

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

PERSISTENCIA DE CÉLULAS TUMORALES EN LA AGUJA DE ECOBRONCOSCOPIA TRAS SU LAVADO SISTEMÁTICO POSTPUNCIÓN

Limitaciones y consecuencias

Egilea /Autor:

Jonatan Vargas Caño

Zuzendaria / Director/a:

Dr. Jose Miguel Tirapu Puyal

© 2018, Jonatan Vargas Caño

RESUMEN

FUNDAMENTOS: El objetivo principal de este estudio retrospectivo es valorar la asociación entre la realización de un segundo lavado de la aguja de punción tras una ecobroncoscopia con punción en tiempo real (con las siglas en inglés: EBUS-TBNA) y el hallazgo de células de origen tumoral. Asimismo, se pretende evaluar las consecuencias de la asociación anterior.

MATERIAL Y MÉTODOS: Para el desarrollo de este estudio se realizó una estrategia de búsqueda por medio de la plataforma *Pubmed* y se recogieron retrospectivamente los datos de 12 pacientes a los que se les realizó un EBUS-TBNA en el Hospital Universitario de Basurto desde octubre de 2017 hasta marzo de 2018 y que, además, cumplieran unos criterios de inclusión y exclusión específicos. Entre dichos criterios se destaca la indicación de la realización de la ecobroncoscopia por presentar ganglios pulmonares de aspecto sospechoso de metástasis en pruebas de imagen y la positividad tanto de la muestra extendida sobre el portaobjetos en fresco como de la muestra obtenida a partir del primer lavado de la aguja de punción.

RESULTADOS: De los 12 pacientes sólo en uno se observó una ausencia de células tumorales en el material obtenido a partir del segundo lavado de aguja de punción. De esta forma, en el 91,67% de los casos de este estudio se hallan células tumorales en dicho adicional lavado.

CONCLUSIONES: La asociación reseñada implica una serie de consecuencias tales como la posibilidad de hallar falsos positivos en estaciones ganglionares no metastatizadas por el tumor primario y la consecuente necesidad de realizar un cambio de la aguja de punción del ecobroncoscopio en el caso de puncionar otra estación ganglionar cuando la anterior es positiva. Sin embargo, el tamaño muestral de este estudio es insuficiente para realizar una asociación estadística significativa, por lo que se recomienda una ampliación de esta investigación.

ABSTRACT

BACKGROUND: The main objective of this retrospective study is to assess the association between carrying out an additional lavage of the puncture needle after a real-time EndoBronchial UltraSound-guided TransBronchial Needle Aspiration (EBUS-TBNA) and the finding of tumoral cells. In addition, it is intended to evaluate the consequences of the previous association.

MATERIAL AND METHODS: For the development of this study, a search strategy was carried out using the Pubmed platform and data were collected retrospectively from 12 patients who underwent an EBUS-TBNA at the University Hospital of Basurto from October 2017 to March 2018. Likewise, those patients needed to meet certain inclusion and exclusion criteria. Among these criteria the most important are the indication to perform ecobronchoscopy due to the presence of pulmonary nodes suspicious for metastasis in imaging tests and the positive results of both the freshly spread/stained sample (ROSE: rapid on site examination) and those obtained from the first lavage of the puncture needle.

RESULTS: Of the 12 patients, only one showed an absence of tumor cells in the material obtained from the second lavage of the puncture needle. In this way, in 91.67% of the cases of this study tumor cells were found in that additional lavage.

CONCLUSIONS: The above-mentioned association implies a series of consequences such as the possibility of finding false positives in lymph nodes which are not really metastasized by the primary tumor and the consequent need to make a change of the sampling needle of the ecobronchoscope in the case of puncturing another lymph node when the previous one is positive. However, the sample size of this study is insufficient to make a significant statistical association, which is why an extension of this research is recommended.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. INDICACIONES	1
1.2. LIMITACIONES.....	2
1.3. CONTRAINDICACIONES	5
1.4. SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y POSIBLES COMPLICACIONES	5
1.5. CLASIFICACIÓN TNM DE CÁNCER DE PULMÓN.....	8
1.5.1 Tasas de supervivencia, valor pronóstico de la clasificación TNM del cáncer de pulmón.....	10
1.5.1.1. Tasa de supervivencia de los cánceres de pulmón no microcíticos.....	10
1.5.1.2. Tasa de supervivencia de los cánceres de pulmón microcíticos	10
2. OBJETIVOS.....	11
2.1. OBJETIVOS PRINCIPALES	11
2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS	11
3. MATERIAL Y MÉTODOS	12
3.1. DISEÑO	12
3.2. PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO.....	12
3.2.1. Selección de pacientes	13
3.3. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA.....	14
3.4. TÉCNICA DE EBUS-TBNA.....	15
3.4.1. Equipo de trabajo y sala de endoscopia	15
3.4.2. Preparación, información y consentimiento.....	15
3.4.2.1. Consideraciones adicionales según las características de los pacientes	16
3.4.3. Premedicación, sedación, analgesia y monitorización	16
3.4.4. Anestesia tópica	17
3.4.5. Vías de inserción y exploración del árbol bronquial.....	18
3.4.6. Realización del procedimiento	18
3.5. PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN CITOLÓGICA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BASURTO.....	22
3.5.1. Material necesario	22
3.5.1.1. Material requerido en la sala de intervención del EBUS.....	22
3.5.1.2. Material requerido en el laboratorio	23

3.5.2. Procedimiento protocolario tras la realización del EBUS.....	23
3.5.2.1. En la sala de intervención.....	23
3.5.2.2. En el laboratorio	24
3.5.3. Procedimiento adicional para el estudio	25
4. RESULTADOS.....	25
5. DISCUSIÓN.....	29
5.1. DISCUSIÓN SOBRE LOS OBJETIVOS PRINCIPALES Y SECUNDARIOS	29
5.2. DISCUSIÓN SOBRE HIPÓTESIS ADICIONALES	33
6. CONCLUSIONES.....	35
7. BIBLIOGRAFÍA.....	37

1. INTRODUCCIÓN

La ecobroncoscopia lineal o sectorial con punción en tiempo real (*real-time EndoBronchial UltraSound-guided TransBronchial Needle Aspiration* [EBUS-TBNA]) es una técnica mínimamente invasiva útil para la investigación de patologías del mediastino tales como lesiones peritraqueobronquiales, enfermedades que cursan con afectación de ganglios hiliares y/o mediastínicos, el estadiaje de cánceres pulmonares y el diagnóstico de lesiones accesibles por la vía aérea¹. La utilización de esta prueba complementaria se extendió a partir del estudio pionero desarrollado en 2004 por el grupo de la Thoraxklinik en Heidelberg, liderado por el doctor Becker. En España la primera publicación sobre el tema fue realizada en el año 2007 por Monsó, Andreo, Rosell et al.².

El EBUS-TBNA, además de presentar múltiples ventajas en la identificación, diagnóstico y estadiaje de diversas patologías pulmonares, evita la realización de pruebas más invasivas y supone una influencia positiva sobre los tiempos diagnósticos con una mejor relación coste-efectividad. Asimismo, la sensibilidad, especificidad y la seguridad del procedimiento son muy altas, lo cual ha provocado que se expanda su utilización y que actualmente sea la técnica *gold standard* para el diagnóstico de ciertas patologías¹.

Sin embargo, el EBUS-TBNA no está exento de contraindicaciones, algunas complicaciones y ciertas limitaciones. Este estudio se centrará en una posible limitación de la técnica, la cual no se ha investigado hasta la fecha. Esta restricción de la práctica del EBUS-TBNA podría ser un aspecto a tener en cuenta especialmente en una futura 9ª edición del TNM del cáncer de pulmón.

1.1. INDICACIONES

El EBUS se desarrolló inicialmente para el diagnóstico y la estadificación del cáncer de pulmón no microcítico, pero cada vez se emplea más en el diagnóstico de enfermedades pulmonares no oncológicas.

Aun así, la indicación más común para el muestreo de ganglios linfáticos hiliares o mediastínicos continúa siendo la evaluación de los posibles ganglios linfáticos afectados en el contexto de un cáncer de pulmón. De hecho, las directrices más

recientes del *American College of Chest Physicians* sobre el diagnóstico y el tratamiento del cáncer de pulmón recomiendan el EBUS como el paso inicial en la estadificación diagnóstica del tipo de cáncer mencionado^{3, 4}. La *European Society of Thoracic Surgeons* también aconseja el EBUS como primera opción para la estadificación en estos pacientes^{3, 5}.

A su vez, como ya se ha mencionado, existen otras patologías de distinta etiología que pueden requerir el uso de esta técnica: la sarcoidosis, patologías infecciosas y ciertas neoplasias que cursan con linfadenopatías hiliares y mediastínicas malignas, como son los cánceres metastásicos primarios, los timomas y los linfomas¹.

