqueals (1 i 3), els angles traqueobronquials (estacions 4R i 4L), i l'espai subcarinal (7) (15). Queden habitualment fora del

seu abast el mediastí més inferior (estacions 8 i 9), la finestra aortopulmonar (estació 5) i el mediastí anterior (estacions 6 i 3A) (20).

Les principals complicacions de la tècnica, tot i que poc habituals, són el sagnat, la lesió del nervi laringi recurrent, la lesió de l'esòfag o de l'arbre traqueobronquial.

Posteriorment ha aparegut la mediastinoscòpia guiada per vídeo (21), la qual permet tenir més visibilitat i facilita la manipulació de l'instrumental.

Mediastinoscòpia cervical ampliada

Més tard va aparèixer la mediastinoscòpia cervical ampliada, que pot arribar a examinar la zona pre-aòrtica (estació 6) i la finestra aortopulmonar (estació 5) (22). Malgrat tot, és una tècnica molt poc utilitzada.

Mediastinotomia anterior esquerra

Va ser introduïda l'any 1966 (23), i permet accedir als ganglis del mediastí anterior i de la finestra aortopulmonar. Això és especialment útil per a diagnòstic histològic i estadiatge dels tumors del lòbul superior esquerre, que tenen tendència a afectar els ganglis de la finestra aortopulmonar.

Limfadenectomia mediastínica guiada per vídeo

La limfadenectomia mediastínica guiada per vídeo, o *video-assisted mediastinoscopic lymphadenectomy* (VAMLA), és una extensió de la mediastinoscòpia estàndard. S'utilitza un mediastinoscopi amb una doble articulació que permet crear un camp operatori molt més ampli. D'aquesta manera, es pot dur a terme resecció en bloc dels compartiments subcarinal, paratraqueal dret, traqueobronquial dret, i pretraqueal, i dissecció i obtenció de mostres dels compartiments traqueobronquial i paratraqueal esquerres (24).

Així, en cas que posteriorment es dugui a terme cirurgia curativa, teòricament la resecció ganglionar ja estaria feta.

Limfadenectomia mediastínica transcervical ampliada

És la traducció de *transcervical extended mediastinal lymphadenectomy* (TEMLA). Aquesta tècnica, apareguda l'any 2004, permet l'exèresi de tots els ganglis de les estacions 1, 2R, 2L, 3, 4R, 4L, 5, 6, 7 i 8, i només queden fora del seu abast els ganglis del lligament pulmonar (estació 9) i els ganglis 4L més distals (25). Igual que amb l'anterior, en cas de fer cirurgia curativa, teòricament la limfadenectomia ja estaria feta.

Toracoscòpia guiada per vídeo

La toracoscòpia guiada per vídeo, o *video-assisted thoracoscopy* (VATS) és una tècnica molt versàtil, que s'utilitza per al diagnòstic i per a l'estadiatge dels pacients amb càncer de pulmó (26). Les tècniques guiades per toracoscòpia permeten disposar d'una visió panoràmica de l'hemitòrax i, a més de poder biopsiar ganglis, permet investigar la presència d'invasió local, embassament pleural, biopsiar quan se sospita l'existència de lesions de la pleura, i permet també realitzar una pericardioscòpia.

S'ha utilitzat per a biopsiar ganglis de les estacions 5, 6, 8 i 9, les quals es consideren habitualment fora de l'abast de la mediastinoscòpia estàndard (27), per la qual cosa s'ha d'utilitzar com a tècnica complementària.

III.4.2 Tècniques endoscòpiques

Punció transtraqueal i punció transbronquial

La punció transtraqueal (PTT) i la punció transbronquial (PTB) a través d'un fibrobroncoscopi s'han utilitzat per a l'estudi del mediastí de pacients amb càncer de pulmó durant més de 30 anys (28-30). La majoria dels treballs han demostrat una sensibilitat per sobre del 50% amb una especificitat propera al 100% (31,32). No obstant això, aquesta sensibilitat depèn de la localització dels ganglis (és més gran per a ganglis subcarinals i paratraqueals drets) (33,34), i de la mida del gangli, ja que nómés és alta per a ganglis amb diàmetre de més de 20 mm (33,35).

Ultrasonografia endoscòpica esofàgica

La ultrasonografia endoscòpica (USE) inicialment es va utilitzar per a l'estadiatge de neoplàsies del tracte gastrointestinal, però també proporciona una via d'accés excel·lent al mediastí posterior a través de la paret de l'esòfag (36). Els treball inicials (37) expressaven el risc de malignitat dels ganglis en funció de la mida, la forma, l'ecogenicitat i si estaven ben delimitats o no. El fet que s'afegís la punció aspirativa guiada per la ESE va millorar de forma substancial la sensibilitat i l'especificitat a l'hora de detectar malignitat ganglionar mitjançant aquesta tècnica (38).

Posteriorment han aparegut nombrosos treballs que han demostrat que la USE és una eina segura per a l'estadiatge del càncer de pulmó, amb bons nivells de sensibilitat per a confirmar metàstasis ganglionars observades a la TC de tòrax (39). A més, també pot diagnosticar metàstasis en pacients amb TC normal, tot i que amb sensibilitat més baixa (40). Com a limitacions d'aquesta tècnica, no és útil per a mostrejar les estacions 4R ni lobars.

Ultrasonografia endobronquial

Ultrasonografia endobronquial radial

La ultrasonografia endobronquial (USEB) radial permet visualitzar els ganglis mediastínic i hilars abans de dur a terme la punció, i això ha augmentat la sensibilitat respecte de la punció a cegues fins al 80% (40,41).

Ultrasonografia endobronquial sectorial

La USEB sectorial o lineal, que permet realitzar la punció dels ganglis sota visió ultrasonogràfica directa (Figura 4), ha fet encara més útil aquesta eina, i permet punccionar ganglis considerats normals a la TC de tòrax (42,43).

Darrerament han aparegut dos articles de revisió que han estudiat la utilitat i la seguretat d'aquesta tècnica en l'estadiatge mediastínic del càncer de pulmó. . Ambdós han coincidit a afirmar que la tècnica és útil i presenta un baix nombre de complicacions (44,45).



Figura 4.- Punció del gangli amb visió en temps real.

Per a dur a terme aquesta exploració s'utilitza un broncoscopi flexible amb un transductor a l'extrem distal, que és capaç de generar imatges lineals paral·leles de teixit mediastínic paratraqueal i para bronquial. El broncoscopi disposa d'un canal de treball per a realitzar les puncions. Per tal d'obtenir la imatge ultrasonogràfica, l'extrem distal del broncoscopi es posa en contacte amb la paret de la tràquea o del bronqui. L'equip permet obtenir imatges del mediastí amb efecte Doppler, que permet diferenciar les estructures vasculares del tumor i/o dels ganglis mediastítics quan calgui.

Els tumors i els ganglis visualitzats es puncionen amb control visual en temps real amb una agulla citològica, que es fa avançar pel canal de treball fins a la llum de la tràquea, on s'empeny fora de la seva funda i s'introdueix a través de la paret traqueal o bronquial fins a arribar al gangli o tumor que es pretén abordar, començant sempre amb els ganglis que impliquin un pitjor estadiatge, si s'utilitza la mateixa agulla durant tot el procediment.

El fet que la punció sigui sota visió en temps real és el que realment marca la diferència respecte de la USEB radial, en què s'ha d'enretirar el transductor per a poder passar pel mateix canal de treball l'agulla citològica amb que es durà a terme la punció.

IV. HIPÒTESI I OBJECTIUS

HIPÒTESI

La punció aspirativa guiada per ultrasonografia bronquial en temps real pot ser una eina útil per a l'estudi del mediastí, més enllà de la seva ja acceptada utilització per a l'estadiatge del càncer de pulmó.

OBJECTIUS

Objectius principals:

Objectiu general

Demostrar que la punció de ganglis del mediastí guiada per ultrasonografia endobronquial és una eina útil per a l'estudi del mediastí, tant per a l'estadiatge del càncer de pulmó com per al diagnòstic de patologies malignes i benignes.

Objectius específics

Demostrar que la USEB és útil en l'estadiatge mediastínic dels pacients amb neoplàsia pulmonar

La principal aplicació de la ultrasonografia endobronquial és a l'estadiatge mediastínic de la neoplàsia pulmonar. Pretenem confirmar el que s'ha publicat anteriorment, que és una eina útil, amb bons nivells de sensibilitat per a detectar malignitat.

Demostrar que la USEB és útil com a eina diagnòstica en pacients amb patologia no diagnosticada pels mètodes disponibles no quirúrgics, amb un rendiment superior a d'altres tècniques no quirúrgiques

Com hem dit anteriorment, els diferents grups s'han centrat en l'aplicació de la ultrasonografia endobronquial per a l'estadiatge mediastínic, i cap d'ells en l'aplicació de la tècnica com a eina diagnòstica en aquells casos amb ocupació mediastínica en què no s'ha pogut assolir un diagnòstic anatomopatològic amb tècniques no quirúrgiques.

Demostrar que la USEB és útil per a obtenir mostres en què es poden detectar mutacions en pacients amb carcinoma pulmonar de cèl·lula no petita.

A mesura que el coneixement de les neoplàsies augmenta, l'estudi genètic dels tumors és més important de cara al tractament. A més tenint en compte que molts dels pacients amb neoplàsia de pulmó tenen un estadi avançat de la malaltia en el moment del diagnòstic (la qual cosa desaconsella una intervenció quirúrgica), encara es fa més evident la urgència de disposar de tècniques el mínim d'invasives possibles per a obtenir mostres de teixit en les quals es puguin fer estudis genètics.

En aquest cas s'estudien les mutacions dels exons 19 i 21 de l'EGFR, àmpliament relacionat amb la resposta a certs fàrmacs quimioteràpics.

Es disposa de treballs que demostren l'associació d'aquestes mutacions amb una millor resposta a alguns fàrmacs. No obstant això, la literatura al voltant de la detecció de mutacions per endoscòpia respiratòria és escassa.

Objectius secundaris:

Demostrar que la USEB pot estalviar mediastinoscòpies

És d'esperar que es puguin evitar un cert nombre d'intervencions quirúrgiques en aquells pacients on la mostra obtinguda mitjançant la ultrasonografia endobronquial sigui suficient per a establir el diagnòstic de la patologia que afecta al gangli punccionat.

Demostrar que la USEB és una tècnica segura

Es tracta de demostrar que és una eina útil sense complicacions significatives. Si bé s'han descrit complicacions, aquestes entren dintre del que es podria esperar per la tècnica: pneumotòrax, sagnat, agitació, o tos. En tots els treballs, però, la presència de complicacions ha estat anecdòtica.

Demostrar la utilitat de la USEB per a predir malignitat en funció de la forma del gangli visualitzat per ultrasonografia

Tot i que hi ha hagut alguns intents de relacionar les característiques ecogràfiques dels ganglis amb la probabilitat que aquests siguin malignes, aquests intents han estat dins el camp de la ultrasonografia endoscòpica esofàgica.

Hem pretès relacionar la forma del gangli (expressant de la forma més senzilla possible la rodonesa o no del mateix) amb la probabilitat que aquest sigui maligne.

V. METODOLOGIA

V.1 Metodologia general

Criteris d'inclusió

A cada treball els criteris d'inclusió variaven, i per aquest motiu els criteris d'inclusió es comentaran de manera més detallada a la part corresponent de cada estudi.

Criteris d'exclusió

Es varen excloure aquells pacients que presentaven alteracions de la coagulació o plaquetopènia que contraindiquessin l'exploració, i aquells que no signaren el consentiment informat.

Tampoc es varen incloure a cap dels estudis aquells malalts que havien estat remesos per a re-estadificació.

Tècnica

Per a la tècnica es va aplicar anestèsia local amb lidocaïna, fins a un màxim de 8.2 mg/kg, i sedació profunda amb midazolam amb una dosi inicial de 0.07 mg/kg, que es va augmentar en 1 mg cada minut fins assolir l'efecte desitjat, i posteriorment en 1 mg cada 5-10 minuts per a mantenir aquest efecte, fins a una dosi màxima acumulada de 0.67 mg/kg. Es va utilitzar un broncoscopi flexible (BF-UC160F-OL8, Olympus Optical Co. Ltd., Tokio, Japó), que té a l'extrem distal un transductor (Figura 5) capaç de generar imatges lineals paral·leles de teixit mediastínic paratraqueal i para bronquial. El broncoscopi disposa d'un canal de treball per a realitzar les puncions.



Figura 5.- Extrem distal del fibrobroncoscopi.

Per tal d'obtenir la imatge ultrasonogràfica, l'extrem distal del broncoscopi es posa en contacte amb la paret de la tràquea o del bronqui i, a fi de millorar la imatge s'utilitza un globus col·locat prèviament sobre el transductor que s'infla amb sèrum fisiològic, quan la posició del transductor ultrasonogràfic sobre la paret no és l'adient. L'equip permet obtenir imatges del mediastí amb efecte Doppler, que permet diferenciar les estructures vasculares del tumor i/o dels ganglis mediastítics quan calgui.

A cada exploració es visualitzà el tumor (si existia), i els ganglis mediastítics laterotraqueals drets i esquerres, els subcarinals, els de la finestra aortopulmonar i els ganglis lobars, i es va mesurar el seu diàmetre menor i major, quan això era possible (EUS EXERA EU-C80, Olympus Optical Co. Ltd., Tokio, Japó). Quan el diàmetre major sortia de la pantalla de visualització perquè el gangli era molt gran aquesta mesura no s'efectuava. Els tumors i els ganglis visualitzats que fessin com a mínim 5 mm es varen punxionar amb control visual en temps real amb una agulla citològica dissenyada expressament per a l'equip (NA2015X-4022, Olympus Optical Co. Ltd., Tokio, Japó), que es feia avançar pel canal de treball fins a la llum de la tràquea, on s'empenyia fora de la seva funda i era introduïda a través de la paret traqueal o bronquial fins a

arribar al gangli o tumor que es pretenia abordar, començant sempre amb els ganglis que impliquessin un estadiatge més avançat. Mentre l'agulla es desplaçava a l'interior del tumor o gangli entre 8 i 10 cops, es mantenia pressió negativa a l'extrem proximal del catèter (Figura 6).



Figura 6.- Xeringa a l'extrem proximal del catèter, que produeix pressió negativa mentre es punxiona el gangli.

Un cop obtinguda la mostra, s'enretirava l'agulla i es realitzava un examen citològic (Figura 7) immediat en que es valorava la mostra com a provinent de gangli normal (predomini de cèl·lules limfocitàries en absència de cèl·lules neoplàsiques) (Figura 8) o bé com a neoplàsica (quan s'observaven cèl·lules malignes) (Figures 9, 10, i 11). Les mostres que només tenien cèl·lules bronquials (Figura 12), sang (Figura 13), material insuficient o cèl·lules amb atípia, que no confirmaven cap diagnòstic, es consideraren no valorables, i es va repetir la punció sobre el tumor o gangli fins a un màxim de 3 cops (46).

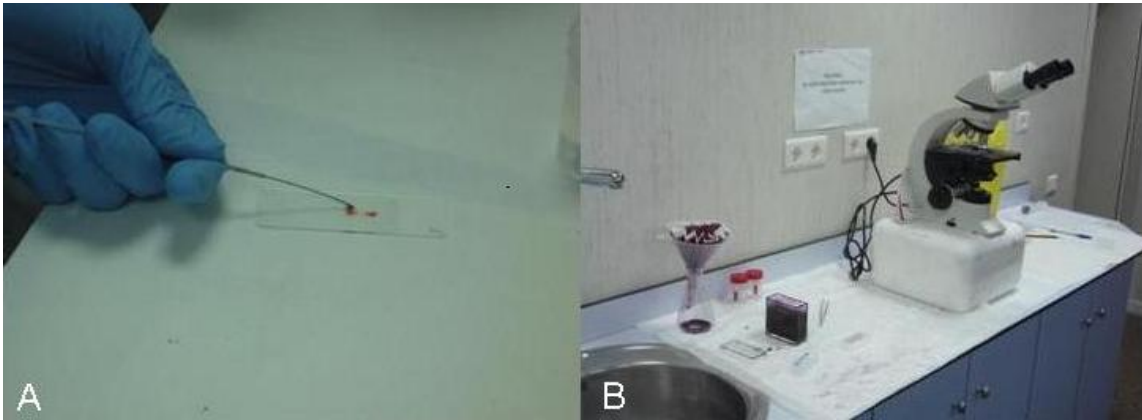


Figura 7.- Després de la punció es diposita la mostra obtinguda sobre un portaobjectes (A). Posteriorment es tenyeix la mostra i s'observa al microscopi (B).

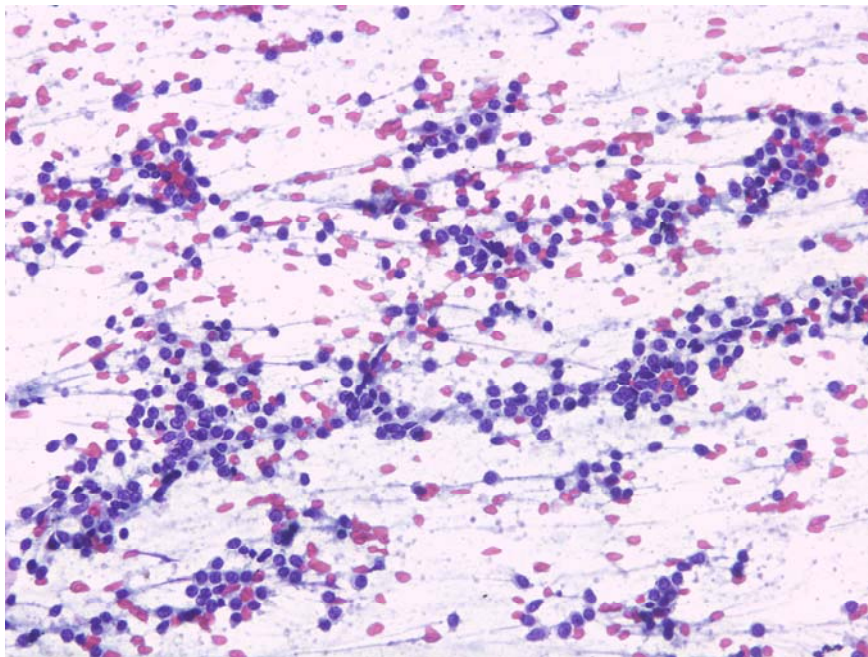


Figura 8.- Gangli normal

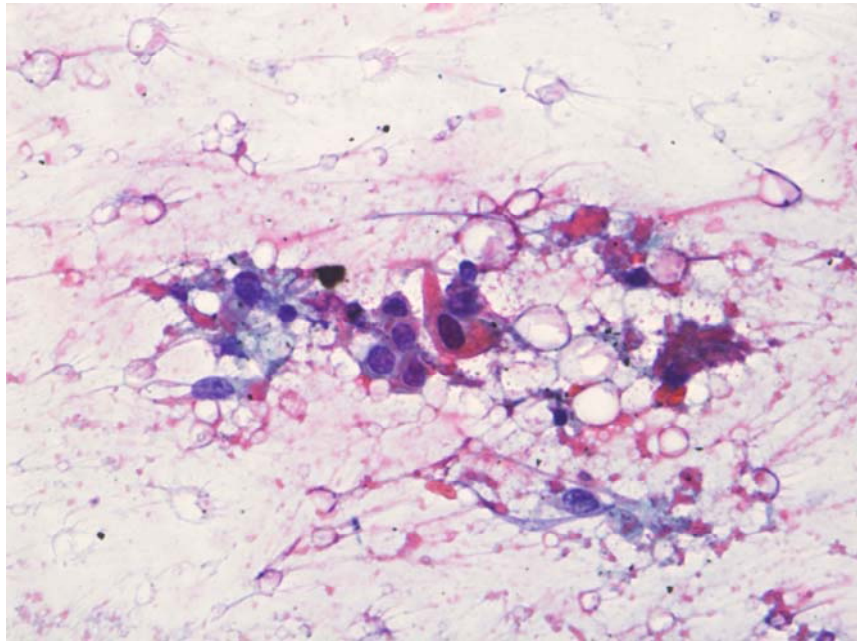


Figura 9.- Carcinoma escatós

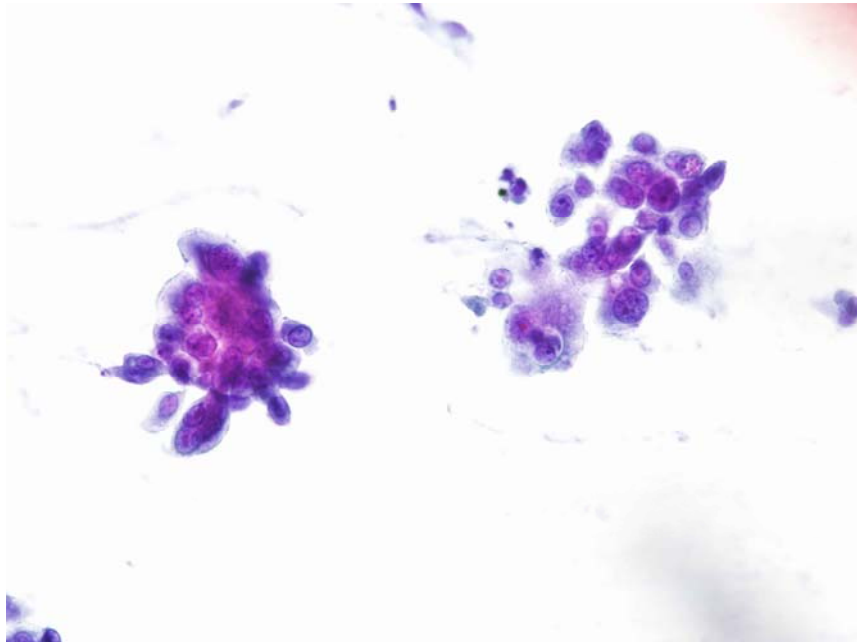


Figura 10.- Adenocarcinoma

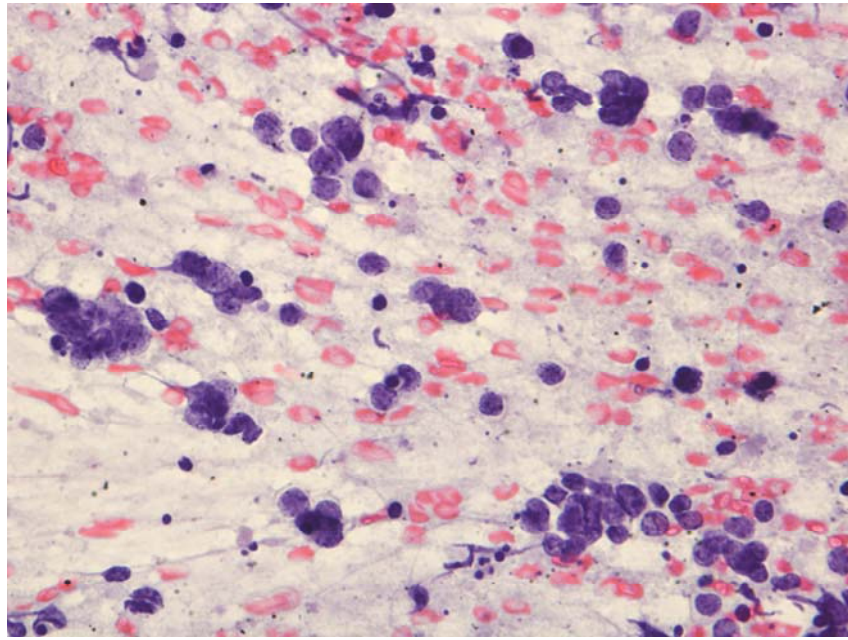


Figura 11.- Carcinoma de cèl·lula petita

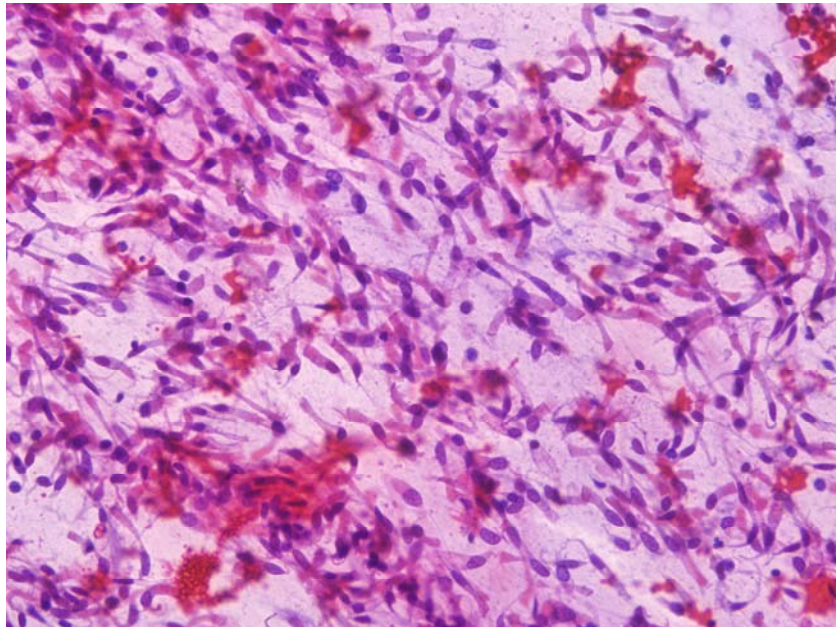


Figura 12.- Cèl·lules bronquials

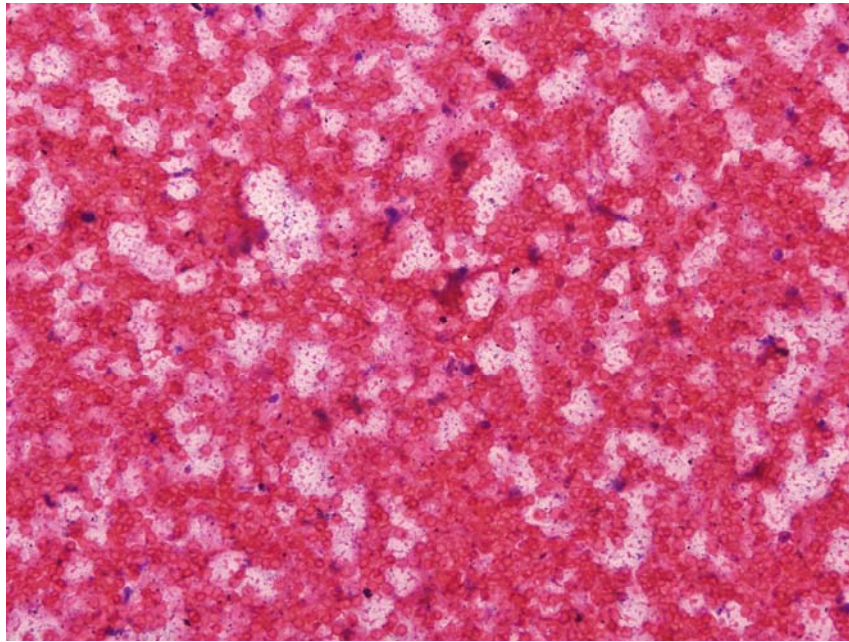


Figura 13.- Mostra hemàtica

Tractament de les mostres

Un cop obtinguda la mostra immediatament s'ha de posar en alcohol de 96° com a mínim 15 segons. Un cop fet això es posa en hematoxilina pura durant 1 minut, i posteriorment es renta amb aigua i es col·loca un cobreobjectes. En aquest punt es pot fer la observació intraoperatòria.

Posteriorment cal completar la tinció de Papanicolau (caldrà acabar de tenyir amb orange i amb eosina 65), i fer una darrera revisió per a confirmar les observacions intraoperatòries.

Mètodes de laboratori per a l'estudi de les mutacions de l'EGFR

La presència de les mutacions en el gen de l'EGFR (*epidermal growth factor receptor*) es va determinar després de la microdissecció de les cèl·lules tumorals de les mostres obtingudes en el diagnòstic, tant en fresc com en

parafina, i es va aconseguir fer fins i tot en mostres que tinguessin només vuit cèl·lules tumorals.

