



Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Medikuntza Gradua / Grado en Medicina

Estudio retrospectivo; Ecobroncoscopia (EBUS); aplicaciones y validación en el manejo, estadificación y tratamiento del cáncer pulmonar

Serie de 50 casos consecutivos

Egilea /Autor:

Álvaro Núñez Crespo

Zuzendaria / Director/a:

Dr. Juan Carlos Lopez Duque

Servicio de Anatomía Patológica

Unidad Docente del Hospital Universitario de Basurto



INDICE

1.INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIAL Y MÉTODOS	2
2.1 Revisión bibliográfica	2
2.2 Casos clínicos	4
2.3 Circuito de derivación, procedimiento EBUS y realización del citobloque 5	
2.3.1 Circuito de Derivación.....	5
2.3.2 Técnica y procedimiento EBUS	6
2.3.3 Realización de citobloque y pruebas complementarias	9
2.4 Protocolo de revisión de las muestras ebus de los 50 casos consecutivos ..	10
4. RESULTADOS	14
4.1 Casos clínicos vitropath	14
4.2 Serie de casos clínicos consecutivos provisional	20
5. DISCUSIÓN	27
6. CONCLUSIÓN	37
7. BIBLIOGRAFÍA	38

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer pulmonar es uno de los cánceres más frecuentes y la causa más frecuente de muerte por cáncer en ambos sexos a nivel mundial ^{1, 2, 3}. Supone 5 millones de muertes anuales en el mundo, de las que la mitad ocurren en países en desarrollo⁴. Si bien la tasa de supervivencia global a cinco años se ha duplicado en los últimos 30 años a expensas de adelantos en el tratamiento, aproximadamente el 86% fallecen durante los 5 años siguientes al diagnóstico, luego se trata de un problema importante de salud con un pronóstico en general desfavorable ⁵.

Más del 70% son irresecables y en estadios avanzados en el momento del diagnóstico. Un 80-85% son de estirpe no célula pequeña (NSCLC; Non-small cell lung cancer), que se pueden dividir en adenocarcinoma, escamoso y carcinoma de células gigantes (que se consideran mezcla de adenocarcinoma pobremente diferenciado y otros tipos celulares poco frecuentes) ^{4,2}, por el otro lado estarían los de estirpe de célula pequeña (carcinomas microcíticos). Respecto al tratamiento del NSCLC, en estadios resecables se hace cirugía y en función del propio estadio resecable se puede acompañar de quimioterapia, la cual puede ser neoadyuvante o adyuvante. En los estadios irresecables, el esquema terapéutico se basa más en quimioterapia, radioterapia o ambas. En el caso del carcinoma microcítico, destacar su gran agresividad, que hace que generalmente no exista la intención curativa; en el paciente con estadio limitado, el esquema terapéutico puede incluir quimioterapia con radioterapia, solo quimioterapia, cirugía combinada con quimioterapia e irradiación craneal profiláctica. En los estadios avanzados el tratamiento consiste en quimioterapia, radioterapia e irradiación craneal.⁶

Un adecuado estadiaje del cáncer pulmonar es de vital importancia ya que las opciones terapéuticas y pronósticas difieren significativamente de un estadiaje a otro. El estadiaje debe incluir un TAC (tomografía axial computarizada) del torax y abdomen superior que incluya las glándulas adrenales, un PET/TAC (tomografía por emisión de positrones/ tomografía axial computarizada) para estadificar mediastino y para descartar metástasis extratorácicas en el paciente quirúrgico. También deben incluirse imágenes cerebrales cuando esté clínicamente indicado⁷ (en el Hospital

Universitario de Basurto ya está incluido el TAC cerebral de estadiaje en el protocolo).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Para la búsqueda de artículos relevantes a la investigación se dispuso de las siguientes bases de datos: Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) y Cochrane (<http://www.biblioteca-cochrane.com/>). A través de Cochrane y Pubmed y haciendo uso de referencias incluidas en artículos encontrados en estas bases de datos se obtuvieron los artículos con los que finalmente se constituye el trabajo a los que habría que añadir 2 artículos proporcionados por docentes del Hospital Universitario de Basurto. En Pubmed se utilizó como términos en el motor de búsqueda “EBUS and Staging”; los términos “EBUS and Diagnosis”; “Non small cell lung cancer and cytology”; “Non small cell lung cancer and EBUS”; “Staging and Lung cancer”; “Cytology and Lung cancer”; “Endosonography and technique”; “lung cancer and treatment”; “lung cancer and staging” y finalmente “how to make a cytoblock”. Los filtros utilizados en la búsqueda en pubmed fueron free full test, 5 years y los resultados fueron ordenados con el criterio de “sort by relevance”. En la base de datos de Cochrane plus se utilizó como términos de búsqueda “EBUS and Staging” con filtro años 2010-2016. También se hizo uso de libros de medicina interna y de anatomía patológica.

En el caso de pubmed con los términos “EBUS and Staging” se obtuvo 5 artículos (correspondientes a los artículos 9, 14, 18, 20 y 21) para nuestra investigación de 452 artículos que tras aplicar el filtro de free full test se vieron reducidos a 169 y con el de 5 años de antigüedad a 108; con los términos “EBUS and Diagnosis” se obtuvo 1051 artículos que tras aplicar el filtro de free full test se vieron reducidos a 422 que a su vez se vieron reducidos a 295 al aplicar el filtro de 5 años de antigüedad de los que se sustrajo finalmente 1 artículo (correspondiente al artículo 17); con los términos “Non small cell lung cancer and cytology” se obtuvieron 11917 resultados que tras aplicar el filtro de free full test se redujeron a 5355 y tras el filtro de 5 años de antigüedad a 2525 del que se utilizaron 2 (correspondientes a los artículos 2 y 3);

bajo los términos “Non small cell lung cancer and EBUS” se encontró un total de 242 artículos, que tras aplicar el filtro de free full test fueron 93 y con el de 5 años de antigüedad 66, de los que se utilizaron 5 (correspondiente a los artículos 15 , 16 , 22, 32 y 33); haciendo uso de los términos “Staging and Lung Cancer” se obtuvieron 23139 artículos, que tras aplicar el filtro de free full test se rebajó a 6863 y 3015 con el de 5 años de antigüedad y de los que se sustrajo 1 artículo (correspondiente al artículo 19); Los términos “Cytology and Lung Cancer” dieron lugar a 47161 artículos que se redujeron a 16598 con el filtro de free full test y a 6758 con el de 5 años de antigüedad para utilizar 1 de ellos (correspondiente al artículo 4); con los términos “Endosonography and technique” se encontraron 1351 artículos que se quedaron en 239 con el filtro de free full test y en 112 con el de 5 años de antigüedad, de los que se utilizó 1 artículo (correspondiente al artículo 12); bajo los terminos “lung cancer and treatment” se encontraron 156143 artículos que tras aplicar el filtro de free full test se redujeron a 44306 y con el de 5 años de antigüedad a 20444 artículos del que se sustrajo el artículo 6 ; la búsqueda realizada con los términos “lung cancer and staging” dio lugar a 23260 resultados que se quedaron en 6678 con el filtro de free full test y en 3024 con el de 5 años de antigüedad y del que se utilizó un artículo (artículo 7) y finalmente con la búsqueda de “how to make a cytoblock” se obtuvo 20 resultados que se quedaron en 5 con el filtro de free full test y en 3 con el de 5 años de antigüedad, del que se sustrajo un artículo (artículo 13). En Cochrane plus con los términos “EBUS and Staging” se obtuvo 0 artículos en castellano y 24 en inglés, de los que tras aplicar el filtro de 2010-2016 se quedaron en 20 de los que se utilizaron 2 (artículos 1 y 23).

A partir de los artículos encontrados en las bases de datos anteriormente expuestas se encontraron otros más de tal manera que: A partir del artículo 20 se obtuvo el artículo 24; del artículo 1 los artículos 28, 29 y 30; del artículo 18 el 31, del artículo 15, los artículos 34, 35 y 36; del artículo 3, los artículos 37, 38 y 39 y finalmente del artículo 22, los artículos 25, 26 y 27.

Los artículos facilitados por docentes del Hospital Universitario de Basurto se corresponden con los artículos 10 y 11.

Los libros de medicina interna y de anatomía patológica se corresponden con las referencias 5 y 40 para medicina interna y 8, 41 para anatomía patológica.

2.2 CASOS CLÍNICOS

Con respecto a la búsqueda de casos clínicos se hizo uso de la base de datos Vitropath (que es el programa utilizado por el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Basurto). Se utilizó como filtro: procedimiento EBUS y últimos 5 años. A la hora de seleccionar a aquellos pacientes con los que hacer la serie de casos consecutivos, se utilizó como criterio de selección: Diagnóstico de cáncer pulmonar (o sospecha) o bien nódulo pulmonar solitario con positividad ganglionar.

Sobre los casos clínicos buscados en Vitropath se realizó:

- Un análisis de porcentaje de sexo
- Un análisis de la edad de los 530, incluyendo moda, media, mediana, percentiles 25 y 75 y D. estándar
- Distribución normal de la edad de los 530 casos
- Análisis de la edad en mujeres incluyendo moda, media, mediana, percentiles 25 y 75 y D. estándar
- Distribución normal de la edad en las mujeres
- Análisis de la edad en hombres incluyendo moda, media, mediana, percentiles 25 y 75 y D. estándar
- Distribución normal de la edad en hombres
- Localización de las muestras EBUS de las mujeres de la muestra
- Diagnóstico de las muestras obtenidas por EBUS pertenecientes a las mujeres de la muestra
- Localización de las muestras EBUS de los hombres de la muestra
- Diagnóstico de las muestras obtenidas por EBUS pertenecientes a los hombres de la muestra

A la hora de clasificar el tipo de tumor en el análisis del diagnóstico, se utilizó como guía la “WHO Classification of tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart”⁸.

Sobre la serie de 50 casos consecutivos, obtenida al aplicar los criterios de selección ya mencionados a los resultados de Vitropath, se realizó el mismo análisis que en el caso de los 530 casos a excepción de la distribución normal de la edad por sexo y añadiendo los siguientes:

- Diagnóstico de las mujeres de la muestra
- Diagnóstico de los hombres de la muestra
- Análisis de las extensiones, thinprep, citobloque y pruebas complementarias realizadas a partir de los citobloques de las muestras obtenidas por EBUS tal y como marca el protocolo que se describirá al final del apartado.
- Análisis de la estadificación radiológica a nivel de diseminación linfática y comparativa con la obtenida tras EBUS

A la hora de clasificar el tipo de tumor en el análisis del diagnóstico, se utilizó de nuevo como guía la “WHO Classification of tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart”⁸.

Para la estadificación radiológica se utilizaron los informes de radiología almacenados en la aplicación Osakidetza Clinic v7.3.

Los análisis estadísticos y gráficos se llevaron a cabo con EXCEL de Microsoft office 2012 y las tablas con WORD de Microsoft office professional plus 2010.

2.3 CIRCUITO DE DERIVACIÓN, PROCEDIMIENTO EBUS Y REALIZACIÓN DEL CITOBLOQUE

2.3.1 Circuito de Derivación

Respecto a los pacientes a los que se sospecha de un cáncer de pulmón o se les diagnostica del mismo y por tanto que conformarán los 50 casos consecutivos que estudiaremos con más profundidad, el circuito que recorren hasta que se les llega a practicar un EBUS es el siguiente:

A nivel de atención primaria se solicita una interconsulta con radiología o con el neumólogo, siendo las razones de la interconsulta:

- A. Sospecha clínica por síntomas y signos de neoplasia pulmonar.
- B. Radiografía de tórax patológica o dudosa.
- C. Situación clínica del paciente adecuada para estudio ambulatorio.

Estará justificada la interconsulta no presencial cuando se cumpla que A+B+C o si se cumple B+C con sospecha neta de masa, nódulo, derrame pleural o lesión lítica de partes óseas, incluso como hallazgos incidentales en radiografías de tórax solicitadas por otros motivos.

Si la interconsulta no presencial es a radiología y estos sospechan de proceso neoplásico el propio servicio de radiología establece comunicación directa con el neumólogo. En caso de que la interconsulta sea directamente a neumología o el radiólogo se halla puesto en contacto con neumología y estos consideran la probabilidad de proceso neoplásico pulmonar se procede a entrar en el circuito prioritario en el cual en menos de 72 horas se establece una cita en consulta de alta resolución, se realiza un TAC de estadificación y se llevan a cabo otras exploraciones que pudieran ser pertinentes; actualmente se satisface toda demanda hospitalaria en menos de 48 horas en broncoscopia/técnicas pleurales y es inferior a los 7 días en ecobroncoscopia. La consulta de alta resolución del circuito prioritario de cáncer de pulmón tiene lugar los jueves por la tarde ya que los jueves por la mañana es cuando se reúne el comité de tumores (en el cual con una revisión diagnóstica minuciosa por parte de neumólogos, radiólogos y anatomopatólogos los cirujanos y oncólogos evalúan propuestas terapéuticas consensuadas). Por otro lado si el neumólogo considera que no hay sospecha de neoplasia pulmonar, se procede a control médico de atención primaria.