El EBUS-TBNA también posibilita obtener muestras adecuadas para realizar inmunohistoquímica y un análisis de ADN, ya que puede existir la necesidad de subclasificar el cáncer con base en distintas mutaciones. La quinasa de linfoma anaplásico (*ALK*) y las mutaciones del receptor del factor de crecimiento epidérmico (*EGFR*) son un ejemplo de las alteraciones que pueden tratarse específicamente con agentes dirigidos⁶. De hecho, las mutaciones del *EGFR* son relativamente frecuentes estando presentes en aproximadamente el 25% de los pacientes con cáncer pulmonar no microcítico, siendo más comunes en las mujeres, en pacientes con tumores con histología de adenocarcinoma, en los no fumadores y en los individuos de ascendencia del este asiático. Los fármacos inhibidores de la tirosina quinasa *EGFR* (*TKI*), entre los que se encuentran el erlotinib y el afatinib, están aprobados por la *Food and Drug Administration* (*FDA*) para el tratamiento de pacientes con cáncer de pulmón no microcítico metastásico con alteraciones en el *EGFR*. La delección del exón 19 o la mutación de sustitución del exón L858R son las alteraciones más destacadas⁷.

1.2. LIMITACIONES

En el caso de la estadificación mediastínica del cáncer de pulmón, el EBUS no es capaz de estadificar todo el mediastino por la imposibilidad de acceder a ciertas estaciones ganglionares tal y como se describe en el apartado 3.4. *Técnica de EBUS-TBNA*. Por ello, para un muestreo más completo y sistemático del mediastino se podrían combinar dos técnicas: el EBUS para el estudio del mediastino

anterosuperior, y la ecografía endoscópica (*Endoscopic ultrasound [EUS]*) para la toma de muestras del mediastino posteroinferior^{3,8}.

Otra limitación es la dificultad técnica tanto de la realización del propio EBUS, debido a la angulación que se requiere efectuar en algunos lugares anatómicos, como de la misma punción con aguja en ciertos pacientes, específicamente en los ancianos con calcificaciones cartilaginosas³. Un paciente sometido a ecobroncoscopia bajo sedación moderada que presente tos significativa también puede limitar el éxito del procedimiento³.

Además, en este trabajo se analiza una posible limitación adicional no estudiada hasta la fecha, ya que se valoran las consecuencias de hallar células malignas en el material obtenido a partir de un adicional lavado de la aguja de punción del EBUS. Para comprender la relevancia de hallar una proporción significativa de resultados positivos (entendiendo dicha positividad como el hallazgo de células malignas en el material descrito) es preciso conocer el procedimiento del EBUS y el análisis de sus muestras.

El procedimiento anatomopatológico a seguir comienza con la recogida del material procedente del lavado de la aguja de punción y con la introducción del mismo en un tubo *Sarstedt* de 50ml con 15ml de solución *ThinPrep CytoLyt* (solución de metanol utilizada para mantener las células durante el transporte y su preparación en el portaobjetos). Por protocolo, por cada estación ganglionar puncionada se recoge un tubo *Sarstedt* para la conservación y posterior valoración del material del lavado. Por tanto, convencionalmente sólo se obtiene un tubo *Sarstedt* por cada estación ganglionar a analizar porque se realiza un único lavado de aguja de cada punción en dicha estación estudiándose el “pool” de lavados en una estación en conjunto; sin embargo, en este estudio se ha recopilado la información de hasta tres lavados de la misma aguja de punción, requiriendo consecuentemente tres tubos *Sarstedt* de 50ml, uno por cada lavado (1º, 2º y 3º lavados tras primera extensión positiva en fresco). Todo el protocolo del procedimiento se describe con más detalle en el punto 3.4. *Técnica de EBUS-TBNA*.

Si después de analizar los resultados adquiridos se observase que es significativa la proporción de ocasiones en las que se hallan células tumorales en las extensiones

procesadas con la instrumentación, que se describen en el punto 3.5. *Preparación y evaluación citológica en el Hospital Universitario de Basurto*, y que son obtenidas a partir del material del segundo o tercer lavado de la aguja de punción, podría suponer una limitación en el método de actuación de la técnica. Esto se debe a que actualmente la aguja de punción se vuelve a utilizar después de ser lavada una sola vez para puncionar de nuevo otra estación ganglionar del mismo paciente. Por consiguiente, la existencia de células malignas en las extensiones realizadas a partir del material adquirido de un segundo o tercer lavado de la aguja, podría suponer la obtención una estación con un resultado falso positivo. Todo ello cobra importancia para una posible futura subclasificación del componente N en la clasificación TNM de cáncer de pulmón que se estudia incluir en la 9ª edición. Dicha subclasificación tendría en cuenta no sólo la localización de las adenopatías metastatizadas por un tumor, sino que también valoraría el número de estaciones afectadas⁹. De esta manera, sería fundamental hallar todas las estaciones ganglionares metastatizadas con el objetivo de estadificar correctamente el tumor del paciente y, de este modo, poder ofrecerle un pronóstico más preciso, pese a que podría no cambiar el tratamiento.

Por ello, siempre y cuando en este trabajo se demostrase que tras un primer lavado de aguja ésta pudiera seguir conteniendo cierto número de células tumorales en una proporción considerable de ocasiones, el procedimiento del EBUS-TBNA implicaría tener que cambiar la aguja de punción para cada estación ganglionar si la previa es positiva (entendiendo nuevamente esta positividad como la presencia de células malignas en ese ganglio). En caso de verificarse dicha asociación, puncionar con la misma aguja de aspiración todas las adenopatías afectadas, pese a un primer lavado, podría conllevar un falso positivo en la siguiente estación, obteniéndose por tanto, un estadiaje incorrecto.

A su vez, si en el estudio se obtuviese una proporción significativa de resultados positivos con presencia de células tumorales en un lavado adicional de aguja, corroboraría la necesidad de desarrollar la técnica según el protocolo, puncionando siempre primero aquellas estaciones que equivaldrían a una estadificación N3 en el componente N de la clasificación TNM de cáncer de pulmón y terminando con las

N1, con intención, de evitar el sobreestadiaje. Para una mejor comprensión de estos aspectos se explicará más extensamente en el apartado *1.5. Clasificación TNM de cáncer de pulmón*.

1.3. CONTRAINDICACIONES

Las contraindicaciones que obligan a retrasar el procedimiento endobronquial en cuestión son compartidas en su mayoría con las contraindicaciones de la broncoscopia, siendo las siguientes: un infarto o una isquemia miocárdica reciente, una insuficiencia cardíaca mal controlada, una inestabilidad hemodinámica significativa, una enfermedad pulmonar obstructiva crónica agudizada o presentar una exacerbación del asma, y los distintos tipos de arritmias cardíacas potencialmente mortales. Las contraindicaciones particulares para el EBUS-TBNA están relacionadas con coagulopatías (inducidas por medicamentos o las inherentes). La recomendación es suspender los antiagregantes plaquetarios y anticoagulantes antes de la endoscopia para reducir el riesgo de sangrado ^{3, 10}, se explica más extensamente en el apartado *3.4.2.1 Consideraciones adicionales según las características de los pacientes*.

1.4. SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y POSIBLES COMPLICACIONES

Existen numerosos metaanálisis y revisiones sistemáticas, estudios aleatorizados, de cohortes, de casos y controles y series de casos que abordan diversos aspectos sobre la alta efectividad, eficiencia y seguridad de esta técnica¹. De hecho, la revisión sistemática realizada por von Bartheld et al. reportó un rango de complicaciones severas por EBUS-TBNA de tan sólo 0.14%, entre los que se describían 2 casos de sepsis, 2 de neumotórax y 1 de hipoxemia por edematización de la vía aérea¹¹.

Por estas razones, el uso del EBUS-TBNA ha ido en aumento, lo cual es comprensible teniendo además en consideración que la sensibilidad y la especificidad acumulada del procedimiento en el estadiaje del cáncer de pulmón a expensas de la punción de ganglios pulmonares es de 86-93% y 100% respectivamente. En el estudio realizado por Fernández et al. se pueden observar los resultados de diferentes metaanálisis corroborando lo mencionado (**Tabla 1**), cumpliéndose su objetivo inicial y principal¹.

Tabla 1. Características y resultados de los metaanálisis sobre el valor del EBUS-TBNA en el diagnóstico y estadificación del cáncer de pulmón¹.

Autor, año	Estudios	Pacientes	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	I2
Adams, 2009	10	995	88	100	No disponible
Gu, 2009	11	1299	93	100	74,4
Dong, 2013	9	1066	90	99	87,2
Silvestri, 2013	26	2756	89	100	No disponible
Zhang, 2013	8	822	86	100	75,5
Dhooira, 2015	10	1080	91	100	82,4

Todos los argumentos anteriores quedan reforzados con el hecho objetivo de que la cuantía de publicaciones que hacen referencia a la utilización del EBUS se ha incrementado de forma exponencial a lo largo de los últimos años, teniendo de esta manera más conocimiento y experiencia de la prueba (**Figura 1**).

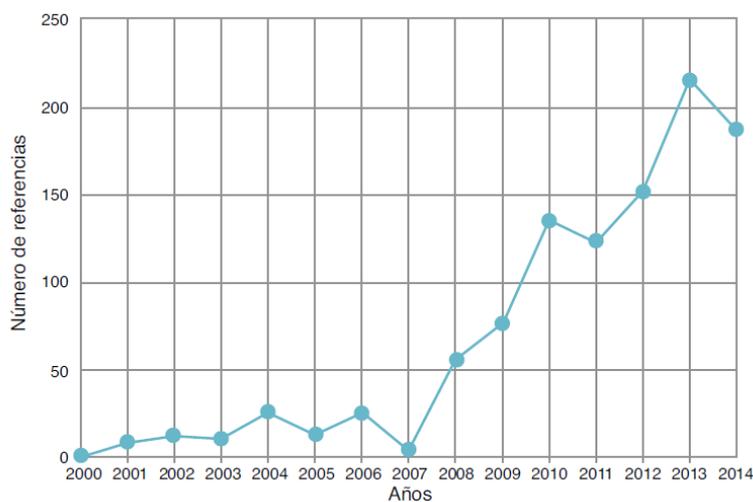


Figura 1. Número de referencias bibliográficas en Pubmed sobre EBUS desde el año 2000 hasta 2014¹.