El mètode utilitzat consta de quatre passos:

- 1) Microdissecció directa per làser (Palm, Oberlensheim, Alemanya) de les cèl·lules tumorals. Les cèl·lules es van obtenir tant de mostres en parafina com en fresc. Les mostres o talls en parafina es varen aconseguir per mètodes convencionals. Les mostres en fresc s'extenien en una superfície adient, normalment en un portaobjectes dotat de una membrana (*penmembrane*), i es fixava amb etanol al 96% i es tenyia amb hematoxilina de Harris durant 1 minut. Aquest pas permet una més fàcil identificació de les cèl·lules tumorals.
- 2) Una primera ronda d'amplificació per PCR per a cada exó de l'EGFR (exons 19 i 21)
- 3) Determinació de l'estat mutacional de l'exó 19 del gen EGFR per amplificació per PCR amb un *primer* marcat amb fluorescència (carboxyfluorescein, FAM), seguit d'electroforesi capil·lar en equip ABI Prism 3100 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). El resultat final es va analitzar amb el software GeneScan (AB).
- 4) Detecció de les mutacions en l'exó 21 del gen EGFR (posició L858R) fent servir la tècnica de l'assaig 5' nucleasa, utilitzant sondes Taqman-MGB (*minor groove binding*), una específica per l'al·lel salvatge o *wild type*, i l'altre específica per l'al·lel mutat. Cadascuna d'aquestes sondes es va marcar amb fluorescència FAM i VIC, respectivament.

Totes les mostres que varen resultar mutades tant per l'exo 19 com pel 21, es van analitzar de nou fent servir seqüenciació d'ADN, amb *primers* específics per a cada exó, en equip AB3100. Amb aquesta doble tècnica d'anàlisi per a cada exó es disminueix el nombre potencial de falsos negatius, augmentant doncs la sensibilitat i especificitat de l'anàlisi mutacional.

V.2 Metodologia específica de cada treball

Estudi I: Sensitivity of linear endobronchial ultrasonography and guided transbronchial needle aspiration for the identification of nodal metastasis in lung cancer staging.

És un treball de tipus prospectiu, i s'hi varen incloure tots els pacients remesos a la Unitat de Diagnòstic de Càncer de Pulmó del Barcelonès Nord entre el 2005 i el 2007, excepte els que tenien algun dels criteris d'exclusió anteriorment esmentats.

Estudi II: La ultrasonografía endobronquial lineal como instrumento de diagnóstico inicial en el paciente con ocupación mediastínica.

Treball de tipus prospectiu. Es varen incloure tots els pacients remesos a la Unitat d'Endoscòpia Respiratòria de referència del Barcelonès Nord, entre l'abril del 2005 i el març del 2008, per al diagnòstic de tumors i/o adenopaties mediastíniques mitjançant PA guiada per USEB.

Els criteris d'inclusió varen ser la presència d'un tumor mediastínic i/o adenopaties a la TC, amb negativitat dels resultats de la resta de proves no quirúrgiques practicades anteriorment. Això incloïa cultius de secrecions respiratòries per a microorganismes potencialment patògens i micobactèries, citologies d'esput i broncoaspirat, raspallat bronquial, rentada broncoalveolar, líquid pleural si hi havia embassament pleural i biòpsia bronquial si es veia lesió endobronquial durant la broncoscòpia amb llum blanca.

Els criteris d'exclusió en aquest cas en concret varen ser l'antecedent d'una neoplàsia, excepte si feia més de 10 anys i no hi havia hagut evidència de recidiva durant el seguiment.

Estudi III: Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for identifying EGFR mutations.

Estudi de tipus prospectiu, en què es varen incloure tots aquells pacients remesos a la Unitat de Diagnòstic de Càncer de Pulmó del Barcelonès Nord,

per a diagnòstic o bé estadiatge de càncer de pulmó mitjançant USEB entre gener del 2006 i juny del 2007, i que varen tenir un diagnòstic final de d'adenocarcinoma o de càncer de pulmó de cèl·lula no petita. Es realitzava toracocentesi o pericardiocentesi si hi havia evidència d'embassament pleural o pericàrdic.

Als pacients remesos per a diagnòstic també se'ls va practicar citologia d'esput i broncoscòpia amb llum blanca, la qual incloïa recollida d'aspirat bronquial i rentada broncoalveolar. Quan hi havia lesió endobronquial es feia biòpsia bronquial. Si el pacient tenia imatge nodular perifèrica a la TC i no s'havia assolit el diagnòstic el següent pas era una punció transtoràcica guiada per TC. Si encara no es disposava de diagnòstic un cop fetes totes aquestes proves, i si clínicament la malaltia encara estava localitzada, es duia a terme cirurgia diagnòstica/terapèutica.

VI. PUBLICACIONS

VI.1 Estudi I (47)

Sensitivity of linear endobronchial ultrasonography and guided transbronchial needle aspiration for the identification of nodal metastasis in lung cancer staging.

Ignasi Garcia-Olivé, Eduard Monsó, Felipe Andreo, José Sanz, Eva Castellà, Mariona Llatjós, Eduardo de Miguel i Julio Astudillo.

Ultrasound in Medicine and Biology 2009;35:1271-77.

Factor d'impacte 2008: 2.395

RESUM:

La finalitat d'aquest estudi és determinar la sensibilitat de la punció transbronquial guiada per ultrasonografia endobronquial en temps real (PTB-USEB) en l'estadiatge del càncer de pulmó. Es varen mesurar els diàmetres major i menor durant els procediments en aquells pacients que havien estat remesos per a estadificació, i es va determinar la sensibilitat de la PTB-USEB per a la detecció de malignitat als ganglis.

Es varen realitzar 315 puncions ganglionars en 161 pacients, i en 87 d'aquests pacients es va confirmar metàstasis a N2/N3, amb la qual cosa es va fer innecessària la pràctica d'una mediastinoscòpia.

La mediana dels diàmetres menors (rang interquartílic) dels ganglis mediastínic i hiliars va ser, respectivament d'11 (8-15) i 8 (7-12) mm.

La punció va proporcionar mostres satisfactòries en 269 ganglis (85.4%), i es va assolir una sensibilitat del 100% per a la identificació de ganglis malignes en la citologia de la punció (agafant com a referència el resultat de la citologia de la punció) per a aquells ganglis amb diàmetre menor de més de 5 mm i aquells amb un quocient diàmetre menor/diàmetre major per sobre de 0.5.

La probabilitat que un gangli fos maligne era superior al 90% per ganglis amb un diàmetre menor de més de 20 mm, i del 55% per a ganglis rodons (quocient d'1).

En 18 dels 50 pacients amb mediastí normal a la TC, la ultrasonografia endobronquial va identificar ganglis augmentats de mida (36%), especialment a regió subcarinal, i la punció en va confirmar la malignitat en 5 (10%).

La PTB-USEB obté mostres ganglionars satisfactòries en gairebé el 90% dels casos i millora la identificació de ganglis augmentats de tamany en pacients en què la TC mostra un mediastí normal.

Si s'agafa com a patró de referència el resultat de la citologia de la punció, el fet de tenir un diàmetre menor ≥ 5 mm i un quocient ≥ 0.5 detecta la malignitat d'un gangli amb una sensibilitat del 100%.



● *Original Contribution*

SENSITIVITY OF LINEAR ENDOBRONCHIAL ULTRASONOGRAPHY AND GUIDED TRANSBRONCHIAL NEEDLE ASPIRATION FOR THE IDENTIFICATION OF NODAL METASTASIS IN LUNG CANCER STAGING

IGNASI GARCIA-OLIVÉ,^{*¶} EDUARD MONSÓ,^{*||} FELIPE ANDREO,^{*||} JOSÉ SANZ,^{*¶} EVA CASTELLÀ,^{†||}
 MARIONA LLATJÓS,^{‡||} EDUARDO DE MIGUEL,^{§||} and JULIO ASTUDILLO^{‡||}

*Pneumology Department, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain; †Pathology Department, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain; ‡Thoracic Surgery Department, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain; §Pneumology Department, Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spain; ||Ciber de Enfermedades Respiratorias – CibeRes, Bunyola, Spain; and ¶Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

(Received 26 November 2008; revised 25 February 2009; in final form 8 March 2009)

Abstract—The aim of this study is to determine the sensitivity of real-time endobronchial ultrasonography (EBUS)-guided transbronchial needle aspiration (TBNA) in lung cancer staging. Short- and long-axis node diameters were measured during EBUS in patients referred for lung cancer staging and sensitivities for the identification of nodal malignancy at TBNA determined. Three hundred fifteen real-time EBUS-guided TBNA nodal sampling procedures were performed in 161 patients and in 87 of them, N2/N3 metastasis was confirmed (50.9%), eliminating the need for mediastinoscopy. The median (interquartile range [IQR]) short-axis diameters of the sampled mediastinal and lobar nodes were 11 (8–15) and 8 (7–12) mm, respectively. TBNA provided satisfactory samples from 269 nodes (85.4%) and a sensitivity of 100% for the identification of malignant TBNA samples was reached for a short-axis diameter cut-off of 5 mm and a short- to long-axis ratio of 0.5. The probability of malignancy was over 90% for nodes with a short-axis diameter >20 mm and 55% for round nodes (short- to long-axis ratio of 1). In 18 out of 50 patients with a normal mediastinal computed tomography (CT) scan, the technique identified enlarged nodes in the mediastinum (36%), mainly in the subcarinal region and confirmed mediastinal malignancy in 8 (10%). Real-time EBUS-guided TBNA obtains satisfactory node samples in almost 90% of cases and improves the identification of enlarged nodes in patients with a normal mediastinum at CT. If sampling all nodes with a short-axis diameter of ≥ 5 mm and a short- to long-axis ratio ≥ 0.5 , a sensitivity of 100% for the cytologic identification of malignant nodes can be expected. (E-mail: ignasigo@separ.es) © 2009 World Federation for Ultrasound in Medicine & Biology.

Key Words: Endobronchial ultrasonography, EBUS, Real-time transbronchial needle aspiration, TBNA, Lung cancer, Staging, Node morphology, Sensitivity.

INTRODUCTION

Endobronchial ultrasonography (EBUS) is a recently introduced technique that improves transbronchial needle aspiration (TBNA) results in lung cancer staging thanks to the visualization of mediastinal and lobar lymph nodes. The use of radial EBUS before TBNA has increased the sensitivity of the technique above 80%, mainly through an increase in the accuracy of upper and left paratracheal nodal sampling (Herth et al. 2003, 2004). Linear EBUS with real-time TBNA has further improved results through

the performance of TBNA under direct ultrasonographic visualization, an approach that allows noninvasive sampling of nodes with high sampling accuracy regardless of nodal size (Krasnik et al. 2003; Rintoul et al. 2005; Yasufuku et al. 2004a, 2005).

The aim of the present study was to determine the usefulness of the lymph node morphologic appearance during real-time EBUS-guided TBNA in patients referred for lung cancer staging who show both enlarged or normal-appearing mediastinal lymph nodes in computed tomography (CT) scans, in terms of the sensitivities and relationships of EBUS-measured lymph node diameters with nodal malignancy identified at TBNA sampling and the frequency of identification of mediastinal nodes with a short-axis diameter over 10 mm during

Address correspondence to: Ignasi Garcia-Olivé, Servei de Pneumologia, Hospital Germans Trias i Pujol, Carretera de Canyet s/n, 08916 Badalona, Spain. E-mail: ignasigo@separ.es

EBUS in patients with a normal mediastinum at their CT scan.

MATERIALS AND METHODS

Population

We performed a prospective study including all patients who were referred for lung cancer staging through real-time EBUS-guided TBNA to the North Barcelona Lung Cancer Unit between 2005 and 2007. A CT scan of the lung, mediastinum and upper abdomen was performed in all cases using a multidetector-row spiral CT scanner (Marconi M8000; Phillips, Best, The Netherlands) in the month prior to staging and mediastinal nodes with a short-axis diameter greater than 10 mm in the scan were considered to be abnormally enlarged according to this radiologic procedure (Colice et al. 1994; Quint et al. 1995). Patients with coagulation disorders were excluded from staging by real-time EBUS-guided TBNA. All patients agreed to participate in the present study, which was approved by the regional ethics committee.

Procedure

EBUS was performed on an outpatient basis under local anesthesia and sedation, using a flexible bronchoscope (BF-UC160F-OL8; Olympus Optical Co Ltd., Tokyo, Japan); this instrument has a distal curved linear probe that allows 7.5 MHz ultrasonic imaging and is capable of producing linear parallel scans of the mediastinal and peribronchial tissues. This bronchoscope had a working channel suited to the performance of TBNA under direct ultrasound visualization. Local anesthesia and sedation were achieved using a topical lidocaine spray and intravenous midazolam, in accordance with standard recommendations (British Thoracic Society Guidelines 2001; Reed et al. 1992). After the procedure, patients were admitted to a recovery room, where they stayed for 4 h. A chest X-ray was performed after this period. Mediastinal (subcarinal, aortopulmonary window, right and left paratracheal) and lobar lymph nodes were explored with the bronchoscope positioned in the trachea or main bronchus and short- and long-axis diameters were measured (EUS EXERA EU-C80; Olympus Optical Co Ltd.). The short- to long-axis ratio was calculated. Nodes were considered to be rounder as the short- to long-axis ratio was closer to 1. Nodes with a short-axis diameter greater than 3 mm detected during the procedure were sampled under direct ultrasound visualization with a specially designed 21-gauge cytology needle (NA2015X-4022; Olympus Optical Co Ltd.) and rapid on-site cytologic examination was performed, always by the same pathologist. All reachable nodes in N3 regions were sampled first, followed by no-

des in N2 and N1 regions, until a positive result for malignancy was attained. The obtained material was fixed with 95% ethanol, stained with hematoxylin-eosin and labeled according to whether it had been extracted from a normal node, with lymphocytic cells, or from a metastatic node, with groups of neoplastic cells. Aspirates containing insufficient material were considered unsatisfactory, and in such cases the procedure was repeated up to three times (Baker et al. 1990).

Statistical analysis

Data were introduced in a database and analyzed using SPSS software version 15.0 (Chicago, IL, USA). First, the cut-offs of EBUS-measured node size (short-axis and short- to long-axis ratio) for a maximal sensitivity (true positive/true positive + false negative) in the identification of nodal malignancy in the TBNA sample were determined, together with the relationships of these EBUS-measured parameters to a cytologically-confirmed diagnosis of malignant node. Specificities of different proposed cut-offs were not calculated because the aim of the study was to define criteria for the performance of TBNA during the ultrasonographic examination to guarantee the highest sensitivity. The result of the TBNA cytologic examination was considered as the gold standard. Nodes whose aspirates contained insufficient material for a cytologic diagnosis were excluded from this analysis. Second, the added value of EBUS-measured lymph node diameters was assessed in terms of frequency of a new finding of mediastinal nodes with a short-axis diameter over 10 mm during EBUS in patients with a normal mediastinum at the CT scan, considering the cytology findings in these patients. To guarantee the precision of nodal diameter measurements during EBUS, large-axis diameters were only considered when the full node appeared on the ultrasound screen. Statistical significance was set at a level of $p \leq 0.05$.

RESULTS

Population

The number of patients referred to the North Barcelona Lung Cancer Unit for lung cancer diagnosis and/or staging in the period of study was 370. Real-time EBUS-guided TBNA was used for staging in 171 patients with lung cancer who required mediastinal and lobar lymph node sampling and did not have any contraindication for the performance of the procedure. A total of 121 of these patients (70.0%) had mediastinal nodes with a small-axis diameter greater than 10 mm on the CT scan (Table 1). In 10 patients (5.8%), eight of them with normal CT scans, mediastinal and/or lobar lymph nodes were not identified during EBUS. Accordingly, 315 real-time EBUS-guided TBNA nodal sampling procedures were

Table 1. Characteristics of the 171 lung cancer patients

Age (years), mean (SD)	63.4 (10.1)
Gender (woman), N (%)	17 (9.9)
Computed tomography findings, N (%)	
Lung nodule	55 (32.2)
Lung mass	97 (56.7)
Atelectasia/alveolar opacity	15 (8.8)
Normal lung	4 (2.4)
Mediastinal nodes short-axis diameter >10 mm	121 (70.8)
Final diagnoses, N (%)	
Adenocarcinoma	67 (39.2)
Squamous carcinoma	43 (25.1)
Large-cell carcinoma	7 (4.1)
Nonsmall cell carcinoma	33 (19.3)
Small cell carcinoma	19 (11.1)
Atypical carcinoid	2 (1.2)

performed in 161 patients with EBUS-visualized mediastinal and/or lobar lymph nodes, 263 (79.4%) on mediastinal nodes and 52 (15.7%) on lobar nodes (Table 2). No complications related to the procedure developed during its performance or in the following 48 h in any of the studied patients. The median interquartile range (IQR) small-axis EBUS-measured diameter of the sampled mediastinal and lobar nodes was 11 (8–15) mm and 8 (7–12) mm, respectively. TBNA provided satisfactory samples from 269 nodes (85.4%). One hundred twenty-six (40%) nodes showed malignant cells, 142 (45.1%) normal lymph node cells and 1 (0.3%) non-necrotizing granulomas (Table 3). Most of the nodes with a small-axis diameter greater than 10 mm (104 of 165, 63%) were malignant but over a quarter of them (44 of 165, 26.7%) showed normal lymph node cells. The majority of nodes with a small-axis diameter of 10 mm or less

Table 2. Characteristics of nodes sampled by transbronchial needle aspiration (TBNA) guided by real-time endobronchial ultrasonography in 315 procedures

Absence of accessible tumors/nodes >3 mm, N (%)	10 (2.9)
Mediastinal node, N (%)	263 (79.5)
Right paratracheal level 2, N (%)	4 (1.2)
Left paratracheal level 2, N (%)	2 (0.6)
Right paratracheal level 4, N (%)	74 (22.4)
Left paratracheal level 4, N (%)	32 (9.7)
Aortopulmonary window level 5, N (%)	2 (0.6)
Subcarinal level 7, N (%)	149 (45.0)
Diameter	
Short-axis (mm), median (IQR)	11 (8–15)
Short-axis ≤10 mm, N (%)	117 (44.5)
Long-axis (mm), median (IQR)	12 (11–15)
Short- to long-axis, median (IQR)	0.7 (0.6–0.9)
Lobar node, N (%)	52 (15.7)
Level 10, N (%)	34 (10.3)
Level 11/12, N (%)	18 (5.4)
Diameter	
Short-axis (mm), median (IQR)	8 (7–12)
Short-axis ≤10 mm, N (%)	33 (63.5)
Long-axis (mm), median (IQR)	11 (10–14)
Short-to long-axis, median (IQR)	0.7 (0.6–0.8)

IQR = interquartile range.

Table 3. Results of node transbronchial needle aspiration

Nodes sampled, N	315
Normal node, N (%)	142 (45.1)
Granuloma, N (%)	1 (0.3)
Malignant cells, N (%)	126 (40.0)
Adenocarcinoma	53 (16.8)
Squamous carcinoma	20 (6.3)
Nonsmall cell carcinoma	32 (10.2)
Small cell carcinoma	21 (6.7)
Atypical cells, N (%)	1 (0.3)
Unsatisfactory sample*, N (%)	45 (14.3)

*Containing only blood cells, bronchial cells or insufficient material.

(98 of 150, 65.3%) were normal, but over a tenth of them (22 of 150, 14.7%) contained malignant cells. Unsatisfactory samples were unusual in nodes larger than 10 mm at EBUS examination but slightly more common in nodes with an EBUS-measured short-axis diameter of 10 mm or less (9.1% vs. 20.0%, respectively; $p = 0.009$, χ^2 test) (Table 4).

To assess the sensitivity of node size measured by real-time EBUS-guided TBNA for the identification of malignant nodes, we studied the 269 nodes that yielded satisfactory samples. A sensitivity of 100% for the identification of nodal malignancy was attained when a cut-off of 5 mm was used for the short-axis diameter. Likewise, when the short- to long-axis ratio was considered as a single measure ($n = 131$), 100% sensitivity was attained with a cut-off ratio of 0.5. The probability of malignancy increased from 10% for a short-axis diameter over 5 mm to over 90% for a short-axis diameter of over 20 mm (Fig. 1). For short- to long-axis ratios, the probability of malignancy increased from 23% for a ratio of over 0.5 to 55% for the round nodes, with a ratio of 1 (Figs. 2 and 3).

In 42 of the 50 patients with a CT scan showing a normal mediastinum, EBUS demonstrated nodes suitable for TBNA (84.0%). Enlarged mediastinal nodes were found in 18 of these patients by EBUS (36%). The median short-axis diameter in these cases was 13 mm (IQR 11–14) and they were found mainly in the subcarinal region (15 subcarinal, three paratracheal). TBNA of these enlarged nodes demonstrated malignancy in four cases (three adenocarcinoma, one squamous cell

Table 4. Node pathologic classification according to endobronchial ultrasonography (EBUS)-measured size

	Short-axis diameter		<i>p</i>
	>10 mm	≤10 mm	
Nodes, N	165	150	
Normal node, N (%)	44 (26.7)	98 (65.3)	<.001
Granuloma, N (%)	1 (0.6)	0 (0.0)	—
Malignant cells, N (%)	104 (63.0)	22 (14.7)	<.001
Atypical cells, N (%)	1 (0.6)	0 (0.0)	—
Unsatisfactory sample*, N (%)	15 (9.1)	30 (20.0)	=.009

*Containing only blood cells, bronchial cells or insufficient material.

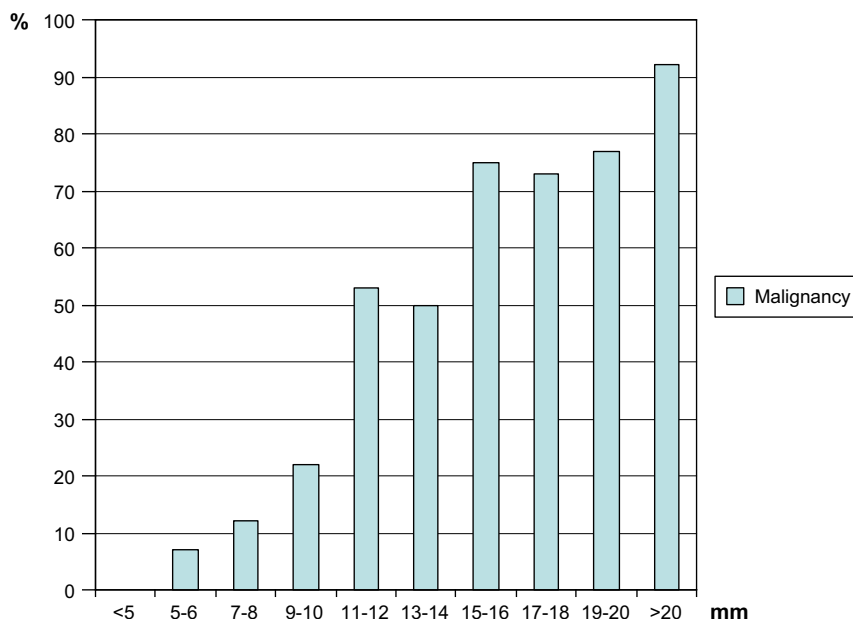


Fig. 1. Malignancy according to short-axis diameter in satisfactory samples (n = 269).

carcinoma, 22.2%). EBUS-guided TBNA additionally found adenocarcinoma cells in a paratracheal lymph node with a short-axis diameter measuring 10 mm by this method.

DISCUSSION

Our study confirms that EBUS-guided TBNA is an appropriate technique for sampling mediastinal and lobar lymph nodes in lung cancer staging, in patients with either abnormal or normal mediastinal CT scans, and

shows that the procedure is able to identify mediastinal malignancy in more than half of the studied patients. Our findings also show that in order to ensure maximum sensitivity, all accessible nodes with a short-axis diameter of 5 mm or more and a short- to long-axis ratio of 0.5 or higher must be sampled. When this approach is followed, a sensitivity of 100% for the identification of nodal malignancy at TBNA can be expected. Additionally, we found that the use of EBUS allowed the identification of slightly enlarged mediastinal nodes in more than a third of lung cancer patients with a normal

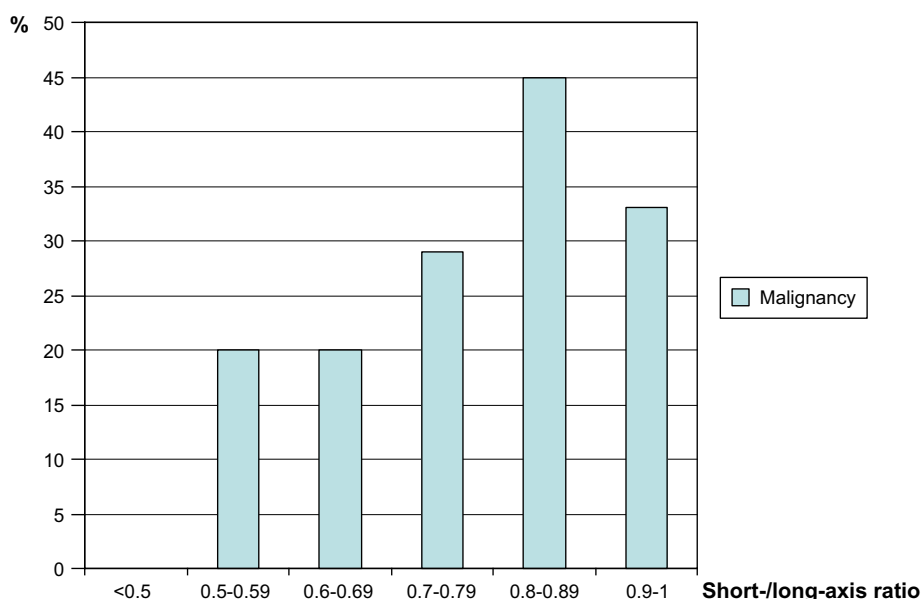


Fig. 2. Malignancy according to short- to long-axis diameter ratio in satisfactory samples with both diameters measured. (n = 131) (long-axis diameter measured only when full node appeared in the ultrasonography screen).

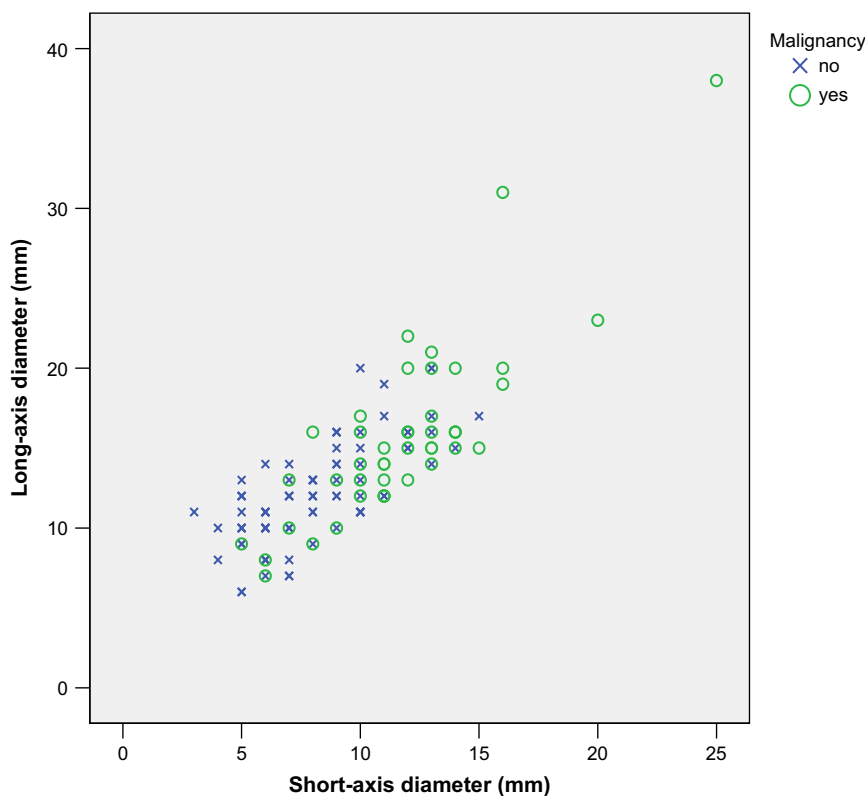


Fig. 3. Scatter-plot of malignant (○) and nonmalignant (x) nodes according to short- and long-axis diameter in satisfactory samples with both diameters measured. (n = 131).

mediastinum at CT. Such nodes were mainly in the subcarinal region and nearly a quarter of them were malignant.