2.3.2 Técnica y procedimiento EBUS

La técnica EBUS que se aplicó sobre los casos clínicos de los que se dispuso para el trabajo esta descrita en la literatura como una técnica capaz de alcanzar las siguientes regiones (las cuales se alcanzaron como ya se mostrará): 2R y 2L (paratraqueales superiores), 4R y 4L (paratraqueal inferior), 7 (Subcarinal), 10R y 10L (hiliares), 11R y 11L (Interlobar), 12L y 12R (lobares) de forma ocasional, así como masas paratraqueales o parabronquiales cercanas a la vía aérea, e incluso esta descrita la posibilidad de, a través de una ruta de la arteria transpulmonar llegar al nivel 5

(subaórtico)⁹. También se puede acceder a los territorios 8 (para esofágico) y 3 (retrotraqueal). La **Figura 1** que se presenta a continuación muestra la localización de las principales estaciones ganglionares.

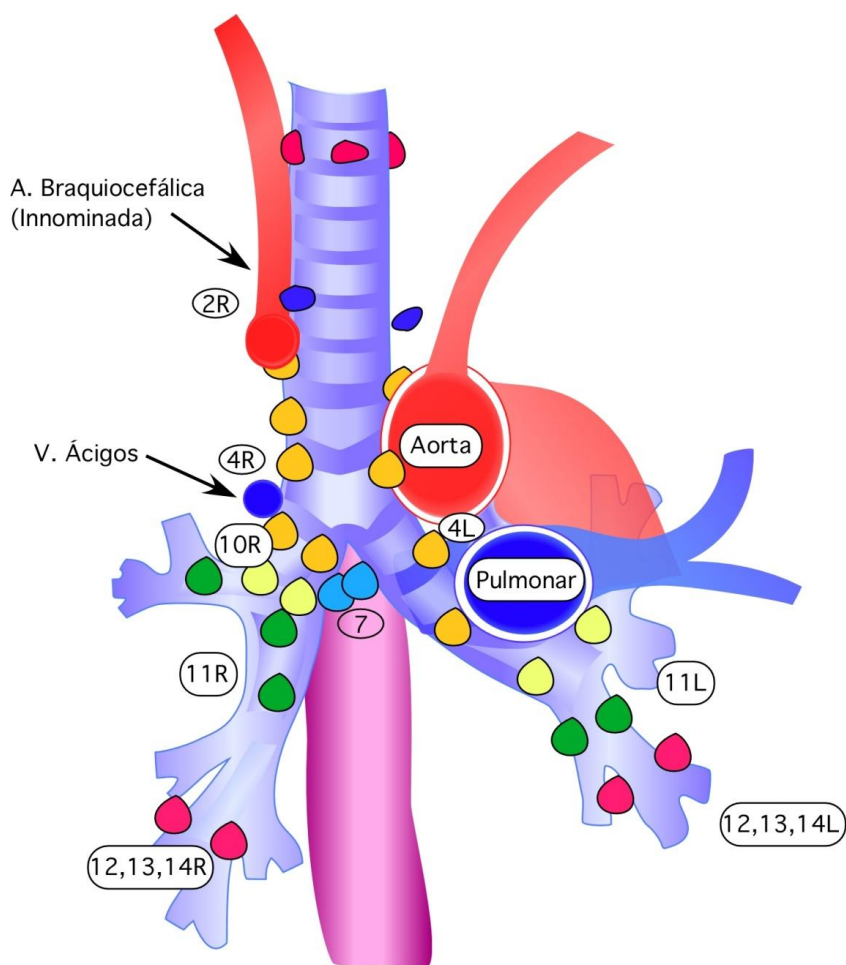


Figura 1; se muestra la localización de las estaciones ganglionares mediastínicas, hiliares y paraesofágicas.

Respecto al procedimiento de realización del EBUS:

Durante el procedimiento ecoendoscópico, el paciente, en decúbito supino, es sedado con midazolam IV (intravenoso) y se utiliza lidocaina como anestésico tópico en las

vías aero-digestivas que lo precisan^{10, 11} así mismo se utiliza fentanilo intravenoso como antitusígeno; el paciente, en todo momento se le mantiene monitorizado (frecuencia cardiaca, ECG, oxigenación periférica...).

El broncoscopio se introduce por vía oral dado que el equipo ultrasónico que lleva ajustado en la punta tiende a limitar la inserción vía nasal. Se ha de tener en cuenta que el sistema óptico que incorpora el EBUS provee de un campo de 80° de visión con una angulación oblicua delantera de 35°, de tal manera que para obtener una visión recta, el broncoscopio debe ser flexionado ligeramente¹⁰.

Una vez el paciente se encuentra bajo los efectos del midazolam y del fentanilo, encamado, monitorizado y con una máscara que tiene el fin de mantener la boca abierta, se comienza con la técnica de EBUS. Se procede a introducir el ecobroncoscopio que presenta un canal de trabajo, otro destinado al aspirador y otro para la jeringa cargada de suero salino cuyo fin es hinchar el balón ubicado en la punta del EBUS así como 2 salidas, una para la cámara endoscópica y otra para la sonda ecográfica que se insertan en sus respectivas torres. Guiado por cámara endoscópica se llega al punto de interés orientado por TAC, PET o PET-TAC (con el fin de guiar la intervención). Con la sonda ecográfica centramos el lugar donde nos interesa llevar a cabo la punción. Se introduce la aguja (21-22G)^{9,12} junto con su fiador y se ajusta a la profundidad deseada realizándose 10 pases. En ocasiones puede ser necesario mover el fiador para asegurarse de estar en el interior del ganglio. Se quita el fiador y se conecta la jeringa de vacío. Se extraen como mínimo 3 muestras válidas de 10 pases cada una y un técnico de laboratorio las deposita en varios portas y el resto va a un microtubo que se describirá posteriormente. Las muestras se tiñen con Diff-Quick (modalidad de Giemsa rápido) y tras ello pasa al patólogo que procede a realizar ROSE (Rapid on site evaluation) que permite la validación in situ de la muestra y eventualmente emitir un diagnóstico provisional.

El protocolo estandar utilizado en el Hospital Universitario de Basurto comienza muestreando el lado contralateral al tumor (N3), a continuación las adenopatías subcarinales (N2) y después aquellas más próximas al tumor (N1). El procedimiento se concluye en cuanto aparece una punción positiva. Se muestrea toda adenopatía superior a 0,5 cm; a mayor tamaño más posibilidades de encontrar metástasis.

2.3.3 Realización de citobloque y pruebas complementarias

A partir del material obtenido en el procedimiento ecoendoscópico siempre se busca el obtener un citobloque. La literatura revisada y el protocolo utilizado en el Servicio de Anatomía Patológica incluyen técnicas de centrifugación, obtención y fijación del sedimento. El sedimento se incluye en parafina. En algunos casos se utiliza trombina plasmática o técnicas con agar¹³.

En el Hospital Universitario de Basurto, la preparación de citobloque se realiza de la siguiente manera:

De la muestra depositada en un microtubo conteniendo un fijador (mezcla de alcohol etílico y metílico) de la casa Hologic (Boxborough; Massachusetts) se extrae cualquier elemento sólido con la ayuda de una pipeta Pasteur desechable graduada de 3 ml que se deposita sobre un filtro microporo de la casa Labolan (Navarra; España) o bien se derrama el microtubo directamente sobre el filtro, para recoger hasta el más mínimo resto de la muestra celular. Todo el material recuperado se vuelve a fijar en formol al 10% durante un periodo aproximado de 3 horas. Una vez fijado el citobloque se incluye en parafina utilizando un inclusor automático (Excelsior AS, ThermoFisher scientific ;Waltham; Massachusetts). Del bloque de parafina obtenido se realizan únicamente 2 cortes para aprovechar al máximo el escaso material existente con el Microm HM-340E (ThermoFisher scientific; Waltham; Massachusetts). Estos dos cortes de parafina sirven para valorar la calidad de la muestra.

Dependiendo del aspecto morfológico de la celularidad tumoral de la muestra el protocolo incluye la realización de, al menos 3 marcadores de IHQ (1 para cada subtipo): el TTF1 (marcador de adenocarcinoma), CQ5/6, P40 y P63 (marcadores de escamoso) y CD56 como marcador de carcinoma microcítico. Respecto al carcinoma microcítico, siempre se comienza con una citoqueratina con el objeto de diferenciarlo de la población linfocitaria (que es negativa para citoqueratina). Entre las pruebas complementarias (patología molecular) se incluye el análisis del EGFR (COBAS-EGFR) y ALK (ALK-FISH); actualmente está en estudio la validez del citobloque para su uso sobre PDL-1.

2.4 PROTOCOLO DE REVISIÓN DE LAS MUESTRAS EBUS DE LOS 50 CASOS CONSECUTIVOS

En primer lugar se valora una extensión, teñida con Papanicolau (**Figura 2**). La valoración incluye una serie de criterios de calidad: presencia de linfocitos, macrófagos con pigmento antracótico y eventual presencia de centros germinales (**Figura 3**); con todo ello podemos decir que la muestra pertenece a estaciones ganglionares. Posteriormente se valora una preparación en medio líquido (Thinprep) con los mismos criterios. Por último se valoran los citobloques procedentes de las diversas estaciones ganglionares muestreadas; en primer lugar valoramos el tamaño de la muestra si es escaso o generoso y lo medimos, posteriormente valoramos si cumple los criterios de calidad ya expuestos (**Figura 4**), si muestra una cantidad de celularidad tumoral aceptable que pueda permitir su valoración y el porcentaje que supone la celularidad anormal con respecto a toda la celularidad del citobloque (excluyéndose hematíes). En caso de que se lleve a cabo Inmunohistoquímica, valoraremos los resultados de la misma. También se procede a comentar las estaciones muestreadas, de cuáles de estas se obtuvo citobloques y si se realizaron técnicas moleculares.

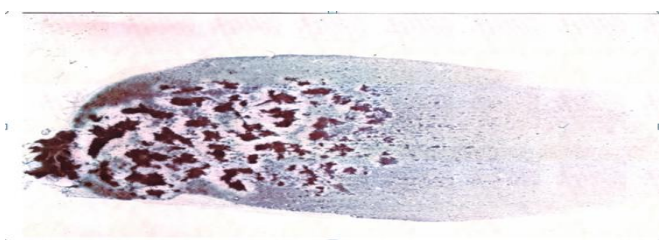


Figura 2. Muestra de extensión positiva con tinción Papanicolau

Todas estas valoraciones se llevan a cabo con la supervisión del director de este trabajo.

También se revisa el estadio radiológico de los 50 pacientes y se compara el componente de afección linfática del TNM con el resultante tras la aplicación de la técnica de EBUS.

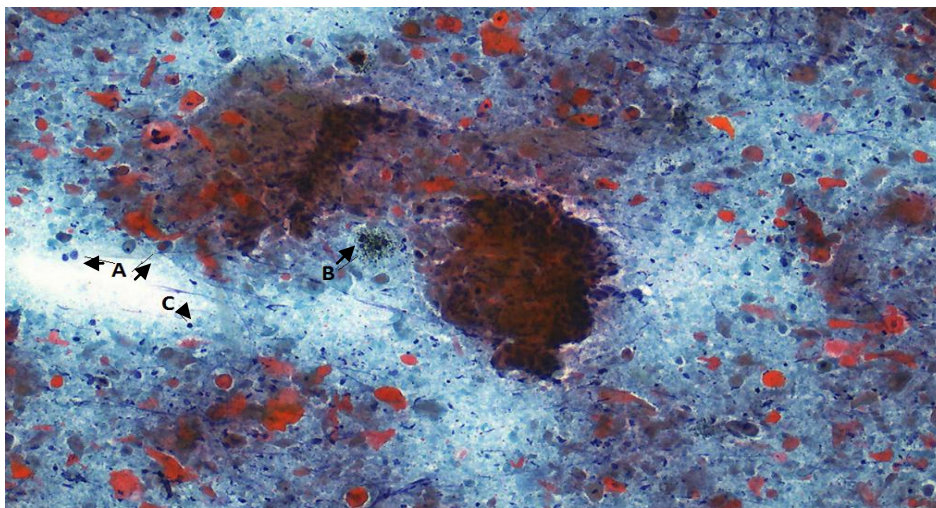


Figura 3. Muestra de extensión al microscopio. "A" celularidad tumoral, "B" zonas de pigmento antracótico y "C" linfocito.