Pese a todo ello, y a tener una tasa de complicaciones baja, estas siguen existiendo. Los abscesos y enfisemas mediastínicos, empiemas, pericarditis, sepsis, roturas de aguja, hematomas intramurales de la arteria pulmonar, hemopneumomediastino y los

abscesos pulmonares son las complicaciones más graves que se han reportado en los últimos años, principalmente como informes de casos¹². En la **Tabla 2** se recogen las complicaciones más frecuentes y el manejo que se recomienda ante cada una de ellas¹³.

Tabla 2. Complicaciones del EBUS y su manejo recomendado¹³.

Tipo de complicación	Manejo
1. Alteración en la fisiología respiratoria	
Hipoxia	Oxígeno suplementario
Hipercapnea	Aspiración de secreciones, disminuir tiempo de exploración
Laringoespasma/Broncoespasmo	broncodilatador inhalado
2. Bacteriológicas	
Infección cruzada	Adecuada protección del personal, limpieza, desinfección y esterilización del instrumento
Bacteriemia transitoria/sepsis	Profilaxis de endocarditis y antibioticoterapia en pacientes de alto riesgo
3. Mecánica	
Epistaxis	Taponamiento nasal y/o instilación de adrenalina tópica
Lesiones en la mucosa	Evitar aspiración vigorosa y fija bronquial
Hemoptisis	Lavados con suero fisiológico frío o con alícuotas de 2-3ml de adrenalina 1:1000 (1ml en 20ml de suero fisiológico)
Neumotórax	Retirada del instrumento y manejo del mismo
4. Anestésicas	
Hipoventilación-apneas	Ventilación con ambú y reversión con antidotos
Neurológicas, arritmias	Limitar la dosis de lidocaína

Entre las revisiones sistemáticas también se han reportado fallecimientos con una incidencia de mortalidad mínima:

- un fallecido por neumotórax después del procedimiento (0.07% de morbilidad en el metaanálisis de Gu et al.)^{12, 14}.
- una muerte por sepsis después del procedimiento con EBUS-TBNA en la investigación de Al-Qadi et al.^{12, 15}.

Estos sucesos provocaron un debate sobre la seguridad del procedimiento y se investigaron estas eventuales situaciones con mayor profundidad. En los estudios iniciales que se llevaron a cabo al respecto, las tasas de complicaciones halladas fueron muy bajas; sin embargo, estos trabajos incluían resultados de una serie de

EBUS-TBNA realizados por expertos broncoscopistas, contando además con un tamaño muestral pequeño, por lo que se cuestiona su fiabilidad¹⁶.

1.5. CLASIFICACIÓN TNM DE CÁNCER DE PULMÓN

Un aspecto a tener en cuenta y uno de los pilares de este estudio, como se ha mencionado en el punto 1.2. *Limitaciones*, es el posible cambio de estadiaje por modificaciones del componente N que se puedan llegar a dar en una 9ª edición del sistema de estadificación TNM del cáncer de pulmón. Actualmente, la clasificación del componente N se realiza de la manera en la que se refleja en la **Tabla 3**⁹.

Tabla 3. 8ª edición de la clasificación TNM del componente N.

Componente N (afectación de los nódulos linfáticos regionales)	
N0	No hay metástasis en los nódulos linfáticos regionales
N1	Metástasis de los ganglios linfáticos peribronquiales e hilares ipsilaterales
N2	Metástasis de los ganglios linfáticos mediastínicos y/o subcarinales ipsilaterales;
N3	Metástasis de los ganglios linfáticos hilares y/o mediastínicos contralaterales o supraclaviculares

En el trabajo llevado a cabo por Detterbeck et al., en el que se sintetiza la 8ª y vigente edición del estadiaje del cáncer de pulmón realizado por *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*, se cita que el *Staging and Prognostic Factors Committee (SPFC)* consideró subdivisiones adicionales que incluían el número de estaciones ganglionares afectadas (**Tabla 4**)⁹. De hecho, sus análisis entre los tumores en estadio-p (etapa patológica [p] que se define por los resultados de una resección quirúrgica junto con toda la información clínica de estadificación) mostraron diferencias pronósticas en base a si las estaciones ganglionares N1 o N2 eran individuales o múltiples. Sin embargo, no se observaron diferencias entre múltiples estaciones N1 y una skip metástasis única N2 (sin afectación de N1). Esta subclasificación no se incluyó en la clasificación final de la 8ª edición porque no se pudo evaluar en tumores en estadio-c (etapa clínica [c] determinada por toda la

información disponible antes de una resección quirúrgica, incluidos síntomas, signos físicos, imágenes, procedimientos y biopsias)⁹.

Tabla 4. Subclasificación del componente N realizado por SPFC.

Categoría	Subclasificación	Descripción
Nx		Los ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados
N0		Sin ganglios linfáticos regionales metastatizados
N1	N1a	Metástasis individual de una estación N1
	N1b	Metástasis múltiple de estaciones N1
N2	N2a1	Metástasis individual de una estación N2 sin alteración de estaciones N1 (skip)
	N2a2	Metástasis individual de una estación N2 con alteración estaciones N1
	N2b	Metástasis múltiple de estaciones N2
N3		Metástasis de estación ganglionar N3

Si finalmente se aceptase esta subclasificación del componente N podría verse modificado el protocolo del procedimiento del EBUS-TBNA debiendo realizar más punciones con el fin de lograr un estadiaje del componente N más riguroso del paciente, pudiendo así ofrecer un pronóstico más preciso. Aunque, como se ha comentado anteriormente, un cambio del estadiaje podría no modificar el tratamiento al paciente.

Para comprender mejor el concepto anterior es fundamental aclarar el esquema actual de estadiaje en EBUS-TBNA. Inicialmente, es preciso conocer la localización del tumor primario y de los ganglios sospechosos de malignidad por medio de técnicas de imagen. Una vez introducido el ecobroncoscopio a nivel traqueal, la visualización de adenopatías en la estadificación del cáncer de pulmón ha de comenzar siempre por el lado contralateral al tumor (investigando la posible presencia de N3), seguido por el lado ipsilateral, buscando primero posibles estaciones ganglionares N2 y después, de no haber encontrado ninguna, explorando la existencia de N1. Como se puede

apreciar, se comienza por las estaciones ganglionares que de ser positivas en la extensión en fresco indican un estadio mayor en la clasificación TNM. Por tanto, actualmente se detiene el procedimiento una vez hallada una estación ganglionar positiva que se traduzca en un mayor grado tumoral, y consecuentemente no se puncionan las restantes adenopatías.

Tal y como se puede deducir, el descrito esquema podría modificarse si una futura clasificación TNM adoptase una subclasificación del componente N como propone SPFC.

1.5.1. Tasas de supervivencia, valor pronóstico de la clasificación TNM del cáncer de pulmón.

Las tasas de supervivencia varían dependiendo tanto del estadiaje por la clasificación del TNM como por el tipo histológico del tumor, de modo que se pueden dividir en dos grandes grupos: los cánceres de pulmón no microcíticos y los microcíticos. Este recurso es importante dado que permite ofrecer al paciente un pronóstico más preciso de su enfermedad, pese a la existencia de múltiples factores que pueden provocar una supervivencia mayor o menor por causas asociadas o no al propio tumor¹⁷.

1.5.1.1. Tasa de supervivencia de los cánceres de pulmón no microcíticos.

Las cifras que se presentan en la **Tabla 5** fueron calculadas tras el análisis de miles de personas en todo el mundo que fueron diagnosticadas con cáncer de pulmón no microcítico entre 1999 y 2010. Aunque se basan en personas diagnosticadas hace varios años, estas tasas son las más recientes publicadas por el sistema actual de clasificación AJCC. Estas tasas de supervivencia incluyen personas que fallecen por causas que no son el propio cáncer. Hay que tener en cuenta que estas tasas fueron calculadas basándose en la 7ª edición de la clasificación TNM, con lo cual hay ciertos porcentajes que podrían verse alterados¹⁷.

1.5.1.2. Tasa de supervivencia de los cánceres de pulmón microcíticos.

Las cifras presentadas a continuación corresponden a tasas relativas de supervivencia de la base de datos *Surveillance, Epidemiology, and End Results* (SEER) del *National Cancer Institute*.

Tal y como se puede apreciar en la **Tabla 5** la tasa de supervivencia a los 5 años del cáncer de pulmón microcítico es significativamente menor a la tasa de supervivencia del cáncer de pulmón no microcítico¹⁸.

Tabla 5. Estadio de los cánceres de pulmón no microcítico y microcítico y sus respectivas tasas de supervivencia a los 5 años.