Mediastinoscopy is currently considered the surgical gold standard for identifying malignant mediastinal nodes and it is widely accepted that the procedure has 80% sensitivity and 100% specificity for the identification of node malignancy (Detterbeck *et al.* 2007; Toloza *et al.* 2003). Parasternal mediastinotomy is a complementary surgical technique used for staging lung cancer when it is suspected that the disease might have spread to nodes in the prevascular regions or aortopulmonary window, which are inaccessible through mediastinoscopy. Real-time EBUS-guided TBNA provides visualization and access to both mediastinal and lobar nodes without clinically significant complications and has shown high diagnostic sensitivity and specificity (>90% and 100%, respectively) (Detterbeck *et al.* 2007; Herth *et al.* 2006a; Krasnik *et al.* 2003; Plat *et al.* 2006; Rintoul *et al.* 2005; Vilmann *et al.* 2005; Yasufuku *et al.* 2004a, 2004b, 2005), equivalent to the figures reported for mediastinoscopy (Larsen *et al.* 2005). In our study, real-time EBUS-guided TBNA diagnosed malignancy in mediastinal nodes and eliminated the need for mediastinoscopy in more than half of the patients, and no procedure-related complications were observed in any of the 161 sampled

outpatients, corroborating the reported safety of the procedure (Vilmann and Larsen 2005).

One of the main advantages of real-time EBUS-guided TBNA is its ability to obtain valuable samples from nodes with short-axis diameters ≤ 10 mm or nodes within what is considered the normal size range (Colice *et al.* 1994; Quint *et al.* 1995). In our study, sampled mediastinal and lobar nodes had a median (IQR) short-axis diameter measuring 11 (8–15) and 8 (7–12) mm, respectively, and 150 (53.2%) of the 282 samples obtained were from nodes with a short-axis diameter of 10 mm or less. Although the yield was not as high for normal-sized nodes as for enlarged nodes, 80% of nodes with a short-axis diameter of 10 mm or less provided satisfactory samples. More importantly, malignant cells were detected in almost 15% of these nodes, confirming the need for sampling.

We evaluated the utility of EBUS-measured node size as a means of identifying malignant nodes during EBUS-guided TBNA sampling, something that has not been assessed by previous studies. Analyzing only nodes that yielded satisfactory samples, we found a sensitivity of 100% for nodes with a short-axis diameter of 5 mm or greater and for a short- to long-axis ratio of 0.5 or greater. Our results both confirm the need to sample all visible nodes with a short-axis diameter of at least 5 mm and

corroborate empirical recommendations from previous studies (Herth et al. 2006b). They also confirm the suspicion that round nodes (Fig. 4) may more often be found to be malignant (Figs. 5 and 6) than elongated nodes (Catalano et al. 1994; Schmulewitz et al. 2004) and that the nodes with a short- to long-axis ratio of less than 0.5 (Fig. 7) can be considered benign. The probability of detecting malignant cells in nodes grew with an increase in both the short-axis diameter (90% for diameters over 20 mm) and the short- to long-axis ratio (>50% for round nodes). In our case, we would not have detected disease spread in almost 15% of normal-sized nodes if we had only sampled nodes with a short-axis diameter greater than 10 mm. Our results also show that sampling nodes in patients with an abnormal mediastinal CT scan can play an important role in reducing CT overstaging as slightly over a quarter of the nodes classified as enlarged by CT in our study contained normal lymph node cells.

Real-time EBUS-guided TBNA identified slightly enlarged nodes in 36% of patients with a normal mediastinal CT scan and confirmed mediastinal nodal malignancy in 10% of these patients, in most of the cases showing malignancy in enlarged mediastinal nodes missed by CT, mainly in the subcarinal region. Our findings coincide with those reported by Herth et al. (2006b, 2008) in two studies performed in patients with lung cancer and a normal mediastinal CT scan. EBUS-guided TBNA uncovered malignant nodes and N2/N3 disease in around one tenth of the patients enrolled in these studies. These results confirm the overriding importance of performing real-time EBUS-guided TBNA in all patients with lung cancer, irrespective of the appearance of the mediastinum on the CT scan. EBUS-guided TBNA improve the detection rate of stage III disease, which is found in up to a quarter of patients initially considered candidates for surgery (Gdeedo et al. 1997; Hammoud et al. 1999).



Fig. 4. Node with short- to long-axis diameter ratio ≥ 0.5 .

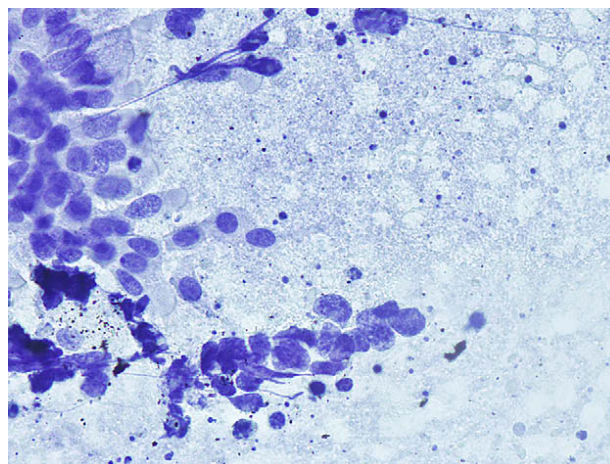


Fig. 5. Transbronchial needle aspiration. Adenocarcinoma ($\times 400$).

In summary, real-time EBUS-guided TBNA yielded satisfactory samples from mediastinal and lobar lymph nodes in almost 90% of cases, regardless of node size. The procedure improved the diagnostic yield of CT by diagnosing N2/N3 disease in one tenth of patients with a normal mediastinal CT scan and eliminated the need for mediastinoscopy in more than half the patients. Our results confirm that all nodes with a short-axis diameter of at least 5 mm and a short- to long-axis diameter ratio of at least 0.5 measured by EBUS should be sampled to achieve maximum sensitivity.

Acknowledgements—The authors thank Adoración Ruiz for her technical assistance during the performance of the procedures. Anne Murray and M. E. Kerans assisted with the English language. This study was supported by funds from the CIBER de Enfermedades Respiratorias—CibeRes, Fondo de Investigación Sanitaria FIS 070170, Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR), Societat Catalana de Pneumologia, ACT 2008 and Asociación Española de Endoscopia Respiratoria (AEER), CIBER de Enfermedades Respiratorias. CibeRes is an initiative of Instituto de Salud Carlos III.

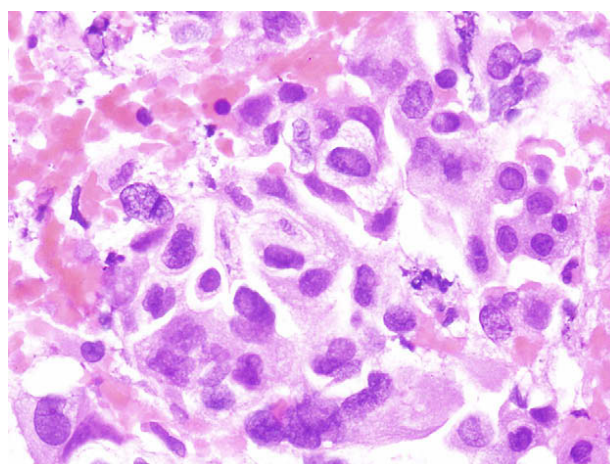


Fig. 6. Transbronchial needle aspiration. Small-cell carcinoma ($\times 400$).



Fig. 7. Node with short-to long-axis diameter ratio <0.5

REFERENCES

- Baker JJ, Solanki PH, Schenk DA, Van Pelt C, Ramzy I. Transbronchial fine needle aspiration of the mediastinum. Importance of lymphocytes as an indicator of specimen adequacy. *Acta Cytol* 1990;34:517–523.
- British Thoracic Society Guidelines on Diagnostic Flexible Bronchoscopy. *Thorax* 2001;56(Suppl. 1):1–21.
- Catalano MF, Sivak MV Jr, Rice T, Gragg LA, Van Dam J. Endosonographic features predictive of lymph node metastasis. *Gastrointest Endosc* 1994;40:442–446.
- Colice GL. Chest CT for known or suspected lung cancer. *Chest* 1994;106:1538–1550.
- Detterbeck FC, Jantz MA, Wallace M, Vansteenkiste J, Silvestri GA. American College of Chest Physicians. Invasive mediastinal staging of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines 2nd edition. *Chest* 2007;132:202–220.
- Gdeedo A, Van Schil P, Corthouts B, Van Mieghem F, Van Meerbeeck J, Van Marck E. Prospective evaluation of computed tomography and mediastinoscopy in mediastinal lymph node staging. *Eur Respir J* 1997;10:1547–1551.
- Hammoud ZT, Anderson RC, Meyers BF, Guthrie TJ, Roper CL, Cooper JD, Patterson JA. The current role of mediastinoscopy in the evaluation of thoracic disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999;118:894–899.
- Herth FJ, Becher HD, Ernst A. Ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: An experience in 242 patients. *Chest* 2003;123:604–607.
- Herth F, Becher HD, Ernst A. Conventional vs endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: A randomized trial. *Chest* 2004;126:1005–1006.
- Herth FJF, Eberhard R, Vilmann P, Krasnik M, Ernst A. Real-time endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for sampling mediastinal lymph nodes. *Thorax* 2006a;61:795–798.
- Herth FJF, Ernst A, Eberhardt R, Vilmann P, Dienemann H, Krasnik M. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of lymph nodes in the radiologically normal mediastinum. *Eur Respir J* 2006b;28:910–914.
- Herth FJ, Eberhardt R, Krasnik M, Ernst A. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of lymph nodes in the radiologically and PET normal mediastinum in patients with lung cancer. *Chest* 2008;133:887–891.
- Krasnik M, Vilmann P, Larsen SS, Jacobsen GK. Preliminary experience with a new method of endoscopic transbronchial real time ultrasound guided biopsy for diagnosis of mediastinal and hilar lesions. *Thorax* 2003;58:1083–1086.
- Larsen SS, Vilmann P, Krasnik M, Dirksen A, Clementsen P, Skov BG, Jacobsen GK. Endoscopic ultrasound guided biopsy versus mediastinoscopy for analysis of paratracheal and subcarinal lymph nodes in lung cancer staging. *Lung Cancer* 2005;48:85–92.
- Plat G, Pierard P, Haller A, Hutsebaut J, Faber J, Dusart M, Eisendrath P, Sculier JP, Ninane V. Endobronchial ultrasound and positron emission tomography positive of mediastinal lymph nodes. *Eur Respir J* 2006;27:276–281.
- Quint LE, Francis IR, Wahl RL, Gross BH, Glazer GM. Preoperative staging of non-small cell carcinoma of the lung: Imaging methods. *Am J Roentgenol* 1995;164:1349–1359.
- Reed AP. Preparation of the patient for awake flexible fiberoptic bronchoscopy. *Chest* 1992;101:244–253.
- Rintoul RC, Skwarski KM, Murchison JT, Wallace WA, Walker WS, Penman ID. Endobronchial and endoscopic ultrasound-guided real-time fine-needle aspiration for mediastinal staging. *Eur Respir J* 2005;25:416–421.
- Schmulewitz N, Stephan WM, Varadarajulu S, Roberts S, Hawes RH, Hoffman BJ, Durkalski V, Silvestri GA, Block MI, Reed C, Wallace MB. Accuracy of EUS criteria and primary tumor site for identification of mediastinal lymph node metastasis from non-small-cell lung cancer. *Gastrointest Endosc* 2004;59:205–212.
- Tolozza EM, Harpole L, Detterbeck F, McCrory DC. Invasive staging of nonsmall cell lung cancer. A review of the current evidence. *Chest* 2003;123:157s–166s.
- Vilmann P, Krasnik M, Larsen SS, Jacobsen GK, Clementsen P. Transesophageal endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA) and endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA) biopsy: A combined approach in the evaluation of mediastinal lesions. *Endoscopy* 2005;37:833–839.
- Vilmann P, Larsen SS. Endoscopic ultrasound-guided biopsy of the chest: Little to loose, much to gain. *Eur Respir J* 2005;25:400–401.
- Yasufuku K, Chhajed PN, Sekine Y, Nakajima T, Chiyo M, Iyoda A, Yoshida S, Otsuji M, Shibuya K, Iizasa T, Saitoh Y, Fujisawa T. Endobronchial ultrasound using a new convex probe: A preliminary study on surgically resected specimens. *Oncol Rep* 2004a;11:293–296.
- Yasufuku K, Chiyo M, Sekine Y, Chhajed PN, Shibuya K, Iizasa T, Fujisawa T. Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of mediastinal and hilar lymph nodes. *Chest* 2004b;126:122–128.
- Yasufuku K, Chiyo M, Koh E, Moriya Y, Iyoda A, Sekine Y, Shibuya K, Iizasa T, Fujisawa T. Endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for staging of lung cancer. *Lung Cancer* 2005;50:347–354.

Resum dels resultats:

Utilitat de la tècnica:

Es varen realitzar 315 puncions ganglionars guiades per USEB en temps real en 161 pacients. D'aquestes puncions, 263 (79.4%) varen ser de ganglis mediastínic i 52 (15.7%) de ganglis lobars. Les mostres obtingudes mitjançant USEB varen ser valorables el 85.4%. Cent vint-i-sis (40%) dels ganglis varen mostrar malignitat, 142 (45.1%) cel·lularitat normal i 1 (0.3%) granulomes no necrosats. La majoria de ganglis amb un diàmetre menor de més de 10 mm (104 de 165, 63%) foren malignes, però més d'una quarta part d'aquests (44 de 165, 26.7%) mostraren cel·lularitat normal. Dels ganglis amb diàmetre menor de 10 mm o menys, la majoria (98 de 150, 65.3%) foren normals, però a més d'un de cada deu d'ells (22 de 150, 14.7%) es trobaren cèl·lules malignes.

No va ser freqüent trobar mostres no valorables als ganglis de més de 10 mm, però ho era més als ganglis amb diàmetre menor de 10 mm o menys, de manera significativa.

Per tal d'establir la sensibilitat de la mida del gangli mesurada per USEB per a detectar malignitat, es varen estudiar els 269 ganglis les mostres dels quals varen ser valorables. Es va assolir una sensibilitat del 100% quan s'utilitzava un punt de tall de 5 mm de diàmetre menor. A més, quan s'agafava com a referència el quocient entre el diàmetre menor i el diàmetre major (n=131), s'assolia una sensibilitat del 100% si s'agafava un punt de tall de 0.5. La probabilitat que un gangli fos maligne augmentava del 10% per als ganglis amb diàmetre menor de 5 mm o més fins al 90% per a un diàmetre menor del 20 mm. Pel que fa als quocients entre el diàmetre menor i el major, la probabilitat que un gangli fos maligne augmentava del 23% per a un quocient de 0.5 al 55% per als ganglis rodons (és adir, amb un quocient d'1).

A 42 dels 50 pacients amb una TC amb mediastí normal, la USEB va evidenciar ganglis abordables (84%). Es varen detectar ganglis augmentats de mida mitjançant USEB en 18 d'aquests pacients (36%). La mediana del diàmetre menor en aquests pacients va ser de 13 mm (RIQ 11-14), i es trobaven fonamentalment a la regió subcarinal (15 subcarinals, 3 paratraqueals). La

punció guiada per USEB d'aquests ganglis varen demostrar malignitat en quatre casos (3 adenocarcinomes, 1 carcinoma de cèl·lules escatoses).

Complicacions:

No va haver-hi complicacions relacionades amb la tècnica ni amb la sedació.

Reducció del nombre de mediastinoscòpies:

La punció guiada per USEB va permetre establir el diagnòstic final de malignitat ganglionar en més de la meitat dels pacients, evitant així la necessitat de realitzar un elevat nombre de mediastinoscòpies.

VI.2 Estudi II (48)

La ultrasonografía endobronquial lineal como instrumento de diagnóstico inicial en el paciente con ocupación mediastínica.

Ignasi Garcia-Olivé, Eduard Xavier Valverde Forcada, Felipe Andreo García, Jose Sanz-Santos, Eva Castellà, Mariona Llatjós, Julio Astudillo, Eduard Monsó.

Arch Bronconeumol 2009;45:266-70.

Factor d'impacte 2008: 1.624

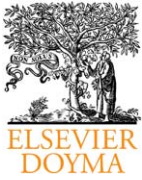
RESUM:

La punció aspirativa (PA) guiada per ultrasonografia endobronquial (USEB) lineal permet el mostreig de masses i ganglis mediastínic, i ha mostrat ser útil en l'estadificació del pacient amb neoplàsia broncopulmonar. L'objectiu de l'estudi ha estat determinar la seva utilitat com a instrument diagnòstic en el pacient amb ocupació mediastínica de causa desconeguda després d'obtenir mostres amb exploracions no invasives i amb broncoscòpia amb llum blanca.

Es varen incloure a l'estudi tots els pacients explorats per PA guiada per USEB lineal per al diagnòstic de massa i/o adenopatia/es mediastínica/ques. Es consideraren diagnòstics finals aquells obtinguts amb PA guiada per USEB lineal i els assolits amb qualsevol altra tècnica quirúrgica realitzada posteriorment a la USEB, quan aquesta no havia estat diagnòstica.

Es varen estudiar 128 pacients (edat mitja \pm desviació estàndard: 62.0 \pm 11.2 anys) als quals es va realitzar 294 PA sobre 12 masses i 282 ganglis. A les masses mediastíniques es varen obtenir mostres valorables en 11 casos (91.7%) i als ganglis, en 233 casos (82.6%). La PA dirigida per USEB lineal va ser l'eina diagnòstica i va evitar la mediastinoscòpia en 115 pacients (sensibilitat diagnòstica: 89.8%). La tècnica va confirmar el diagnòstic en 85 dels 94% amb neoplàsia (90.4%), en 8 dels 10 amb tuberculosi (80.0%), i als 5 amb sarcoïdosi (100%).

La PA guiada per USEB lineal és una eina de diagnòstic útil en els pacients amb afectació mediastínica, el diagnòstic anatomopatològic dels quals no s'assoleix mitjançant exploracions no invasives ni broncoscòpia amb llum blanca.



ARCHIVOS DE BRONCONEUMOLOGIA

www.archbronconeumol.org



Original

La ultrasonografía endobronquial lineal como instrumento de diagnóstico inicial en el paciente con ocupación mediastínica

Ignasi Garcia-Olivé^{a,b,*}, Eduard Xavier Valverde Forcada^a, Felipe Andreo García^{a,c}, José Sanz-Santos^a, Eva Castellà^{c,d}, Mariona Llatjós^{c,d}, Julio Astudillo^{c,e} y Eduard Monsó^{a,c}

^a Servicio de Neumología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, España

^b Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España

^c CIBER de Enfermedades Respiratorias (CibeRes), Bunyola, Baleares, España

^d Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, España

^e Servicio de Cirugía Torácica, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 6 de junio de 2008

Aceptado el 20 de octubre de 2008

On-line el 18 de abril de 2009

Palabras clave:

Neoplasia broncopulmonar

Punción aspirativa

Ultrasonografía endobronquial

Mediastino

RESUMEN

Introducción: La punción aspirativa (PA) guiada por ultrasonografía endobronquial (USEB) lineal permite el muestreo de masas y ganglios mediastínicos, y ha mostrado su utilidad en la estadificación del paciente con neoplasia broncopulmonar. El objetivo del estudio ha sido determinar su utilidad como instrumento diagnóstico en el paciente con ocupación mediastínica cuya causa permanece indeterminada después de obtener muestras con exploraciones no invasivas y broncoscopia con luz blanca.

Pacientes y métodos: Se incluyó en el estudio a todos los pacientes explorados por PA guiada por USEB lineal para el diagnóstico de masa y/o adenopatía/s mediastínica/s. Se consideraron diagnósticos finales aquellos obtenidos con PA guiada por USEB lineal y los alcanzados con cualquier técnica quirúrgica realizada con posterioridad a la USEB cuando ésta no había sido diagnóstica.

Resultados: Se estudiaron 128 pacientes (edad media \pm desviación estándar: 62,0 \pm 11,2 años) en los que se realizaron 294 PA sobre 12 masas y 282 ganglios. En las masas mediastínicas se obtuvieron muestras valorables en 11 casos (91,7%) y en los ganglios, en 233 casos (82,6%). La PA dirigida por USEB lineal fue el instrumento diagnóstico y evitó la mediastinoscopia en 115 pacientes (sensibilidad diagnóstica: 89,8%). La técnica confirmó el diagnóstico en 85 de los 94 pacientes con neoplasia (90,4%), en 8 de los 10 con tuberculosis (80,0%) y en los 5 con sarcoidosis (100%).

Conclusiones: La PA guiada por USEB lineal es un instrumento de diagnóstico útil en los pacientes con afectación mediastínica cuyo diagnóstico anatomopatológico no se alcanza por medio de exploraciones no invasivas ni broncoscopia con luz blanca.

© 2008 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Linear Endobronchial Ultrasound as the Initial Diagnostic Tool in Patients With Indications of Mediastinal Disease

ABSTRACT

Background and Objective: Linear endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA) has proven useful for sampling mediastinal masses and nodes and for staging lung cancer. The aim of this study was to assess the usefulness of this diagnostic tool in patients with indications of mediastinal disease that could not be diagnosed by noninvasive methods or white light bronchoscopy.

Patients and Methods: All patients undergoing linear EBUS-TBNA for the diagnosis of mediastinal masses and/or adenopathy at our endoscopy unit were included in the study. Diagnoses obtained by linear EBUS-TBNA or any surgical technique performed after a nondiagnostic EBUS-TBNA were considered as final.

Results: In the study population of 128 patients with a mean (SD) age of 62.0 (11.2) years, a total of 294 TBNAs were performed on 12 masses and 282 nodes. Satisfactory samples were obtained in 11 cases (91.7%) from masses and in 233 cases (82.6%) from nodes. Linear EBUS-TBNA was diagnostic, obviating the need for mediastinoscopy in 115 patients (diagnostic sensitivity, 89.8%). The technique confirmed the diagnosis in 85 of the 94 patients with cancer (90.4%), in 8 of the 10 patients with tuberculosis (80.0%), and in the 5 patients with sarcoidosis.

Keywords:

Lung cancer

Transbronchial needle aspiration

Endobronchial ultrasonography

Mediastinum

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ignasigo@separ.es (I. Garcia-Olivé).

Conclusions: Linear EBUS-TBNA is a useful diagnostic tool in patients with mediastinal disease for whom a pathologic diagnosis is not achieved by noninvasive methods or white light bronchoscopy.
© 2008 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La punción aspirativa (PA) guiada por ultrasonografía endobronquial (USEB) lineal en tiempo real es una técnica de introducción reciente que permite el abordaje de tumores y ganglios mediastínicos, y ha demostrado su utilidad en el estudio de la neoplasia broncopulmonar¹⁻⁶. El hecho de que sea poco invasiva y sin complicaciones clínicamente significativas⁷ ha convertido esta técnica en una herramienta muy atractiva en la estadificación de la neoplasia broncopulmonar, campo en el que se ha centrado la mayoría de los estudios realizados hasta el presente¹⁻⁶. Pocos autores han investigado su utilidad como instrumento de diagnóstico en el paciente con mediastino patológico, cuya causa sea una enfermedad neoplásica o benigna⁸⁻¹¹. El objetivo de nuestro trabajo es mostrar el rendimiento de la PA guiada por USEB lineal en tiempo real en el diagnóstico de la enfermedad mediastínica de etiología no determinada por técnicas no invasivas ni endoscopia con luz blanca.

Pacientes y métodos

Población

Se incluyó prospectivamente en el estudio a todos los pacientes remitidos a la Unidad de Endoscopia Respiratoria de referencia del Barcelonés Nord para el diagnóstico de tumor y/o adenopatía/s mediastínica/s por PA guiada por USEB lineal en tiempo real, en el período comprendido entre abril de 2005 y marzo de 2008. Los criterios de inclusión fueron la existencia de un tumor mediastínico y/o adenopatía/s mediastínica/s en la tomografía computarizada (TC), con negatividad en los resultados del estudio diagnóstico no quirúrgico inicial, que incluía cultivos de secreciones respiratorias para microorganismos potencialmente patógenos y micobacterias, citologías de esputo, broncoaspirado, cepillado bronquial, lavado broncoalveolar, líquido pleural, si había derrame y biopsia bronquial si se visualizaba tumor bronquial en la exploración endoscópica respiratoria. Fueron criterios de exclusión para el estudio la existencia de un trastorno de la coagulación o plaquetopenia que imposibilitara la realización de la PA, la ventilación mecánica y el antecedente de una neoplasia, excepto cuando éste era de una antigüedad superior a 10 años, sin evidencia de recidiva en el seguimiento. La realización del estudio fue aprobada por el Comité Ético del Barcelonés Nord y las exploraciones se llevaron a cabo previo consentimiento informado del paciente.

Técnica

Para la realización de la USEB lineal se aplicaron anestesia local con lidocaína, hasta un máximo de 8,2 mg/kg, y sedación profunda con midazolam a una dosis inicial de 0,07 mg/kg, que se incrementó en 1 mg cada minuto hasta conseguir el efecto deseado, y posteriormente en 1 mg cada 5-10 min para mantener este efecto, hasta una máxima dosis acumulada de 0,67 mg/kg, siguiendo las recomendaciones de las guías clínicas de endoscopia respiratoria¹². Se utilizó para ello un broncoscopio flexible (BF-UC160F-OL8, Olympus Optical Co. Ltd., Tokio, Japón), que dispone en el extremo distal de un transductor capaz de generar imágenes lineales paralelas del tejido mediastínico paratraqueal y para-

bronquial. El broncoscopio tiene un canal de trabajo para realizar la PA transtraqueal y transbronquial bajo control visual. Para la obtención de la imagen ultrasonográfica, el extremo distal del broncoscopio entra en contacto con la pared de la tráquea o el bronquio, y para mejorar la imagen se utiliza un globo colocado previamente sobre el transductor que se llena con suero fisiológico, cuando la posición del transductor ultrasonográfico sobre la pared no es la adecuada. El equipo utilizado en la exploración posibilita obtener imágenes del mediastino con efecto Doppler, que permite diferenciar las estructuras vasculares del tumor y/o los ganglios mediastínicos cuando esto es necesario. En cada exploración se visualizaron el tumor mediastínico, cuando existía, los ganglios mediastínicos laterotraqueales derechos e izquierdos, los subcarinales, los de la ventana aortopulmonar y los ganglios lobulares, y se midió su diámetro menor (EUS EXERA EU-C80, Olympus Optical Co. Ltd., Tokio, Japón). Los tumores y los ganglios visualizados cuyo diámetro menor era de 5 mm como mínimo se puncionaron bajo control visual en tiempo real con una aguja citológica diseñada especialmente para el equipo (NA2015X-4022, Olympus Optical Co. Ltd., Tokio, Japón), que se hacía avanzar por el canal del broncoscopio hasta la luz de la tráquea, donde era empujada fuera de su funda e introducida a través de la pared traqueal o bronquial bajo control ultrasonográfico directo, hasta alcanzar el ganglio o tumor que se pretendía abordar, empezando en el primer caso por las adenopatías que pudiesen implicar una estadificación más avanzada. Mientras la aguja se desplazaba en el interior del tumor o ganglio 8-12 veces, se mantenía presión negativa en el extremo proximal del catéter. Una vez obtenida la muestra, se retiraba la aguja y se realizaba un examen citológico inmediato en el que se valoraba la muestra como procedente de un ganglio normal (cuando, en ausencia de células neoplásicas, predominaban las células linfocitarias) o de un tumor maligno o ganglio metastásico (cuando se encontraba celularidad neoplásica). Se consideró que el hallazgo de granulomas en la muestra confirmaba la existencia de tuberculosis o sarcoidosis, en función de la presencia o ausencia de necrosis central y los resultados de los cultivos para micobacterias realizados con el material recuperado. Las muestras que contenían únicamente células bronquiales, sangre, material insuficiente o células con atipia no confirmativas de neoplasia se consideraron no valorables, y en este caso se procedió a repetir la PA sobre el tumor o ganglio hasta un máximo de 3 veces.