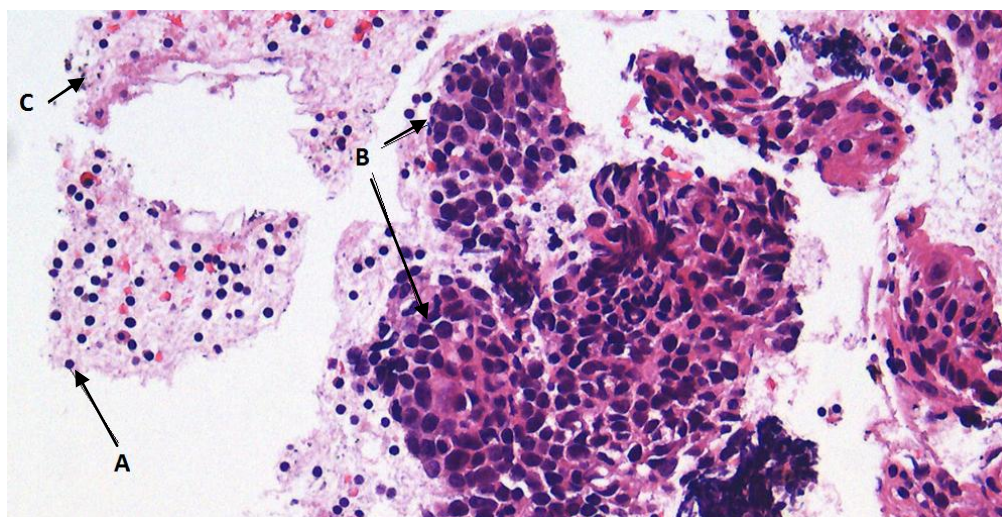


Figura 4. Citobloque visto al microscopio, "A" se corresponde a población linfocitaria normal, "B" a acumulaciones de células tumorales y "C" a pigmento antracótico.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El manejo del cáncer pulmonar ha cambiado en los últimos 5-10 años a raíz del reconocimiento del NSCLC como una enfermedad heterogénea con sus propias características histopatológicas, moleculares, clínicas y de respuesta al tratamiento. Las técnicas de quimioterapia cada vez están más adaptadas al tipo histológico y a su vez están surgiendo terapéuticas dirigidas a alteraciones moleculares¹⁴. Debido a estos avances en patogenia molecular y al descubrimiento de dianas terapéuticas a nivel genético en determinados cánceres pulmonares, tanto la clasificación histológica precisa como las pruebas moleculares se han vuelto esenciales para realizar un tratamiento óptimo^{1,2,4}.

La consecuencia de todo esto es la necesidad de muestras tisulares o celulares para la correcta caracterización tumoral sumada a la importancia de una correcta estadificación para el tratamiento y pronóstico¹⁴ y es que en el cáncer pulmonar a día de hoy el tratamiento es personalizado⁴.

EL TAC y el PET por si mismos no tienen la suficiente sensibilidad/especificidad para establecer un estadiaje definitivo y por ello se recurría a la mediastinoscopia y toracotomía, técnicas altamente invasivas y con una morbilidad/mortalidad/coste nada desdeñable¹. A la par que han ido emergiendo las terapias personalizadas en el NSCLC avanzado, ha sido la expansión del EBUS-TBNA, técnica de gran sensibilidad que permite el muestreo de linfadenopatías hiliares y mediastínicas, bajo control ultrasónico, incluso si están muy profundas o cercanas a algún vaso^{15, 16} y que con el uso de agujas de 21/22 G permitiría obtener muestras de gran calidad, con escasa morbilidad y a menor coste que las obtenidas por mediastinoscopias¹⁵.

A la hora de diagnosticar lesiones pulmonares periféricas son múltiples las opciones disponibles como es el caso de la biopsia transbronquial guiada por TAC (cuyas tasas de éxito se sitúan entre el 20% y el 50% condicionadas por la visibilidad de la lesión, el tamaño y la experiencia del operador), las técnicas de imagen propiamente dichas y las técnicas guiadas por EBUS que son las que más ventajas aportan y además tiene gran importancia en la evaluación de la pared bronquial sobre todo en el tratamiento de un cáncer pulmonar incipiente, por no decir que su campo de actuación diagnóstica y de estadiaje es grande¹⁷.

Con respecto a las técnicas de imagen, el TAC es el estándar anatómico para la descripción de lesiones y anomalías¹⁸; considera un ganglio como anormal cuando tiene un tamaño igual o superior al centímetro. El PET tiene una sensibilidad y una especificidad que se muestran superiores a las que presenta el TAC¹⁹. La integración del PET-TAC parece mejorar la precisión en comparativa con TAC solitario, pero con muchos falsos positivos¹⁸ y además la sensibilidad disminuye luego con ellas no se pueden tomar decisiones terapéuticas¹⁹ ya que como se ha expuesto anteriormente, carecen de la suficiente sensibilidad y especificidad. La estadificación de los nodos linfáticos en el caso del cáncer pulmonar no microcítico (NSCLC) es importante a la hora de seleccionar que pacientes pueden ser candidatos a cirugía, siendo que un N1/0 es candidato y un N2/3 no; por todo ello es de suma importancia evitar infra o sobrediagnosticar ya que la consecuencia directa de ello sería someter al paciente a tratamientos inapropiados²⁰. Se podría decir que TAC y PET son buenas técnicas para la búsqueda de metástasis extratorácicas pero su especificidad y sensibilidad son pobres cuando hablamos de enfermedad local/regional (afección hilar/mediastínica)¹⁴.

En Reino Unido, a lo largo de los últimos 10 años, el EBUS se ha impuesto como el procedimiento de 1º línea para los pacientes con cáncer pulmonar, a pesar de que tanto las guías de Reino Unido y las de Estados Unidos consideren al estadiaje quirúrgico como el estándar²¹ y presenten a la mediastinoscopia como GOLD-STANDARD,^{14, 22}. A pesar de estas guías, las nuevas guías internacionales sobre la estadificación del cáncer pulmonar, recomiendan como 1º paso para el análisis tisular las técnicas de endosonografía (EUS-EBUS) sobre las técnicas quirúrgicas¹⁸.

El perfil inmunohistoquímico, la citometría de flujo, FISH y otros métodos citogénicos, son posibles con el material obtenido de EUS/EBUS¹⁸ no obstante algunos autores se muestran críticos en este sentido y apuntan a que en una proporción significativa de casos, el material que se puede obtener por estas técnicas mínimamente invasivas no es suficiente para citobloques y menos aún para la realización de pruebas complementarias. Ello puede conllevar retrasos en el tratamiento y tener que repetir el proceso para obtener material adecuado².

Las mutaciones del EGFR son detectables por inmunohistoquímica y en este aspecto, cabe reseñar las mutaciones de exones 18-21, las deleciones en el 19 y una mutación sin sentido en el 21 por ser las de mayor frecuencia. Los fallos en el análisis se deben a tejido necrótico o escasa celularidad. Estas mutaciones se analizan con anticuerpos.

Morfológicamente, las características de los principales subtipos de NSCLC se pueden resumir en lo siguiente:

Adenocarcinoma: Presenta diferentes patrones arquitecturales entre los que se incluyen: en capa, células en racimo, racimo papilares, estructuras acinares, en empalizada y drunken honeycomb. Las células aisladas presentan citoplasma basófilo homogéneo que puede ser granular y espumoso con vacuolas citoplasmáticas. El núcleo suele ser excéntrico con cromatina hipercromática granular. La mayoría presentan nucleolo.

Escamoso: Los 3 patrones son queratinocítico, con puentes intercelulares y perlas. La queratina se ve como manchas azules al Romanowsky (Giemsa modificado). El citoplasma suele ser denso u opaco. Las células pueden tener muchas formas que van de redonda a ovalada o elongada, con bordes celulares bien delimitados. El núcleo es hipercromático y centrado con cromatina densa, homogénea y picnoica. Los nucléolos no se suelen ver.

Cáncer de células gigantes: El diagnóstico no suele ser citológico si no con la pieza de resección, aunque en ocasiones se puede apuntar a esta sospecha diagnóstica⁴.

4. RESULTADOS

4.1 CASOS CLÍNICOS VITROPATH

La revisión de casos se hizo del 1/1/2010 al 4/11/2016 obteniéndose 533 resultados, de estos casos se desearon 3 por estar duplicados.

Los resultados del análisis de los 530 casos son los siguientes:

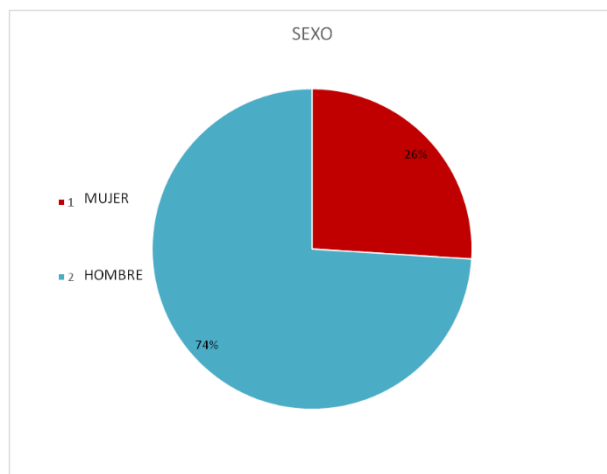


Figura 5. Se muestra gráficamente el porcentaje que supone cada sexo; hombre y mujer.

Tabla 1 Se muestra el porcentaje que supone cada sexo con respecto al total así como el número total de pacientes de cada sexo.

	N	%
Mujeres	137	26%
Hombres	393	74%
Total	530	100%

Tabla 2. Se muestra el análisis de edad de los 530 pacientes de la muestra

Moda	66
Media	64,296
Mediana	65
P75	74
P25	57
D.Standar	12,281

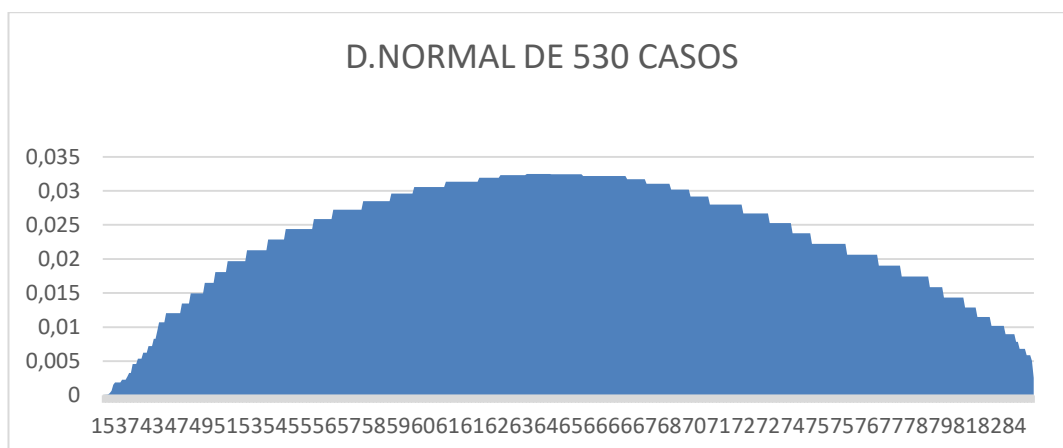


Figura 6. Muestra la distribución normal de la edad de los 530 pacientes de la muestra, que adopta una estructura campaniforme.

Tabla 3. Análisis de la edad de las 137 mujeres de la muestra

		Diferencia respecto 530 casos
Media	58,540	-5,756
Moda	58	-8
Mediana	58	-7
P 25	50	-7
P 75	68	-6
D Estándar	13,955	+1,674

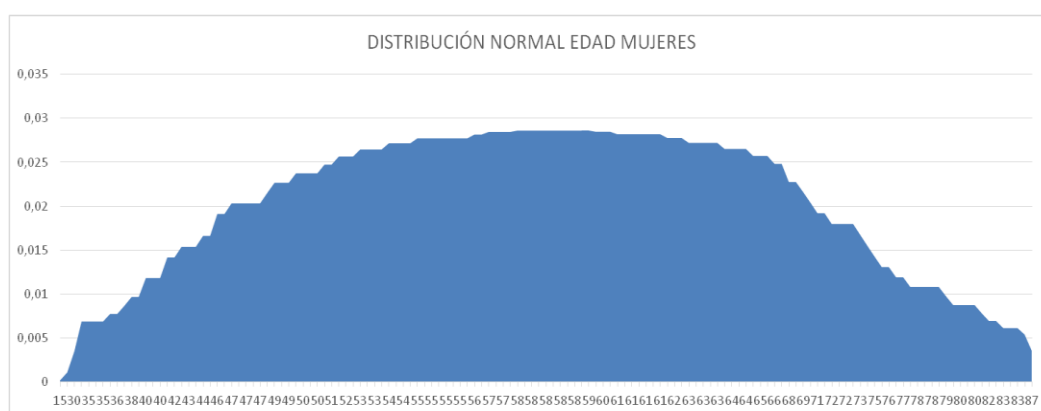


Figura 7. Muestra la distribución normal de la edad de las 137 mujeres de la muestra, que adopta una estructura campaniforme.