Estadio pulmón microcítico	Cáncer de no microcítico	Tasa de supervivencia a los 5 años	Estadio pulmón microcítico	Cáncer de no microcítico	Tasa de supervivencia a los 5 años
IA1		92%	I		31%
IA2		83%			
IA3		77%			
IB		68%			
IIA		60%	II		19%
IIB		53%			
IIIA		36%	III		8%
IIIB		26%			
IIIC		13%			
IVA		10%	IV		2%
IVB		1%			

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS PRINCIPALES

- Valorar la asociación entre la realización de un lavado adicional de la aguja de punción tras un EBUS-TBNA y el hallazgo de células de origen tumoral. Asimismo, se pretende evaluar las consecuencias de la asociación anterior.
- Determinar si el actual esquema de actuación del EBUS está justificado.

2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Valorar un futuro cambio de protocolo en la actuación con EBUS-TBNA en base a nuevas subclasificaciones del componente N.

- Valorar la asociación entre la realización de un tercer lavado de la aguja de punción y el hallazgo de células de origen tumoral en dicho lavado como estrategia de eliminación de la presencia de células tumorales en la aguja.
- Realizar una asociación entre la estirpe celular del tumor del paciente y la persistencia de células tumorales en la aguja de ecobroncoscopia tras su lavado sistemático postpunción
- Evaluar las estaciones ganglionares más frecuentemente metastatizadas por un tumor primario pulmonar.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO

Es un estudio retrospectivo transversal que valora las posibles consecuencias de la presencia de células malignas tras lavados adicionales de la aguja fina de punción guiada por EBUS. Para ello se han recogido los resultados de todos los pacientes que cumplieron los criterios descritos *vide infra* y a los cuales se les realizó el procedimiento EBUS-TBNA en el Hospital Universitario de Basurto entre octubre de 2017 y marzo de 2018. El Servicio de Neumología del Hospital Universitario de Basurto proporcionó una base de datos de pacientes, representados de forma anónima, a partir de la cual se recogieron las siguientes variables de manera individualizada: sexo y edad del paciente; los resultados tras un lavado adicional de la aguja de punción; la estirpe, el estadio TNM y la localización del tumor primario; y la localización y el tamaño de los ganglios puncionados.

Para la realización de este estudio se solicitó el permiso correspondiente al Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Universitario de Basurto.

3.2. PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

La realización del EBUS-TBNA se llevó a cabo siguiendo el esquema actual de estadiaje descrito a lo largo del apartado 1.5. *Clasificación TNM de cáncer de pulmón*. Para la obtención de los resultados de los pacientes, tras la punción-aspiración de la adenopatía se valoraba la muestra sobre el portaobjetos. Si dicha muestra, a juicio del profesional anatomopatólogo, se consideraba positiva, se

procedía posteriormente al lavado de la aguja de punción estipulado por el protocolo. Si el resultado era positivo en la muestra en fresco se practicaba también el lavado adicional, que sólo se tenía en cuenta si se confirmaba en el informe definitivo que el material obtenido a partir del primer lavado contenía células tumorales, ya que el primer lavado no es posible valorarlo *in situ*. Cada citología del material resultante de los lavados de aguja eran contenidos cada uno en un tubo *Sarstedt* de 50ml con 15ml de *ThinPrep CytoLyt* diferente, tal y como se describe posteriormete en el punto 3.5. *Preparación y evaluación citológica en el Hospital Universitario de Basurto*. Es decir, cuando existían células malignas en el portaobjetos en fresco, se procedía al protocolario lavado de aguja y, además, a un segundo lavado de la aguja recogiendo el material a estudio en un segundo tubo *Sarstedt*.

3.2.1. Selección de pacientes

La selección de pacientes para la recopilación de sus resultados en una base de datos, se ha realizado según los siguientes criterios:

Criterios de inclusión:

- Indicación de la realización de EBUS-TBNA por ganglios pulmonares de aspecto sospechoso de metástasis en pruebas de imagen a causa de un tumor primario de localización pulmonar u otra diferente.
- Positividad de la muestra extendida sobre el portaobjetos en fresco, a criterio del anatomopatólogo, y positividad de la muestra obtenida a partir del primer lavado de aguja de punción (valorada *a posteriori* en el laboratorio). Para verificar que el resultado no fuese un falso positivo en fresco también debía haberse confirmado su positividad en el laboratorio. En consecuencia, tanto la muestra en fresco como el material del primer lavado de aguja debía contener células malignas.

Criterios de exclusión:

- Pacientes con cáncer de pulmón sin ninguna estación ganglionar sospechosa por pruebas de imagen.
- Resultados negativos o falsos positivos en la muestra en fresco y/o en el primer lavado de aguja.

Los métodos utilizados para la recogida de datos se han basado en los resultados recopilados por especialistas del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Basurto del material resultante tras el procedimiento EBUS-TBNA. Los datos recogidos de los pacientes eran presentados de forma anónima al autor de este estudio por parte del director del presente trabajo de fin de grado (TFG).

3.3. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

Asimismo, se ha realizado una estrategia de búsqueda de información en la plataforma Pubmed con el siguiente orden:

- En primer lugar, se utilizó el siguiente algoritmo de búsqueda para estudios relevantes publicados entre 2007 y octubre de 2017 “*EBUS AND needle AND aspiration AND complication*”. Tras esta búsqueda se localizaron 66 resultados añadiendo los filtros de límite de fecha de publicación de 10 años y acceso a texto completo. De todos estos trabajos se incluyeron 8, excluyendo el resto debido a que no resultaron relevantes ni estaban relacionados con el objeto de esta investigación. Para la selección se revisaron los abstracts y en algunos casos requeridos los artículos completos con intención de decidir si su contenido se adecuaba a la materia de estudio.
- A la anterior búsqueda se añadió el siguiente algoritmo “*EBUS AND limitations*”. Además, se incluyeron los filtros de texto completo y límite de fecha de 10 años. De esta manera se obtuvieron 8 estudios entre los que se seleccionó uno.
- Tras la lectura crítica de los estudios anteriores, se realizó una nueva búsqueda para conocer la incidencia del cáncer en la población general y las variables independientes que pueden existir. Para ello se recurrió nuevamente a la plataforma Pubmed con la técnica de búsqueda “*Best match search information*” utilizando además los términos MeSH “*incidence*”, “*lung neoplasms*”, acotándolo con el subtítulo “*epidemiology*” y con los filtros por tipo de diseño de estudio (estudio observacional y artículo histórico) y añadiendo límite de fecha de publicación de cinco años y acceso a texto completo. De esta manera se obtuvieron 106 artículos entre los que se escogieron 3.

Después de revisar los estudios seleccionados, se decidió realizar otras búsquedas:

- Se amplió información sobre la técnica de sedación en la versión online de la 3ª edición del Manual de diagnóstico y terapéutica en Neumología.
- También se buscó información acerca de la tasa de supervivencia del cáncer de pulmón según su estadiaje por la clasificación del TNM y su tipo histológico mediante la plataforma de *American Cancer Society*. En ella se utilizó el algoritmo “*lung cancer survival rate*”. A partir de esta base de datos se seleccionaron 2 artículos.

Además, se incluyeron 8 artículos hallados a partir de la bibliografía de los estudios seleccionados, 3 libros especializados en el tema en cuestión y una presentación de una conferencia organizada por *Society of Thoracic Radiology* en 2012.

3.4. TÉCNICA DE EBUS-TBNA

3.4.1. Equipo de trabajo y sala de endoscopia

Además del neumólogo, se precisan tres asistentes, teniendo que ser dos de ellos personal de enfermería cualificado. El espacio físico dedicado a la realización del EBUS debe incluir: una sala para la preparación y recuperación del paciente que permita una cierta privacidad; un área de trabajo para realizar el procedimiento con suficiente espacio para maniobrar, un área de limpieza y mantenimiento con buena ventilación y un despacho médico para la valoración de las historias clínicas¹³.

3.4.2. Preparación, información y consentimiento

Antes de realizar un EBUS-TBNA es preciso disponer de la historia clínica del paciente para poder precisar los objetivos de la exploración. Es necesaria una tomografía axial computarizada (TAC) torácica, a la que puede añadirse una tomografía de emisión de positrones (PET), con las que poder dirigir el procedimiento hacia las estaciones ganglionares sospechosas de haber sido metastatizadas¹³. Además, se ha de tener presente que la ausencia del consentimiento informado por escrito es una contraindicación para iniciar el EBUS-TBNA. Las pruebas de función pulmonar o la gasometría arterial, solo serán necesarias en casos de sospecha de una alteración funcional respiratoria grave. Se requiere un periodo de

ayuno de sólidos en las 4 horas previas a la realización de la exploración y pueden permitirse líquidos hasta 2 horas antes del examen; de igual forma, hay que recordar al paciente mantener el ayuno de dos a tres horas tras el EBUS debido al efecto anestésico que permanece en la vía aérea superior y el consecuente riesgo de aspiración¹³.