Posteriormente el Servicio de Anatomía Patológica volvió a evaluar las muestras para la confirmación diagnóstica. Se consideraron diagnósticos finales de ocupación mediastínica los obtenidos con PA guiada por USEB lineal o, cuando los resultados de la técnica no habían sido concluyentes, los alcanzados con cualquier técnica quirúrgica realizada con posterioridad a la USEB. En los pacientes en quienes la PA guiada por USEB lineal mostró tan sólo ganglios normales, se consideró que la técnica había diagnosticado correctamente enfermedad benigna cuando en el seguimiento del paciente, durante un mínimo de 6 meses después de su realización, se evidenció regresión de la ocupación mediastínica en ausencia de un diagnóstico de malignidad.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó la versión 15.0 del paquete estadístico SPSS (Chicago, Illinois, EE.UU.). Se realizó un análisis

estadístico descriptivo de los resultados obtenidos, expresando las variables cuantitativas como media \pm desviación estándar o como mediana y rango intercuartílico, cuando la distribución no era normal, y las variables cualitativas como frecuencias absolutas y relativas. Se determinaron la sensibilidad diagnóstica y el valor predictivo negativo de la técnica para neoplasia, y a tal efecto se estableció como referencia el diagnóstico final, independientemente del método que hubiera permitido alcanzarlo.

Resultados

Del total de pacientes remitidos a la Unidad de Endoscopia Respiratoria de referencia del Barcelonés Nord para el abordaje de tumor y/o adenopatía/s mediastínica/s por PA guiada por USEB lineal en tiempo real, en el período establecido, 141 cumplían los criterios de inclusión en el estudio. Se estableció el diagnóstico final de ocupación mediastínica en 128 (90,1%), que fueron los considerados para la presente serie. En los 13 no incluidos en el estudio, en el muestreo de los ganglios mediastínicos se recuperó tejido ganglionar normal, y en las exploraciones subsiguientes no se consiguió un diagnóstico de certeza; el seguimiento a los 6 meses resultó imposible porque el domicilio de los pacientes se hallaba fuera del área del Barcelonés Nord o por negativa del paciente.

Los 128 pacientes incluidos en el estudio tenían una edad media (\pm desviación estándar) de $62,0 \pm 11,2$ años y eran predominantemente varones. La TC mostró en todos los casos un tumor y/o adenopatías en el mediastino, además de objetivar en el parénquima pulmonar un nódulo o masa pulmonar en 88 pacientes (68,7%) y un patrón alveolar o atelectasia en 9 (7,0%). En 26 pacientes (20,3%) no reveló anomalías en los campos pulmonares (tabla 1).

Se realizaron en total 294 PA sobre 12 masas mediastínicas y 282 ganglios en los 128 pacientes incluidos en el estudio. Se obtuvo una muestra valorable de la punción de 11 masas mediastínicas (91,7%), en 9 de las cuales (75,0%) el diagnóstico fue de neoplasia broncopulmonar (fig. 1). De las punciones ganglionares, se obtuvo una muestra valorable en 233 casos (82,6%), con obtención de células malignas en 127 de ellas (45,0%), de celularidad ganglionar normal en 92 (32,6%) (fig. 2) y de granulomas en 14 (5,0%) (tabla 2). Ninguno de los 128 pacientes a quienes se efectuó la exploración endoscópica presentó complicaciones ni como consecuencia de la sedación aplicada durante el procedimiento ni de la PA realizada.

El diagnóstico final fue de neoplasia en 94 casos (73,4%), mayoritariamente de origen pulmonar. En 10 pacientes el diagnóstico final fue de tuberculosis y en 5, de sarcoidosis. La PA

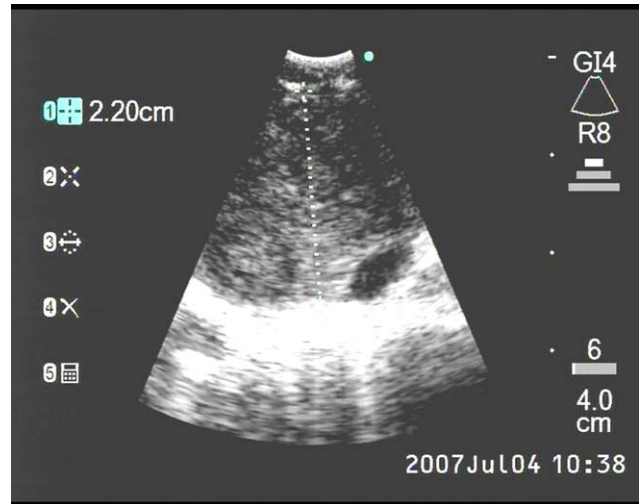


Figura 1. Tumor laterotraqueal derecho. Diagnóstico de la punción: adenocarcinoma.

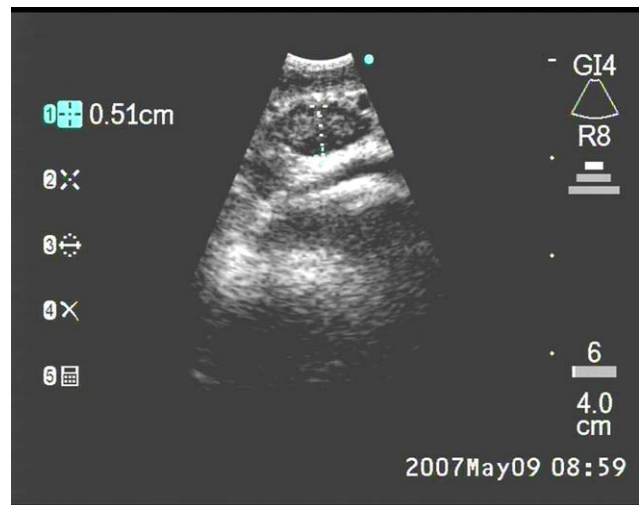


Figura 2. Ganglio subcarinal. Diagnóstico de la punción: ganglio normal.

Tabla 1
Características clinicorradiológicas

Número de pacientes	128
Edad media (años)	61,7 \pm 11,3
Sexo: mujer	25 (19,5%)
<i>Tomografía computarizada</i>	
Adenopatías/masa mediastínicas	128 (100,0%)
<i>Campos pulmonares</i>	
Nódulo/s pulmonar/es	41 (32,0%)
Masa pulmonar	47 (36,7%)
Patrón alveolar/atelectasia	9 (7,0%)
Derrame pleural	3 (2,3%)
Patrón intersticial	2 (1,6%)
Normal	26 (20,3%)

Datos expresados como media \pm desviación estándar o número (porcentaje).

Tabla 2
Características de las masas y ganglios puncionados

Número de masas y ganglios puncionados	294
Masa mediastínica	12 (4,1%)
Ganglio mediastínico	239 (81,3%)
Laterotraqueal derecho, estación 2	4 (1,4%)
Laterotraqueal izquierdo, estación 2	1 (0,3%)
Laterotraqueal derecho, estación 4	62 (21,1%)
Laterotraqueal izquierdo, estación 4	25 (8,5%)
Ventana aortopulmonar, estación 5	1 (0,3%)
Subcarinal, estación 7	146 (49,7%)
Diámetro menor (mm)	12 (5-19)
Ganglio lobular	43 (14,6%)
Estación 10	29 (9,9%)
Estación 11/12	14 (4,8%)
Diámetro menor (mm)	10 (4-16)

Valores expresados como número (porcentaje) o mediana (rango intercuartílico).

dirigida por USEB lineal fue el instrumento diagnóstico en 115 pacientes (89,9%). La técnica permitió confirmar el diagnóstico en 85 pacientes con neoplasia (el 90,4% del total con ese diagnóstico

Tabla 3

Resultados de la punción aspirativa guiada por ultrasonografía endobronquial lineal

Masas puncionadas	12
Malignidad	9 (75,0%)
Adenocarcinoma	3 (25,0%)
Carcinoma escamoso	2 (16,7%)
Carcinoma no microcítico	3 (25,0%)
Carcinoma microcítico	1 (8,3%)
Atipia celular	1 (8,3%)
Tumor benigno	2 (16,7%)
Ganglios puncionados	282
Ganglio normal	92 (32,6%)
Granuloma	14 (5,0%)
Malignidad	127 (45,0%)
Adenocarcinoma	50 (17,7%)
Carcinoma escamoso	18 (6,4%)
Carcinoma no microcítico	38 (13,5%)
Carcinoma microcítico	21 (7,4%)
Atipia celular	5 (1,8%)
Muestra no valorable	41 (14,5%)

final), en 8 afectados de tuberculosis (el 80,0% del total) y en los 5 con sarcoidosis (el 100% del total).

La PA guiada por USEB lineal (tabla 3) permitió, además del diagnóstico, la confirmación de una estadificación mediastínica N2/N3 en 83 de los 92 pacientes con neoplasia broncopulmonar en quienes la técnica obtuvo un resultado positivo para malignidad (90,2%). En 9 de los pacientes con diagnóstico final de neoplasia broncopulmonar, la estadificación realizada por PA guiada llevó a considerar la enfermedad como N0/N1 (9,8%). En 4 de estos pacientes se practicó una mediastinoscopia que confirmó la estadificación establecida con la PA guiada. Esta exploración quirúrgica se descartó en 5 pacientes con estadificación N0/N1 por USEB debido a la existencia de enfermedad pulmonar obstructiva crónica de carácter grave y/o la demostración de metástasis a distancia en estudios ulteriores a la exploración broncoscópica, que descartaban la posibilidad de un tratamiento quirúrgico. La toracotomía confirmó la estadificación prequirúrgica en 3 de los 4 pacientes en que todas las exploraciones realizadas habían mostrado ausencia de afectación neoplásica de los ganglios mediastínicos, y en un caso objetivó metástasis en un ganglio N2 prevascular.

La mediastinoscopia fue la técnica quirúrgica utilizada para el diagnóstico de tuberculosis en los 2 pacientes con ese diagnóstico final en los que con la PA guiada se había obtenido únicamente celularidad ganglionar normal. En 2 de los 4 pacientes con diagnóstico final de tumor benigno éste se obtuvo por la PA guiada, que recuperó tejido tiroideo normal. En los otros 2 pacientes las muestras obtenidas mostraron celularidad ganglionar normal y el diagnóstico de benignidad se estableció por toracotomía. En 15 pacientes en quienes el material recuperado de la PA guiada correspondió a ganglio normal, la presentación clínica y la ausencia de anomalías en los campos pulmonares llevaron a pensar en el diagnóstico de enfermedad benigna, que se confirmó por la regresión de la ocupación mediastínica y la inexistencia de enfermedad neoplásica en los 6 meses siguientes a la realización de la técnica.

La PA guiada por USEB lineal permitió establecer el diagnóstico final (tabla 4) y evitar la realización de una mediastinoscopia diagnóstica en 115 del total de pacientes estudiados —en 85 casos entre los pacientes con diagnóstico final de neoplasia (90,4%) y en 30 casos entre aquéllos con enfermedad benigna (88,2%)—, alcanzando, por lo tanto, una sensibilidad diagnóstica del 89,8%. El valor predictivo negativo de la técnica para enfermedad maligna en nuestro estudio fue del 69,8%.

Tabla 4

Diagnóstico final y punción aspirativa guiada por ultrasonografía endobronquial lineal como técnica diagnóstica

Diagnóstico final	Diagnóstico por ultrasonografía endobronquial		
	N	N	%
Pacientes	128	115	89,8
Neoplasia	94	85	90,4
Adenocarcinoma	38	32	84,2
Carcinoma escamoso	13	11	84,6
Carcinoma no microcítico	25	25	100
Carcinoma microcítico	16	15	93,7
No pulmonar	2	2	100
Tuberculosis	10	8	80,0
Sarcoidosis	5	5	100
Tumor benigno	4	2	50,0
Enfermedad benigna	15	15	100

Discusión

Nuestro trabajo demuestra que la PA guiada por USEB lineal en tiempo real es una herramienta de diagnóstico útil en los pacientes con ocupación mediastínica sin diagnóstico anatomopatológico después de obtener muestras por exploraciones no invasivas y broncoscopia con luz blanca, incluso para los casos en que la etiología no es neoplásica. Con la técnica se alcanzó una sensibilidad diagnóstica del 89,8% en los casos estudiados, con un valor predictivo negativo para malignidad del 69,8%.

La mayoría de los estudios publicados desde que comenzó a utilizarse la PA guiada por USEB lineal en tiempo real se ha centrado en el campo de la neoplasia broncopulmonar, sobre todo en su estadificación¹⁻⁶. Nuestra serie demuestra que la técnica es extremadamente útil en el diagnóstico de la neoplasia broncopulmonar cuando la TC objetiva ocupación mediastínica y las técnicas broncoscópicas convencionales han obtenido resultados negativos. En nuestro estudio, la PA guiada por USEB lineal estableció el diagnóstico en cerca del 90% de los pacientes en esta situación, con la ventaja adicional de facilitar en el mismo acto médico la estadificación de la enfermedad. En 2 pacientes (1,6%) se hallaron metástasis ganglionares de adenocarcinoma, que con posterioridad, mediante técnicas de inmunohistoquímica realizadas en la misma muestra, se identificaron como de origen mamario en un caso y de colon en el otro. En ambos pacientes la TC mostraba adenopatías mediastínicas y campos pulmonares normales. Hasta el momento, esta situación sólo se había descrito en un caso¹¹, en el que la PA guiada por USEB lineal posibilitó el diagnóstico de un carcinoma papilar de tiroides.

La extensión progresiva de la PA guiada por USEB lineal en tiempo real ha posibilitado su uso en el diagnóstico de enfermedades no neoplásicas, con un rendimiento elevado sobre la base de los resultados obtenidos en el presente estudio. Nuestra serie confirma su utilidad en el diagnóstico de la sarcoidosis, confirmado en 5 pacientes con una presentación clinicoradiológica indicativa de la enfermedad y con una muestra en la que se observaban granulomas no necrosados con cultivo negativo para micobacterias. Otros autores, con un número mayor de observaciones^{8-10,13}, han señalado la utilidad de la PA para el diagnóstico de sarcoidosis, y nuestros resultados indican que en dicha enfermedad esta técnica es capaz de incrementar sensiblemente el rendimiento de la PA a ciegas sobre adenopatías mediastínicas. De manera similar, en el presente estudio el diagnóstico de tuberculosis ganglionar fue relativamente frecuente, con un total de 10 casos, un 7,8% de los pacientes incluidos. En 8 casos (80%) la muestra obtenida por PA guiada por USEB lineal fue suficiente para establecer el diagnóstico, cuando mostraba los granulomas caseificantes característicos de la enfermedad en un contexto

clincorradiológico indicativo de ésta. En 2 casos en que únicamente se recuperó celularidad ganglionar normal fue necesario practicar una mediastinoscopia para llegar al diagnóstico final.

La utilización de la PA en el diagnóstico de las enfermedades causadas por micobacterias ha sido excepcional hasta el presente^{14,15}, pero los resultados de nuestro estudio indican que, cuando se realiza guiada por USEB lineal, es capaz de conseguir la confirmación diagnóstica en una proporción elevada de casos en que la enfermedad cursa con afectación mediastínica. Estas granulomatosis ganglionares deben diferenciarse del hallazgo ocasional de granulomas aislados en una PA de ganglios mediastínicos realizada en pacientes con neoplasia tratada, como se ha descrito recientemente¹⁵.

La PA guiada por ultrasonografía se ha utilizado para el diagnóstico de linfoma en la endoscopia digestiva¹⁶ y respiratoria¹⁷. Las muestras obtenidas con la ayuda de USEB han sido útiles para diagnosticar linfomas de Hodgkin, confirmados por la visualización de células de Reed-Sternberg en la muestra citológica, y no hodgkinianos, combinando en estos casos la utilización de citología, inmunohistoquímica y citometría de flujo sobre la muestra^{16,17}. En 2 de los 3 casos descritos en los que se ha utilizado esta técnica para el diagnóstico, fue necesario, sin embargo, obtener biopsias adicionales en otras localizaciones para subclasificar la enfermedad¹⁷. A pesar de esta limitación, la técnica puede dar mejores resultados que la mediastinoscopia en casos concretos, como cuando se ha realizado previamente una exploración mediastínica y el diagnóstico se plantea en el seguimiento de la enfermedad, ante una posible recidiva o cuando la afectación de la enfermedad es únicamente hilar. En nuestra serie, ninguna punción fue indicativa de linfoma, y en ninguno de los casos en que la celularidad recuperada con la PA correspondía a un ganglio normal se diagnosticó un linfoma en los 6 meses siguientes.

Las muestras obtenidas mediante la técnica fueron adecuadas en un 83,0% de los casos, porcentaje superior al observado en otras series sin visualización directa de la lesión a puncionar^{18,19}. La diferencia en los resultados, obviamente, se debe a la gran ventaja que supone la visualización ultrasonográfica del ganglio en tiempo real, que permite saber en todo momento qué estructura se está abordando y que disminuye el riesgo de puncionar estructuras vasculares cuando la ultrasonografía se combina con el modo Doppler. Por lo que respecta a las posibles complicaciones descritas para la PA transtraqueal y transbronquial, como el neumotórax, el neumomediastino, el hemomediastino, la bacteriemia y la pericarditis⁵, no se observaron en ninguno de nuestros pacientes, y tampoco se han comunicado en series previas que han utilizado la PA guiada por USEB lineal.

En conclusión, la PA guiada por USEB lineal en tiempo real ha sido el instrumento diagnóstico en 115 de los pacientes con ocupación mediastínica por tumor o adenopatías incluidos en nuestra serie por la ausencia de diagnóstico previo a la exploración, y después de la obtención de muestras por técnicas no invasivas y broncoscopia con luz blanca, lo cual equivale al 89,8% de los casos estudiados. En el subgrupo de pacientes con afectación granulomatosa de los ganglios mediastínicos por tuberculosis o sarcoidosis, el porcentaje diagnóstico alcanzado fue también superior al 80%. La técnica hizo innecesaria la utilización de la mediastinoscopia para el diagnóstico en casi el 90% de los pacientes estudiados, lo que confirma su elevado protagonismo en el campo de la endoscopia respiratoria diagnóstica ante el paciente con ocupación mediastínica de causa desconocida. Sin embargo, un resultado negativo para malignidad de la PA guiada por USEB lineal obliga a aplicar técnicas diagnósticas invasivas, ya que el valor predictivo negativo para

neoplasia, del 69,8% en nuestra serie, no es suficiente para descartar esta posibilidad.

Agradecimientos

A Adoración Ruiz y Adela Barrios por su ayuda durante la realización de la técnica.

Financiación

Estudio realizado con ayudas del CIBER de Enfermedades Respiratorias-CibeRes, Fondo de Investigación Sanitaria FIS070170, Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR), ACT2008 Societat Catalana de Pneumologia y Asociación Española de Endoscopia Respiratoria (AEER). Ciber de Enfermedades Respiratorias- CibeRes es una iniciativa del Instituto de Salud Carlos III.

Bibliografía

- Falcone F, Fois F, Grosso D. Endobronchial ultrasound. *Respiration*. 2003; 70:179-94.
- Krasnik M, Vilmann P, Larsen SS, Jakobsen GK. Preliminary experience with a new method of endoscopic transbronchial needle real time ultrasound guided for biopsy for diagnosis of mediastinal and hilar lesions. *Thorax*. 2003;58:1083-6.
- Yasufuku K, Chiyo M, Sekine Y, Chhadjed PN, Shibuya K, Iizasa T, et al. Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of mediastinal and hilar lymph nodes. *Chest*. 2004;126:122-8.
- Herth FJF, Ernst A, Eberhardt R, Vilmann P, Dienemann H, Krasnik M. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of lymph nodes in the radiologically normal mediastinum. *Eur Respir J*. 2006;28:910-4.
- Herth FJF, Rabe KF, Gasparini S, Annema JT. Transbronchial and transesophageal (ultrasound-guided) needle aspirations for the analysis of mediastinal lesions. *Eur Respir J*. 2006;28:1264-75.
- Herth FJF, Eberhardt R, Vilmann P, Krasnik M, Ernst A. Real-time endobronchial guided transbronchial needle aspiration for sampling mediastinal lymph nodes. *Thorax*. 2006;61:795-8.
- Bolliger CT, Mathur PN, Beamis JF, Becker HD, Cavaliere S, Colt H, et al. ERS/ATS statement on interventional pulmonology. *Eur Respir J*. 2002;19:356-73.
- Annema JT, Veselic M, Rabe KF. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for the diagnosis of sarcoidosis. *Eur Respir J*. 2005;25:405-9.
- Wong M, Yasufuku K, Nakajima T, Herth FJF, Sekine Y, Shibuya K, et al. Endobronchial ultrasound: new insight for the diagnosis of sarcoidosis. *Eur Respir J*. 2007;29:1182-6.
- Garwood S, Judson MA, Silvestri G, Hoda R, Fraig M, Doelken P. Endobronchial ultrasound for the diagnosis of pulmonary sarcoidosis. *Chest*. 2007;132:1298-304.
- Sakairi Y, Yasufuku K, Iyoda A, Suzuki M, Nakajima T, Sekine Y, et al. A solitary metastatic lung tumor from thyroid papillary carcinoma diagnosed by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA): report of a case. *Surg Today*. 2008;38:46-8.
- Honeybourne D, Babb J, Bowie P, Brewin A, Fraise A, Garrard C, et al. British Thoracic Society guidelines on diagnostic flexible bronchoscopy. *Thorax*. 2001;56(Suppl 1):1-21.
- Fernández-Villar A, Botana MI, Leiro V, Represas C, González A, Mosterero M, et al. Utilidad clínica de la punción transbronquial de adenopatías mediastínicas en el diagnóstico de la sarcoidosis en estadios I y II. *Arch Bronconeumol*. 2007;43:495-500.
- Fritscher-Ravens A, Sriram PV, Bobrowski C, Pforte A, Topalidis T, Krause C, et al. Mediastinal lymphadenopathy in patients with or without previous malignancy: EUS-FNA-based differential cytodiagnoses in 153 patients. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:2278-84.
- Kennedy MP, Jiménez CA, Mhatre AD, Morice RC, Eapen GA. Clinical implications of granulomatous inflammation detected by endobronchial ultrasound transbronchial needle aspiration in patients with suspected cancer recurrence in the mediastinum. *J Cardiothorac Surg*. 2008;3:8-12.
- Ribeiro A, Vázquez-Sequeiros E, Wiersma LM, Wang KK, Clain JE, Wiersma MJ. EUS-guided fine-needle aspiration combined with flow cytometry and immunocytochemistry in the diagnosis of lymphoma. *Gastrointest Endosc*. 2001;53:485-91.
- Kennedy MP, Jiménez CA, Bruzzi JF, Mhatre AD, Lei X, Giles FJ, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in the diagnosis of lymphoma. *Thorax*. 2008;63:360-5.
- Fernández-Villar A, Iglesias F, Mosteiro M, Corbacho D, González A, Blanco P, et al. Factores predictores del resultado de la punción-aspiración transtraqueal de adenopatías mediastínicas neoplásicas. *Arch Bronconeumol*. 2005;41:434-8.
- Martínez-Olondris P, Molina-Molina M, Xaubet A, Marrades RM, Luburich P, Ramírez J, et al. Punción transbronquial aspirativa en el estudio de las adenopatías mediastínicas: rentabilidad y coste-beneficio. *Arch Bronconeumol*. 2008;44:290-4.

Resum dels resultats:

Utilitat de la tècnica:

Es varen fer 294 puncions (12 masses mediastíniques i 282 ganglis) en 128 pacients. Es va obtenir mostra valorable de la punció d'11 d'aquestes masses (91.7%), i en 9 de les masses (75%) el diagnòstic va ser neoplàsia broncopulmonar.

De les puncions ganglionars, es va obtenir mostra valorable en 233 casos (82.6%), amb obtenció de cèl·lules neoplàsiques en 127 d'aquestes (45%), de cel·lularitat ganglionar normal en 92 (32.6%) i de granulomes en 14 (5%).

El diagnòstic final va ser neoplàsia en 94 casos (73.4%), sobretot pulmonar. En 10 pacients el diagnòstic va ser tuberculosi, i en 5, sarcoïdosi. La punció guiada per USEB lineal fou l'eina diagnòstica en 115 pacients (89.9%), i va permetre confirmar el diagnòstic en 85 pacients amb neoplàsia (el 90.4% del total amb aquest diagnòstic final), en 8 pacients amb tuberculosi (80% del total) i en tots 5 pacient amb sarcoïdosi.

La punció guiada per USEB lineal va permetre, a banda de diagnosticar, confirmar l'estadiatge mediastínic N2/N3 en 83 dels 92 pacients amb neoplàsia broncopulmonar en què la tècnica havia donat resultat positiu per a malignitat (90.2%). En 9 dels pacients amb diagnòstic final de neoplàsia broncopulmonar, l'estadificació feta per la punció va dur a considerar la malaltia com a N0/N1 (9.8%). En 4 d'aquests pacients es va fer mediastinoscòpia que confirmà l'estadificació establerta per la punció guiada per USEB. No es va realitzar l'estadificació quirúrgica als altres 5 pacients per la presència de malaltia pulmonar obstructiva crònica greu i/o la demostració de metàstasis a distància mitjançant estudis posteriors a la realització de la USEB. La toracotomia confirmà l'estadificació prequirúrgica en 3 dels 4 pacients en què totes les exploracions prèvies havien estat negatives a l'hora de detectar malignitat als ganglis mediastínics, i en un cas es va objectivar metàstasis a un gangli N2 prevascular.

La mediastinoscòpia fou la tècnica quirúrgica utilitzada per al diagnòstic de tuberculosi en tots 2 pacients amb aquell diagnòstic final en què amb la USEB s'havia aconseguit només cel·lularitat ganglionar normal. En 2 dels 4 pacients amb diagnòstic final de tumor benigne aquest es va assolir amb la USEB, que recuperà teixit tiroïdal normal. Als altres 2 pacients les mostres evidenciaren cel·lularitat normal, i el diagnòstic de benignitat es va aconseguir mitjançant tècnica quirúrgica. A 15 pacients amb teixit ganglionar normal per la punció, la presentació clínica i l'absència d'anomalies als camps pulmonars ens va fer considerar el diagnòstic de malaltia benigna, la qual es va confirmar per la regressió de la ocupació mediastílica i la inexistència de malaltia neoplàsica durant els 6 mesos posteriors a la realització de la tècnica.

Complicacions:

No va haver-hi complicacions relacionades amb la tècnica ni amb la sedació.

Reducció del nombre de mediastinoscòpies:

La punció guiada per USEB va permetre establir el diagnòstic final i, per tant, evitar la realització d'una mediastinoscòpia diagnòstica en 115 del total de pacients estudiats- en 85 casos entre els pacients amb diagnòstic final de neoplàsia (90.4%) i en 30 casos entre aquells amb malaltia benigna (88.2%)-, assolint una sensibilitat diagnòstica del 89.8%. El valor predictiu negatiu de la tècnica per a malaltia maligna va ser del 69.8%.

VI.3 Estudi III (49)

Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for identifying EGFR mutations.

Ignasi Garcia-Olivé, Eduard Monsó, Felipe Andreo, Jose Sanz-Santos, Miquel Taron, Miguel A Molina-Vila, Mariona Llatjós, Eva Castellà, Teresa Moran, Jordi Bertran-Alamillo, Clara Mayo-de-las-Casas, Cristina Queralt i Rafael Rosell.

Eur Resp J 2010;35:391-5

Factor d'impacte 2008: 5.545

RESUM:

La presència de mutacions somàtiques del domini tirosina-quinasa del gen de l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR) en pacients amb càncer pulmonar de cèl·lula no petita (CPCNP) avançat es correlaciona amb una bona resposta als inhibidors de la tirosina-quinasa. Es va estudiar la utilitat de la punció transbronquial guiada per ultrasonografia endobronquial (PTB-USEB) per obtenir mostres de ganglis malignes en les quals es pogués detectar mutacions de l'EGFR.

Es varen incloure tots aquells pacients amb adenocarcinoma pulmonar o CPCNP no especificat remesos per a estadificació mitjançant USEB. Es varen prendre mostres de tots aquells ganglis amb diàmetre menor de més de 5 mm, i es va obtenir DNA genòmic de cèl·lules tumorals per a analitzar els exons 19 i 21. Es va estudiar l'impacte dels resultats en el maneig del pacient.

L'anàlisi del gen de l'EGFR en mostres obtingudes per PTB-USEB va ser possible en 26 (72.2%) dels 36 pacients amb metàstasis ganglionars mediastíniques. Es varen detectar mutacions somàtiques del gen de l'EGFR en teixit obtingut per PTB-USEB en 2 (10%) dels 20 pacients amb adenocarcinoma pulmonar metastàtic.