Tabla 4. Análisis de la edad de los 393 hombres

		Diferencia respecto 530 casos
Media	66,302	+2,006
Moda	66	0
Mediana	67	+2
P 25	59	+2
P 75	75	+1
D Estándar	10,971	-1,31

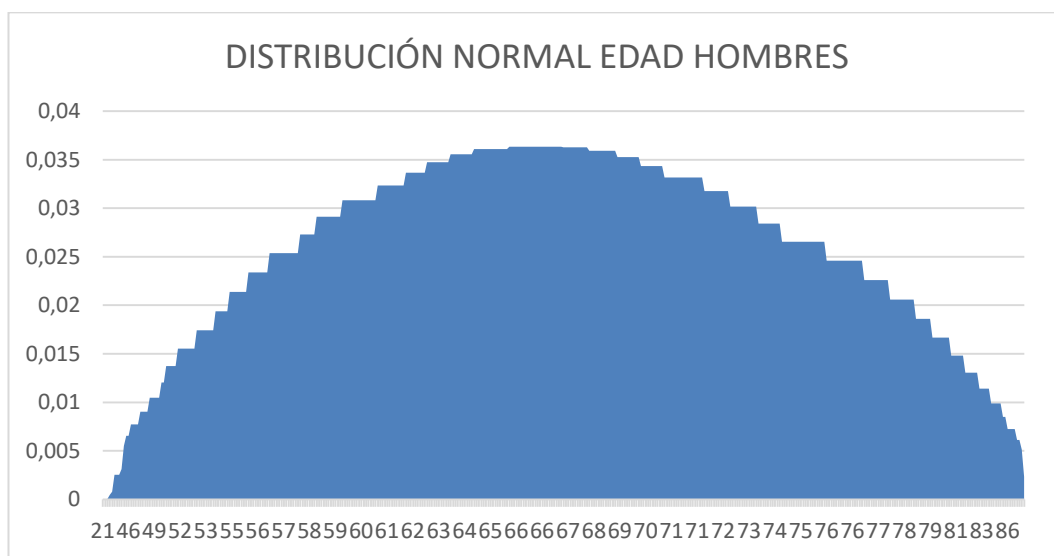


Figura 8. Muestra la distribución normal de la edad de los 393 hombres de la muestra, que adopta una estructura campaniforme.

El perfil del paciente sometido a EBUS es el de un hombre (74% vs 26%) tal y como se muestra en la **Tabla 1** y **Figura 5** con una edad media de 64,296 (**Tabla 2**). Las mujeres sometidas al procedimiento son más jóvenes que los hombres, concretamente tienen 5,756 años menos que la media de toda la muestra como se aprecia en la **Tabla 3** y 7,762 años menos en comparación con los hombres, los cuales tienen 2,006 años más que la media tal y como se observa en la **Tabla 4**. La distribución de la edad sigue una estructura tipo campana de Gauss (**Figura 6**, **Figura 7** y **Figura 8**) con unos valores de media, moda y mediana muy similares

entre sí que demuestran que la mayoría de nuestros pacientes presentan una edad parecida, aglutinándose en torno a la media.

Tabla 5. Se muestra la localización de las muestras EBUS obtenidas de las 137 mujeres de la muestra.

Masa pulmonar	1
2L	3
2R	9
3R	1
3b	1
3bR	1
4	3
4R	75
4L	41
7	106
8	1
10L	4
10R	2
10	5
11	1
11L	18
11R	24
12R	4
12L	1
No especificado	10
Total	311

Tabla 6. Se muestra el diagnóstico de las muestras EBUS obtenidas de las 137 mujeres de la muestra.

Diagnostico	Cantidad	Porcentaje	Edad media
Adenocarcinoma	30	22%	58,5
Escamoso	7	5%	62,7
Neuroendocrinos pobremente diferenciados	2	1,50%	64
Neuro-microcítico	8	6%	54,8
Large cell carcinoma	1	1%	46
Carcinoma poco diferenciado no microcítico	5	3,50%	67
Negativo	71	52,50%	59,9
MTX primario no pulmonar especificado	10	6,50%	51,8
Insuficiente para valoración	3	2%	35,67
Total	137	100%	

Tabla 7. Se muestra la localización de las muestras EBUS obtenidas de los 393 hombres de la muestra.

Masa pulmonar	7
1	2
2L	4
2R	15
3R	0
3b	0
3bR	0
4	5
4R	205
4L	145
7	287
8	1
10L	15
10R	29
10	12
11	1
11L	56
11R	55
12R	10
12L	1
No especificado	5
Total	855

Tabla 8. Se muestra el diagnóstico de las muestras EBUS obtenidas de los 393 hombres de la muestra.

Diagnóstico	Cantidad	Porcentaje	Edad media
Adenocarcinoma	85	22%	67,1
Escamoso	44	11%	66
Neuroendocrinos pobremente diferenciados	2	0,50%	68,5
Neuro-microcítico	21	5%	65,6
Large cell carcinoma	6	2%	59,7
Carcinoma poco diferenciado no microcítico	19	4,80%	65,3
Negativo	199	50,60%	66,1
MTX primario no pulmonar especificado	16	4%	69,4
Insuficiente para valoración	2	1%	65
Total	393	100%	

Las estaciones ganglionares más muestreadas, en ambos sexos, fueron la 7, seguida de 4R y 4L y luego de 11L y 11R (**Tabla 5** y **Tabla 7**). Con el resultado de dichas muestras, se obtuvieron los siguientes diagnósticos: el más frecuente para ambos sexos, el negativo para células malignas seguido de adenocarcinoma con una media de edad de 58,5 para mujeres y de 67,1 para hombres. El tercero en frecuencia varía en función del sexo, en el caso de las mujeres fue el de MTX (metástasis) pulmonar con primario no pulmonar conocido mientras que este fue el sexto en frecuencia en hombres. El cuarto en frecuencia en ambos sexos fue el microcítico con una edad media de 54,8 para mujeres mientras que en hombres es de 65,6. El quinto en mujeres fue el escamoso (tercero en hombres) con edad media de 62,7 para mujeres y 66 para hombres. Destacar también el carcinoma no microcítico poco diferenciado que se correspondió al sexto en frecuencia en la mujer con edad media de 67 años y al quinto en frecuencia en el hombre con edad media de 65,3 años (**Tabla 6** y **Tabla 8**).

4.2 SERIE DE CASOS CLÍNICOS CONSECUTIVOS

A la hora de elegir la serie de 50 casos consecutivos, se requirió de 103 resultados que se redujeron a los 50 necesarios tras aplicar como criterio de selección la necesidad de tener un diagnóstico de cáncer pulmonar (o sospecha) o bien nódulo pulmonar solitario con positividad ganglionar. Los resultados del análisis de los 50 casos son los siguientes:

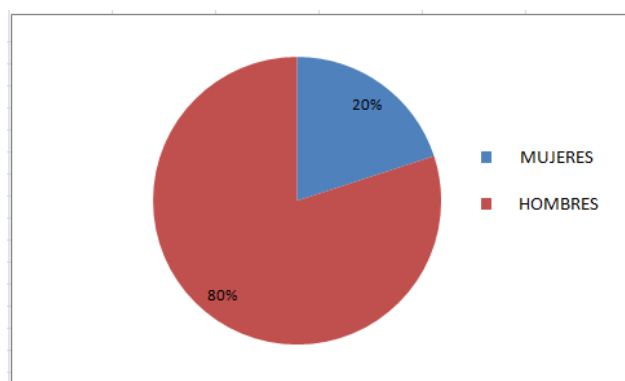


Figura 9. Se muestra gráficamente el porcentaje que supone cada sexo; hombre y mujer.

Tabla 9. Se muestra el porcentaje que supone cada sexo con respecto al total así como el número total de pacientes de cada sexo.

	N	%
Mujeres	10	20%
Hombres	40	80%
Total	50	100%

Tabla 10. Se muestra el análisis de edad de los 50 pacientes de la muestra

Moda	61
Media	64,48
Mediana	63
P75	70
P25	58,25
D.Estandar	8,454

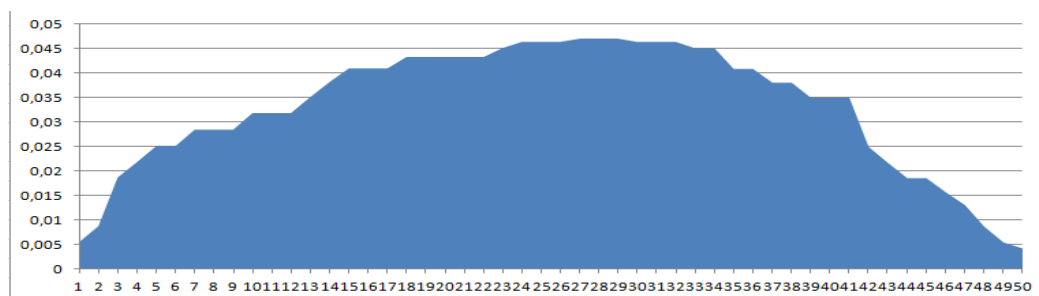


Figura 10. Muestra la distribución normal de la edad de los 50 pacientes de la muestra, que adopta una estructura campaniforme.

Tabla 11. Se muestra el análisis de la edad de las 10 mujeres de la muestra

		Diferencia respecto 50 casos
Media	60,5	-3,98
Moda	66	+5
Mediana	60	-3
P 25	57,25	-1
P 75	65,75	-4,25
D Estándar	6,868	-1.586

Tabla 12. Se muestra el análisis de la edad de los 40 hombres de la muestra

		Diferencia respecto 50 casos
Media	65,475	+0,995
Moda	61	0
Mediana	64	+1
P 25	60	+1,75
P 75	71	+1
D Estándar	8,593	+0,118

El perfil del paciente de la serie de 50 casos consecutivos sometido a EBUS es el de un hombre (80% vs 20%) tal y como queda reflejado en la **Figura 9** y la **Tabla 9** y la edad media es de 64,48 años (**Tabla 10**). Las mujeres sometidas al procedimiento son más jóvenes que los hombres, concretamente tienen 3,98 años menos que la media de toda la muestra (**Tabla 11**) y 4,975 años menos en comparación con los hombres, que presentan 0,995 años más con respecto a la media de toda la muestra, tal y como se refleja en la **tabla 12**. La distribución de la edad sigue una estructura campaniforme tipo Gauss (**Figura 10**) lo que demuestran que la mayoría de nuestros pacientes presentan una edad parecida, congregándose la mayoría de los valores entorno de la media.

Tabla 13. Localización muestras EBUS 10 mujeres

Masa pulmonar	0
2L	0
2R	1
3R	0
3b	0
3bR	0
4	0
4R	7
4L	3
7	9
8	0
10L	0
10R	0
10	0
11	0
11L	1

11R	1
12R	0
12L	0
No especificado	0
Total	22

Tabla 14. Diagnóstico muestras EBUS 10 mujeres

Diagnostico	Cantidad	Porcentaje	Edad media
Adenocarcinoma	3	30%	62
Escamoso	0	0%	/
Neuroendocrinos pobremente diferenciados	0	0%	/
Neuro-microcítico	4	40%	58
Large cell carcinoma	0	0%	/
Carcinoma poco diferenciado no microcítico	0	0%	/
Negativo	3	30%	62,33
MTX primario no pulmonar especificado	0	0%	/
Insuficiente para valoración	0	0%	/
Total	10	100%	

Tabla 15. Localización muestras EBUS 40 hombres

Masa pulmonar	1
1	0
2L	0
2R	1
3R	0
3b	0
3bR	0
4	0
4R	21
4L	16
7	23
8	0
10L	2
10R	5
10	0
11	0
11L	8
11R	7
12R	3
12L	0
No especificado	1
Total	88

Tabla 16. Diagnóstico muestras EBUS 40 hombres

Diagnóstico	Cantidad	Porcentaje	Edad media
Adenocarcinoma	17	42%	67,64
Escamoso	7	17%	63,57
Neuroendocrinos pobremente diferenciados	0	0%	/
Neuro-microcítico	10	24%	64,8
Large cell carcinoma	0	0%	/
Carcinoma poco diferenciado no microcítico	2	5%	65,5
Negativo	5	12%	61,6
MTX primario no pulmonar especificado	0	0%	/
Insuficiente para valoración	0	0%	/
Total	41	100%	

Las estaciones ganglionares más muestreadas en ambos sexos fueron la 7, seguida de 4R y 4L, posteriormente en mujeres se reparte a partes iguales entre 11R, 11L y 2R mientras que en hombres es 11R y 11L y luego en menor medida 10R, 12R y 2, también se muestreo un masa mediastínica (no se especifica lugar exacto salvo mediastino) y una masa pulmonar (**Tabla 13** y **Tabla 15**). Con el resultado de dichas muestras, se obtuvieron los siguientes diagnósticos: el más frecuente en el caso de los hombres (y segundo, a partes iguales con el negativo en el caso de las mujeres) fue el adenocarcinoma con una media de edad de 62 años para mujeres y de 67,64 años para hombres. El primero en frecuencia en el caso de las mujeres fue el de carcinoma indiferenciado de células pequeñas/microcítico con una edad media de 58 años , mientras que en el hombre ocupa el segundo lugar con una edad media para el carcinoma microcítico de 64,8. En tercer lugar estaría el escamoso con una edad media de presentación de 63,57 seguido en frecuencia estaría el resultado negativo para células malignas y en último lugar el carcinoma poco diferenciado no microcítico en hombres con una edad media de 65,5 (**Tabla 14** y **Tabla 16**). La razón por la que en **Tabla 16** se obtienen 41 diagnósticos en vez de 40 es que el resultado del análisis de la muestra dio lugar a la presencia de más de un tipo histológico, que se correspondió con adenocarcinoma y microcítico (caso 43).