3.4.2.1. Consideraciones adicionales según las características de los pacientes

- Los pacientes con asma bronquial deben premedicarse con un broncodilatador antes de la prueba.
- Tal y como se ha hecho referencia en el apartado 1.3. *Contraindicaciones* en pacientes con tratamiento anticoagulante o antiagregante se aconseja suspender tratamiento.
 - En tratamientos con heparina, basta suspender la última dosis previa a la exploración.
 - En los casos de anticoagulación con dicumarínicos, se recomienda terapia puente (suspensión del dicumarínico 2 días antes de la exploración y sustituirlo por heparina de bajo peso molecular) en pacientes con alto riesgo de trombosis y en pacientes con reciente episodio de trombosis venosa en los tres meses previos^{13, 19}.
 - Los nuevos anticoagulantes, como el rivaroxabán, apixabán y dabigatran, deben suspenderse 24 horas antes del procedimiento.
 - Los antiagregantes distintos a la aspirina, deben suspenderse 7 días antes y pueden sustituirse por 100 mg/día de ácido acetilsalicílico.
- No se recomienda de forma rutinaria la profilaxis antibiótica previa de endocarditis para la realización de este procedimiento sino se considera un paciente de alto riesgo (portadores de valvulopatías izquierdas, válvulas cardiacas artificiales, cardiopatías congénitas cianóticas, historia previa de endocarditis, fístulas arteriovenosas, o dispositivos intravasculares)¹³.

3.4.3. Premedicación, sedación, analgesia y monitorización

Se debe canalizar una vena periférica en todo enfermo antes de administrar la sedación, que se mantendrá hasta el final del periodo de recuperación. La sedación se

ha hecho imprescindible tanto para la mejor tolerancia del paciente como para la mayor comodidad del endoscopista. Los efectos de la sedación son la amnesia anterógrada, la relajación y la mayor cooperación del paciente. Se prefiere la sedación consciente, en la que el paciente responde a estímulos verbales o táctiles. Los fármacos, dosis, duración, vía de administración y antagonistas se recogen en la **Tabla 6**. La monitorización habitual debe incluir saturación pO₂, con la finalidad de mantenerla en un porcentaje igual o mayor a 90%. Se debe considerar una monitorización cardiaca en pacientes con antecedentes de cardiopatía grave o en casos en los que persista una situación de hipoxemia a pesar de la oxigenoterapia¹³. Asimismo, se recomienda monitorizar el índice biespectral (BIS), el cual es el parámetro de monitorización de profundidad anestésica más utilizado en la actualidad. Es una interpretación estadística basada en un algoritmo matemático complejo sobre datos extraídos del EEG de individuos sanos sometidos a anestesia general.

Tabla 6. Fármacos más frecuentemente utilizados en la sedación¹³.

Fármaco	Dosis	Inicio de acción	Duración	Antagonista
Sedantes				
Midazolam	0,07 mg/kg	1-5 minutos	90 minutos	Flumazenilo
Propofol	0.5-1mg/kg en 1-5 minutos + perfusión a 1,5-4,5 mg/kg/h o bolos de 10-20mg	<1 minuto	30 minutos	
Opiáceos				
Fentanilo	1 ^a dosis: 0,05-0,1 mg + dosis repetidas cada 2 ó 3 minutos	3-5 minutos	40-60 minutos	Naloxona

3.4.4. Anestesia tópica

Es necesaria la anestesia local de la vía aérea. La lidocaína tópica es el anestésico local más seguro para las vías respiratorias^{13, 19}. La anestesia de las fosas nasales puede realizarse con spray o gel de lidocaína al 2% o 4%. Una vez en el árbol bronquial, se debe anestesiar a demanda con bolos de lidocaína de 2 ml al 2%, sin

superar la dosis de 8 mg/kg en adultos^{13, 20}. Al administrar anestesia local se minimiza la tos y se facilita la tolerancia al procedimiento.

3.4.5. Vías de inserción y exploración del árbol bronquial

La vía de inserción puede ser tanto nasal como oral, siendo la diferencia más destacable entre ellas la utilización de la cánula Guedel en esta última. Después, se hace avanzar el broncoscopio flexible para un examen inicial de la vía aérea. Se identifican segmentos y subsegmentos bronquiales y se succionan las secreciones, pudiendo administrar lidocaína al 1-2% para minimizar aún más la tos¹³.

3.4.6. Realización del procedimiento

Mientras se realiza la técnica, el broncoscopista debe visualizar simultáneamente tanto las imágenes ultrasónicas como las broncoscópicas³. Este tipo de ecobroncoscopia lleva un transductor curvado en el extremo distal que escanea de forma paralela a la dirección de inserción del broncoscopio¹³. Las imágenes se obtienen mediante contacto directo de la sonda con la lesión o mediante aproximación a un balón que se rellena con suero salino y que se encuentra en la punta de la sonda³.

Después de la confirmación ecográfica del sitio de la biopsia, la aguja de aspiración transbronquial (TBNA) se introduce a través de un canal de trabajo de 2,2 mm en el broncoscopio (**Figura 2a**). Dicha aguja puede ser de 21-22G y puede avanzar hasta 40 mm. Hay un estilete o alambre en la misma en el momento de la inserción para despejar el tejido que se puede acumular al cruzar la pared bronquial o traqueal. En su extremo distal tiene surcos o ranuras (**Figura 2b**), lo que favorece su hiperecogenicidad y mejora su visualización por ultrasonidos (**Figura 2c**)³. Después de perforar el ganglio linfático o el tumor, la aguja se conecta a una jeringa con presión negativa y se procede a succionar repetidamente el ganglio linfático. Se han recomendado múltiples punciones para minimizar el error de muestreo³. La duración del procedimiento varía según la cantidad de estaciones ganglionares muestreadas.

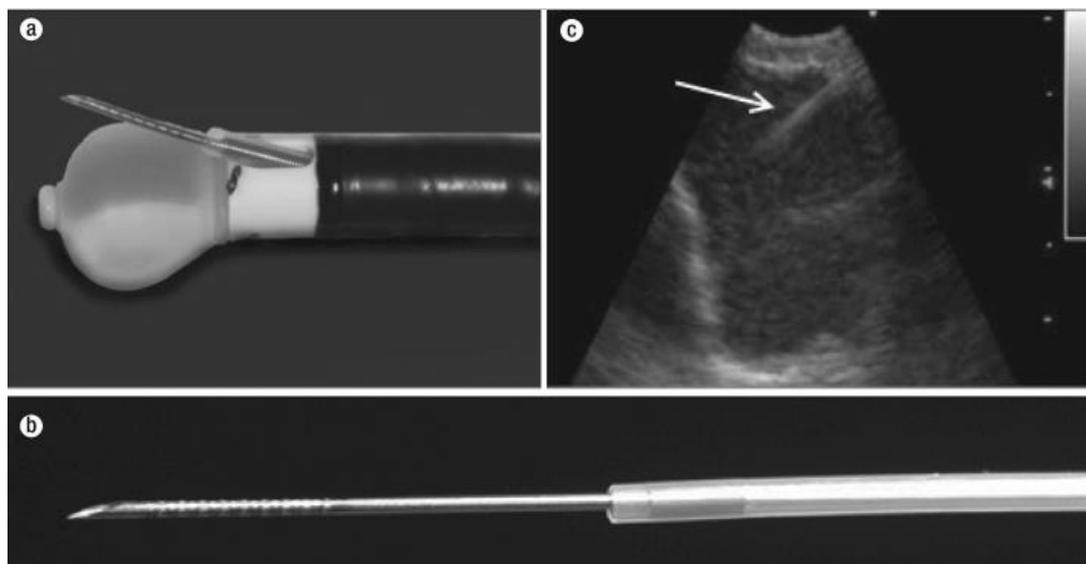


Figura 2. Broncoscopio endobronquial (EBUS). (a) Balón inflado sobre el transductor de ultrasonido y una aguja de biopsia que se encuentra situada a través del canal de trabajo de EBUS. (b) Una aguja de biopsia EBUS con ranuras para una mejor visualización ecográfica (flecha). (c) Visualización en tiempo real del avance de la aguja de aspiración transbronquial EBUS en el ganglio linfático.

Las muestras obtenidas pueden analizarse in situ mediante el uso de una evaluación rápida (más conocido como *rapid on-site cytologic evaluation* [ROSE]) o pueden recogerse en medios de fijación para su posterior análisis y valoración. Se ha demostrado que la evaluación rápida in situ reduce significativamente la necesidad de procedimientos broncoscópicos adicionales y el número de punciones²¹.

Las estaciones anatómicas de los ganglios linfáticos accesibles a través del EBUS son 2R, 2L, 3P, 4R, 4L y 7 reflejadas en la **Figura 3a**. Una ventaja única del EBUS es la accesibilidad de las estaciones 10R, 10L, 11R y 11L, que son inaccesibles por otras técnicas invasivas. La ecografía endoscópica (EUS) también proporciona acceso a 7, pero además se pueden alcanzar las estaciones de ganglios linfáticos 8 y 9. En la **Figura 3b** se muestran las estaciones de ganglios linfáticos inaccesibles para el EBUS³.

En la **Tabla 7** aparece descrita la definición localizadora de cada estación ganglionar según el Mapa de Ganglios Linfáticos desarrollado por la *International Association for the Study of Lung Cancer* (IASLC), las cuales pueden verse ilustradas en la **Figura 4**²².