Les mostres de teixit maligne obtingudes per PTB-USEB dels pacients amb metàstasis ganglionars de CPCNP són útils per a la detecció de mutacions de

l'EGFR en la majoria dels casos, i aquesta tècnica evidencia la presència de cèl·lules neoplàsiques mutades en una desena part dels pacients amb adenocarcinoma.



Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for identifying EGFR mutations

I. Garcia-Olivé^{*,#}, E. Monsó^{*,†}, F. Andreo^{*,†}, J. Sanz-Santos^{*},
M. Taron⁺, M.A. Molina-Vila⁺, M. Llatjós^{†,§}, E. Castellà^{†,§}, T. Moran⁺,
J. Bertran-Alamillo⁺, C. Mayo-de-las-Casas⁺, C. Queralt⁺ and R. Rosell⁺

ABSTRACT: The presence of somatic mutations of the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene in patients with advanced nonsmall cell lung cancer (NSCLC) correlates with a good response to tyrosine kinase inhibitors. The usefulness of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA) for the detection of EGFR mutations in cells recovered from malignant mediastinal nodes in patients with NSCLC was assessed.

All patients with lung adenocarcinoma or unspecified NSCLC referred for staging with EBUS-TBNA were included. Nodes with a short-axis diameter of >5 mm were sampled, and genomic DNA from metastatic tumour cells was obtained for analysis of exons 19 and 21. The impact of sampling on management was assessed.

EGFR gene analysis of the EBUS-TBNA sample was feasible in 26 (72.2%) out of the 36 patients with lymph node metastasis. Somatic mutations of the EGFR gene were detected in tissue obtained through EBUS-TBNA in two (10%) out of 20 patients with metastatic lung adenocarcinoma.

Malignant tissue samples obtained by EBUS-TBNA from patients with nodal metastasis of NSCLC are suitable for the detection of EGFR mutations in most cases, and this technique demonstrates mutated neoplastic cells in a tenth of patients with adenocarcinoma.

KEYWORDS: Adenocarcinoma, endobronchial ultrasonography, endobronchial ultrasonography needle aspiration, epidermal growth factor receptor, lung cancer

In nonsmall cell lung cancer (NSCLC), the presence of somatic mutations in the part of the gene encoding the tyrosine kinase (TK) domain of the epidermal growth factor receptor (EGFR) correlates with a good response to TK inhibitors, such as gefitinib [1–9] or erlotinib [9–12]. These mutations consist of small in-frame deletions or substitutions clustered around the adenosine-triphosphate-binding site in exons 18, 19 and 21 of the EGFR gene. In most of the reports that have indicated the presence of these mutations, tissue samples had been obtained surgically [6, 7]. At the moment of diagnosis, however, advanced staging precludes the use of surgery as a first therapeutic approach in a large number of patients, limiting the availability of tissue samples for this kind of analysis. Nonsurgical approaches to tissue sampling are required in order to increase the proportion of cases in which tumour tissue is available for genetic examination. SHIH *et al.* [8] reported that the presence of EGFR mutations in needle aspiration samples of lung tumours

correlates with a better outcome in these patients, and other studies have since demonstrated the feasibility of transbronchial needle aspiration (TBNA) of tumours reaching the mediastinum or located near the main bronchus in order to obtain samples for mutation studies [13]. More recently, NAKAJIMA *et al.* [14] demonstrated that EGFR mutations could be detected in samples from metastatic lymph nodes obtained using endobronchial ultrasound (EBUS)-guided TBNA (EBUS-TBNA) in 43 patients suffering from lung cancer. This technique permits the bronchoscopist to perform multiple nonsurgical TBNAs, which give appropriate cytology samples and histology cores in most cases, and has been shown to be useful and safe for both the diagnosis and staging of lung cancer [15, 16].

In the present study, the usefulness of EBUS-TBNA for obtaining tissue samples from mediastinal and lobar nodes for the analysis of EGFR gene mutations was investigated in all patients

AFFILIATIONS

^{*}Respiratory Service, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol,
^{*}Medical Oncology Service, Institut Català d'Oncologia, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol,
[§]Pathology Service, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona,
[†]Ciber de Enfermedades Respiratorias, Bunyola, and
[#]Dept of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

CORRESPONDENCE

I. Garcia-Olivé
Servei de Pneumologia
Hospital Germans Trias i Pujol
Carretera de Canyet s/n
08916 Badalona
Spain
E-mail: ignasi.g.olive@gmail.com

Received:

Feb 17 2009

Accepted after revision:

July 24 2009

First published online:

July 30 2009

referred for diagnosis or staging who had a final diagnosis of lung adenocarcinoma or unspecified NSCLC.

MATERIAL AND METHODS

Subjects and diagnostic procedure

A prospective study was performed, including all patients who were referred to the North Barcelona Lung Cancer Unit (Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Spain) for lung cancer diagnosis and/or staging by means of EBUS-TBNA between January 2006 and June 2007 and who had a final diagnosis of lung adenocarcinoma or unspecified NSCLC. In all cases, a computed tomography (CT) scan of the lung, mediastinum and upper abdomen was performed using a multidetector-row spiral CT scanner (Marconi M8000; Philips, Best, the Netherlands) in the month prior to the performance of EBUS-TBNA. Nodes seen to have a short-axis diameter of >10 mm on CT were considered to be abnormally enlarged, according to the criteria used in this technique [17, 18]. Sputum cytology and white-light bronchoscopy were additionally performed in patients referred for a diagnostic study, which included bronchial aspiration and bronchoalveolar lavage during the endoscopic procedure. When a bronchial tumour was visible, bronchial biopsy specimens were taken. In patients undiagnosed after the endoscopic procedures and whose CT scan showed a peripheral nodular opacity, transthoracic percutaneous needle aspiration was performed in the absence of any contraindication. Those patients without a final diagnosis after the performance of the diagnostic study whose clinical staging suggested limited disease underwent diagnostic/therapeutic surgery. Patients with coagulation disorders were excluded from staging by EBUS-TBNA and were not included in the present study. All patients agreed to participate and the research protocol was approved by the regional ethics committee (Ethics Committee for Clinical Research of the Hospital Germans Trias i Pujol).

EBUS-TBNA

EBUS was performed under local anaesthesia and sedation, using a flexible bronchoscope (BF-UC160F-OL8; Olympus Optical Co, Tokyo, Japan) with a distal probe capable of producing linear parallel scans of the mediastinal and parabranchial tissues and a working channel suited to the performance of TBNA under direct ultrasound guidance. Local anaesthesia and sedation were achieved using topical lidocaine spray and intravenous midazolam, respectively, in accordance with standard recommendations [19, 20]. Nodes with a short-axis diameter of ≥ 5 mm [21] that were detected during the procedure were sampled under direct ultrasound visualisation with a 21-gauge cytology needle specially designed for EBUS-TBNA (NA2015X-4022; Olympus Optical Co). The bronchoscopist proceeded from nodes in regions corresponding to N3 disease to regions corresponding to N1 disease. The needle was guided through the bronchoscope channel as far as the tracheal lumen, and then pushed forward from the sheath and inserted into the tracheal or bronchial wall under ultrasound control until the node was reached. Negative pressure was maintained at the proximal end of the catheter while the needle was pushed forward and backward inside the node. The needle was removed after sampling, rapid on-site cytological examination was performed and the remaining material was processed as a histology core. Pathology findings were classified as being

extracted from a normal node, when it contained predominantly lymphocytic cells and no neoplastic cells, or from a metastatic node, when recognisable groups of neoplastic cells were found. A second sample was obtained from metastatic nodes and processed as a histology core for genetic analysis. Aspirates containing bronchial or blood cells alone were considered unsatisfactory, as were samples with isolated groups of neoplastic cells insufficient for genetic analysis; in these situations, the procedure was repeated up to three times [22].

Laboratory methods

The EGFR mutation screening methodology followed in the present study has been described previously [4, 23]. EGFR status was assessed by microdissection of tumour cells from paraffin-embedded or fresh specimens, and could be determined in samples containing as few as eight tumour cells [23]. Briefly, it involves four steps. 1) Direct laser microdissection (Palm, Oberlensheim, Germany) of tumour cells into PCR buffer. The cells were obtained from either paraffin-embedded or fresh specimens. Paraffin-embedded samples and slides were obtained using standard procedures. Fresh specimens were extended over an appropriate slide, fixed in 96% ethanol and stained with Harris' haematoxylin for 1 min. 2) A first round of PCR amplification for each EGFR exon [19, 21]. 3) Determination of exon 19 EGFR status by PCR amplification with use of a carboxyfluorescein (FAM)-labelled primer, followed by length analysis in an ABI prism 3130 DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). 4) Detection of exon 21 point mutations with a 5'-nuclease PCR assay (TaqMan assay; Applied Biosystems) using FAM and VIC minor groove binder (MGB)-labelled probes for the wild-type and mutant sequence, respectively. This method was used for the examination of neoplastic cells from histology cores obtained by EBUS-TBNA, biological fluids and samples obtained by biopsy or surgery, and was complemented by further analysis using nested PCR and sequencing.

Statistical analysis

Data were introduced into a database and analysed using SPSS software version 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). Results are expressed as absolute and relative frequencies for categorical variables and as mean \pm SD for continuous variables. First, the availability of an adequate tissue sample for genetic examination of metastatic nodes from patients with a diagnosis of lung adenocarcinoma or NSCLC was assessed. Secondly, the prevalences of EGFR mutations in the examined nodal samples of both adenocarcinoma and unspecified NSCLC were determined. Finally, the impact of these results on choice of treatment was assessed.

RESULTS

Patient characteristics

Of the 185 patients referred to the North Barcelona Lung Cancer Unit for diagnosis and/or staging during the study period who had a final diagnosis of lung cancer, 40 had adenocarcinoma and 11 had unspecified NSCLC. These patients comprised the study population sample (table 1). CT scan findings in these 51 patients (mean \pm SD age 62.6 \pm 9.1 yrs; 41 (80.4%) males) were lung tumour with a long axis of >30 mm in 24 (47.1%) patients and \leq 30 mm in 20 (39.2%), alveolar opacity or atelectasia in six (11.7%) and pleural

effusion in one (2%). These patients underwent EBUS-TBNA, and a total number of 70 lymph nodes were identified and sampled using this technique. EBUS revealed lymph nodes in regions 2R (n=2), 2L (n=2), 4R (n=17), 4L (n=5), 7 (n=33) and 10/11 (n=11) in these 51 patients, with a median diameter of 11 mm (interquartile range (IQR) 9–17 mm). Examination of EBUS-TBNA samples from the observed nodes showed lung cancer cells in one or more samples in 36 patients (27 adenocarcinoma and nine unspecified NSCLC) and normal lymph node cells alone in 12 patients. Samples from three patients were nondiagnostic.

In 35 (68.6%) out of the 51 patients studied, it was feasible to perform a genetic study on neoplastic cells recovered by nonsurgical techniques, using either TBNA samples (26 patients) or other cytological specimens (nine patients). EGFR

mutations were analysed in the TBNA samples obtained from 26 (72.2%) patients with metastatic nodal specimens demonstrated by EBUS-TBNA, 20 with adenocarcinoma and six with unspecified NSCLC. In the remaining 10 node-positive patients, no additional tumour cells were available for genetic analysis in the EBUS-TBNA specimens after examination for diagnosis and repetition of the procedure up to three times. The nine nonsurgical samples with adenocarcinoma or unspecified NSCLC cells suitable for genetic analysis in the series were bronchial biopsy specimens (five cases; 9.8%), bronchoalveolar lavage fluid (one case; 2%), pericardial fluid (one case; 2%) and needle aspirations of a bone metastasis (two cases; 3.9%). In 16 (31.4%) patients without a final diagnosis after the performance of nonsurgical techniques whose clinical staging following EBUS-TBNA suggested local disease, the final diagnosis of adenocarcinoma or unspecified NSCLC was attained after therapeutic surgery. On surgery, mediastinal and hilar lymph nodes were normal in 12 of these cases, but N2/N1 disease was found in single nodes out of reach of EBUS-TBNA in four patients. In these 16 patients, the genetic studies were performed using the surgically obtained lung tumour tissue.

EGFR mutation

Lung adenocarcinoma was the diagnosis for 40 patients in the present study, and analysis of the EGFR in these patients found mutations in five (12.5%) of them, two cases in exon 19 and three in exon 21. Histology cores obtained using EBUS-TBNA were the only samples permitting demonstration of an EGFR mutation in two (5%) patients. In the three additional adenocarcinoma patients who exhibited EGFR mutations, the abnormality was identified in cells recovered from a malignant pericardial effusion (one case) and in tumour samples obtained during the surgical procedure (two cases). No lymph node metastasis was demonstrated by EBUS-TBNA in these three patients. No EGFR mutations were identified in the 11 patients with unspecified NSCLC, neither in the six patients with lymph node metastasis identified on EBUS-TBNA sampling nor in the available samples from the other five patients (table 2). The examination of EGFR mutations in samples from the 40 patients with lung adenocarcinoma, accordingly, led to a change in treatment in the five (12.5%) patients who showed an EGFR mutation, and, in two (5%) of these cases, this change in management depended upon a sample obtained by EBUS-TBNA, which was the only one showing the genetic abnormality in the metastatic adenocarcinoma cells. All patients showing an EGFR mutation were treated with erlotinib and were free of disease progression for a median of 26 months (IQR 18–36 months).

DISCUSSION

The objective of the present study was to determine the suitability, for EGFR mutation analysis, of samples of metastatic lymph nodes obtained through EBUS-TBNA from patients with lung adenocarcinoma or unspecified NSCLC. To that end, the prevalence of positive cases in these samples and the impact of the performance of this diagnostic procedure on treatment were determined. EBUS-TBNA permitted the identification of metastatic nodal disease in 36 (70.6%) out of the 51 patients with these types of lung cancer, and the samples recovered using this technique were appropriate for genetic examination of EGFR mutations in most (72.2%) of

TABLE 1 Patient characteristics

Subjects n	51
Age yrs	62.6 ± 9.1
Female sex	10 (19.6)
Stage	
IIA	2 (3.9)
IIB	3 (5.9)
IIIA	19 (37.3)
IIIB	9 (17.6)
IV	18 (35.3)
Diagnosis	
Adenocarcinoma	40 (78.4)
NSCLC	11 (21.6)
Diagnostic procedure	
EBUS-TBNA	26 (51.0)
Bronchoalveolar lavage	1 (2.0)
Bronchial biopsy	5 (9.8)
Pericardial fluid	1 (2.0)
Bone metastasis	2 (3.9)
Surgery	16 (31.4)
Lymph node metastasis by EBUS-TBNA	36 (70.6)
Adenocarcinoma	29 (56.9)
Unspecified NSCLC	7 (13.7)
Metastatic lymph node region sampled	
4R	10 (19.6)
4L	2 (3.9)
7	22 (43.1)
Lobar node	2 (3.9)
EGFR analysis feasible	
Adenocarcinoma EBUS-TBNA samples	20 (39.2)
NSCLC EBUS-TBNA samples	6 (11.8)
Other biopsy/cytology samples	25 (49.0)
EGFR mutation status	
Present	5 (9.8)
Exon 19	2 (3.9)
Exon 21	3 (5.9)
Wild-type	46 (90.2)
Mutation identified only in EBUS-TBNA sample	2 (3.9)

Data are presented as mean ± SD or n (%), unless otherwise indicated. NSCLC: nonsmall cell lung cancer; EBUS-TBNA: endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration; EGFR: epidermal growth factor receptor.

TABLE 2 Patients with epidermal growth factor receptor mutations

Patient No.	Age yrs	Sex	Mutation exon	Sampling technique	Stage
1	62	Male	21 (Leu858Arg)	Surgery	IV
2	47	Female	21 (Leu858Arg)	Pericardiocentesis	IV
3	69	Male	19 (745-750del)	EBUS-TBNA	IV
4	70	Female	21 (Leu858Arg)	Surgery	IIIA
5	71	Male	19 (751-759del)	EBUS-TBNA	IV

In all cases, the patients exhibited an adenocarcinoma pathology. Leu858Arg: substitution of leucine 858 with arginine; del: deletion of codon numbers indicated; EBUS-TBNA: endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration.

these cases. Samples obtained by EBUS-TBNA were the only ones confirming the presence of an EGFR mutation in two patients with lung adenocarcinoma (5.0% of the 40 patients with this type of lung cancer). The present results confirm the usefulness of EBUS-TBNA for obtaining samples appropriate for genetic analysis in patients with lung cancer.

Since EGFR was initially signalled as an attractive target for cancer chemotherapy [24], reports have shown a relationship between the presence of EGFR mutations and a better response to TK inhibitors in patients with lung adenocarcinoma and unspecified NSCLC [1–12]. Since the 2006, some reports have focused on proving that it is feasible to detect EGFR mutations in nonsurgical specimens, a particularly relevant approach considering that most patients with lung cancer have a disseminated stage of the disease at diagnosis. In these studies, EGFR mutations have been detected in bronchoscopic biopsy and cytology specimens [25, 26], percutaneous and pleural biopsy specimens, effusion cell blocks and blood samples [8, 27, 28]. Cases in which EGFR mutations were identified in TBNA and EBUS-TBNA samples have also been reported recently [13, 14].

The present results support the study of mutations of the EGFR gene in samples from metastatic nodes obtained through EBUS-TBNA in lung adenocarcinoma. The prevalence of EGFR gene mutations in these patients in the present series is close to 10%, a frequency similar to that reported in another study in Spain that examined lung tumour samples [3]. In the present series, EBUS-TBNA provided the only sample that showed EGFR mutations in 5% of patients with lung adenocarcinoma, and emerged as a technique with a clear advantage over other nonsurgical techniques for obtaining samples suitable for genetic analysis in these patients. Sampling with EBUS-TBNA is performed under direct vision, and, since it is a real-time procedure, can be repeated in order to obtain the volume of tumour cells appropriate for genetic determinations.

Mutations of the EGFR gene were not found in the 11 studied patients with unspecified NSCLC. The reported prevalence of EGFR mutations in this type of lung cancer is lower than that in adenocarcinoma cases. This observation is in line with other studies, in which the greater number of EGFR mutations

occurred among those with adenocarcinoma, their prevalence being lower in those with unspecified NSCLC [2, 6, 7, 28, 29]. In some of these previous studies, as in the present one, mutations were, likewise, not found in unspecified NSCLC cases [7, 29, 30]; others, however, have detected mutations in this type of lung cancer [2, 6]. Thus, despite a probably lower prevalence in unspecified NSCLC, and the negativity of the present results in patients with this diagnosis, the study of EGFR mutations in samples obtained by EBUS-TBNA from patients with unspecified NSCLC may occasionally identify mutations in patients, who can be treated accordingly.

EGFR mutations were found in slightly more than a tenth of the patients with adenocarcinoma in the present study, a figure lower than the 25% prevalence found by NAKIJAMA *et al.* [14] in Asians, an expected finding considering the different genetic backgrounds of European and Eastern Asian populations [31, 32]. In the present patients, EGFR mutations in exon 21 were single point mutations at amino acid 858, as was reported by NAKIJAMA *et al.* [14], although those authors also found a double point mutation of this exon in one patient. The present results confirm that EBUS-TBNA is a useful technique for obtaining histology cores suitable for genetic analysis in European populations, who show a lower prevalence of these mutations than Asians.

To conclude, the present study demonstrated that samples obtained by EBUS-TBNA are useful for detecting EGFR mutations in patients with lung adenocarcinoma, and positive results can be expected in nearly a tenth of patients with this diagnosis studied using this technique who exhibit metastasis in mediastinal or lobar nodes, EBUS-TBNA being the only technique providing adequate samples for this determination in 5% of patients. The results obtained by genetic analysis of the material recovered by EBUS-TBNA may determine a change in the treatment pattern of these patients, permitting its simplification and improving their prognosis.

SUPPORT STATEMENT

This study was supported by funds from the Centre for Biomedical Research in Respiratory Diseases (CibeRes; Bunyola, Spain), Health Research Fund (Madrid, Spain; 070170), Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (Barcelona, Spain), Catalan Pulmonology Society (Barcelona, Spain), Spanish Respiratory Endoscopy Association (Seville, Spain) and Thematic Network of Cooperative Cancer Research (Salamanca, Spain; RD06/0020/0056). The CibeRes is an initiative of the Carlos III Health Institute (Madrid, Spain).

STATEMENT OF INTEREST

None declared.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank A. Ruiz for technical assistance during the performance of the procedures. M.E. Kerans assisted with English expression in versions of the manuscript.

REFERENCES

- 1 Park J, Park BB, Kim JY, *et al.* Gefitinib (ZD1839) monotherapy as a salvage regimen for previously treated advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4383–4388.
- 2 Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, *et al.* Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of

- non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350: 2129–2139.
- 3 Cortes-Funes H, Gomez C, Rosell R, *et al.* Epidermal growth factor receptor activating mutations in Spanish gefitinib-treated non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol* 2005; 16: 1081–1086.
 - 4 Taron M, Ichinose Y, Rosell R, *et al.* Activating mutations in the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor are associated with improved survival in gefitinib-treated chemo-refractory lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5878–5885.
 - 5 Rosell R, Ichinose Y, Taron M, *et al.* Mutations in the tyrosine kinase domain of the EGFR gene associated with gefitinib response in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2005; 50: 25–33.
 - 6 Han SW, Kim TY, Hwang PG, *et al.* Predictive and prognostic impact of epidermal growth factor receptor mutation in non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2493–2501.
 - 7 Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, *et al.* Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2005: 2513–2520.
 - 8 Shih J-Y, Gow C-H, Yu C-J, *et al.* Epidermal growth factor receptor mutations in needle biopsy/aspiration samples predict response to gefitinib therapy and survival of patients with advanced non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2006; 118: 963–969.
 - 9 Rosell R, Perez-Roca L, Sanchez JJ, *et al.* Customized treatment in non-small-cell lung cancer based on EGFR mutations and BRCA1 mRNA expression. *PLoS One* 2009; 4: e5133.
 - 10 Bendedetti G, Latini L, Galetta D, *et al.* Epidermal growth factor receptor exon 19 deletions predict complete regression of multiple intracranial metastases in two cases of non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *J Thorac Oncol* 2009; 4: 936–937.
 - 11 Kaira K, Naito T, Takahashi T, *et al.* Pooled analysis of the reports of erlotinib after failure of gefitinib for non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009; [Epub ahead of print DOI: 10.1016/j.lungcan.2009.05.006].
 - 12 Zhou ZT, Xu XH, Wei Q, *et al.* Erlotinib in advanced non-small-cell lung cancer after gefitinib failure. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 64: 1123–1127.
 - 13 Horiike A, Kimura H, Nishio K, *et al.* Detection of epidermal growth factor receptor mutation in transbronchial needle aspirates of non-small cell lung cancer. *Chest* 2007; 131: 1628–1634.
 - 14 Nakajima T, Yasufuku K, Suzuki M, *et al.* Assessment of epidermal growth factor receptor mutation by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Chest* 2007; 132: 597–602.
 - 15 Yasufuku K, Chiyo M, Sekine Y, *et al.* Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of mediastinal and hilar lymph nodes. *Chest* 2004; 126: 122–128.
 - 16 Yasufuku K, Chiyo M, Koh E, *et al.* Endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for staging of lung cancer. *Lung Cancer* 2005; 50: 347–354.
 - 17 Colice GL. Chest CT for known or suspected lung cancer. *Chest* 1994; 106: 1538–1550.
 - 18 Quint LE, Francis IR, Wahl RL, *et al.* Preoperative staging of non-small cell carcinoma of the lung: imaging methods. *AJR Am J Roentgenol* 1995; 164: 1349–1359.
 - 19 Reed AP. Preparation of the patient for awake flexible fiberoptic bronchoscopy. *Chest* 1992; 101: 244–253.
 - 20 British Thoracic Society Bronchoscopy Guidelines Committee, a Subcommittee of the Standards of Care Committee of the British Thoracic Society, British Thoracic Society guidelines on diagnostic flexible bronchoscopy. *Thorax* 2001; 56: Suppl. 1, 1–21.
 - 21 Garcia-Olivé I, Monsó E, Andreo F, *et al.* Sensitivity of linear endobronchial ultrasonography and guided transbronchial needle aspiration for the identification of nodal metastasis in lung cancer staging. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35: 1271–1277.
 - 22 Baker JJ, Solanki PH, Schenk DA, *et al.* Transbronchial fine needle aspiration of the mediastinum. Importance of lymphocytes as an indicator of specimen adequacy. *Acta Cytol* 1990; 34: 517–523.
 - 23 Molina-Vila MA, Bertran-Alamillo J, Reguart N, *et al.* A sensitive method for detecting EGFR mutations in non-small cell lung cancer samples with few tumor cells. *J Thorac Oncol* 2008; 3: 1224–1235.
 - 24 Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999; 82: 241–250.
 - 25 Fujita S, Mio T, Sonobe M, *et al.* Accuracy of epidermal growth factor receptor mutation analysis on the basis of small biopsy specimens in patients with nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2006; 119: 1751–1752.
 - 26 Oshita F, Matsukuma S, Yoshihara M, *et al.* Novel heteroduplex method using small cytology specimens with a remarkably high success rate for analysing EGFR gene mutations with a significant correlation to gefitinib efficacy in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 2006; 95: 1070–1075.
 - 27 Kimura H, Fujiwara Y, Sone T, *et al.* High sensitivity detection of epidermal growth factor receptor mutations in the pleural effusion of non-small cell lung cancer patients. *Cancer Sci* 2006; 97: 642–648.
 - 28 Kimura H, Kasahara K, Kawaiishi M, *et al.* Detection of epidermal growth factor receptor mutations in serum as a predictor of the response to gefitinib in patients with non-small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3915–3921.
 - 29 Paez JG, Janne PA, Lee JC, *et al.* EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304: 1497–1500.
 - 30 Tokumo M, Toyooka S, Kiura K, *et al.* The relationship between epidermal growth factor receptor mutations and clinicopathologic features in non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1167–1173.
 - 31 Bai H, Mao L, Wang HS, *et al.* Epidermal growth factor receptor mutations in plasma DNA samples predict tumor response in Chinese patients with stages IIIB to IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2653–2659.
 - 32 Sasaki H, Shimizu S, Okuda K, *et al.* Epidermal growth factor receptor gene amplification in surgical resected Japanese lung cancer. *Lung Cancer* 2009; 64: 295–300.

Resum dels resultats:

Utilitat de la tècnica:

A 35 (68.6%) dels 51 pacients inclosos en aquest estudi es va poder dur a terme un estudi genètic de les cèl·lules neoplàsiques recuperades mitjançant tècniques no quirúrgiques, bé amb mostres de punció aspiració (26 pacients) o bé per mostres citològiques (9 pacients). Es varen analitzar les mutacions en mostres obtingudes per PA en 26 (72.2%) pacients amb demostració de metàstasis a ganglis mediastínic per USEB-PA, 20 varen ser adenocarcinomes i 6 CPCNP. Als altres 10 pacients no es va disposar de més cèl·lules tumorals després del diagnòstic, ni després de repetir la punció del gangli fins a tres cops. Dels altres nou pacients en què l'estudi genètic es va fer sobre mostres no quirúrgiques aquestes varen provenir de: biòpsia bronquial (cinc casos;9.8%), rentada broncoalveolar (un cas;2%), líquid pericàrdic (un cas;2%) i aspiració de metàstasis òssies (dos casos;3.9%). A 16 (31.4%) pacients sens diagnòstic final després d'haver dut a terme les exploracions no quirúrgiques corresponents, en que la USEB suggeria malaltia localitzada, el diagnòstic final es va assolir mitjançant cirurgia terapèutica. Els ganglis mediastínic i hiliars varen ser normals en 12 casos, però es va detectar malaltia N2/N1 a ganglis aïllats fora de l'abast de la USEB en 4 pacients.

Complicacions:

No va haver-hi complicacions relacionades amb la tècnica ni amb la sedació.

Reducció del nombre de mediastinoscòpies:

La punció guiada per USEB va permetre detectar la presència de mutacions de l'EGFR en 2 dels 40 pacients amb adenocarcinoma (5%). Aquests pacients es trobaven en un estadi IV, i aquesta troballa va significar un canvi en el

tractament amb quimioteràpia, sense haver de practicar tècniques més invasives per a obtenció de teixit.