Tabla 17. Diagnóstico 10 mujeres

Diagnostico	Cantidad	Porcentaje	Edad media
Adenocarcinoma	6	60%	62,16
Escamoso	0	0%	/
Neuroendocrinos pobremente diferenciados	0	0%	/
Neuro-microcítico	4	40%	58
Large cell carcinoma	0	0%	/
Carcinoma poco diferenciado no microcítico	0	0%	/
Negativo	0	0%	
MTX primario no pulmonar especificado	0	0%	/
Insuficiente para valoración	0	0%	/
Total	10	100%	

Tabla 18. Diagnóstico 40 hombres

Diagnostico	Cantidad	Porcentaje	Edad media
Adenocarcinoma	22	55%	63,39
Escamoso	7	17,5%	63,57
Neuroendocrinos pobremente diferenciados	0	0%	/
Neuro-microcítico	9	22,5%	65
Large cell carcinoma	0	0%	/
Carcinoma poco diferenciado no microcítico	2	5%	65,5
Negativo	0	0%	
MTX primario no pulmonar especificado	0	0%	/
Insuficiente para valoración	0	0%	/
Total	40	100%	

Respecto a los diagnósticos establecidos o que se establecieron de los 50 casos tal y como se muestra en la **Tabla 17** y **Tabla 18**, en el caso de las mujeres se obtuvo que 6 (60%) presentaban un adenocarcinoma y 4 un carcinoma indiferenciado de células pequeñas/microcítico (40%). En el caso de los hombres fueron 22 adenocarcinomas (55%), 9 carcinoma indiferenciado de células pequeñas/microcítico (22,5%), 7 escamosos (17,5%) y 2 Carcinomas no microcíticos pobremente diferenciados (5%)

Tabla 19. Revisión de extensión (Ext.), thinprep, citobloques (CT) e inmunohistoquímica (IHQ) de los 50 casos; se analiza el número de muestras que se analizaron de cada tipo (N), la calidad en forma de excelente (Exc.) o mala y de forma exclusiva en el citobloque la cantidad (exc. o mala), la media del tamaño de los citobloques y de celularidad maligna en los que fueron positivos para la misma.

	N	Calidad				Cantidad				Media Tamaño CT (cm)	Media % Celularidad maligna	% CT que se obtienen de las muestras
		Exc.		Mala		Exc.		Mala				
		N	%	N	%	N	%	N	%			
Ext.	110	107	97	1	0,9	/	/	/	/	/	/	
Thinprep	110	107	97	1	0,9	/	/	/	/	/	/	
CT	81	79	98	0	0	80	99	1	1	0,5cm	42%	73,64%
IHQ	100	99	99	1	1	/	/	/	/	/	/	

Del análisis al microscopio de las muestras, simplificado en la **tabla 19**, se obtuvo que en el caso de las 110 extensiones valoradas (1 por cada estación ganglionar muestreada), el 97% tuvo un calidad excelente al cumplimentar los criterios de calidad expuestos en el protocolo, solo 1 fue mala y otras 2 fueron etiquetadas como masa; exactamente esto mismo ocurre con las muestras de thinprep que presentan unos resultados idénticos. Acerca de los citobloques, se obtuvieron 81 de las 110 estaciones ganglionares muestreadas, lo que representa el 73,64%; el 98% cumplimentaron los criterios de calidad de forma excelente y 2 fueron etiquetadas como de masa, no habiendo ninguna de mala calidad. La cantidad de celularidad valorable fue excelente en el 99% de los casos. Del análisis del tamaño de los citobloques, estos oscilaban entre 0,1 cm y 1cm, siendo la media 0,5 cm y en el caso de aquellos positivos, el porcentaje medio de celularidad maligna que presentaban era próximo al 42%.

Sobre la Inmunohistoquímica, reseñar que se hicieron 100 pruebas de inmunohistoquímica (excelentes al 99%), no siendo necesario su realización en todos los casos ya fuera porque estos tuvieran resultado negativo para células malignas o porque con los criterios morfológicos se consideró suficiente para llegar al diagnóstico. Los marcadores de inmunohistoquímica utilizados fueron CK5/6, P40, TTF-1, CK7, GATA-3, CD56, Enolasa, Sinaptofisina, Cromogranina, ALK (D5F3) y CK8,18. También se llevaron a cabo técnicas complementarias del orden de FISH-ALK y COBAS EGFR. Para una información más detallada del análisis de las extensiones, thinprep, Citobloques e inmunohistoquímica, ver **Tabla 22 del Anexo 1**.

Tabla 20. Revisión del estadio radiológico de los 50 pacientes y comparativa con el estadio tras EBUS; Componente linfático del TNM

Estadio Ganglionar	Radiológico	EBUS	Diferencia EBUS-Radiología
Nx	0	0	0
N0	8	9	+1
N1	4	3	-1
N2	23	28	+5
N3	15	10	-5

Tabla 21. Cambios en la estadificación a nivel del componente linfático del TMN de los estadios radiológicos tras aplicar EBUS.

Subida					Bajada				
N0→N1	N0→N2	N1→N2	N2→N3	T ^a	N3→N2	N3→N0	N2→N1	N2→N0	T ^a
1	1	3	2	7	6	1	1	2	10

a. "T" se refiere al total de muestras que ascendieron y que bajaron de estadio

En cuanto al análisis de los resultados de las muestras EBUS se desglosa que de forma global el número de casos resultantes en N3 que se consiguió fue de 10 el de N2 fue de 28, el de N1 fue de 3 y el N0 de 9 que si se compara con el estadiaje radiológico son 5 N3 menos y 1 N1 menos mientras que son 1 N0 y 5 N2 más que en el estadiaje radiológico (**Tabla 20**). Haciendo un análisis más individualizado se observa que en 10 casos se produjo una reducción de su estadiaje a nivel linfático y en 7 casos se produjo un aumento en el estadiaje a nivel linfático (**Tabla 21**) tras realizar EBUS. Los resultados desglosados caso por caso en cuanto al análisis del componente linfático del TNM se encuentran en el **anexo 2**.

5. DISCUSIÓN

Las técnicas guiadas por TAC tienen un gran campo de actuación no obstante las muestras que se obtienen de las mismas suelen ser insuficientes para la realización de test genéticos o moleculares¹⁷. El TAC es el estándar anatómico para la descripción

de lesiones y anomalías¹⁸; radiológicamente se considera un ganglio como patológico si sobrepasa 1 cm en su eje mayor¹⁹, no obstante hemos de resaltar sus falsos negativos y sus falsos positivos que la convierten en una técnica poco precisa¹⁸. El PET tiene una sensibilidad del 80% y una especificidad del 88% (superior al TAC) y su fusión (PET-TAC) consigue un aumento de la especificidad pero una reducción de la sensibilidad¹⁹ con muchos falsos positivos en nódulos de gran tamaño (reactivos e inflamatorios)¹⁸ y dado que el paso de un N1/0 a N2/3 supone dejar de ser candidato a cirugía, no son buenas técnicas a la hora de tomar decisiones terapéuticas²⁰. Las técnicas guiadas por EBUS son las que más ventajas aportan y permiten la evaluación de la pared bronquial sobre todo en el tratamiento de un cáncer pulmonar incipiente, por no decir que su campo de actuación diagnóstica y de estadiaje es grande¹⁷. El EBUS-TBNA es más preciso a la hora de estadiar los nodos linfáticos en comparación con la radiología y tiene un mayor valor predictivo positivo, además es segura, mínimamente invasiva y validada con sensibilidades y especificidades superiores al TAC, PET-TAC y PET; sus falsos negativos obedecen a ganglios fuera del alcance de la técnica y en ello las técnicas de imagen no son capaces de suplir la limitación²³. En comparación con la radiología, en un estudio, EBUS-TBNA aumentaba el número total de pacientes quirúrgicos (33% de N2/3 pasan a N1/0) y un 9% pasa de N1/0 a N2/3, de ello se desprende que la radiología infra y sobrediagnostica, conllevando a tratamientos inapropiados²⁰.

Como ya se comentó en el apartado de revisión bibliográfica, en los últimos 10 años, el EBUS se ha convertido en el procedimiento de 1º línea para los pacientes con cáncer pulmonar en Reino Unido. EBUS-TBNA se presenta como una técnica segura y tan efectiva como el estadiaje quirúrgico y de menor coste aunque las guías de Estados Unidos y Reino Unido sigan mostrando al estadiaje quirúrgico como el estándar²¹ y a la mediastinoscopia como el GOLD STANDARD^{14, 22}. Estas guías proponen que ante un EBUS se haga estadiaje quirúrgico si el riesgo es elevado (aunque no definen los parámetros de ese riesgo), luego el camino a seguir tras el EBUS no está especificado. La cirugía tras un EBUS a priori solo alarga el diagnóstico y retrasa el tratamiento²¹ y además las nuevas guías internacionales sobre la estadiación del cáncer pulmonar, recomiendan como 1º paso para el análisis tisular las técnicas de endosonografía (EUS-EBUS) sobre las técnicas quirúrgicas.

Con lo anteriormente expuesto, no es de extrañar que EBUS-TBNA y EUS-FNA (Endoscopic Ultrasound Fine Needle Aspiration) hayan desplazado a técnicas como la punción guiada por TAC (que no son practicables sobre nódulos mediastínicos o hiliares múltiples) y además se podría decir que han remplazado como test inicial de elección a los métodos quirúrgicos¹⁸.

Como acabamos de mencionar, la mediastinoscopia es la gold standard puesto que es de gran sensibilidad y especificidad pero a expensas de gran invasividad y alto riesgo quirúrgico,^{14,20}. Requiere de anestesia general y presenta un VPN (Valor predictivo negativo) del 89% y un VPP (Valor predictivo positivo) del 100%, (aunque varía entre diferentes estudios) no obstante tiene sus limitaciones. La mediastinoscopia es útil en los nódulos pretraqueales y paratraqueales pero hay limitaciones sobre todo en mediastino inferior y posterior así como en la región aortopulmonar; presenta un 2% de morbilidad y 0,08 % de mortalidad¹ (aunque otros estudios hablan de cifras de mortalidad del 0,05% y morbilidad 1,07%)¹⁹ así como mayor coste que el EBUS-EUS^{1,9}. La combinación de endosonografía con estadiaje quirúrgico reduce el número de toracotomías innecesarias en comparación con el estadiaje quirúrgico a secas²⁴. Además no parecen existir diferencias diagnósticas entre mediastinoscopia y EBUS-TBNA por lo que esta última técnica podría reemplazar a la primera (y en particular en pacientes con NSCLC potencialmente reseccable). En los casos de los falsos negativos del EBUS-TBNA no queda claro que la mediastinoscopia pueda ofrecer un diagnóstico más preciso²⁰. Un estudio demostró que la sensibilidad fue del 88%, la especificidad del 100%, la precisión del 92,9%, el VPP del 100% y el VPN del 85,2% para EBUS-TBNA; para la mediastinoscopia la sensibilidad fue del 81,3%, la especificidad del 100%, la precisión del 89,0%, el VPP del 100% y el VPN del 78,8% existiendo diferencias significativas en la sensibilidad, precisión y VPN, mostrándose superior EBUS-TBNA en el estadiaje cN1-3 de NSCLC. Si sumamos estos hallazgos a que es menos invasivo, debería bastar para que EBUS-TBNA fuera el procedimiento de 1º línea en el NSCLC¹⁶.

A pesar de que la mayoría de los estudios muestran que EBUS-TBNA debería reemplazar a la mediastinoscopia hay quienes consideran que la utilidad del EBUS-TBNA a la hora de estadificar el mediastino en NSCLC es controvertida²². Algunos autores sugieren que todos los resultados negativos del EBUS-TBNA deberían

confirmarse por mediastinoscopia²⁵, otros estudios sugieren que el VPN es menor en EBUS y EUS (chocando con los datos obtenidos de la mayoría de artículos) que en mediastinoscopia, por ello si la sospecha es alta, ante hallazgos negativos al EBUS o EUS sugieren que se hagan biopsias quirúrgicas (a través de una mediastinoscopia)²⁶. Otros se escudan en que ninguna técnica basada en el uso de aguja será jamás tan fidedigna como aquellas que permiten la obtención de grandes piezas de biopsia e incluso afirman que EBUS-TBNA no es menos invasiva, particularmente bajo anestesia general²⁷. Esto choca con los hallazgos de la mayoría de los estudios, los cuales sugieren que se trata de una técnica segura y precisa en la estadificación nodal mediastínica y con bajo FN.

Ni la biopsia guiada por TAC ni la biopsia transbronquial pueden validarse en sala, lo que no ocurre con la citología que permite a través de técnicas como ROSE proceder a la validación in situ, de tal manera que EBUS permite la validación in situ de las muestras citológicas tomadas.

EBUS-TBNA Y EUS-FNA son técnicas complementarias^{1, 28, 29, 30}. A propósito de la FNA, resaltar que la sensibilidad para el diagnóstico del carcinoma pulmonar oscila entre el 50 y el 90% y su especificidad es de aproximadamente el 100%. El VPP es de aproximadamente un 99% y los falsos negativos oscilan sobre el 10% que se deben principalmente a recoger material inadecuado para la valoración. La FNAC resulta una técnica excelente para la obtención de material, el cual puede ser objeto de: Inmunohistoquímica, FISH, citogenética, preparación de cultivos celulares y estudios moleculares. Además ofrece múltiples ventajas como:

- Múltiples pases = mayor representación tumoral (El protocolo exige 3 muestras; cada una tras 10 pases)
- Más células con menos estroma⁴
- Permite hacer ROSE (Evaluación citopatológica rápida en la sala de exploración) para elegir el material adecuado¹⁸
- Mejora la calidad del DNA fruto de los fijadores utilizados⁴.