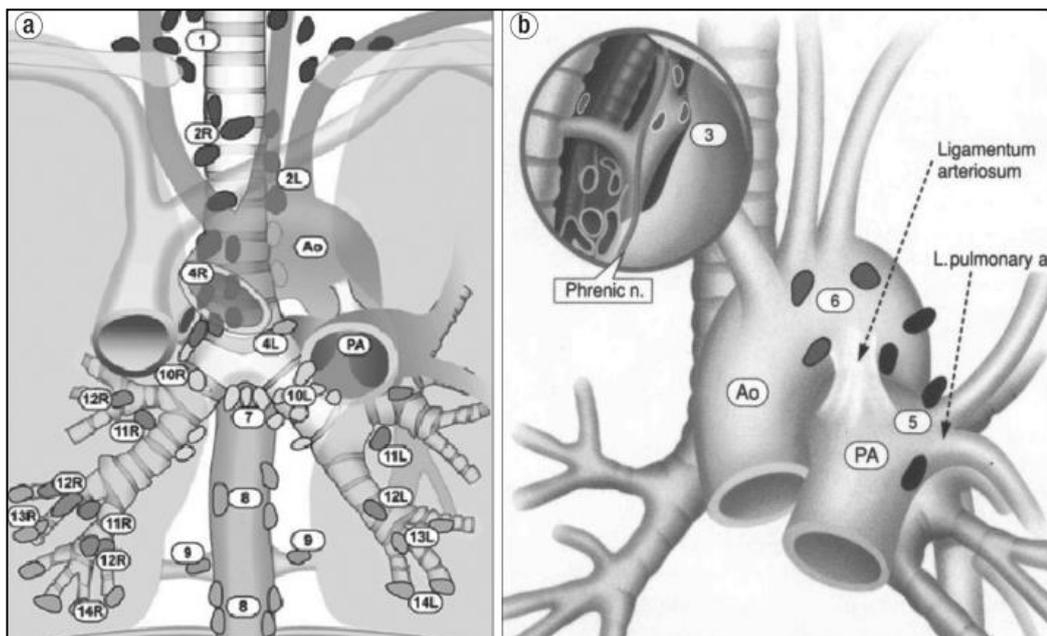


Figura 3. Representación anatómica de las estaciones de ganglios linfáticos (a) accesibles por el EBUS y (b) no accesibles por EBUS

Tabla 7. Mapa de Ganglios Linfáticos de la IASLC²².

Zona supraclavicular
Estación 1R/L: ganglios linfáticos de la zona inferior y (R o L) * cervical, supraclavicular y de la muesca esternal
Ganglios mediastínicos superiores
Estación 2R/L: Ganglio linfático paratraqueal superior (R o L)*
Estación 3A: Ganglio linfático prevascular
Estación 3P: Ganglio linfático retrotraqueal
Estación 4R/L: Ganglio linfático paratraqueal inferior (R o L)*
Zona aortopulmonar
Estación 5: Ganglio linfático subaortico
Estación 6: Ganglio linfático paraaortico
Zona subcarinal
Estación 7: Ganglio linfático subcarinal
Ganglios mediastínicos inferiores
Estación 8R/L: Ganglio linfático paraesofágico (R o L)*
Estación 9R/L: Ganglio linfático del ligamento pulmonar (R o L)*
Zona hilar e interlobar (nódulos pulmonares)
Estación 10R/L: Ganglio linfático hilar (R o L)*
Estación 11R/L: Ganglio linfático interlobar (R o L)*
Zona periférica pulmonar
Estación 12R/L: Ganglio linfático lobar (R o L)*
Estación 13R/L: Ganglio linfático segmentario (R o L)*
Estación 14R/L: Ganglio linfático subsegmentario (R o L)*

*Todas las estaciones ganglionares exceptuando 3A, 3P, 5, 6 y 7 tienen localización derecha (R) e izquierda (L).

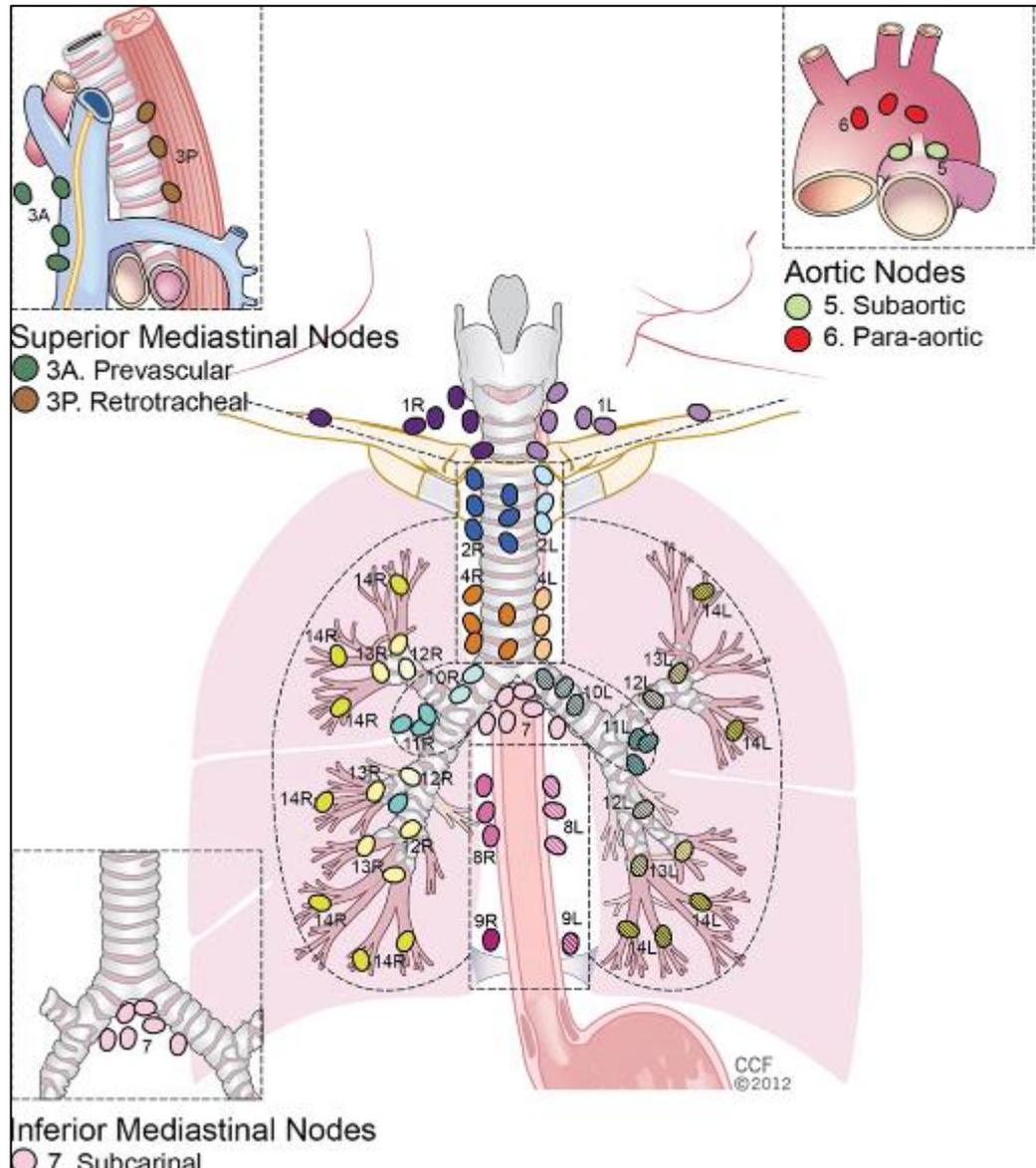


Figura 4. Ilustración del Mapa de Ganglios Linfáticos de la IASLC.

Por último, en la **Tabla 8** podemos apreciar la distribución en el componente N de la clasificación TNM de las estaciones ganglionares metastatizadas con base en si el tumor está localizado en el pulmón derecho o izquierdo²⁷.

Tabla 8. Clasificación del componente N según la localización de la estación ganglionar metastatizada por un tumor del pulmón derecho o izquierdo.

Localización del tumor y su estadio del componente N	Estaciones ganglionares
Pulmón derecho	
N1	10R, 11R, 12R, 13R, 14R
N2	2R, 3A ^α , 3P, 4R, 7, 8 ^β , 9R
N3	1R, 1L, 2L, 3A ^γ , 4L, 5, 6, 8 ^δ , 9L, 10L, 11L, 12L, 13L, 14L
Pulmón izquierdo	
N1	10L, 11L, 12L, 13L, 14L
N2	2L, 3A ^γ , 4L, 5, 6, 7, 8 ^δ , 9L
N3	1R, 1L, 2R, 3A ^α , 3P, 4R, 8 ^β , 9R, 10R, 11R, 12R, 13R, 14R

α: Situado a la derecha de la línea media de la tráquea β: Situado a la derecha de la línea media del esófago

γ: Situado a la izquierda de la línea media de la tráquea δ: Situado a la izquierda de la línea media del esófago

3.5. PREPARACIÓN Y EVALUACIÓN CITOLÓGICA EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BASURTO

3.5.1. Material necesario

3.5.1.1. Material requerido en la sala de intervención del EBUS

- Portaobjetos *LineaLAB superfrost* para la extensión en fresco
- Kit de tinción *Diff-Quick* (la cual es una variante de Giemsa), compuesta de 3 botes con soluciones diferentes: un fijador, un colorante orange G y una tinción de hematoxilina.
- Bote con alcohol de 96° que actúa como fijador.
- Un tubo *Sarstedt* de 50ml con 15ml de *ThinPrep CytoLyt* por cada estación ganglionar puncionada.
- Microscopio óptico.