VII. LIMITACIONS DELS ESTUDIS

Selecció de pacients:

Les conclusions es poden aplicar a la població estudiada, però no es poden fer extensives a tota una població més general.

Podem dir, no obstant, que considerem la mostra representativa dels pacients amb sospita alta de neoplàsia broncopulmonar en què es planteja inicialment la opció quirúrgica. La mostra no seria representativa dels pacients considerats en la primera valoració com a estadi avançat.

Confirmació del diagnòstic:

La principal limitació dels estudis és que en la majoria dels pacients els resultats obtinguts per la punció guiada per ultrasonografia no han estat confirmats posteriorment mitjançant tècniques quirúrgiques. En els casos en què la USEB ens donava el diagnòstic, hem assumit que la especificitat de la tècnica era del 100%, com ja ha estat publicat en diversos treballs (45).

Paper de la tomografia per emissió de positrons (PET)

A diferència d'altres treballs existents a la literatura (43), no s'ha utilitzat PET a cap dels treballs que conformen aquesta tesi, de manera que no es pot comparar els resultats amb aquesta prova d'imatge.

VIII. DISCUSSIÓ

Des de l'aparició de les primeres publicacions sobre la USEB amb punció dels ganglis en temps real (49-51), han aparegut un gran nombre de treballs demostrant que és una eina útil per a l'estadiatge mediastínic del càncer de pulmó (40-45,49-64). La finalitat d'aquesta tesi ha estat, d'una banda, demostrar que aquesta tècnica pot tenir altres aplicacions a banda de l'esmentada estadificació del mediastí, i d'altra banda, determinar en quin grau l'anàlisi de la morfologia ganglionar visualitzada mitjançant ultrasonografia aporta informació clínicament útil, no obtinguda per altres tècniques diagnòstiques.

Per una banda, els resultats del primer treball corroboren el que ja ha aparegut prèviament a la literatura. Això és, que la PA guiada per USEB és una tècnica útil per a prendre mostres dels ganglis mediastínic i hiliars per a l'estadiatge d'aquells pacients amb càncer de pulmó (50-64), independentment de si la TC de tòrax mostra adenopaties significatives, i també demostra que amb la tècnica s'ha detectat malignitat a més de la meitat dels pacients estudiats. També segons el nostre treball (47), per tal d'assolir la màxima sensibilitat possible, cal punccionar tots els ganglis abordables amb un diàmetre menor de 5 o més mm i un quocient entre el diàmetre menor i el major de 0.5 o més. Si es fa així, la sensibilitat supera el 90% per a la identificació de ganglis malignes. A la literatura es troben nivells de sensibilitat elevats, gairebé tots al voltant del 90%, amb especificitats del 100% (42,54,58,60,63,64). La principal limitació de la tècnica és el valor predictiu negatiu, que no és prou elevat (54,58) com per a no fer mediastinoscòpies quan el resultat de la punció és negatiu, en els pacients en què el mostreig ganglionar no ha cobert un nombre ampli de regions mediastíniques.

Simultàniament, vàrem trobar que la utilització de la ultrasonografia endobronquial permetia detectar ganglis mediastínic lleugerament augmentats de mida en més d'un terç dels pacients amb TC de tòrax on el mediastí s'havia considerat normal. Aquests ganglis es trobaven bàsicament a la regió subcarinal, i gairebé una quarta part d'aquests ganglis varen ser malignes.

Una de les principals avantatges de la PA guiada per USEB és que permet obtenir mostres valorables de ganglis amb diàmetre menor inferior als 10 mm, és a dir, ganglis amb una mida que es consideraria dins el rang de la normalitat. Al nostre estudi (47), els ganglis mediastínic i hiliars puncionats tenien un diàmetre menor d'11 (8-15) i 8 (7-12) mm respectivament de mediana (RIQ), i 150 (53.2%) de les 282 mostres obtingudes provenien de ganglis de 10 o menys mm de diàmetre menor. Tot i que la rendibilitat de la tècnica no és tan alta amb els ganglis considerats de mida normal com amb aquells augmentats de mida, es varen obtenir mostres satisfactòries del 80% dels ganglis amb diàmetre menor de 10 o menys mm. Nogensmenys, es va detectar malignitat en gairebé un 15% d'aquests ganglis, la qual cosa confirma que aquests ganglis cal puncionar-los. Aquesta troballa ja havia estat descrita anteriorment en diferents treballs, en pacients amb una TC de tòrax normal (42) i fins i tot en pacients amb TC i TC-PET normals (43). Als pacients inclosos al nostre estudi (47) no se'ls va fer TC-PET de forma rutinària, de manera que és una dada que no hem pogut estudiar.

Com ja s'ha comentat a l'apartat de les limitacions, la manca de TC-PET és la principal limitació dels treballs que conformen aquesta tesi, i de la tesi mateixa. En qualsevol cas, atès que la tècnica del TC-PET pot tenir falsos negatius (43), i també falsos positius (65-67), la nostra opinió és que cal practicar la PA guiada per USEB a tots els pacient, ja que el nombre de falsos positius (65-67) i negatius (43) és prou significatiu.

Tot i que la USEB per sí mateixa ofereix bons resultats en l'estadiatge de la neoplàsia broncopulmonar, han aparegut diferents estudis que proposen la utilització combinada de la ultrasonografia endoscòpica (per via digestiva) i l'endobronquial (62,68-71), i així s'aconseguiria el que algun autor ha anomenat la mediastinoscòpia "mèdica" completa (68). De poc temps cap aquí fins i tot s'ha publicat una sèrie de 150 pacients en què aquesta mediastinoscòpia "mèdica" completa s'ha realitzat utilitzant el mateix endoscopi d'ultrasonografia endobronquial, amb la qual s'ha aconseguit una sensibilitat del 96% amb un valor predictiu negatiu del 96% quan s'abordava per les dues vies (71). La combinació de les dues tècniques permet l'abordatge de les regions 5, 8 i 9, d'accés impossible per via bronquial. Això podria per tant, augmentar la

sensibilitat de la ultrasonografia en els tumors de lòbul superior esquerre i dels lòbuls inferiors.

La PA guiada per USEB lineal és també una eina útil per al diagnòstic d'ocupacions del mediastí sense diagnòstic anatomopatològic en pacients als quals ja s'ha practicat altres tècniques, fins i tot en aquells casos amb etiologia no neoplàsica. Al nostre treball (48) es va arribar a una sensibilitat diagnòstica en un 89.8% dels casos, amb un valor predictiu per a malignitat del 69.8%.

Com ja s'ha dit anteriorment, la majoria de treballs publicats en el cap de l'endoscòpia endobronquial s'han basat en el camp de la neoplàsia broncopulmonar, especialment en l'estadiatge (42,50,52). La nostra sèrie demostra que la tècnica és útil per al diagnòstic de carcinoma broncogènic quan s'observa ocupació mediastínica a la TC de tòrax i les tècniques broncoscòpiques convencionals han donat resultats negatius. En el nostre treball, la PA guiada per USEB lineal va establir el diagnòstic en prop del 90% dels pacients, amb l'avantatge de donar de manera simultània informació sobre l'estadiatge. La tècnica no només és útil en la neoplàsia pulmonar, ja que vàrem trobar en dos pacients (1.6%) metàstasis ganglionars d'adenocarcinoma, que posteriorment, després de tècniques d'histoquímica practicades en aquelles mateixes mostres, varen resultar ser d'origen mamari en un cas i de colon en l'altre. En ambdós pacients la TC evidenciava adenopaties mediastíniques amb camps pulmonars normals. Fins la publicació d'aquestes dades, la troballa de neoplàsia d'origen no pulmonar mitjançant aquesta tècnica només havia estat descrita en una ocasió, i es tractava d'un carcinoma papil·lar de tiroïdes (72).

La nostra sèrie també confirma la utilitat de la tècnica per al diagnòstic de malalties no neoplàsiques. En el nostre treball (48) s'han descrit el cas de 5 pacients que varen ser diagnosticats de sarcoïdosi. El diagnòstic es va fer en base a una presentació clínica i radiològica suggestiva de la malaltia juntament amb una mostra en la qual s'observaven granulomes no necrosats amb un cultiu per a micobactèries negatiu. Altres grups, amb més observacions (73-76) han evidenciat la utilitat de la PA per a diagnosticar sarcoïdosi, i els nostres resultats indiquen que en l'esmentada malaltia la tècnica pot incrementar el rendiment respecte la punció a cegues. Aquesta observació concorda amb el

que recentment ha estat publicat per una altre grup, en què es comparava la punció a cegues amb la guiada per USEB, essent aquesta darrera una millor eina diagnòstica en pacients amb sospita de sarcoïdosi (77). La punció guiada per USEB també pot superar el rendiment diagnòstic de la biòpsia transbronquial, habitualment considerada d'elecció per al diagnòstic de sarcoïdosi (78-81), especialment en aquells pacients amb estadi I (és a dir, afectació ganglionar sense afectació parenquimatososa a la radiografia de tòrax) (82).

Cal tenir molt present que els granulomes no necrosats són una troballa no específica de sarcoïdosi (80,81). Entre les situacions o patologies granulomatoses que poden simular una sarcoïdosi hi ha el limfoma, les infeccions per micobactèries (sobretot tuberculosi), i infeccions per fongs. De manera menys habitual, granulomes similars als de la sarcoïdosi es poden formar com a resposta a una neoplàsia, un cos estrany, beril·li, o bé a la immunodeficiència comuna variable. Alguns tractaments (com per exemple l'interferó alfa per a l'hepatitis) poden provocar reaccions granulomatoses.

Els patòlegs, de forma rutinària, tenyeixen les mostres que reben per a descartar infeccions per micobactèries o fongs, tot i que hi poden haver falsos negatius. Seria altament recomanable que s'enviés una fracció de la mostra al laboratori de Microbiologia per a cultiu, preferiblement en sèrum i no en formol (81).

El diagnòstic de tuberculosi ganglionar també va ser relativament freqüent, amb 10 casos en total (7.8% dels pacients). En 8 d'aquests casos (80%), la mostra obtinguda per PA-USEB va ser suficient per a establir el diagnòstic (quan s'observaven els granulomes caseificants típics d'aquesta malaltia, amb un context clínic i radiològic compatible). En 2 casos en què només es va recuperar cel·lularitat ganglionar normal va caldre practicar una mediastinoscòpia per a assolir el diagnòstic definitiu. La utilització de la PA en el diagnòstic de les malalties provocades per micobactèries ha estat anecdòtica fins al moment actual (83,84), però els nostres resultats indiquen que quan es du a terme la punció guiada per USEB, es pot assolir la confirmació diagnòstica en una proporció elevada de casos què la malaltia cursa amb afectació mediastínica.

La punció guiada per ultrasonografia s'ha utilitzat per al diagnòstic de limfoma tant per via respiratòria (85) com digestiva (86). Les mostres obtingudes amb l'ajuda de la USEB han estat útils per a diagnosticar limfoma de Hodgkin (confirmats per la visualització de cèl·lules de Reed-Sternberg a la mostra citològica), i limfoma no hodgkinià, combinant en aquests casos la utilització de citologia, immunohistoquímica i citometria de flux sobre la mostra (85,86). En 2 dels 3 casos descrits als quals s'ha utilitzat aquesta tècnica ha calgut obtenir biòpsies addicionals a d'altres localitzacions per a subclassificar la malaltia (85). Tot i aquesta limitació, la tècnica pot tenir resultats millors que la mediastinoscòpia en casos concrets, com quan ja s'ha fet prèviament una exploració mediastínica i el diagnòstic es planteja en el seguiment de la malaltia, quan se sospita una recidiva o bé quan l'afectació és solament hilar. A la nostra sèrie, cap punció va ser indicativa de limfoma, i en cap dels casos en que la punció es va etiquetar de gangli normal es va diagnosticar un limfoma durant els 6 mesos posteriors.

En conclusió, la PA guiada per USEB lineal en temps real ha estat l'eina diagnòstica en 115 dels pacients amb ocupació mediastínica per tumor o per adenopaties que no tenien diagnòstic malgrat les exploracions practicades anteriorment, i això vol dir el 89.8% dels casos estudiats. En el subgrup de pacients amb malaltia granulomatosa dels ganglis mediastínics per sarcoïdosi o tuberculosi, el percentatge assolit també supera el 80%. Aquesta tècnica va fer innecessària la realització d'una mediastinoscòpia diagnòstica en gairebé el 90% dels pacients estudiats. No obstant això, el fet de no trobar malignitat en una mostra obtinguda per PA guiada per USEB lineal obliga a practicar tècniques diagnòstiques invasives, ja que el valor predictiu negatiu per diagnòstic de neoplàsia (que no estadiatge), que és del 69.8% a la nostra sèrie, no és prou alt per a descartar aquesta possibilitat. De la mateixa manera, altres sèries també recomanen continuar amb altres proves quan no s'ha assolit el diagnòstic amb la punció guiada per USEB (87,88)

La PA guiada per USEB en temps real també pot ser útil per a evitar tècniques invasives en els pacients amb carcinoma pulmonar de cèl·lula no petita si a la

mostra es pot estudiar la presència de mutacions de l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR). Per a estudiar aquesta possible aplicació de la PA guiada per USEB es va dur a terme aquest estudi (49), en que es va determinar la prevalença de mutacions d'aquest gen en les mostres obtingudes per punció, i l'impacte que aquesta tècnica va tenir en el posterior maneig del pacient.

Des que es va assenyalar l'EGFR com un objectiu en el tractament amb quimioteràpia (89) han aparegut diverses publicacions que mostren que hi ha relació entre la presència d'unes determinades mutacions del gen de l'EGFR i una millor resposta als inhibidors de la tirosina-quinasa en els pacients amb adenocarcinoma i carcinoma de cèl·lula no petita (90-101). Des de l'any 2006, han aparegut altres treballs que sobretot volien demostrar que és possible d'estudiar la presència d'aquestes mutacions en mostres no quirúrgiques. Aquest fet és important, atès que la majoria de pacients amb càncer de pulmó es troben en un estadi no quirúrgic en el moment en que se'ls diagnostica la malaltia. Així, les mutacions de l'EGFR s'han trobat a mostres obtingudes amb broncoscòpia (102), mostres citològiques (103), biòpsia pleural, blocs cel·lulars de líquid pleural i mostres de sang perifèrica (97,104,105). Més recentment també s'han descrit la identificació de mutacions en mostres obtingudes per punció aspirativa, tant a cegues (106) com guiada per ultrasonografia endobronquial (107).

Els resultats del nostre treball (49) recolzen la idea que cal estudiar la presència d'aquestes mutacions a les mostres obtingudes per PA-USEB en aquells pacients amb adenocarcinoma de pulmó. La prevalença de les mutacions és propera al 10%, dada similar a una publicada en un altre estudi espanyol que examinava mostres de tumor (92). En la nostra sèrie, la PA guiada per USEB va ser la única tècnica en la que es va evidenciar mutacions de l'EGFR en el 5% de tots els pacients amb adenocarcinoma, i pot tenir certs avantatges per damunt d'altres tècniques no quirúrgiques de cara a obtenir prou mostra en la qual estudiar la presència de mutacions, ja que el fet de ser realitzada amb observació directa en temps real permet repetir les puncions el nombre de cops que es consideri convenient fins que s'hagi obtingut prou volum de mostra.

No es van trobar mutacions del gen de l'EGFR en cap dels 11 pacients amb CPCNP inespecífic, i és obvi per tant que la prevalença de les mutacions és inferior en aquest grup de pacients que en aquells que tenen un adenocarcinoma. Això concorda amb el que existeix a la literatura, on la prevalença de mutacions és clarament més elevada en aquells pacients amb adenocarcinoma. De fet, en alguns dels estudis previs no s'han trobat mutacions en aquells pacients amb CPCNP inespecífics (96,108,109); a d'altres, en canvi, sí s'han trobat mutacions en aquest tipus de càncer pulmonar (91,95). Així, tot i que la prevalença esperable de mutacions en aquells pacients amb CPCNP és menor que en adenocarcinomes, i la negativitat dels resultats en el nostre treball, l'estudi de les mostres obtingudes per PA guiada per USEB en aquests pacients pot evidenciar la presència de mutacions en alguna ocasió, la qual cosa pot provocar un canvi en el tractament del pacient que podria millorar el pronòstic de la seva malaltia (16).

Es varen detectar mutacions de l'EGFR en una mica més del 10% dels pacients amb adenocarcinoma. Aquesta prevalença és inferior al 25% referit per Nakajima et al. Això era esperable, si tenim en compte els diferents orígens genètics dels europeus i els habitants de l'extrem orient (109,110). Als nostres pacients la mutació a l'exó 21 era la substitució d'un sol aminoàcid (com al treball de Nakajima et al.), però d'altres autors han descrit la substitució de dos aminoàcids en aquest exó.

En un treball en què s'ha estudiat la resposta dels pacients amb mutacions al tractament amb inhibidors de la tirosina quinasa, s'ha vist que la presència de la mutació a l'exó 19 es relaciona amb un millor pronòstic que la mutació al 21, expressat amb període de temps en què el pacient està lliure de malaltia (16). També existeixen d'altres mutacions que poden ser una diana potencial de fàrmacs inhibidors. Aquestes mutacions són, entre d'altres, la ALK, MET, o PDGFR. Existeixen, a més, altres mutacions, per a les quals malauradament encara no es disposa de cap inhibidor potencial (KRAS) (17). De totes maneres, cap d'aquestes mutacions és tan coneguda com la de l'EGFR.

En resum, la PA guiada per USEB és una tècnica útil per a obtenir mostres en les qual es poden detectar mutacions del gen de l'EGFR, i la prevalença d'aquestes mutacions en la població estudiada és inferior a la publicada en pacients d'origen asiàtic. És possible que, amb el temps i amb l'evolució de la tècnica, la PA guiada per USEB sigui útil també per a obtenir mostres on es pugui estudiar altres mutacions en pacient amb càncer de pulmó. Actualment es coneixen diverses mutacions en el càncer de pulmó no microcític, com per exemple l'esmentat EGFR, o l'ALK, MET, o PDGFR, entre d'altres (17).

Sobre si la tècnica de la USEB pot ser útil per a reduir el nombre de mediastinoscòpies, cal remarcar que als pacients inclosos als estudis que presentaven resultats positius, ja no va caldre realitzar tècniques quirúrgiques dins de l'algoritme diagnòstic de la ocupació mediastínica. Per aquest fet, creiem que és una tècnica que permet estalviar intervencions més agressives i costoses, com la mediastinoscòpia. En qualsevol cas, en el moment actual una USEB amb resultat valorable però negatiu encara no ha demostrat ser un argument suficient per a no confirmar aquesta negativitat mitjançant una altra tècnica.

La tècnica d'elecció per a confirmar els resultats continua sent la mediastinoscòpia. En una revisió sobre l'estadiatge invasiu del CPCNP han descrit una sensibilitat del 81%, assumint-ne una especificitat del 100%. El valor predictiu negatiu (amb una prevalença del 37% en 5687 procediments) era del 91%, mentre que s'atribuïa un valor predictiu negatiu a la punció guiada per ultrasonografia endoscòpica que oscil·lava entre el 71 i el 78% (112).

Pel que fa a la seguretat de la punció guiada per USEB, cap dels pacients inclosos als estudis que conformen aquesta tesi va presentar cap complicació significativa durant les 48 hores següents a la realització de la tècnica (47-49). Això era esperable, ja que en general ha estat descrita com una tècnica amb escasses complicacions importants. Dintre de les complicacions que s'han descrit hi ha l'agitació (59), hipoxèmia (46), el pneumotòrax (63), tos (46,59,63), i sagnat lleu (52). S'ha estudiat també la incidència de bacterièmia i s'ha trobat que la incidència d'aquesta complicació és comparable a la de la fibrobroncoscòpia convencional (113). Per a evitar el discomfort del pacient,

atès que és una tècnica més llarga que la fibrobroncoscòpia convencional, s'ha utilitzat amb èxit la mascareta laríngia (114)

No hi ha gaires referències a la literatura que relacionin les característiques morfològiques dels ganglis visualitzades per ecografia endoscòpica i la possibilitat que aquests siguin malignes, i aquests estudis provenen generalment del camp de l'endoscòpia digestiva (37,115-117). Con a norma general, consideren que els ganglis tenen més probabilitat de ser malignes quan són de més d'1 cm de diàmetre, de forma arrodonida, ben delimitats, i amb un patró ecogràfic homogeni i hipoecoic, encara que les evidències sobre les que es fonamenten aquestes afirmacions, fins el moment actual, són molt escasses (115).

En el nostre treball (47) no hem estudiat les característiques ultrasonogràfiques, però sí com la mida i la forma poden ser predictores de malignitat. Així, els nostres resultats són comparables amb els treballs esmentats, ja que els ganglis tenien més possibilitats de ser malignes a mesura que es feien més grans d'1 cm i a mesura que eren més rodons (47). La novetat que aporta el nostre treball és que podem expressar la rodonesa amb un valor numèric (diàmetre menor dividit entre el diàmetre major), la qual cosa li pot treure subjectivitat a la valoració de la forma, i el confirmar que no és necessari efectuar puncions en ganglis amb un diàmetre menor per sota dels 5 mm, en els quals es pot assumir la benignitat. Aquesta era una pràctica habitual en les unitats d'endoscòpia que utilitzaven la USEB, però no era basada en l'evidència fins a la publicació del treball inclòs a la present tesi

De totes maneres, coincidim amb els esmentats treballs (115-117) a l'hora de dir que aquestes característiques morfològiques no poden substituir, en el moment actual, la punció ganglionar i l'estudi amb microscopi de la mostra obtinguda. Sí que podem afirmar, però, que no cal punccionar ganglis amb un diàmetre major de menys de 5 mm, ja que es pot assumir la seva benignitat.

IX. CONCLUSIONS

IX.1 La ultrasonografia endobronquial és una tècnica útil en l'estadiatge de la neoplàsia pulmonar, i si es mostregen tots el ganglis amb un diàmetre menor ≥ 5 mm i un quocient diàmetre menor/diàmetre major ≥ 0.5 , es pot assolir una sensibilitat molt elevada per a la detecció de ganglis malignes.

IX.2 La ultrasonografia endobronquial és una eina de diagnòstic útil en els pacients amb afectació mediastínica, el diagnòstic anatomopatològic dels quals no s'hagi assolit mitjançant exploracions no invasives ni broncoscòpia amb llum blanca, i és útil per a evitar la realització de tècniques quirúrgiques en alguns d'aquests pacients.

IX.3 Les mostres de teixit maligne obtingudes per punció-aspiració guiada per ultrasonografia endobronquial dels pacients amb metàstasis ganglionars de carcinoma pulmonar de cèl·lula no petita són útils per a la detecció de mutacions de l'EGFR en la majoria dels casos, i aquesta tècnica evidencia la presència de cèl·lules neoplàsiques mutades en una desena part dels pacients amb adenocarcinoma.

IX.4 La ultrasonografia endobronquial és útil per a evitar la realització d'un nombre important de mediastinoscòpies en aquells casos en que sigui diagnòstica. Encara no s'han validat criteris per a considerar l'exploració d'extensió suficient per a estimar que el valor predictiu negatiu serà prou elevat com per a no ser imprescindible la realització d'una mediastinoscòpia o una altra tècnica equivalent, però.

IX.5 La ultrasonografia endobronquial és una tècnica diagnòstica del mediastí que presenta un nombre de complicacions molt baix, i en la present sèrie absència de complicacions majors.

IX.6 La forma i la mida d'un gangli visualitzades per ultrasonografia endobronquial poden ser útils per a predir-ne la malignitat. La probabilitat que

un gangli sigui maligne és superior al 90% per a ganglis amb un diàmetre menor de més de 20 mm, i del 55% per a ganglis rodons (quocient d'1). Això pot ser útil per a prioritzar els ganglis que s'han de puncionar, però en el moment actual no substitueix l'estudi anatomopatològic. No cal puncionar ganglis amb un diàmetre major de menys de 5 mm, ja que es pot assumir la seva benignitat.

X. BIBLIOGRAFIA

1. Williams PL, Warwick R, editors. Gray Anatomia. Edimburg: Churchill Livingstone; 1996.
2. Park DR, Vallières E. Tumors and cysts of the mediastinum. A: Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine. Mason RJ, Murray JF, Broaddus VC, Nadel JA, editors. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
3. Duwe BV, Serman DH, Musani AI. Tumors of the mediastinum. Chest 2005;128:2893-909.
4. Strollo DC, Rosado-de-Christenson ML, Jett JR, . Primary mediastinal tumors: Part 1. Tumors of the anterior mediastinum. Chest 1997;112:511.
5. Davis RD Jr, Newland Oldham H Jr, Sabiston DC Jr. Primary cysts and neoplasms of the mediastinum: recent changes in clinical presentation, methods of diagnosis, management and results. Ann Thorac Surg 1987;44:229-237.
6. Silverman NA, Sabiston DC Jr. Mediastinal masses. Surg Clin North Am 1980;60:757-77.
7. Erasmus JJ, McAdams HP, Donnelly LF, Spritzer CE. MR imaging of mediastinal masses. Magn Reson Imaging Clin N Am 2000;8:59-89.
8. Alberts WM. Lung cancer guidelines. Introduction. Chest 2003;123:1S-2S.
9. Brambilla E, Travis WD, Colby TV, et al. The new World Health Organization classification of lung tumours. Eur Respir J 2001;18:1059-68.
10. Detterbeck FC, Boffa DJ, Tanoue LT. The new lung cancer staging system. Chest 2009;136:260-71.
11. Youlden DR, Cramb SM, Baade PD. The international epidemiology of lung cancer. Geographical distribution and secular trends. J Thorac Oncol 2008;3:819-831.
12. Ryu JS, Lee HJ. Effects of comorbidity and smoking on the survival of lung cancer patients. J Clin Oncol 2006;24:5468-9.
13. De Leyn P, Lardinois D, Van Schil PE, et al. ESTS guidelines for preoperative lymph node staging for non-small cell lung cancer. Eur J Cardiothorac Surg 2007;32:1-8.

14. Rusch VW, Crowley J, Giroux DJ, et al. The IASLC lung cancer staging project: proposals for the revision of the N descriptors in the forthcoming seventh edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007;2:603-12.
15. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med* 2008;359:1367-80.
16. Rosell R, Moran T, Queralt C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 2009;361:958-67.
17. Sharma SV, Haber DA, Settleman J. Cell line-based platforms to evaluate the therapeutic efficacy of candidate anticancer agents. *Nature Rev Cancer* 2010;10:241-53.
18. Carlens E. Mediastinoscopy: a method for inspection and tissue biopsy in the superior mediastinum. *Dis Chest* 1959;36:343-52.
19. Rusch VW, Asamura H, Watanabe H, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: a proposal for a new international lymph node map in the forthcoming 7th edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2009; 4:568–577
20. Catarino PA, Goldstraw P. The future diagnosis and staging of lung cancer. *Surgical techniques. Respiration* 2006;73:717-32.
21. Sortini A, Navarra G, Santini M, et al. Video-assisted mediastinoscopy. A new application of television technology in surgery. *Minerva Chir* 1994;49:803-5.
22. Ginsberg RJ, Rice TW, Goldberg M, et al. Extended cervical mediastinoscopy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987;94:673-8.
23. McNeill TM, Chamberlain JM. Diagnostic anterior mediastinotomy. *Ann Thorac Surg* 1966;2:532-539.
24. Witte B, Wolf M, Huertgen M, et al. Video-assisted mediastinoscopic surgery: clinical feasibility and accuracy of mediastinal lymph node staging. *Ann Thorac Surg* 2006;82:1821-7.
25. Kuzdzal J, Zielinski ; Papla B, et al. The transcervical extended mediastinal lymphadenectomy versus cervical mediastinoscopy in non-small cell lung cancer staging. *Eur J Cardio-thor Surg* 2007;31:88-94.