EBUS puede llegar a los ganglios hiliares y EUS a los periesofágicos (área 8 y con la que el EBUS presenta mayor dificultad de acceso) por lo que combinados aumenta el acceso a estaciones ganglionares con una sensibilidad juntos del 86% y especificidad

del 100% y AUC (Área bajo la curva) del 0,99 (muy alto)¹.Con su combinación además se permite llegar a áreas mediastínicas bajas y a la ventana aortopulmonar en determinados casos, así como evaluar la glándula adrenal izquierda y sitios metastásicos infradiafragmáticos¹⁸. Si comparamos la combinación de ambas técnicas con la mediastinoscopia, cabe decir que EBUS y EUS pueden llegar a nodos a los que la mediastinoscopia no llega manteniendo una baja morbilidad y con una mayor precisión¹.

Dado que EUS es de gastroenterología y EBUS de neumología (áreas que tienen pocas o nulas interacciones) la descoordinación es un punto débil de la combinación EUS-EBUS¹⁸. Aunque esta no es la situación, como hemos podido comprobar personalmente, en el Hospital Universitario de Basurto en el que la relación entre los dos grupos de endoscopistas es estrecha y muy fluida.

Cabe resaltar que algunos estudios apuntan a que los costes incrementales en tiempo de procedimiento, entrenamiento en la técnica y en equipo que supone la combinación de ambas técnicas ponen en tela de juicio que esté justificada la combinación de EUS y EBUS¹⁹.

Hay que recordar que como en todo tipo de prueba aun siendo mínimamente invasiva, con el uso de la endosonografía los eventos adversos severos pueden ocurrir. Estos oscilan alrededor del 0,14% y están constituidos principalmente por complicaciones infecciosas como la mediastinitis o la formación de abscesos mediastínicos que son eventos adversos severos y que potencialmente amenazan la vida. El número de complicaciones menores es del 0,22%, aunque de nuevo debemos puntualizar que cifras tan bajas podrían no corresponderse con las de la práctica diaria.

Con todo esto podemos decir que las técnicas de endosonografía son técnicas seguras^{18, 31} y tienen asociada una menor mortalidad y morbilidad que otras técnicas a lo que hay que añadir que son más costo-efectiva que la mediastinoscopia⁹.

El tratamiento individualizado con nuevos agentes citotóxicos y terapias dirigidas ha hecho crucial la necesidad de subclasificar el NSCLC por criterios histológicos y moleculares. Por un lado, los test de biomarcadores están creciendo, mientras que por

el otro lado, está decreciendo el tamaño de las muestras, de la mano de las nuevas herramientas mínimamente invasivas como es el caso de EBUS-TBNA³².

Si bien EBUS-TBNA se ideó en principio para el estadiaje nodal en el cáncer pulmonar, ahora se utiliza en el estudio inicial del NSCLC como bien avala el National Institute of Health and clinical excellence ya que permite el diagnóstico tisular y una adecuada estadificación nodal en una única intervención. No obstante, dado el tamaño reducido de la muestra es incierto si será suficiente como para permitir el subtipado y genotipado. Estudios apuntan a que el EBUS-TBNA provee información suficiente para el subtipado en el 77% de los casos y para analizar mutaciones del EGFR en el 90% de los casos. Además, como el 75% de los pacientes presentan estadios inoperables, técnicas como el EBUS-TBNA que permiten la obtención de muestras de forma mínimamente invasiva son esenciales¹⁵; también cabe mencionar su rapidez, lo cual es importante de cara a casos urgentes como pudiera ser los síndromes de vena cava superior. EBUS-TBNA además permite acceder a lesiones centrales del parénquima pulmonar y diversos estudios hablan de correlaciones del 88% entre tipos histológicos y citológicos y del 93% entre especímenes citológicos y pequeñas biopsias. Las técnicas basadas en aguja permiten diferenciar entre no célula pequeña y célula pequeña en el 90% de los casos. Dentro de los no célula pequeña, en ocasiones no se puede diferenciar subtipo a través de la morfología (generalmente debido a pobre diferenciación, necrosis o escasa celularidad)² es aquí donde la inmunohistoquímica puede ser útil a través de paneles de anticuerpos tipo TTF-1, P63, CK5/6 y tinciones de mucina, lo que es posible con las muestras obtenidas por EBUS-TBNA de cualquier estación nodal accesible e incluso si el nodo linfático es <1cm¹⁵. La expresión de P63 y CK5/6 tiene una sensibilidad casi del 100% para el escamoso, TTF1 y Napsin A son considerados específicos del adenocarcinoma, CK7 sugiere origen epitelial^{9, 4}. Los resultados de estos test aplicados a muestras citológicas son totalmente superponibles a los aplicados en muestras obtenidas por biopsia. EBUS-TBNA permite también obtener información sobre el estado mutacional de diversos genes³³ tal es el caso del EGFR (Los NSCLC con mutaciones EGFR responden mejor a inhibidores de la tirosina cinasa como Erlotinib o Gefitinib que los no mutados.)^{3, 4,33} o EML4-ALK (que se encuentra casi de forma exclusiva en el adenocarcinoma⁴ hasta en un 5%² y que

responde bien a los inhibidores de la ALK-quinasa como son el caso de crizotinib o ceritinib)^{2,3,4,33}. El test KRAS pudiera ser de utilidad con fines pronósticos. Por todo ello, se podría decir que el EBUS-TBNA ofrece la posibilidad de procesar células tumorales o tejidos para obtener un diagnóstico citológico, llevar a cabo el estadiaje y poder realizar pruebas complementarias³³.

Un diagnóstico preciso tanto histológico como inmunohistoquímico y por patología molecular es esencial tanto en el estadiaje como en el tratamiento preciso del NSCLC. Diversos estudios han demostrado por ejemplo que perimetrexed solo aporta beneficios en aquellos pacientes con histología no-escamosa^{15, 34}. Otro estudio demostró que el uso de bevacizumab en NSCLC de subtipo escamoso se asociaba a una mayor tasa de hemorragia pulmonar fatal, luego debería estar contraindicado en estos pacientes en particular, presentando no obstante riesgos aceptables en la subpoblación no escamosa^{4, 15, 35}. Otro estudio demostró que los inhibidores de la tirosin-cinasa mejoran la supervivencia libre de progresión solo en NSCLC con EGFR mutación activada^{15, 36}. Estudios realizados en pacientes norteamericanos y europeos indican la posibilidad de dar dasatinib en aquellos pacientes con escamoso y DDR2, el cual se encuentra en el 3,2% de los escamosos (cifras comparables a las de fusión ALK del adenocarcinoma susceptibles de terapias con inhibidores ALK tipo crizotinib)³⁷, el 17% de los de célula grande³⁸ y en el 0,5 % de los adenocarcinomas³⁹. No obstante habría que seguir investigando sobre el DDR2 con diversos grupos étnicos ya que por ejemplo estudios muestran que no es útil en pacientes japoneses³.

Respecto al citobloque y el EBUS, un estudio comparó si hay diferencias a la hora de analizar el status molecular entre muestras obtenidas por EBUS-TBNA sobre las que se harán citobloques y muestras quirúrgicas. Con EBUS-TBNA se obtuvo el diagnóstico citológico en el 95,1% de los casos y se pudo subtipar en el 74,5%. Un 96,4% de las muestras fueron susceptibles de análisis moleculares; KRAS se determinó en el 96,4%; ALK en el 98%; estos resultados supusieron que no existen diferencias estadísticamente significativas con respecto a las muestras quirúrgicas³³, lo cual es concordante con nuestros resultados.

Comparando el citobloque con el frotis, recalcar que se prefiere su uso al de frotis debido en parte a que se puede retener más material para estudios complementarios. En particular, detectar los reordenamientos ALK con FISH requiere que no haya solapamiento de células tumorales, lo que es complejo con el frotis³³ y técnicas como el FISH se pueden llevar a cabo sobre muestras obtenidas a partir de citobloques². Otra ventaja del citobloque es que permite diferentes ensayos con un mismo espécimen³³. La citometría de flujo y otros métodos citogénicos, son también posibles de realizar con el material obtenido a través del EBUS¹⁸.

En cuanto a las mutaciones del EGFR, son detectables a través de patología molecular siendo las más frecuentes las correspondientes a los exones 18-21, las deleciones en el 19 y una mutación sin sentido en el 21. Como bien se señaló ya en la revisión bibliográfica, los fallos en el análisis se pueden deber a tejido necrótico o escasa celularidad.

Centrándonos ahora en nuestros resultados, se obtuvo que el perfil del paciente que se somete a un EBUS en el Hospital Universitario de Basurto es un paciente varón de 64,29 años, del que se extraen muestras de las regiones 7, 4R, 4L, 11R y 11L, y con un diagnóstico negativo para células tumorales, tratándose en la mayor parte de estos casos de procesos reactivos (**Figura 5**, **Tabla 1**, **Tabla 2**, **Tabla 5**, **Tabla 6**, **Tabla 7** y **Tabla 8**), poniendo de manifiesto el EBUS como técnica con utilidad diagnóstica en aspectos no tumorales (por ejemplo en el caso de adenopatías cuyo origen es una sarcoidosis) como de estadiaje en aspectos tumorales (pasando de N3/2/1 radiológicas a N0 y viceversa). También recalcar que EBUS es una técnica que no solo se limita al ámbito de la patología tumoral del primario pulmonar (de la que como se verá más adelante con los 50 casos, con capacidad tanto de estadiaje como de diagnóstico, cosa que no ocurre con la biopsia, que puede ser diagnóstica pero que no es útil para estadiar dado que no se biopsian los ganglios linfáticos), puesto que fue útil también a la hora de detectar metástasis procedentes de tumores de diversa índole, a destacar mama, colón, gástricas, esofágicas, renales y orofaríngeas entre otras así como procesos linfoproliferativos.

Respecto a los 50 pacientes que reunían los siguientes criterios: diagnóstico de cáncer pulmonar o sospecha o bien nódulo pulmonar solitario con positividad

ganglionar, el perfil es de paciente hombre (80% VS 20%) **Figura 9** y **Tabla 9** lo que supone una proporción de 4:1 hombre vs mujer. La literatura recoge que la proporción de cáncer pulmonar en Estados Unidos era de 7:1 y ahora se acercaba a 2:1 (hombre:mujer)⁴⁰, de tal manera que nuestros resultados se encontrarían en un punto intermedio, reflejando esa tendencia hacia una equiparación entre hombres y mujeres. Sobre la edad, se describe que el cáncer de pulmón se da más a menudo entre los 40 y los 70 años, encontrándose la máxima incidencia entre la sexta y la séptima década de la vida⁴¹, encajando a la perfección con nuestros resultados que reflejan una edad media de 64,48 años (**Tabla 10**). Las proporciones relativas de los principales subtipos tumorales que se recogen en la literatura son en el caso del adenocarcinoma en hombre 37% y en el caso de la mujer 47%⁴¹, mientras que nuestra muestra refleja 55% para hombre y 60% para la mujer, de tal manera que se muestra más prevalente el adenocarcinoma en nuestra muestra de lo recogido en la literatura; en el caso del escamoso, para hombres la proporción que se recoge en la literatura es de 32% y para mujeres del 25 %⁴¹, mientras que en nuestra muestra, en el caso de los hombres es 17,5% y en el de las mujeres no se registra ningún caso, siendo claramente menos prevalente de lo que se recoge en la literatura. Se describe en la literatura que clásicamente el más prevalente era el escamoso pero en las últimas dos décadas se había producido un aumento en la incidencia del adenocarcinoma⁴¹; los hallazgos epidemiológicos de nuestra muestra por tanto están en consonancia con ello. En el caso del carcinoma indiferenciado de células pequeñas/carcinoma microcítico la proporción relativa es de hombres 14% y mujeres 18%⁴¹ y en nuestra muestra es 22,5% hombres y 40% en mujeres, siendo superior a los datos relativos a la literatura. La última categoría es la relativa al carcinoma no microcítico pobremente diferenciado, del que se recoge en hombres 18% y en mujeres 10%⁴¹, siendo en nuestra muestra 5% para hombres y ningún caso para mujeres, y por tanto inferior a lo mostrado en la literatura, esto último podría tener relación con mejoras en las técnicas de diagnóstico y en el uso de técnicas complementarias que permiten diferenciar cada vez en mayor número cuales de estos carcinomas corresponden a adenocarcinomas y cuales a escamoso. Los datos relativos a los diagnósticos se encuentran en las **Tabla 17** y **Tabla 18**.

Sobre los resultados en cuanto a estadificación en su componente linfático de las muestras EBUS se concluye que son 5 “N3” menos y 1 “N1” menos mientras que son 1 “N0” y 5 “N2” más que con respecto al estadiaje radiológico (**Tabla 20**), infra y sobrediagnosticando este último tal y como ya se reseñaba en la literatura²⁰. Haciendo un análisis más individualizado se concluye que en 10 casos se produjo una reducción de su estadiaje a nivel linfático y en 7 casos se produjo un aumento en el estadiaje a nivel linfático (**Tabla 21**) y si tenemos en cuenta que el paso de un N1/0 a N2/3 supone dejar de ser candidato a cirugía, en 4 casos pasamos de no candidato a cirugía a candidato a cirugía (casos 15, 20, 29 y 32 ver **Tabla 23** en **Anexo 2**) mientras que en 4 pasa de candidato a no candidato (casos 2, 9, 10 y 33 ver **Tabla 23** en **Anexo 2**), luego el EBUS tiene repercusiones en el plan terapéutico de estos pacientes.