3.5.1.2. Material requerido en el laboratorio

- Bateria de teñidor papanicolau *Tissue-Tek Des.*
- Montador de cubreobjetos *Tissue-Tek film.*
- Centrifugadora *Centrifuge 5804 eppendorf.*
- Procesador *ThinPrep 5000 Hologic.*
- Portaobjetos *ThinPrep* para las muestras tras el lavado.
- Microscopio óptico.

3.5.2. Procedimiento protocolario tras la realización del EBUS

3.5.2.1. En la sala de intervención

Durante el procedimiento, cada vez que se punciona una estación ganglionar, se valora en fresco el material resultante. Por cada punción se pueden llegar a realizar hasta 3 o 4 extensiones dependiendo de la cantidad de muestra obtenida. En la propia sala de intervención se preparan las muestras para poder ser examinadas por el microscopio óptico. Inicialmente se realiza la extensión en el portaobjetos *lineaLAB superfrost* y después se efectúa la tinción con el kit *Diff-Quick*. Como ya se ha mencionado, este kit de tinción se compone de 3 soluciones que permiten una tinción rápida de las muestras para su análisis morfológico. Las muestras, previamente secadas al aire, se fijan y tiñen por inmersión en las soluciones del kit en 15 segundos. Se comienza introduciendo el portaobjetos *lineaLAB superfrost* con la muestra ya extendida durante 15 segundos en el primer bote con la solución fijadora. Después, se procede con la solución de Orange G otros 15 segundos, y a continuación se introduce en el tercer bote que contiene hematoxilina 15 segundos más. Finalmente se lava el portaobjetos utilizando agua destilada.

Una vez realizado el procedimiento anterior se puede examinar el portaobjetos con el material en fresco por microscopio a una resolución de 10x o 15x.

Tras detectar la positividad de la muestra en cuestión, se introduce el portaobjetos *lineaLAB superfrost* en alcohol de 96° que actuará como nuevo fijador, en el cual se desvanecen las demás tinciones.

Es importante recalcar que el portaobjetos y el bote de alcohol deberán estar correctamente etiquetados indicando: nombre y datos del paciente, estación de procedencia y número de punción.

Es imprescindible que se realicen tantas punciones como sean necesarias hasta que haya 3 extensiones positivas de la estación ganglionar, y ante una duda sobre dicha positividad se debe volver a puncionar.

Para concluir, se procede al lavado de la aguja, llevándose a cabo uno por cada estación ganglionar puncionada. Todo el material de lavado de cada estación, independientemente del número de punciones que se realice en la misma, se recoge en un tubo *Sarstedt* de 50ml con 15ml de *ThinPrep CytoLyt*. Es de destacar que se le da prioridad al resultado de la extensión respecto al resultado del lavado.

3.5.2.2. En el laboratorio

Se realizan dos procedimientos diferentes, uno para las muestras recogidas en el portaobjetos *lineaLAB superfrost* y otro para el material del lavado reunido en el tubo *Sarstedt*.

Para las extensiones decoloradas de la muestra en el portaobjetos *LineaLAB* y que han sido fijados con el alcohol se siguen los siguientes pasos:

- 1º. Se tiñe automáticamente las extensiones decoloradas con la batería de teñidor papanicolau *Tissue-Tek Des*.
- 2º. Se utiliza el montador de cubreobjetos *Tissue-Tek film* para un mejor enfoque microscópico a más de 20x.
- 3º Se procede a la valoración de la muestra por microscopía óptica y se concluye informando sobre la misma.

Para el tubo *Sarstedt* de 50ml con 15ml de *ThinPrep CytoLyt* con el material del lavado de la aguja:

- 1º Se introduce el material en la centrifugadora *Centrifuge 5804 eppendorf*. Es importante mencionar en este paso que si después del centrifugado hay en el bote sobrenadante, este se cuela con un filtro y se realiza un citobloque que también debe ser valorado.

- 2° Se cuenta la celularidad de la solución del recipiente una vez centrifugado con el procesador *ThinPrep 5000 Hologic*. Si la solución contiene suficiente celularidad, el propio procesador habilita las células halladas en un portaobjetos *ThinPrep* disponiéndolas en una capa de una sola célula de espesor. Si no hay suficiente celularidad el procesador vuelve a filtrar el líquido y a realizar un nuevo contaje.
- 3° Se utiliza la batería de teñidor papanicolau *Tissue-Tek Des*.
- 4° Se emplea el montador de cubreobjetos *Tissue-Tek film*.
- 5° Se procede a la valoración de la muestra por microscopía óptica y se concluye informando sobre la misma.

3.5.3. Procedimiento adicional para el estudio

Como se describe en el apartado 2. *Objetivos* se pretende valorar la asociación entre la realización de un lavado adicional de la aguja de punción tras un EBUS-TBNA y el hallazgo de células de origen tumoral. Un dato a tener en cuenta en este estudio es que se introdujo un tercer lavado en el mes de enero del 2018 por decisión conjunta entre el Servicio de Neumología y el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Basurto con objeto de hallar una estrategia de eliminación de la presencia de células tumorales en la aguja de punción.

El proceso que se realizó para la obtención de resultados fue idéntico al del primer lavado de aguja. La técnica únicamente difirió en que todo el lavado de la aguja en sí mismo no se introdujo en el mismo bote, ya que existió un tubo *Sarstedt* de 50ml con *ThinPrep CytoLyt* por cada lavado realizado de la misma aguja de punción, de modo que pudieron distinguir así la celularidad presente en cada uno de estos.

4. RESULTADOS

Se han recogido datos de los pacientes a los que se realizaron un EBUS TBNA en el Hospital Universitario de Basurto entre octubre de 2017 y marzo de 2018. A lo largo de dichos meses, se realizaron 67 procedimientos de EBUS-TBNA; sin embargo, debido a los criterios de inclusión y exclusión aplicados, sólo se han podido valorar 12 casos. Las variables recogidas y recopiladas en la base de datos proporcionada se encuentran resumidas en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Variables recopiladas en la base de datos de los casos del estudio.

DATOS DE REFERENCIA	Nº DE CASOS CON LA VARIABLE DESCRITA
Sexo	
Varón	8
Mujer	4
Edad	
66.75(±10.65) años	
Resultado tras un segundo lavado de la aguja	
12 casos estudiados	
Positivo	11
Negativo	1
Resultado tras un tercer lavado de la aguja	
6 casos estudiados	
Positivo	4
Negativo	2
Estirpe del tumor primario	
Adenocarcinoma	6 (50%)
Carcinoma epidermoide	4 (33,33%)
Carcinoma microcítico	1 (8,33%)
Carcinoma no microcítico no filiado	1 (8,33%)
Estadio TNM del tumor primario	
IIA	1 (8,33%)
IIB	1 (8,33%)
IIIA	2 (16,67%)
IIIB	2 (16,67%)
IVA	3 (25%)
IVB	3 (25%)
Localización del tumor primario	
Lóbulo superior derecha	4
Lóbulo medio	1
Lóbulo inferior derecha	3
Lóbulo superior izquierda	1
Língula	1
Lóbulo inferior izquierda	2
Ganglios puncionados	
Localización	
4R	6
4L	3
7	8
10L	1
11L	2
Tamaño medio	
14,78 (±5,97) cm	

En los datos descritos en la **Tabla 9** se observan ciertas características de los cánceres pulmonares primarios del estudio, siendo una de ellas el estadio tumoral. Se aprecia cierta heterogeneidad en la proporción de los diferentes estadios observados, siendo predominantes los estadios IV presentes en 6 pacientes, lo que supone la mitad de los casos estudiados. Dicha circunstancia implica

obligatoriamente la existencia de una metástasis, lo que suele suponer una mayor expansión tumoral y, por consiguiente, la existencia de células tumorales halladas en el material obtenido tras el primer lavado de aguja es previsible que sea más común en las muestras obtenidas de pacientes con un estadio tumoral avanzado.

Para el estudio de los restantes resultados se van a organizar ciertas variables en la **Tabla 10** y en la **Tabla 11** individualizándolas para caso del estudio.

Tabla 10. Datos recogidos de los pacientes del estudio tras una positividad de la muestra extendida sobre el portaobjetos y el primer lavado de aguja. Las variables valoradas para cada paciente son: resultado del segundo lavado de aguja, resultado del tercer lavado de aguja y tipo histológico del tumor.