26. DeCamp MM Jr, Jaklitsch MT, Mentzer SJ, et al. The safety and versatility of video-thoracoscopy: a prospective analysis of 895 consecutive cases. *J Am Coll Surg* 1995;181:113-120.
27. Sebastian-Quetglas F, Molins L, Baldo X, et al. Spanish video-assisted thoracic surgery study group: clinical value of video-assisted thoracoscopy for preoperative staging of non-small cell lung cancer. A prospective study of 105 patients. *Lung Cancer* 2003;42:297-301.
28. Wang KP, Terry P, Marsh B. Bronchoscopic needle aspiration biopsy of paratracheal tumours. *Am Rev Respir Dis* 1978;118:17-21.
29. Wang KP, Terry P. Transbronchial needle aspiration in the diagnosis and staging of bronchogenic carcinoma. *Am Rev Respir Dis* 1983;127:344-7.
30. Wang KP, Brower R, Haponik EF, Siegelman S. Flexible transbronchial needle aspiration for staging of bronchogenic carcinoma. *Chest* 1983;84:571-6.
31. Shure D, Fedullo PF. The role of transcarinal needle aspiration in the staging of bronchogenic carcinoma. *Chest* 1984;86:693-6.
32. Sanz J, Saab M, Castellà E, Rosell A, Llatjós M, Monsó E. Rendimiento de la punción aspirativa transtraqueal y transbronquial para el diagnóstico anatomopatológico de la neoplasia broncopulmonar. *Rev Oncol* 2004;6:439-42.
33. Harrow EM, Abi-Saleh EV, Blum J, Harkin T, Gasparini S, Addrizzo-Harris DJ, et al. The utility of transbronchial needle aspiration in the staging of bronchogenic carcinoma. *Am J Respir Crit Care Med* 200;161:601-7.
34. Patelli M, Agli LL, Poletti V, Trisolini R, Cancellieri A, Lacava N, et al. Role of fiberscopic transbronchial needle aspiration in the staging of N2 disease due to non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2002;73:407-11.
35. Fernández-Villar A, Iglesias F, Mosteiro M, Corbacho D, González A, Blanco P, et al. Factores predictores del resultado de la punción-aspiración transtraqueal de adenopatías mediastínicas neoplásicas. *Arch Bronconeumol* 2005;41:434-8.
36. Wiersema, MJ, Hassig, WM, Hawes, RH, et al. Mediastinal lymph node detection with endosonography. *Gastrointest Endosc* 1993;39:788-793.

37. Catalano, MF, Sivak, MV, Jr, Rice, T, et al Endosonographic features predictive of lymph node metastasis. *Gastrointest Endosc* 1994;40,442-446.
38. Bhutani, MS, Hawes, RH, Hoffman, BJ A comparison of the accuracy of echo features during endoscopic ultrasound (EUS) and EUS-guided fine-needle aspiration for diagnosis of malignant lymph node invasion. *Gastrointest Endosc* 1997;45,474-479.
39. Micames CG, McCrory DC, Pavey DA, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for non-small cell lung cancer staging: A systematic review and metaanalysis. *Chest*. 2007;131:539-48.
40. Herth FJ, Becher HD, Ernst A. Ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: an experience in 242 patients. *Chest* 2003;123:604-7.
41. Herth FJ, Becher HD, Ernst A. Conventional vs endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: A randomized trial. *Chest* 2004;125:322-5.
42. Herth FJF, Ernst A, Eberhardt R, Vilmann P, Dienemann H, Krasnik M. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of lymph nodes in the radiologically normal mediastinum. *Eur Respir J* 2006; 28:910-914.
43. Herth FJ, Eberhardt R, Krasnik M, Ernst A. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of lymph nodes in the radiologically and PET normal mediastinum in patients with lung cancer. *Chest* 2008;133:887-91.
44. Gu P, Zhao YZ, Jiang LY, Zhang W, Xin Y, Han BH. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for staging of lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009;45:1389-96.
45. Varela-Lema L, Fernández-Villar A, Ruano-Ravina A. Effectiveness and safety of endobronchial ultrasound-transbronchial needle aspiration: a systematic review. *Eur Respir J* 2009;33:1156-64.
46. Lee HS, Lee GK, Lee HS, et al. Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in mediastinal staging of non-small cell lung cancer: how many aspirations per target lymph node station? *Chest* 2008;134:368-74.

47. Garcia-Olivé I, Monsó E, Andreo F, et al. Sensitivity of linear endobronchial ultrasonography and guided transbronchial needle aspiration for the identification of nodal metastasis in lung cancer staging. *Ultrasound in Medicine and Biology* 2009;35:1271-77.
48. Garcia-Olivé I, Valverde Forcada EX, Andreo García F, et al. La ultrasonografía endobronquial lineal como instrumento de diagnóstico inicial en el paciente con ocupación mediastínica. *Arch Bronconeumol* 2009;45:266-70.
49. Garcia-Olivé I, Monsó E, Andreo F, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for identifying EGFR mutations. *Eur Resp J* 2010;35:391-5.
50. Krasnik M, Vilmann P, Larsen SS, Jacobsen GK. Preliminary experience with a new method of endoscopic transbronchial real time ultrasound guided biopsy for diagnosis of mediastinal and hilar lesions. *Thorax* 2003;58:887-91.
51. Yasufuku K, Chhajed PN, Sekine Y, et al. Endobronchial ultrasound using a new convex probe: A preliminary study on surgically resected specimens. *Oncol Rep* 2004;11:293-6.
52. Yasufuku K, Chiyo M, Sekine Y, et al. Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of mediastinal and hilar lymph nodes. *Chest* 2004;126:122-8.
53. Larsen SS, Vilmann P, Krasnik M, et al. Endoscopic ultrasound guided biopsy versus mediastinoscopy for analysis of paratracheal and subcarinal lymph nodes in lung cancer staging. *Lung Cancer* 2005;48:85-92.
54. Rintoul RC, Skwarski KM, Murchison JT, et al. Endobronchial and endoscopic ultrasound-guided real-time needle aspiration for mediastinal staging. *Eur Respir J* 2005;4:16-21.
55. Yasufuku K, Chiyo M, Koh E, et al. Endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for staging of lung cancer. *Lung Cancer* 2005;50:347-54.
56. Vilmann P, Krasnik M, Larsen SS, Jacobsen GK, Clementsen P. Transesophageal endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA) and endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle

- aspiration (EBUS-TBNA) biopsy: a combined approach in the evaluation of mediastinal lesions. *Endoscopy* 2005;37:833-9.
57. Yasufuku K, Nakajima T, Motoori K, et al. Comparison of endobronchial ultrasound, positron emission tomography and CT for lymph node staging of lung cancer. *Chest* 2006;130:710-8.
 58. Herth FJ, Eberhardt R, Vilmann P, et al. Real-time endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for sampling mediastinal lymph nodes. *Thorax* 2006;61:795-8.
 59. Plat G, Pierard P, Haller A, et al. Endobronchial ultrasound and positron emission tomography positive mediastinal lymph nodes. *Eur Respir J* 2006;27:276-81.
 60. Nakajima T, Yasufuku K, Iyoda A, et al. The evaluation of lymph node metastasis by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: crucial for selection of surgical candidates with metastatic lung tumors. *Gen Thorac Surg* 2007;134:1485-90.
 61. Monsó E, Andreo F, Rosell A, Cuéllar P, Castellà E, Llatjós M. Utilidad de la ultrasonografía endobronquial con punción-aspiración en tiempo real para la estadificación de la neoplasia broncopulmonar. *Med Clin (Barc)* 2007;128:481-5.
 62. Wallace MB, Pascual JMS, Raimondo M, et al. Minimally invasive endoscopic staging of suspected lung cancer. *JAMA* 2008;299:540-6.
 63. Bauwens O, Dusart M, Pierard P, et al. Endobronchial ultrasound and value of PET for prediction of pathological results of mediastinal hot spots in lung cancer patients. *Lung Cancer* 2008;61:356-61.
 64. Vincent BD, El-Bayoumi E, Hoffman B, et al. Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial lymph node aspiration. *Ann Thorac Surg* 2008;85:224-30.
 65. Roberts PF, Follette DM, von Haag D, et al. Factors associated with false-positive staging of lung cancer by positron emission tomography. *Ann Thorac Surg* 2000;70:1154-9.
 66. Ozawa Y, Hara M, Sakurai K, et al. Diagnostic accuracy of 18-F-2-deoxy-fluoro-D-glucose positron emission tomography for pN2 lymph nodes in patients with lung cancer. *Acta Radiol* 2010;51:150-5.

67. Tasci E, Tezel C, Orki A, et al. The role of integrated positron emission tomography and computed tomography in the assessment of nodal spread in cases with non-small cell lung cancer. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2010;10:200-3.
68. Vilmann P, Puri R. The complete "medical" mediastinoscopy (EUS-FNA + EBUS-TBNA). *Minerva Med* 2007;98:331-8.
69. Gottlieb K, Wallace MB. Estadificación del cáncer de pulmón mediante punción aspirativa con aguja fina guiada por ultrasonografía endoscópica y endobronquial. *Arch Bronconeumol* 2009;45:603-10.
70. Szulobowski A, Zielinski M, Soja J, et al. A combined approach of endobronchial and endoscopic ultrasound guided needle aspiration in the radiologically normal mediastinum in non-small-cell lung cancer staging- a prospective trial. *Eur J Cardiothorac Surg* (pendent de publicació)
71. Herth FJF, Krasnik M, Kahn N, Eberhardt R, Ernst A. Combined endoesophageal-endobronchial ultrasound-guided, fine-needle aspiration of mediastinal lymph nodes through a single bronchoscope in 150 patients with suspected lung cancer. *Chest* (pendent de publicació)
72. Sakairi Y, Yasufuku K, Iyoda A, et al. A solitary metastatic lung tumor from thyroid papillary carcinoma diagnoses by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA). *Surg Today* 2008;38:46-8.
73. Annema JT, Veselic M, Rabe KF. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for the diagnosis of sarcoidosis. *Eur Respir J* 2005;25:405-9.
74. Wong M, Yasufuku K, Nakajima T, et al. Endobronchial ultrasound: new insight for the diagnosis of sarcoidosis. *Eur respir J* 2007;29:1182-6.
75. Oki M, Saka H, Kitagawa C, et al. Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration is useful for diagnosing sarcoidosis. *Respirology* 2007;12:863-8.
76. Garwood S, Judson MA, Hoda R, Fraig M, Doelken P. Endobronchial ultrasound for the diagnosis of pulmonary sarcoidosis. *Chest* 2007;132:1298-304.
77. Tremblay A, Stather DR, MacEachern P, et al. A randomized controlled trial of standard vs endobronchial ultrasonography-guided transbronchial

- needle aspiration in patients with suspected sarcoidosis. *Chest* 2009;136:340-6.
78. Gilman MJ, Wang KP. Transbronchial lung biopsy in sarcoidosis: an approach to determine the optimal number of biopsies. *Am Rev Respir Dis* 1980;122:721-4.
 79. Newman LS, Rose CS, Maier LA. Sarcoidosis. *N Engl J Med* 1997;336:1224-34.
 80. Statement on sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:736-55.
 81. Dempsey OJ, Paterson EW, Kerr KM, et al. Sarcoidosis. *BMJ* 2009;339:620-5.
 82. Nakajima T, Yasufuku K, Kurosu K, et al. The role of EBUS-TBNA for the diagnosis of sarcoidosis—comparisons with other bronchoscopic diagnostic modalities. *Respir Med* 2009;103:1796-800.
 83. Fritscher-Ravens A, Sriram PV, Bobrowski C, et al. Mediastinal lymphadenopathy in patients with or without previous malignancy: EUS-FNA-based differential cytodiagnoses in 153 patients. *Am J Gastroenterol* 2000;95:2278-84.
 84. Kennedy MP, Jiménez CA, Mhatre AD, et al. Clinical implications of granulomatous inflammation detected by endobronchial ultrasound transbronchial needle aspiration in patients with suspected cancer recurrence in the mediastinum. *J Cardiothorac Surg* 2008;3:8-12.
 85. Kennedy MP, Jiménez CA, Bruzzi JF, et al. Endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration in the diagnosis of lymphoma. *Thorax* 2008;63:295-6.
 86. Ribeiro A, Vázquez-Sequeiros E, Wiersema LM, et al. EUS-guided fine-needle aspiration combined with flow cytometry and immunocytochemistry in the diagnosis of lymphoma. *Gastroint Endosc* 2001;53:485-91.
 87. Tournoy KG, Rintoul RC, van Meerbeeck JP, et al. EBUS-TBNA for the diagnosis of central parenchymal lung lesions not visible at routine bronchoscopy. *Lung Cancer* 2009;63:45-9.
 88. Eckardt J, Petersen HO, Hakami-Kermani A, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of undiagnosed intrathoracic lesions. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2009;9:232-5.

89. Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999;82:241-50.
90. Park J, Park BB, Kim JY et al. Gefitinib (ZD1839) monotherapy as a salvage regimen for previously treated advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4383-88.
91. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004; 350: 2129-39.
92. Cortes-Funes H, Gomez C, Rosell R, et al. Epidermal growth factor receptor activating mutations in Spanish gefitinib-treated non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol* 2005; 16: 1081-86.
93. Taron M, Ichinose Y, Rosell R, et al. Activating mutations in the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor are associated with improved survival in gefitinib-treated chemorefractory lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 5878-85.
94. Rosell R, Ichinose Y, Taron M, et al. Mutations in the tyrosine kinase domain of the EGFR gene associated with gefitinib response in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2005; 50: 25-33.
95. Han SW, Kim TY, Hwang PG, et al. Predictive and prognostic impact of epidermal growth factor receptor mutation in non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *J Clin Oncol* 2005;23:2493-501.
96. Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, et al. Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005;25:13-20.
97. Shih J-Y, Gow c-h, Yu C-J, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in needle biopsy/aspiration samples predict response to gefitinib therapy and survival of patients with advanced non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2006;118: 963-69.
98. Rosell R, Perez-Roca L, Sanchez JJ, et al. Customized treatment in non-small-cell lung cancer based on EGFR mutations and BRCA1 mRNA expression. *PLoS ONE* 2009; 4(5):e5133.
99. Bendedetti G, Latini L, Galetta D, Colucci G, Crino L. Epidermal growth factor receptor exon 19 deletions predict complete regression of multiple

- intracranial metastases in two cases of non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *J Thorac Oncol* 2009;4:936-7.
100. Kaira K, Naito T, Takahashi T, Ayabe E, Shimoyama R, Kaira R, et al. Pooled analysis of the reports of erlotinib after failure of gefitinib for non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009; Jun 18 (Epub ahead of print).
 101. Zhou ZT, Xu XH, Wei O, Lu MO, Wang J, Wen CH. Erlotinib in advanced non-small-cell lung cancer after gefitinib failure. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009;64:1123-7.
 102. Fujita S, Mio T, Sonobe M, et al. Accuracy of epidermal growth factor receptor mutation analysis on the basis of small biopsy specimens in patients with nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2006; 119: 1751-1752.
 103. Oshita F, Matsukuma S, Yoshihara M, et al. Novel heteroduplex method using small cytology specimens with a remarkably high success rate for analysing EGFR gene mutations with a significant correlation to gefinitib efficacy in non-small-cell lung cancer. *Brit J Cancer* 2006; 95: 1070-5.
 104. Kimura H, Fujiwara Y, Sone T, et al. High sensitivity detection of epidermal growth factor receptor mutations in the pleural effusion of non-small cell lung cancer patients. *Cancer Sci* 2006; 97: 642-8.
 105. Kimura H, Kasahara K, Kawaishi M, et al. Detection of epidermal growth factor receptor mutations in serum as a predictor of the response to gefinitib in patients with non-small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3915-21.
 106. Horiike A, Kimura H, Nishio K, et al. Detection of epidermal growth factor receptor mutation in transbronchial needle aspirates of non-small cell lung cancer. *Chest* 2007; 131: 1628-34.
 107. Nakajima T, Yasufuku K, Suzuki M, et al. Assessment of epidermal growth factor receptor mutation by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Chest* 2007; 132: 597-602.
 108. Paez JG, Janne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefinitib therapy. *Science* 2004;304:1497-500.

109. Tokumo M, Toyooka S, Kiura K, et al. The relationship between epidermal growth factor receptor mutations and clinicopathologic features in non-small cell lung cancers. *Clin Cancer Res* 2005;11:1167-73.
110. Bai H, Mao L, Wang HS, Zhao J, Yang L, An TT, et al. Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Plasma DNA Samples Predict Tumor Response in Chinese Patients With Stages IIIB to IV Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27:2653-9.
111. Sasaki H, Shimizu S, Okuda K, Kawano O, Yukiue H, Yano M, et al. Epidermal growth factor receptor gene amplification in surgical resected Japanese lung cancer. *Lung Cancer* 2009; 64:295-300.
112. Toloza EM, Harpole L, Detterbeck F, et al. Invasive staging of non-small cell lung cancer. A review of the current evidence. *Chest* 2003;123:157S-166S.
113. Steinfort DP, Johnson DF, Irving LB. Incidence of bacteraemia following endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Eur Respir J* (pendent de publicació).
114. Douadi Y, Bentayeb H, Malinowski S, et al. Anaesthesia for bronchial echoendoscopy: experience with the laryngeal mask. [Anesthésie en échoendoscopie bronchique: expérience du masque laryngé]. *Rev Mal Respir* 2010;27:37-41.
115. Catalano MF, Nayar R, Gress F, et al. EUS-guided fine needle aspiration in mediastinal lymphadenopathy of unknown etiology. *Gastrointest Endosc* 2002;55:863-9.
116. Schmulewitz N, Wildi SM, Varadarajulu S, et al. Accuracy of EUS criteria and primary tumor site for identification of mediastinal lymph node metastasis from non-small-cell lung cancer. *Gastrointest Endosc* 2004;59:205-12.
117. Micames CG, McCrory DC, Pavey DA, Jowell PS, Gress FG. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for non-small cell lung cancer staging: A systematic review and metaanalysis. *Chest* 2007;131:539-48.

XI. AGRAÏMENTS

A l'Eduard Monsó. Sense la seva tasca les publicacions no haurien estat possibles, i sense la seva generositat aquesta tesi no hauria existit.

Al Joan Ruiz, pels seus consells a l'hora d'escriure la tesi.

A la Unitat de Broncoscòpia: Felipe Andreo, Jose Sanz, Adoración Ruiz i Adela Barrios. Aquest treball hauria estat impossible sense tots ells.

A tots els autors dels diferents treballs que conformen aquesta tesi, especialment a l'Eva Castellà i la Mariona Llatjós, per la feina per les publicacions i les imatges que m'han proporcionat, i al Miquel Taron, per estar sempre disponible per a les meves consultes.

Al Pedro López de Castro per assessorar-me amb algunes tècniques quirúrgiques absolutament desconegudes per a mi.

A l'Ignasi Guasch, per procurar-me algunes de les imatges de TC utilitzades a la tesi.

A la Sandra Alonso per resoldre els meus problemes amb la informàtica.

A la Mary Ellen Kerans, per l'assessorament lingüístic.

A la Societat Espanyola de Pneumologia (SEPAR), per la Beca Becario de l'any 2008.

Al Josep Morera, per haver facilitat els mitjans que han permès la realització de la tècnica i, finalment, aquesta tesi.

Finalment als meus pares, per tot (incloses les gestions que han fet per a la tesi), i a la Montse, pel seu suport, per la seva paciència, i perquè fa que qualsevol tasca sigui més fàcil i divertida.

XII. ANNEX

ALTRES ARTICLES RELACIONATS

ARTICLE I: Article de revisió

Detection of epidermal growth factor receptor mutations in samples obtained with endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: a short review.

Ignasi Garcia-Olivé, José Sanz-Santos, Felipe Andreo i Eduard Monsó.

Annals of Respiratory Medicine 2010;1:85-8.

Detection of Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Samples obtained with Endobronchial Ultrasound-Guided Transbronchial Needle Aspiration: A Short Review

Ignasi Garcia-Olivé^{1,2}, José Sanz-Santos¹, Felipe Andreo^{1,3} and Eduard Monsó^{1,3}

Affiliations: ¹Respiratory Service, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Catalunya, Spain; ²Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Spain and ³Ciber de Enfermedades Respiratorias—CibeRes, Bunyola, Spain

ABSTRACT

The presence of somatic mutations of the tyrosine kinase (TK) domain of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) correlates with a good response to TK inhibitors. The objective of this review was to assess the usefulness of real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA) in detecting EGFR mutations in cells recovered from malignant mediastinal nodes from patients with lung adenocarcinoma. A systematic review was carried out in September 2009, and we found that two studies had investigated the usefulness of EBUS-TBNA for obtaining tissue samples from mediastinal and hilar nodes to analyze EGFR gene mutations. Most patients had advanced-stage disease. The feasibility of performing an EGFR gene analysis of the EBUS-TBNA sample ranged from 72.2% to 93.5% in patients with lymph node metastases. Prevalence of EGFR mutations ranged from 9.8% to 25.6%. In conclusion, samples obtained by EBUS-TBNA in patients with lung adenocarcinoma are suitable for the detection of EGFR gene mutations.

Keywords: real-time endobronchial ultrasonography needle aspiration (EBUS), epidermal growth factor receptor (EGFR), adenocarcinoma, lung cancer

Correspondence: Ignasi Garcia-Olivé, Respiratory Service, Hospital Germans Trias i Pujol, Carretera de Canyet s/n, 08916 Badalona, Catalunya, Spain. Tel: (34)-934-978920; Fax: (34)-934-978722; e-mail: ignasi.g.olive@gmail.com

INTRODUCTION

Receptor tyrosine kinases (RTKs) are high-affinity cell surface receptors for many polypeptide growth factors. They are transmembrane proteins with an extracellular ligand-binding and an intracellular catalytic tyrosine kinase (TK) domain that catalyze the transfer of phosphate from adenosine triphosphate (ATP) to tyrosine residues in polypeptides. RTKs have been shown to be not only key regulators of normal cellular processes, such as proliferation and survival, but also play a critical role in the development and progression of many types of cancer [1]. In non-small cell lung cancer (NSCLC), the presence of somatic mutations of the genes coding the TK domain of epidermal growth factor receptor (EGFR) correlates with a good response to TK inhibitors such as gefitinib [2–9] or erlotinib [10]. These mutations consist of small, in-frame deletions or substitutions clustered around the ATP-binding site in exons 18, 19, and 21 of the EGFR gene. In most of the reports that have indicated the presence of these mutations, tissue samples had been obtained surgically [8, 9]. At the moment of diagnosis, however, advanced staging precludes the use of surgery as a first therapeutic approach in a large number of patients, limiting the availability of tissue samples for this kind of analysis [11]. Non-surgical approaches to tissue sampling are required to increase the proportion of cases in which tumor tissue is available for genetic examination. This is

the reason why some reports have focused on proving that it is feasible to detect EGFR mutations in non-surgical specimens, which is important, considering that most patients with lung cancer have a disseminated stage of the disease at diagnosis. In these studies, EGFR mutations have been detected, for example, in effusion cell blocks [12] and blood samples [13]. Shih *et al* [14] reported that the presence of EGFR mutations on needle aspiration samples from lung tumors correlates with a better outcome in these patients. More recently, different studies have demonstrated that EGFR mutations could be detected in samples from metastatic lymph nodes obtained using either transbronchial needle aspiration (TBNA) [15] or endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA) [16, 17], with the advantage in the case of EBUS-TBNA that sampling can be repeated under direct ultrasound visualization of the node.

In this review, we have investigated the usefulness of EBUS-TBNA to obtain tissue samples from mediastinal and hilar nodes to analyze EGFR gene mutations.

METHODS

Bibliographic search and selection of papers

For study purposes, a bibliographic search was conducted in September 2009. The following medical databases were

searched: MedLine; Cochrane Library Plus; National Health Service Centre for Reviews and Dissemination. A common search strategy was used for all these databases, employing the terms (“endobronchial ultrasound” OR “endobronchial ultrasonography” OR “EBUS”) AND (“epidermal growth factor receptor” OR “EGFR”). No time limits were specified. Only original papers in English were included.

RESULTS

Only two papers matched the selection criteria, and both of them are included in this short review.

Patient characteristics and usefulness of EBUS-TBNA to detect EGFR mutations

Patient characteristics are described in **Table 1**. Patients had similar mean age in both studies, and most of them were men. In the study by Nakajima and coworkers [16], all patients had lung adenocarcinoma, whereas in the study by Garcia-Olivé *et al* [17], 11 patients had unspecified non-small cell lung cancer (NSCLC). In both studies, less than 10% of the patients were in stage I or II. EBUS-TBNA detected lymph node metastasis in 46 patients (100%) in the study by

Table 1. Patient Characteristics

	Nakajima [16]	Garcia-Olivé [17]
N	43	51
Age (years), mean (SD)	64 (20)	62.6 (9.1)
Gender (female), n (%)	13 (30)	10 (19.6)
Diagnosis, n (%)		
Adenocarcinoma	43 (100)	40 (78.4)
Unspecified NSCLC	0 (0)	11 (21.6)
Stage, n (%)		
IIA	0 (0)	2 (3.9)
IIB	3 (6.9)	3 (5.9)
IIIA	19 (44.1)	19 (37.3)
IIIB	10 (23.2)	9 (17.6)
IV	3 (6.9)	18 (35.3)
Recurrence	8 (18.6)	0 (0)
Lymph node metastasis by EBUS-TBNA, n (%)	46 (100)	36 (70.6)
EBUS-TBNA sample with EGFR analysis feasible, n (%)	43 (93.5)	26 (72.2)
EGFR mutation status, n (%)		
Present	11 (25.6)	5 (9.8)
Exon 19	1 (2.3)	2 (3.9)
Exon 21	10 (23.3)	3 (5.9)
Wild-type	32 (74.4)	46 (90.2)

NSCLC, non-small cell lung carcinoma; EBUS-TBNA, endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration; EGFR, epidermal growth factor receptor.

Nakajima *et al* [16], and in 36 (70.6%) in the study by Garcia-Olivé *et al* [17]. Of these patients with lymph node metastasis, it was feasible to perform an EGFR gene analysis of the EBUS-TBNA sample in 43 out of 46 patients (93.5%) in the study by Nakajima and colleagues [16], and in 26 out of 36 patients (72.2%) in the study by Garcia-Olivé *et al* [17].

In the study by Nakajima *et al* [16] (**Table 2**), somatic mutations of the EGFR gene were present in 11 patients (25.6%), and in the other study (**Table 3**), five patients presented the mutation (9.8%). In two of these five patients (40%), a sample was obtained by real-time EBUS-TBNA. In both studies, mutation occurred mainly on exon 21. No mutations were detected in unspecified NSCLC patients in the study by Garcia-Olivé and coworkers [17].

Safety of the procedure

No complications were described in either of the two studies reviewed.

DISCUSSION

Since EGFR was first signaled as an interesting target for cancer chemotherapy [18], numerous reports have demonstrated that the presence of somatic mutations of the EGFR correlates with a good response to TK inhibitors such as gefinitib [2–9] or erlotinib [10]. And, since then, many studies have reported that the analysis for mutations is made in smaller and smaller samples [19], and EGFR mutations have been detected in pleural effusion [12], serum [13], or needle aspiration samples, either transthoracic [14] or endobronchial [1–17].

Our objective in this review was to assess the usefulness of real-time EBUS-TBNA for obtaining tissue samples from mediastinal and hilar nodes to analyze EGFR gene mutations. Real-time EBUS-TBNA is a relatively new technique, which consists of the performance of transbronchial needle aspiration under direct ultrasound visualization of mediastinal and hilar nodes. Since it

Table 2. Patients with EGFR Mutations (Nakajima) [16]

Patient	Age (years)	Gender	Pathology	Mutation exon
1	70	Female	Adenocarcinoma	21 (L858R)
2	69	Female	Adenocarcinoma	19 (E746–A750del(2236–2250del))
3	66	Female	Adenocarcinoma	21 (L858R)
4	80	Female	Adenocarcinoma	21 (L858R)
5	64	Female	Adenocarcinoma	21 (L858R)
6	67	Female	Adenocarcinoma	21 (L858R+ L861V)
7	44	Male	Adenocarcinoma	21 (L858R)
8	63	Male	Adenocarcinoma	21 (L858R)
9	45	Male	Adenocarcinoma	21 (L858R)
10	54	Male	Adenocarcinoma	21 (L858R)
11	71	Male	Adenocarcinoma	21 (L858R)

EGFR, epidermal growth factor receptor.

Table 3. Patients with EGFR Mutations (Garcia-Olivé) [17]

Patient	Age (years)	Gender	Pathology	Mutation exon
1	62	Male	Adenocarcinoma	21(L858R)
2	47	Female	Adenocarcinoma	21(L858R)
3	69	Male	Adenocarcinoma	19 (745–750+ inserC 9 bp)
4	70	Female	Adenocarcinoma	21(L858R)
5	71	Male	Adenocarcinoma	19 (751–759+ inserA 24 bp)

EGFR, epidermal growth factor receptor.

was first reported in 2004 [20], many studies have demonstrated its usefulness in staging and diagnosing lung cancer [21–23], diagnosing mediastinal disease of unknown etiology [24], and the two reviewed articles, which have focused on analyzing EGFR mutations [16, 17]. The increase in the number of applications of this technique, and the fact that it has demonstrated its effectiveness and safety [25], makes it a very interesting tool for pulmonologists and/or thoracic surgeons.