Del análisis de las muestras al microscopio (**Tabla 19** y **Tabla 22** del **Anexo 1**) se obtuvo que en el caso de las extensiones valoradas (1 por cada estación ganglionar muestreada), el 97% tuvo un calidad excelente al cumplimentar los criterios de calidad expuestos en el protocolo, esto mismo ocurre con las muestras de thinprep que presentan unos resultados idénticos. Acerca de los citobloques, se pudieron obtener del 73,64% de las estaciones ganglionares muestreadas y el 98% cumplimentaron los criterios de calidad de forma excelente y 2 fueron tachadas de masa, una mediastínica y otra en el primario pulmonar (demostrando por tanto que tiene capacidad diagnóstica en el primario pulmonar) no habiendo ninguna de calidad mala, con una cantidad de celularidad valorable excelente en el 99% de los casos, con un tamaño medio de 0,5 cm y en aquellos positivos con un 42% de celularidad tumoral de media. En cuanto a la inmunohistoquímica, fueron muestras excelentes en el 99% de los casos y en este respecto destacar que en ocasiones solo eran focalmente positivos en algunos grupos celulares y en otros no, sugiriendo agrupaciones celulares con diferentes grados de diferenciación (y quizá diferente grado de respuesta a los tratamientos a proponer). Destacar que se pudo llevar a cabo cuando se consideró oportuno el uso de técnicas complementarias como ALK-FISK o COBAS-EGFR. Con todo esto se puede decir que las muestras obtenidas por EBUS son excelentes y válidas para su análisis, permitiendo realizar extensiones,

thinprep y citobloques de calidad así como técnicas de inmunohistoquímica y otras técnicas complementarias.

6. CONCLUSIÓN

1. Los resultados indican que el EBUS-TBNA es una técnica válida tanto para el diagnóstico como el estadiaje del cáncer de pulmón. Se trata de una técnica utilizada de forma rutinaria, para este fin, en el Hospital Universitario de Basurto.
2. EBUS-TBNA sirve tanto, para la detección de cánceres de pulmón, como para otros, de carácter metastásico, ya sean de primario conocido como desconocido.
3. EBUS-TBNA ofrece ventajas respecto al estadiaje radiológico al identificar a un mayor número de pacientes potencialmente quirúrgicos así como caracterizar a aquellos no quirúrgicos.
4. Desde un punto de vista práctico el EBUS-TBNA reemplaza a la mediastinoscopia tanto por sus resultados como por su menor morbimortalidad.
5. Consideramos, como se indica en las guías que un EBUS negativo, no descarta una posible metástasis. En estos casos si está indicado la realización de mediastinoscopia.
6. De la mayor parte de las exploraciones EBUS-TBNA (tanto por los 50 últimos casos revisados como por los anteriores) se obtiene citobloque.
7. El citobloque se ha demostrado como un elemento de primer orden tanto para el diagnóstico preciso del tipo citohistológico del tumor como para técnicas complementarias (ejemplo: ALK-FISH, COBAS-EGFR, IHQ: CD56, TTF-1.....). Los resultados de las pruebas complementarias (en pacientes inicialmente no quirúrgicos) son uno de los elementos primordiales, actualmente, en la elección de la terapia más apropiada para cada paciente (terapias personalizadas). En estos casos el material de citobloque se utiliza en un porcentaje creciente de pacientes.
8. La presencia de un patólogo en la sala de bronoscopias garantiza la validez de las muestras y el alto rendimiento de la técnica.
9. De los resultados epidemiológicos se desprende que el porcentaje de mujeres diagnosticadas de cáncer de pulmón va en aumento en relación a los hombres y a una

edad más temprana respecto a aquellos. Los resultados apuntan a un aumento de la prevalencia del adenocarcinoma a expensas del carcinoma de células escamosas.

10. Consideramos que el EBUS-TBNA debe de ser un procedimiento de primera línea en el diagnóstico y estadiaje del cáncer de pulmón tanto primario como metastásico.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Zhang R, Ying K, Shi L, Zhang L, Zhou L. Combined endobronchial and endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for mediastinal lymph node staging of lung cancer: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2013; 49(8):1860-7
2. Minca EC, Lanigan CP, Reynolds JP, Wang Z, Ma PC, Cicensia J et al. ALK status testing in non-small-cell lung carcinoma by FISH on ThinPrep slides with cytology material. *J Thorac Oncol*. 2014; 9(4):464-8
3. Yashima H, Shimizu K, Araki T, Aomori T, Ohtaki Y, Nagashima T et al. Assessment of DDR2, BRAF, EGFR and KRAS mutations as therapeutic targets in non-adenocarcinoma lung cancer patients. *Mol Clin Oncol*. 2014; 2(5):714-8
4. Gupta N, Sekar A, Rajwanshi A. Role of FNAC, fluid specimens, and cell blocks for cytological diagnosis of lung cancer in the present era. *J Cytol*. 2015; 32(4): 217–222
5. Branwald E, Fauci A, Hausser S, Jameson J, Kasper D, Longo D. *Harrison principios de medicina interna*. 16th ed. México D.F. (México): McGraw-Hill; 2005.
6. Lemjabbar-Alaoui H, Hassan OU, Yang YW, Buchanan P. Lung cancer: Biology and treatment options. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1856(2):189-210
7. Liam CK, Andarini S, Lee P, Ho JC, Chau NQ, Tscheikuna J. Lung cancer staging now and in the future. *Respirology*. 2015; 20(4):526-34
8. Travis W, Brambilla E, Burke A. *WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart*. 9th ed. Lyon: IARC; 2015.
9. Folch E, Costa DB, Wright J, VanderLaan PA. Lung cancer diagnosis and staging in the minimally invasive age with increasing demands for tissue analysis. *TLCR*. 2015; 4(4):392-403.

10. Herth F, Ernst A. Endobronchial Ultrasound. 1st ed. New York, NY: Springer-Verlag New York; 2009.
11. Garcia-Olivé I, Valverde Forcada E, Andreo García F, Sanz-Santos J, Castellà E, Llatjós M et al. La ultrasonografía endobronquial lineal como instrumento de diagnóstico inicial en el paciente con ocupación mediastínica. Archivos de Bronconeumología. 2009;45(6):266-270
12. Navani N, Nankivell M, Lawrence DR, Lock S, Makker H, Baldwin DR et al. Lung cancer diagnosis and staging with endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration compared with conventional approaches: an open-label, pragmatic, randomised controlled trial. Lancet Respir Med. 2015; 3(4): 282–289
13. Jain D, Mathur SR, Iyer VK. Cell blocks in cytopathology: a review of preparative methods, utility in diagnosis and role in ancillary studies. Cytopathology. 2014; 25(6):356-71
14. Slavova-Azmanova NS, Lizama C, Johnson CE, Ludewick HP, Lester L, Karunarathne S et al. Impact of the introduction of EBUS on time to management decision, complications, and invasive modalities used to diagnose and stage lung cancer: a pragmatic pre-post study. BMC Cancer. 2016; 16: 44
15. Navani N, Brown JM, Nankivell M, Woolhouse I, Harrison RN, Jeebun V. Suitability of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration specimens for subtyping and genotyping of non-small cell lung cancer: a multicenter study of 774 patients. Am J Respir Crit Care Med. 2012; 185(12):1316-22
16. Um SW, Kim HK, Jung SH, Han J, Lee KJ, Park HY et al. Endobronchial ultrasound versus mediastinoscopy for mediastinal nodal staging of non-small-cell lung cancer. J Thorac Oncol. 2015;10(2):331-7
17. Zaric B, Stojacic V, Carapic V, Kovacevic T, Stojanovic G, Panjkovic M et al. Radial Endobronchial Ultrasound (EBUS) Guided Suction Catheter-Biopsy in Histological Diagnosis of Peripheral Pulmonary Lesions. J Cancer. 2016; 7(1): 7–13
18. Dietrich CF, Annema JT, Clementsen P, Cui XW, Borst MM, Jenssen C. Ultrasound techniques in the evaluation of the mediastinum, part I: endoscopic

ultrasound (EUS), endobronchial ultrasound (EBUS) and transcutaneous mediastinal ultrasound (TMUS), introduction into ultrasound techniques. *J Thorac Dis.* 2015; 7(9):311-25

19. Gelberg J, Grondin S, Tremblay A. Mediastinal staging for lung cancer. *Can Respir J.* 2014; 21(3):159-61.

20. Sakairi Y, Hoshino H, Fujiwara T, Nakajima T, Yasufuku K, Yoshida S et al. Validation of EBUS-TBNA-integrated nodal staging in potentially node-positive non-small cell lung cancer. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2013; 61(9): 522–527

21. Evison M, Morris J, Martin J, Shah R, Barber PV, Booton R et al. Nodal staging in lung cancer: a risk stratification model for lymph nodes classified as negative by EBUS-TBNA. *J Thorac Oncol.* 2015; 10(1):126-33

22. Lee BE, Kletsman E, Rutledge JR, Korst RJ. Utility of endobronchial ultrasound-guided mediastinal lymph node biopsy in patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 ;143(3):585-90

23. Ong P, Grosu H, Eapen G, Rodriguez M, Lazarus D, Ost D et al. Endobronchial Ultrasound-guided Transbronchial Needle Aspiration for Systematic Nodal Staging of Lung Cancer in Patients with N0 Disease by Computed Tomography and Integrated Positron Emission Tomography–Computed Tomography. *AnnalsATS.*2005;12(3): 415-9

24. Rintoul RC, Glover MJ, Jackson C, Hughes V, Tournoy KG, Dooms C et al. Cost effectiveness of endosonography versus surgical staging in potentially resectable lung cancer: a health economics analysis of the ASTER trial from a European perspective. *Thorax.* 2014; 69(7):679-81.

25. Detterbeck FC, Jantz MA, Wallace M, Vansteenkiste J, Silvestri GA. Invasive mediastinal staging of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest.* 2007 Sep;132(3 Suppl):202S-220S

26. Groth SS, Andrade RS. Endobronchial and endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration: a must for thoracic surgeons. *Ann Thorac Surg.* 2010; 89(6):S2079-83

27. Shrager JB. Mediastinoscopy: still the gold standard. *Ann Thorac Surg.* 2010; 89(6):2084-9.
28. Annema JT, van Meerbeeck JP, Rintoul RC, Dooms C, Deschepper E, Dekkers OM et al. Mediastinoscopy vs endosonography for mediastinal nodal staging of lung cancer: a randomized trial. *JAMA.* 2010 ;304(20):2245-52
29. Hwangbo B, Lee GK, Lee HS, Lim KY, Lee SH, Kim HY et al. Transbronchial and transesophageal fine-needle aspiration using an ultrasound bronchoscope in mediastinal staging of potentially operable lung cancer. *Chest.* 2010; 138(4):795-802
30. Ohnishi R, Yasuda I, Kato T, Tanaka T, Kaneko Y, Suzuki T et al. Combined endobronchial and endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for mediastinal nodal staging of lung cancer. *Endoscopy.* 2011; 43(12):1082-9
31. von Bartheld MB, van Breda A, Annema JT. Complication rate of endosonography (endobronchial and endoscopic ultrasound): a systematic review. *Respiration.* 2014;87(4):343-51
32. Schmid-Bindert G, Wang Y, Jiang H, Sun H, Henzler T, Wang H et al. EBUS-TBNA provides highest RNA yield for multiple biomarker testing from routinely obtained small biopsies in non-small cell lung cancer patients - a comparative study of three different minimal invasive sampling methods. *PLoS One.* 2013;8(10):e77948.
33. Casadio C, Guarize J, Donghi S, Di Tonno C, Fumagalli C, Vacirca D et al. Molecular Testing for Targeted Therapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Suitability of Endobronchial Ultrasound Transbronchial Needle Aspiration. *Am J Clin Pathol.* 2015; 144(4):629-34
34. Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, Biesma B, Vansteenkiste J, Manegold C et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naive patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2008; 26(21):3543-51
35. Johnson DH, Fehrenbacher L, Novotny WF, Herbst RS, Nemunaitis JJ, Jablons DM et al. Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally

advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2004; 22(11):2184-91

36. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13(3):239-46

37. Hammerman PS, Sos ML, Ramos AH, Xu C, Dutt A, Zhou W et al. Mutations in the DDR2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. *Cancer Discov.* 2011; 1(1):78-89

38. Davies H, Hunter C, Smith R, Stephens P, Greenman C, Bignell G et al. Somatic mutations of the protein kinase gene family in human lung cancer. *Cancer Res.* 2005; 65(17):7591-5

39. Ding L, Getz G, Wheeler DA, Mardis ER, McLellan MD, Cibulskis K et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature.* 2008; 455(7216):1069-75

40. Domarus A, Farreras Valentí P, Rozman C, Agustí A, Cardellach López F. *Medicina interna.* 17th ed. Barcelona: Elsevier; 2012.