These two articles have many aspects in common. First, the patients have similar mean age and are mainly man. Second, very few patients (in fact less than 10% in both papers) are in stage I or II. And last, in those patients in whom mutation was present, it was settled in exon 21, which is not in line with later findings by other groups [10].

At the same time, these papers differ in a few points. To start with, in the work by Nakajima and colleagues [16], only patients with adenocarcinoma were included, whereas in the paper by Garcia-Olivé *et al* [17], they also included unspecified NSCLC. And second, prevalence of EGFR mutations is slightly higher in the study by Nakajima and colleagues (25.6%) [16] than in the study by Garcia-Olivé *et al* (9.8%) [17].

There are two possible explanations for this finding. First, as stated said Garcia-Olivé *et al* [17] included patients without well-differentiated adenocarcinoma, and no mutation was detected in any of these patients, which could be justified by the small number of patients and the fact that EGFR mutations are more often found in adenocarcinomas than in NSCLC [4]. Second, patients in the study by Nakajima *et al* [16] were Asian, whereas in the study by Garcia-Olive and colleagues [17], patients were Caucasian, and it is widely accepted that mutations are more frequent in never smokers, adenocarcinoma, women, and the Asian population.

To the best of our knowledge, there are no other studies with regard to EBUS-TBNA and EGFR gene mutations or other genetic changes that could be useful for customizing treatment, but hopefully these two articles will not be the last for, as the future will lead to individualized treatment in NSCLC [26], minimally invasive and safe techniques will be needed to obtain tissue samples.

CONCLUSION

The presence of somatic mutations of the EGFR gene in patients with NSCLC correlates with a good response to TK inhibitors.

Samples obtained by EBUS-TBNA in these patients are suitable for the detection of EGFR mutations. EBUS-TBNA is a non-surgical safe technique, which can be useful to avoid the performance of surgical procedures to obtain samples in which genetic studies can be performed. However, it requires further validation in larger groups of patients.

Disclosure: I Garcia-Olivé, J Sanz-Santos, F Andreo and E Monsó do not have any financial or personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence their work in the present study.

Acknowledgments: Our work has been supported by funds from the CIBER de Enfermedades Respiratorias—CibeRes, Fondo de Investigación Sanitaria FIS 070170, Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR), Societat Catalana de Pneumologia (SOCAP), Asociación Española de Endoscopia Respiratoria (AEER), and Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Cáncer RTICC RD06/0020/0056. Ciber de Enfermedades Respiratorias—CibeRes is an initiative of Instituto de Salud Carlos III.

REFERENCES

- Krause DS, Van Etten RA. Tyrosine kinases as targets for cancer therapy. *N Engl J Med.* 2005;353:172–187.
- Park J, Park BB, Kim JY, *et al.* Gefitinib (ZD1839) monotherapy as a salvage regimen for previously treated advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10:4383–4388.
- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, *et al.* Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med.* 2004;350:2129–2139.
- Cortes-Funes H, Gomez C, Rosell R, *et al.* Epidermal growth factor receptor activating mutations in Spanish gefitinib-treated non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol.* 2005;16:1081–1086.
- Taron M, Ichinose Y, Rosell R, *et al.* Activating mutations in the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor are associated with improved survival in gefitinib-treated chemorefractory lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res.* 2005;11:5878–5885.
- Rosell R, Ichinose Y, Taron M, *et al.* Mutations in the tyrosine kinase domain of the EGFR gene associated with gefitinib response in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2005;50:25–33.
- van Puijenbroek R, Bosquée L, Meert A-P. Gefitinib monotherapy in advanced nonsmall cell lung cancer: a large Western community implementation study. *Eur Respir J.* 2007;29:128–133.
- Han SW, Kim TY, Hwang PG, *et al.* Predictive and prognostic impact of epidermal growth factor receptor mutation in non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *J Clin Oncol.* 2005;23:2493–2501.
- Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, *et al.* Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2005;25:2513–2520.
- Rosell R, Moran T, Queralt, *et al.* Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med.* 2009;361:958–967.
- Datta D, Lahiri B. Preoperative evaluation of patients undergoing lung resection surgery. *Chest.* 2003;123:2096–2103.
- Kimura H, Fujiwara Y, Sone T, *et al.* High sensitivity detection of epidermal growth factor receptor mutations in the pleural effusion of non-small cell lung cancer patients. *Cancer Sci.* 2006;97:642–648.
- Kimura H, Kasahara K, Kawaiishi M, *et al.* Detection of epidermal growth factor receptor mutations in serum as a predictor of the response to gefitinib in patients with non-small-cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2006; 12:3915–3921.
- Shih J-Y, Gow C-H, Yu C-J, *et al.* Epidermal growth factor receptor mutations in needle biopsy/aspiration samples predict response to gefitinib therapy and survival of patients with advanced nonsmall dell lung cancer. *Int J Cancer.* 2006;118:963–969.
- Horiike A, Kimura H, Nishio K, *et al.* Detection of epidermal growth factor receptor mutation in transbronchial needle aspirates of non-small cell lung cancer. *Chest.* 2007;131:1628–1634.

16. Nakajima T, Yasufuku K, Suzuki M, et al. Assessment of epidermal growth factor receptor mutation by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Chest*. 2007;132:597–602.
17. Garcia-Olivé I, Monsó E, Andreo F, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for identifying epidermal growth factor receptor mutations. *Eur Respir J*. 2010 Feb;35(2):391–395.
18. Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther*. 1999;82:241–250.
19. Molina-Vila MA, Bertran-Alamillo J, Reguart N, et al. A sensitive method for detecting EGFR mutations in non-small cell lung cancer samples with few tumor cells. *J Thorac Oncol*. 2008;3:1224–1235.
20. Yasufuku K, Chiyo M, Sekine Y, et al. Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of mediastinal and hilar lymph nodes. *Chest*. 2004;126:122–128.
21. Yasufuku K, Chiyo M, Koh E, et al. Endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for staging of lung cancer. *Lung Cancer*. 2005;50:347–354.
22. Hertz FJ, Eberhardt R, Vilmann P, et al. Real-time endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for sampling mediastinal lymph nodes. *Thorax*. 2006;61:795–798.
23. Garcia-Olivé I, Monsó E, Andreo F, et al. Sensitivity of linear endobronchial ultrasonography and guided transbronchial needle aspiration for the identification of nodal metastasis in lung cancer staging. *Ultrasound Med Biol*. 2009;35:1271–1277.
24. Garcia-Olivé I, Valverde Forcada EX, Andreo García F, et al. Linear endobronchial ultrasound as the initial diagnostic tool in patients with indications of mediastinal disease. *Arch Bronchopneumol*. 2009;45:266–270.
25. Varela-Lema L, Fernández-Villar, and Ruano-Ravina A. Effectiveness and safety of endobronchial ultrasound-transbronchial needle aspiration: a systematic review. *Eur Respir J*. 2009;33:1156–1164.
26. Santarpia M, Altavilla G, Salazar F, Tarón M, Rosell R. From the bench to the bed: individualizing treatment in non-small-cell lung cancer. *Clin Transl Oncol*. 2006;8:71–76.

ARTICLE II: Article de revisió

Application of real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for lung cancer staging

Ignasi Garcia-Olivé, José Sanz-Santos, Felipe Andreo i Eduard Monsó.

Thoracic Cancer 2010;1:23-7.

MINI REVIEW

Application of real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for lung cancer staging

Ignasi Garcia-Olivé^{1,2}, José Sanz-Santos^{1,2}, Felipe Andreo^{1,3} & Eduard Monsó^{1,3}

1 Respiratory Service, University Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Catalonia, Spain

2 Department of Medicine, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Spain

3 Ciber of Respiratory Diseases-CibeRes, Bunyola, Spain

Keywords

EBUS; linear endobronchial ultrasonography
needle aspiration; lung cancer staging;
real-time endobronchial ultrasonography
needle aspiration.

Correspondence

Ignasi Garcia-Olivé, Respiratory Services,
Hospital Germans Trias i Pujol, Carretera de
Canyet s/n, 08916 Badalona, Catalunya, Spain.
Tel: +34 934978920
Fax: +34 934978722
Email: ignasi.g.olive@gmail.com

Received: 23 November 2009;
accepted 14 December 2009.

doi: 10.1111/j.1759-7714.2010.00005.x

Abstract

Linear endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TBNA) is a recently introduced technique which allows needle aspiration under real-time ultrasound visualization of the node. Although it has been demonstrated as a useful tool in mediastinal staging of lung cancer, it is not used in most institutes worldwide. Our aim with this report is to share our experience using EBUS-TBNA and to make a short review of the literature. We performed a short review on the existing literature on this technique, paying special attention to our experience in this field. EBUS-TBNA has shown to be useful and safe in detecting metastatic mediastinal and/or hilar lymph nodes in patients with lung cancer. It is also useful as a diagnostic tool in other pathological conditions.

Introduction

Transtracheal needle aspiration (TTNA) and transbronchial needle aspiration (TBNA) have been used to assess mediastinal nodes in patients with lung cancer for more than 30 years.^{1–3} Most studies have reported sensitivity over 50% with specificity near to 100% when this technique is performed to detect mediastinal lymph node metastases in patients with bronchogenic carcinoma.^{4–8} Nevertheless, this sensitivity depends on the location of nodes (it is higher for subcarinal and right paratracheal nodes),^{9,10} and on nodal size, and is especially high in nodes with a diameter greater than 20 mm.^{9,11} Due to this variability in sensitivity this technique is underused, being used by only 30% of pulmonologists who perform respiratory endoscopy.^{12,13}

Radial endobronchial ultrasound (EBUS) allows visualization of mediastinal and hilar nodes during TTNA or TBNA, and this has led to an increase in sensitivity, up to 80% when this new technique is used, as it is possible to obtain a radial

ultrasonographic image of the location of the node previous to its puncture.^{14,15}

Subsequently, the emergence of linear EBUS has allowed the performance of TTNA and TBNA under real-time ultrasound visualization of the node, which makes puncture more precise and permits sampling nodes in radiologically normal mediastinum.^{16–18}

Recently, two review articles have assessed the usefulness and safety of EBUS-TBNA in detecting metastatic mediastinal lymph nodes in patients with lung cancer.^{19,20}

Procedure

EBUS consists of a flexible bronchoscope with a distal curved linear probe (Fig 1) that allows ultrasonic imaging and is capable of producing linear parallel scans of the mediastinal and peribronchial tissues. This bronchoscope has a working channel suited to TBNA under direct ultrasound visualization. Local anesthesia and sedation are achieved using a

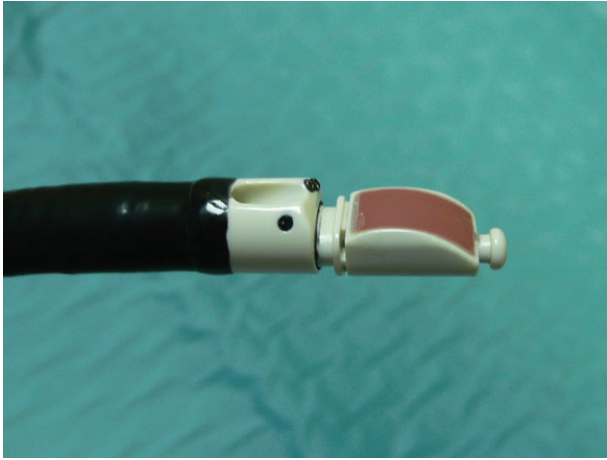


Figure 1 Distal curved linear probe.

topical lidocaine spray and intravenous midazolam, as recommended.^{21,22} Mediastinal (subcarinal [Fig 2], aortopulmonary window, right and left paratracheal [Figs 3, 4] and hilar [Fig 5]) lymph nodes can be explored with the bronchoscope positioned in the trachea or main bronchus, and diameters can be measured. Nodes with a short axis diameter greater than 3 mm detected during the procedure can be sampled¹⁸ under direct ultrasound visualization with a specially designed 21- or 22-gauge cytology needle and rapid on-site cytological examination is performed. All reachable nodes in N3 regions are sampled first, followed by nodes in N2 and N1 regions, until a positive result for malignancy is attained. The obtained material is fixed with 95% ethanol, stained with hematoxylin-eosin and labeled according to whether it had been extracted from a normal node with lymphocytic cells or from a metastatic node with groups of neoplastic cells.

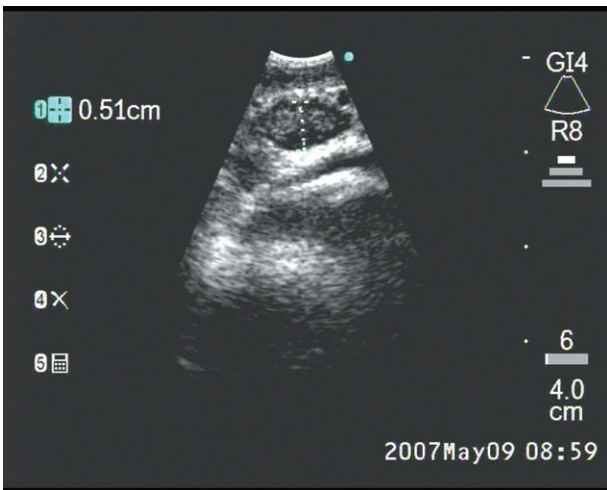


Figure 2 Endobronchial ultrasound of subcarinal node.

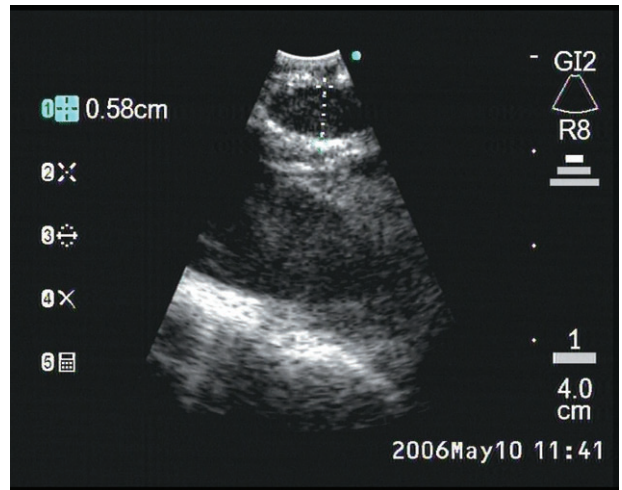


Figure 3 Endobronchial ultrasound of right paratracheal node.

Aspirates containing insufficient material are considered unsatisfactory, and in such cases we repeat the procedure up to three times.²³

Safety

No complications related to the procedure arose during its performance or in the following 48 hours in any of the patients studied in our institution. This is in keeping with what has been reported previously in review articles.^{19,20} According to the literature possible complications could be pneumothorax,²⁴ hypoxemia,²⁵ agitation,²⁶ cough,^{24,26} and presence of blood at the puncture site.²⁷ Nevertheless, these complications are extremely rare.

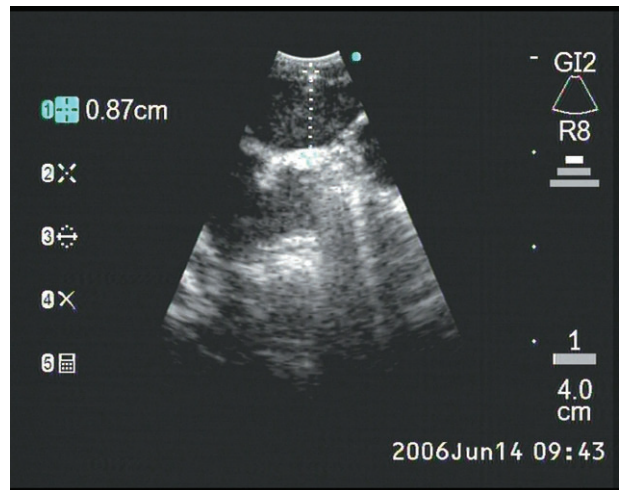


Figure 4 Endobronchial ultrasound of left paratracheal node.

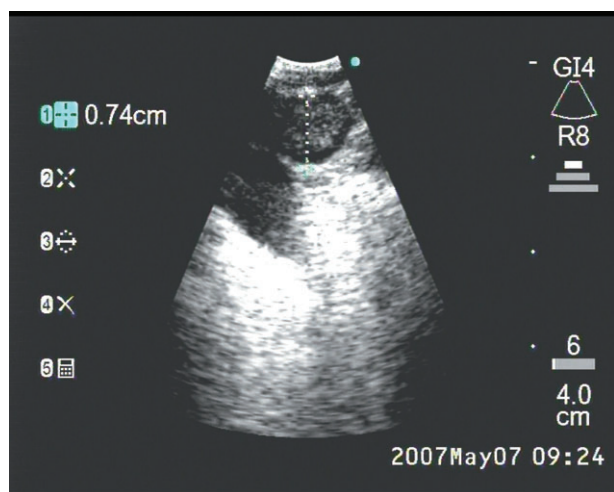


Figure 5 Endobronchial ultrasound of hilar node.

EBUS in lung cancer staging

Since 2003, numerous studies on lung cancer staging have been published.^{14–18,24,25,27–34} In these studies, EBUS-TBNA demonstrated very high sensitivity and specificity. In some of these studies the authors compare EBUS-TBNA with other staging methods, such as computed tomography (CT) or CT-positron emission tomography, showing higher sensitivity and specificity than these imaging techniques.³⁰

Another interesting aspect of EBUS-TBNA is that it is possible to sample nodes of less than 1 cm in size, which would not have been detected by imaging techniques.^{16,18}

The principal limitation of EBUS-TBNA is that it is not possible to visualize and sample prevascular and lower nodes (stations 5, 6, 8 and 9).^{20,30} In our experience, it has been possible to visualize and sample station 5 under certain conditions, especially when there are large nodes.

Unfortunately, there is no evidence that ultrasonographic features of mediastinal lymph nodes (features such as size or echographic heterogeneity) can predict malignancy, so it is necessary to sample all lymph nodes, especially those that are larger and rounder,¹⁸ sampling N3 regions first and, if these punctions do not show malignancy, N2 and N1 regions.

Our experience using this technique is good. We have found that EBUS-TBNA allowed detected enlarged nodes in about 30% of patients with normal mediastinum in CT scan, showing malignancy in 25%.¹⁸ Additionally, in our previous report, it was not necessary to perform a mediastinoscopy in more than half of our patients,¹⁸ which meant a reduction of surgical complications and of economical cost due to the fact that hospitalization was not required.

EBUS as a diagnostic tool

Although most reports have focused on EBUS in lung cancer staging, some authors have reported that EBUS-TBNA is a useful technique for diagnosing lymphoma,³⁵ sarcoidosis,^{36–38} tuberculosis,³⁸ and lung cancer.^{38,39}

Endoscopic ultrasonography and EBUS

It has been reported that the combination of endoscopic ultrasonography (EUS) and EBUS allows near complete, minimally invasive mediastinal staging in patients with lung cancer, and that it can be helpful in avoiding mediastinoscopy in some cases.^{28,33,40}

Conclusion

EBUS-TBNA has shown to be useful and safe in detecting metastatic mediastinal and/or hilar lymph nodes in patients with lung cancer, even in those with radiologically normal mediastinum. It can also be useful as a diagnostic tool in other mediastinal diseases. The combination of EUS-TBNA and EBUS-TBNA can sample nearly the whole mediastinum; this could lead to a decrease in the number of mediastinoscopies performed.

Acknowledgements

Our work has been supported by funds from the CIBER de Enfermedades Respiratorias (CibeRes), Fondo de Investigación Sanitaria FIS 070170, Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR), Societat Catalana de Pneumologia (SOCAP), Asociación Española de Endoscopia Respiratoria (AEER) and Redes Temáticas de Investigación Cooperativa en Cáncer RTICC RD06/0020/0056. Ciber de Enfermedades Respiratorias-CibeRes is an initiative of Instituto de Salud Carlos III.

References

- 1 Wang KP, Terry P, Marsh B. Bronchoscopic needle aspiration biopsy of paratracheal tumours. *Am Rev Respir Dis* 1978; **118**: 17–21.
- 2 Wang KP, Terry P. Transbronchial needle aspiration in the diagnosis and staging of bronchogenic carcinoma. *Am Rev Respir Dis* 1983; **127**: 344–7.
- 3 Wang KP, Brower R, Haponik EF, Siegelman S. Flexible transbronchial needle aspiration for staging of bronchogenic carcinoma. *Chest* 1983; **84**: 571–6.
- 4 Shure D, Fedullo PF. The role of transcarinal needle aspiration in the staging of bronchogenic carcinoma. *Chest* 1984; **86**: 693–6.

- 5 Schenk DA, Bower JH, Bryan CL *et al.* Transbronchial needle aspiration staging of bronchogenic carcinoma. *Am Rev Respir Dis* 1986; **134**: 146–8.
- 6 Shenk DA, Chambers SL, Derdak S. Comparison of the Wang 19-gauge and 22-gauge needles in the mediastinal staging of lung cancer. *Am Rev Respir Dis* 1993; **147**: 1251–8.
- 7 Toloza EM, Harpole L, Detterbeck F, McCrory DC. Invasive staging of non-small cell lung cancer. A review of the current evidence. *Chest* 2003; **123**: S157–66.
- 8 Sanz J, Saab M, Castellà E, Rosell A, Llatjós M, Monsó E. Rendimiento de la punción aspirativa transtraqueal y transbronquial para el diagnóstico anatomopatológico de la neoplasia broncopulmonar. *Rev Oncol* 2004; **6**: 439–42.
- 9 Harrow EM, Abi-Saleh EV, Blum J *et al.* The utility of transbronchial needle aspiration in the staging of bronchogenic carcinoma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; **161**: 601–7.
- 10 Patelli M, Agli LL, Poletti V *et al.* Role of fiberoptic transbronchial needle aspiration in the staging of N2 disease due to non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2002; **73**: 407–11.
- 11 Fernández-Villar A, Iglesias F, Mosteiro M *et al.* Factores predictores del resultado de la punción-aspiración transtraqueal de adenopatías mediastínicas neoplásicas. *Arch Bronconeumol* 2005; **41**: 434–8.
- 12 Wang KP. Continued efforts to improve the sensitivity of transbronchial needle aspiration. *Chest* 1998; **114**: 4–5.
- 13 Smyth CM, Stead RJ. Survey of flexible fiberoptic bronchoscopy in the United Kingdom. *Eur Respir J* 2002; **19**: 458–63.
- 14 Herth FJ, Becher HD, Ernst A. Ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: an experience in 242 patients. *Chest* 2003; **123**: 604–7.
- 15 Herth FJ, Becher HD, Ernst A. Conventional vs endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: A randomized trial. *Chest* 2004; **125**: 322–5.
- 16 Herth FJ, Ernst A, Eberhardt R, Vilmann P, Dienemann H, Krasnik M. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of lymph nodes in the radiologically normal mediastinum. *Eur Respir J* 2006; **28**: 910–4.
- 17 Herth FJ, Eberhardt R, Krasnik M, Ernst A. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of lymph nodes in the radiologically and PET normal mediastinum in patients with lung cancer. *Chest* 2008; **133**: 887–91.
- 18 Garcia-Olivé I, Monsó E, Andreo F *et al.* Sensitivity of linear endobronchial ultrasonography and guided transbronchial needle aspiration for the identification of nodal metastasis in lung cancer staging. *Ultrasound Med Biol* 2009; **35**: 1271–7.
- 19 Gu P, Zhao YZ, Jiang LY, Zhang W, Xin Y, Han BH. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for staging of lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009; **45**: 1389–96.
- 20 Varela-Lema L, Fernández-Villar A, Ruano-Ravina A. Effectiveness and safety of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: a systematic review. *Eur Respir J* 2009; **33**: 1156–64.
- 21 Reed AP. Preparation of the patient for awake flexible fiberoptic bronchoscopy. *Chest* 1992; **101**: 244–53.
- 22 British Thoracic Society Bronchoscopy Guidelines Committee, a Subcommittee of Standards of Care Committee of British Thoracic Society. British Thoracic Society Guidelines on Diagnostic Flexible Bronchoscopy. *Thorax* 2001; **56** (Suppl. 1): 1–21.
- 23 Baker JJ, Solanki PH, Schenk DA, Van Pelt C, Ramzy I. Transbronchial fine needle aspiration of the mediastinum. Importance of lymphocytes as an indicator of specimen adequacy. *Acta Cytol* 1990; **34**: 517–23.
- 24 Bauwens O, Dusart M, Pierard P *et al.* Endobronchial ultrasound and value of PET for prediction of pathological results of mediastinal hot spots in lung cancer patients. *Lung Cancer* 2008; **61**: 356–61.
- 25 Lee HS, Lee GK, Kim MS *et al.* Real-time endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration in mediastinal staging of non-small cell lung cancer: how many aspirations per target lymph node station? *Chest* 2008; **134**: 368–74.
- 26 Plat G, Pierard P, Haller A *et al.* Endobronchial ultrasound and positron emission tomography positive mediastinal lymph nodes. *Eur Respir J* 2006; **27**: 276–81.
- 27 Yasufuku K, Chiyo M, Sekine Y *et al.* Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration of mediastinal and hilar lymph nodes. *Chest* 2004; **126**: 122–8.
- 28 Vilmann P, Krasnik M, Larssen SS, Jacobsen GK, Clementsen P. Transesophageal endoscopic ultrasound-guides fine-needle aspiration (EUS-NNA) and endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration (EBUS-TNA) biopsy: a combined approach in the evaluation of mediastinal lesions. *Endoscopy* 2005; **37**: 833–9.
- 29 Yasufuku K, Chiyo M, Koh E *et al.* Endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for staging of lung cancer. *Lung Cancer* 2005; **50**: 347–54.
- 30 Yasufuku K, Nakajima T, Motoori K *et al.* Comparison of endobronchial ultrasound, positron emission tomography and CT for lymph node staging of lung cancer. *Chest* 2006; **130**: 710–8.
- 31 Herth FJ, Eberhardt R, Vilmann P, Krasnik M, Ernst A. Real-time endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for sampling mediastinal lymph nodes. *Thorax* 2006; **61**: 795–8.
- 32 Ernst A, Anantham D, Eberhardt R, Krasnik M, Herth FJ. Diagnosis of mediastinal adenopathy-real-time endobronchial ultrasound guided needle aspiration versus mediastinoscopy. *J Thorac Oncol* 2008; **3**: 577–82.
- 33 Wallace MB, Pascual JMS, Raimondo M *et al.* Minimally invasive endoscopic staging of suspected lung cancer. *JAMA* 2008; **299**: 540–6.
- 34 Vincent BD, El-Bayoumi E, Hoffman B *et al.* Real-time endobronchial-guided transbronchial needle aspiration. *Ann Thorac Surg* 2008; **85**: 224–30.

- 35 Kennedy MP, Jimenez CA, Bruzzi JF *et al.* Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration in the diagnosis of lymphoma. *Thorax* 2008; **63**: 360–5.
- 36 Oki M, Saka H, Kitagawa C *et al.* Real-time endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration is useful for diagnosing sarcoidosis. *Respirology* 2007; **12**: 863–8.
- 37 Nakajima T, Yasufuku K, Kurosu K *et al.* The role of EBUS-TBNA for the diagnosis of sarcoidosis – comparisons with other bronchoscopic diagnostic modalities. *Respir Med* 2009; **103**: 1796–800.
- 38 Garcia-Olivé I, Valverde Forcada EX, Andreo García F *et al.* [Linear endobronchial ultrasound as the initial diagnostic tool in patients with indications of mediastinal disease]. *Arch Bronconeumol* 2009; **45**: 266–70.
- 39 Gilbert S, Wilson DO, Christie NA *et al.* Endobronchial ultrasound as a diagnostic tool in patients with mediastinal lymphadenopathy. *Ann Thorac Surg* 2009; **88**: 896–900.
- 40 Vilmann P, Puri R. The complete “medical” mediastinoscopy (EUS-FNA + EBUS-TBNA). *Minerva Med* 2007; **98**: 331–8.