41. Klatt E, Cotran R, Robbins S. *Atlas de anatomía patológica.* 8th ed. Madrid: Elsevier; 2007.

ANEXO 1

Tabla 22. Revisión de extensión, thinprep, citobloques e inmunohistoquímica (IHQ) de los 50 casos; se analiza la calidad en forma de excelente o mala en Extensión y Thinprep en función de los criterios de calidad, la calidad de la inmunohistoquímica y marcadores utilizados y de forma exclusiva en el citobloque la cantidad (excelente o mala), el tamaño de los citobloques y el porcentaje de celularidad maligna. También se hace comentario de técnicas complementarias, de las estaciones ganglionares muestreadas y de los citobloques (CT) obtenidos y a que estaciones se corresponde. Se valora un thinprep y una extensión por cada estación ganglionar de la que se recoge muestra y se valoran en conjunto por caso salvo que alguna difiera en el resultado dentro de un mismo caso en cuyo caso se especifica la valoración de cada muestra de forma individual, cuando se trate de masa así se pondrá también. Las técnicas de inmunohistoquímica se revisan en su conjunto.

N	Extensión	Thinprep	Citobloque 1			Citobloque 2			Citobloque 3			IHQ	Comentario
	Calidad	Calidad	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	%I Tamaño	Calidad	
1	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	50%I 0,5cm							Excelente CK5,6; P40 y TTF-1	2M (4R y 11R)-1CT (11R)
2	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	30%I 0,6cm							Excelente; CD56, P40 y TTF-1	1M-1CT(4R)
3	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	<5%I 0,7cm							Excelente; CK7, P40	2M(7 y 4R) - 1CT (4R) (solo se pudo hacer IHQ de CK7)
4	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	20% I 0,8cm	Excelente	Excelente	>40%I 1cm				Excelente CD56; P40 y TTF-1	2M(7 y 4R)- 2CT;IHQ sobre CT2
5	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	50% I 0,4cm							Excelente TTF-1 y CK5/6 y CK7	1M(4R)-1CT

N	Extensión	Thinprep	Citobloque 1			Citobloque 2			Citobloque 3			IHQ	Comentario
	Calidad	Calidad	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	%I Tamaño	Calidad	Cantidad	%I Tamaño	Calidad	
6	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	60% I 0,7cm							Excelente; CK5,6; P40 y TTF-1	1M-1CT (4L)
7	Mala (4L); Excelente (4R)	Mala (4L); Excelente (4R)	Excelente	Excelente	>90%I 0,6cm							Excelente; P40, TTF- 1 y GATA- 3	2M(4L, 4R)- 1CT(4R)
8	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	30%I 0,4cm	Excelente	Excelente	>50%I 0,4cm				Excelente; TTF-1 y P40	2M(4R y 7)- 2CT; Se hizo COBAS EGFR y FISH- ALK del CT2
9	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	30% I 0,2 cm	Excelente	Excelente	>50%I 0,4cm				Excelente; CD56, P40 y TTF-1	2M-2CT(4R y 7), IHQ sobre CT2
10	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	40% I 0,5 cm							Excelente; TTF-1, CK8,18 y P-40	1M-1CT(4R);
11	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	<10% I 0,6cm	Excelente	Excelente	<10% I 0,5cm	Excelente	Excelente	20% I 0,5cm	Excelente; TTF-1, CK5/6 y CD56	4M (4R, 7,4L,10)-3CT (4R,7,10L), IHQ sobre CT1,2,3. Se hizo COBAS EGFR y FISH- ALK del CT 3

	Extensión	Thinprep	Citobloque 1			Citobloque 2			Citobloque 3			IHQ	Comentario
	Calidad	Calidad	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	
12	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	30% I 0,7cm	Excelente	Excelente	90% I 1cm				Excelente; TTF-1, CK5/6 y CD56	2M(7 y 4R)- 2CT (7 y 4R); IHQ sobre CT2
13	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 0,2cm	Excelente	Excelente	0% I 0,5cm	Excelente	Excelente	0% I 0,3cm	Excelente; Cromogra nina y CD 56	4M (11L, 4L, 7,4R)-4CT. IHQ sobre CT4
	Citobloque 4	→	Excelente	Excelente	40% I 0,5cm								
14	Excelente	Excelente	Excelente	Malo	20% I 0,5cm							Excelente; TTF-1 y P40	1M (7)-1CT
15	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	60% I 0,3cm	Excelente	Excelente	40% I 0,2cm				No se consideró necesaria	2M (12R y 11R)-2CT
16	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	70% I 0,2cm							Excelente; CD-56, Cromogra nina y sinaptofisi na	1M (4R)-1CT
17	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	90% I 0,1cm							Excelente; TTF-1	1M (4L)-1CT; Se hizo COBAS EGFR
18	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	80% I 0,6cm							Excelente; CK5/6, CK 7; TTF-1 y ALK	1M(7)-1CT; Se hizo COBAS EGFR y FISH- ALK

	Extensión	Thinprep	Citobloque 1			Citobloque 2			Citobloque 3			IHQ	Comentario
	Calidad	Calidad	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Calidad
19	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	50% I 0,4cm	Excelente	Excelente	70% I 0,3cm				Excelente; CD-56, CD45	2M (4R y 10R)-2CT. IHQ sobre CT2
20	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 0,7cm	Excelente	Excelente	0% I 1cm				No se hace, es negativa	4M (10R,11R,7, 4L)-2CT (11R y 7)
21	Excelente (7, 4L y 10L).De masa (Nódulo pulmonar)	Excelente (7, 4L y 10L).De masa (Nódulo pulmonar)	Excelente	Excelente	0% I 0,1cm	Excelente	Excelente	0% I 0,1cm	Excelente	Excelente	10% I 0,2cm	Excelente; CK7, CK5/6, TTF-1	4M (7, 4L, 10L y nódulo pulmonar)- 4CT
	Citobloque 4	→	De masa	Excelente	80% I 0,3cm								
22	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 0,4cm	Excelente	Excelente	0% I 0,5cm				No se hace, es negativa	2M (11R y 7)- 2CT
23	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	15% I 0,3cm							Excelente; ALK	2M (7,4L)- 1CT (4L); Se realiza COBAS- EGFR
24	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	5% I 0,1cm	Excelente	Excelente	75% I 0,8cm				No se consideró necesaria	2M (7 y 10R)- 2CT; Se realiza COBAS- EGFR

	Extensión	Thinprep	Citobloque 1			Citobloque 2			Citobloque 3			IHQ	Comentario
	Calidad	Calidad	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	%I Tamaño	Calidad	Cantidad	%I Tamaño	Calidad	Calidad
25	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	25 % I 0,2cm	Excelente	Excelente	70% I 0,6 cm	Excelente	Excelente	70% I 0,7cm	Excelente; CK7, CK5/6, TTF-1 y P40	3M (4L, 7 y 4R)-3 CT. IHQ sobre CT3
26	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	40% I 0,6cm							No se consideró necesaria	3M (7,4L y 11L)-1CT (4L)
27	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	30% I 0,5cm							Excelente; Sinaptofisi na, Enolasa, Cromogra nina y CD56	1M (4R)-1CT
28	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	>50% I 0,1cm							No se consideró necesaria	1M (11L)- 1CT. Se hizo COBAS- EGFR
29	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 0,3cm							No se hace, es negativa	4M (7, 4R, 11R y 11L)- 1CT (11L)
30	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	20% I 0,4cm							Excelente; CK-7, P-40 y TTF-1	3M (7, 4R, 4L)-1CT (7)
31	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 0,3cm							No se hace, es negativa	2M (7,4L)- 1CT (7)

	Extensión	Thinprep	Citobloque 1			Citobloque 2			Citobloque 3			IHQ	Comentario
	Calidad	Calidad	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Calidad
32	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 0,2cm	Excelente	Excelente	0% I 0,6cm	Excelente	Excelente	0% I 0,4cm	No se hace, es negativa	5M (2R,11R,7,4L, 11L)-4CT (11R,7,4L y 11L)
	Citobloque 4	→	Excelente	Excelente	0% I 0,4cm								
33	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 1cm	Excelente	Excelente	0% I 0,7cm	Excelente	Excelente	80% I 1cm	No se consideró necesaria	3M (11L,7,4R)- 3CT
34	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	20% I 1cm							Excelente; TTF-1,CK- 7 y CD-56	1M(masa 10R)-1CT
35	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	12% I 0,5cm							Mala; ALK	3M (4L, 11L y 7)-1CT (4L). Se hizo COBAX- EGFR
36	De masa	De masa	De masa	Excelente	30% I 0,8cm							Excelente; TTF-1, CD56 y P40	1M(masa mediastínica)- 1CT
37	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	30% I 0,6cm							Excelente; ALK	1M (7)-1CT. Se hizo FISH- ALK y COBAS- EGFR
38	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 0,3cm							No se hace, es negativa	4M (7, 4R, 11R y 4L)-1 CT (7)

	Extensión	Thinprep	Citobloque 1			Citobloque 2			Citobloque 3			IHQ	Comentario
	Calidad	Calidad	Calidad	Cantidad	% I Tamaño	Calidad	Cantidad	%I Tamaño	Calidad	Cantidad	%I Tamaño	Calidad	Calidad
39	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	40% I 0,5cm							Excelente; TTF-1, CD56 y P40	1M (4R)-1CT
40	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	30% I 0,7cm							Excelente; CK5/6, P40 y TTF-1	3M (11L, 7 y 4R)-1CT (7)
41	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	>90%I 0,9cm							Excelente; TTF-1, CK5/6 y CD56	1M (4R)- 1CT
42	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	>50%I 0,8cm							Excelente; CK7, TTF-1 y P40	6M (11L, 4L, 7, 4R, 10R, Masa 12R)- 1CT (Masa 12R)
43	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	60% I 0,2cm	Excelente	Excelente	>80% I 0,4cm				Excelente; CK5/6, TTF-1 y CD56	2M (4R y 7)- 2CT; IHQ sobre CT2
44	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	>50%I 0,8cm	Excelente	Excelente	30%I 0,2cm				Excelente; CD56	2M (4R y 7)- 2CT
45	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	50% I 0,5cm							Excelente; CK7,TTF- 1 y P40	1M (4R)-1CT
46	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% I 0,6cm	Excelente	Excelente	0% I 0,4 cm				No se hace, es negativa	2M (2R y 7)- 2CT

	Extensión	Thinprep	Citobloque 1			Citobloque 2			Citobloque 3			IHQ	Comentario
	Calidad	Calidad	Calidad	Cantidad	% l Tamaño	Calidad	Cantidad	% l Tamaño	Calidad	Cantidad	% l Tamaño	Calidad	Calidad
47	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% l 0,1cm	Excelente	Excelente	0% l 0,7cm				No se hace, es negativa	2M (7 y 4L)- 2CT
48	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	0% l 0,4 cm	Excelente	Excelente	10% l 0,6cm	Excelente	Excelente	10% 0,5cm	Excelente; TTF-1 y CK5/6	4M (11R,4R,7 y 4L)-3CT (11R, 7,y 4L); IHQ y COBAS- EGFR sobre CT2
49	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	60% l 0,6cm							Excelente; ALK, CK5/6, CD56, TTF-1 y Cromogra nina	1M (4R)- 1CT. Se hizo COBAS- EGFR.
50	Excelente	Excelente	Excelente	Excelente	>30% l 0,5cm	Excelente	Excelente	>30% l 0,5 cm				Excelente; CK7, TTF-1 y P40	2M (7 y masa 12R)-2CT. IHQ sobre CT2

ANEXO 2

Tabla 23. Se muestra caso por caso el estadio del componente linfático dado radiológicamente y el que se obtiene por EBUS y se comenta su comparación.

Caso	N radiológica	N EBUS	Comparación EBUS-Radiología
1	N2	N2	Igual
2	N1	N2	Sube
3	N3	N2	Baja
4	N2	N2	Igual
5	N2	N2	Igual
6	N2	N2	Igual
7	N2	N2	Igual
8	N3	N3	Igual
9	N1	N2	Sube
10	N0	N2	Sube
11	N3	N3	Igual
12	N2	N2	Igual
13	N2	N2	Igual
14	N2	N2	Igual
15	N2	N1	Baja
16	N2	N3	Sube
17	N2	N3	Sube
18	N2	N2	Igual
19	N2	N2	Igual
20	N2	N0	Baja
21	N3	N3	Igual
22	N0	N0	Igual
23	N3	N3	Igual
24	N2	N2	Igual
25	N3	N3	Igual
26	N2	N2	Igual
27	N3	N2	Baja
28	N3	N3	Igual
29	N2	N0	Baja
30	N2	N2	Igual
31	N0	N0	Igual
32	N3	N0	Baja
33	N1	N2	Sube
34	N0	N1	Sube
35	N3	N3	Igual
36	N0	N0	Igual
37	N2	N2	Igual
38	N0	N0	Igual
39	N3	N2	Baja
40	N2	N2	Igual
41	N2	N2	Igual
42	N1	N1	Igual
43	N3	N2	Baja
44	N3	N2	Baja
45	N3	N2	Baja
46	N0	N0	Igual
47	N0	N0	Igual
48	N3	N3	Igual
49	N2	N2	Igual
50	N2	N2	Igual