Nº de caso	Resultado del segundo lavado	Resultado del tercer lavado	Tipo histológico del tumor
1	Positivo	-	Carcinoma epidermoide
2	Positivo	-	Carcinoma no microcítico sin filiar
3	Positivo	-	Adenocarcinoma
4	Positivo	-	Carcinoma microcítico
5	Positivo	-	Adenocarcinoma
6	Positivo	-	Adenocarcinoma
7	Positivo	Positivo	Adenocarcinoma
8	Positivo	Positivo	Carcinoma epidermoide
9	Negativo	Negativo	Carcinoma epidermoide
10	Positivo	Negativo	Carcinoma epidermoide
11	Positivo	Positivo	Adenocarcinoma
12	Positivo	Positivo	Adenocarcinoma

Tal y como se puede observar en la **Tabla 10** existe una asociación entre la realización de un segundo y tercer lavado de la aguja de punción tras un EBUS-TBNA (con una muestra del primer lavado positiva) y el hallazgo de células de origen tumoral. En primer lugar, podemos observar que de los 12 pacientes sólo uno se manifestó negativo en el segundo lavado, obteniendo de esta forma que en el 91,67% de los casos de este estudio se hallan células tumorales en este adicional lavado. Por otra parte, también se disponen de los datos de un tercer lavado de la aguja de punción utilizada en los mismos pacientes, aunque, como se describe en el punto 3.2.3. *Procedimiento adicional para el estudio*, al comenzar notificando dichos datos en un segundo tiempo, no se dispone del resultado de dicha variable en todos

los pacientes. Como se aprecia, entre los 6 casos a los que se les realizó este tercer lavado, se continuó obteniendo 4 resultados positivos, mientras que en sólo 2 casos se observa una ausencia de células malignas. De este modo se distingue que en el 66,67% de los casos de este estudio con un tercer lavado de aguja, se mantiene la presencia de células tumorales en el material resultante de dicho lavado.

Por tanto, se puede afirmar que, en las condiciones recogidas por los criterios de inclusión y exclusión del estudio, un lavado adicional de la aguja de punción tiende a continuar manifestando células tumorales. Del mismo modo, tras un tercer lavado también se mantienen resultados positivos, pese a que en dos de los casos se haya observado una ausencia de células malignas. Sin embargo, el tamaño muestral debería ser ampliado para poder llevar a cabo un estudio estadístico en el que se pudiera valorar una asociación estadísticamente significativa para cualquiera de las dos variables mencionadas.

Por otro lado, en la **Tabla 10** también se distinguen distintas estirpes tumorales del cáncer de pulmón, siendo la más prevalente el adenocarcinoma (50%), seguido del carcinoma epidermoide (33,33%), el carcinoma microcítico (8,33%) y de un caso de un carcinoma microcítico no filiado. Con los datos presentes de estos tumores, se puede afirmar que en nuestro estudio el único tipo histológico que ha presentado resultados negativos es el carcinoma epidermoide, observando un resultado negativo tras un segundo lavado de aguja de punción y dos resultados negativos tras un tercer lavado. Aun así, y al igual que la anterior situación, el tamaño muestral es insuficiente para realizar una asociación estadística entre la estirpe celular del tumor del paciente y la probabilidad de que exista presencia de células malignas en la aguja en un lavado adicional de la aguja, después de una positividad previa en un primer lavado de la misma.

Por último, por medio de la **Tabla 11**, se pueden valorar las estaciones ganglionares más frecuentemente metastatizadas por un tumor primario pulmonar. Con apoyo de la **Tabla 8** (ubicada en el apartado 3.4.6. *Realización del procedimiento*) se puede deducir que el orden de metástatización existe y que en los casos estudiados en este trabajo dicho orden se respeta. Ello justifica el orden empírico de muestreo.

Tabla 11. Datos recogidos de los pacientes del estudio para la valoración de las estaciones ganglionares más frecuentemente metastatizadas con base en la localización del tumor primario.

Número de paciente	Localización del tumor	Estaciones ganglionares metastatizada	Ganglio con muestra positiva en el portaobjetos
1	LMD	4R, 7	4R
2	LSD	4R	4R
3	LSD	7	7
4	Língula	10L	10L
5	LII	4L, 7	7
6	LSI	7	7
7	LID	4R, 7, 11L	4R
8	LII	7	7
9	LID	4R, 7, 11L	4R
10	LSD	4L	4L
11	LSD	4R, 4L	4R
12	LID	7	7

5. DISCUSIÓN

5.1. DISCUSIÓN SOBRE LOS OBJETIVOS PRINCIPALES Y SECUNDARIOS

Como ya se observa en el apartado 4. *Resultados* se obtuvieron resultados positivos con células de origen tumoral en el portaobjetos a partir del material recogido de un segundo y hasta de un tercer lavado de la aguja de aspiración de un EBUS. De hecho, el porcentaje de resultados positivos (es decir, en los que existió presencia de células malignas en la muestra) que se ha podido vislumbrar en este estudio es realmente alto, y tal y como se ha reseñado anteriormente, las muestras tienen una tendencia a presentar dicha positividad bajo los criterios de este estudio. Por tanto, ello parece indicar que un solo lavado de aguja después de la punción a un ganglio linfático metastatizado no es suficiente. Consecuentemente, se deduce que un único lavado de aguja no ofrece una completa seguridad de que la especificidad de una punción a otra estación ganglionar no pueda verse mermada. Por consiguiente, puede ser que hasta ahora se hayan adquirido resultados falsos positivos de ganglios sospechosos de malignidad sin que estos lo fuesen necesariamente, adquiriendo una posible estadificación del tumor no tan precisa. Es por ello, que tras este estudio se puede añadir este concepto a la lista de limitaciones del procedimiento EBUS-TBNA, más aun teniendo en cuenta la positividad de algunos de los terceros lavados de aguja.

Como se observa en los resultados de dicho tercer lavado, ésta no es una técnica que permita hacer indetectable en una proporción significativa la presencia de células tumorales en la aguja. Sería conveniente realizar más estudios sobre este hallazgo y con este nuevo factor recalcular la sensibilidad y la especificidad del procedimiento, así como identificar una estrategia eficaz para lograr la ausencia de células malignas en la aguja, con objeto de realizar con seguridad de las subsecuentes punciones.

Además, tal y como se ha introducido en el apartado *1.2. Limitaciones*, este obstáculo, que dificulta una buena estadificación, puede verse aún más acentuado en una posible futura subclasificación del componente N para una 9ª edición de la clasificación TNM del cáncer de pulmón (ilustración de la misma en la **Tabla 4** dentro del punto *1.5. Clasificación TNM de cáncer de pulmón*). Dado que para una correcta realización del estadiaje, de acuerdo a esta nueva subclasificación del componente N, se deberían puncionar todas las estaciones ganglionares que por técnicas de imagen se considerasen sospechosas de estar metastatizadas, sería pertinente cambiar la aguja del EBUS si la punción previa a otro ganglio linfático es positiva para minimizar los falsos positivos que podrían resultar. De esta manera se podría efectuar una estadificación del tumor más rigurosa, pudiéndole ofrecer al paciente un pronóstico más preciso. Es importante afianzar el concepto de que el tratamiento podría no verse alterado.

Por otra parte, el hecho de tener que puncionar más veces para la estadificación de dicha futura 9ª edición podría suponer un aumento del riesgo de complicaciones del procedimiento. Por ello, pese a que actualmente la técnica se considera segura según el protocolo vigente, y su seguridad sea avalada por numerosos metaanálisis y revisiones sistemáticas¹, es un factor a considerar a estudio si se estableciese la estadificación mencionada.

Debido a los razonamientos anteriores, y siempre en vista de la posible futura 9ª edición de la Clasificación TNM de cáncer de pulmón, el protocolo de actuación del EBUS-TBNA debería verse modificado con el cambio de agujas finas de punción reseñado. Sin embargo, a día de hoy, y respetando la Clasificación TNM de la 8ª edición vigente, el esquema de actuación del procedimiento EBUS está justificado. Una vez expuesta la limitación principal del estudio se puede corroborar que el

protocolo en el que se lleva a cabo el procedimiento es el idóneo, puncionando siempre primero aquella estación ganglionar que por medio de imagen se considerase con una estadificación mayor del componente N de la Clasificación TNM, con objetivo de efectuar las menores punciones posibles y minimizar las complicaciones que pudiesen derivar de las mismas.

Asimismo, es esencial considerar que el cambio de agujas que se precisaría si el procedimiento se llevase a cabo según lo descrito anteriormente, supondría un aumento del coste del proceso del EBUS-TBNA debido al alto precio de las agujas finas de punción que se requieren. De este modo, el presupuesto necesario para la técnica se multiplicaría por la cantidad de estaciones ganglionares positivas halladas. Este aumento del coste también podría implicar una limitación.

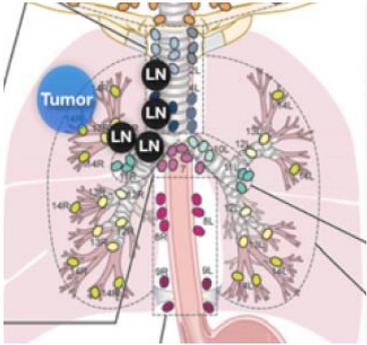
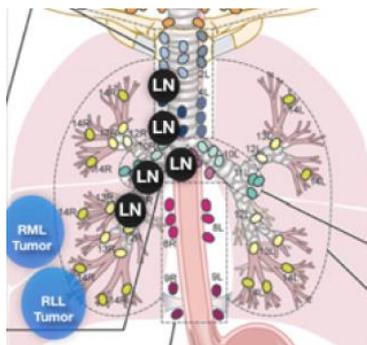
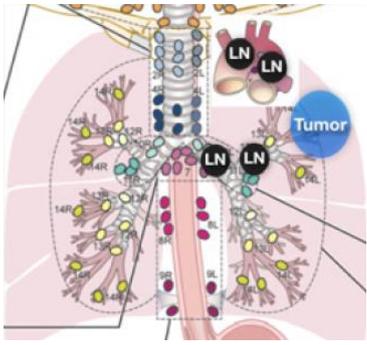
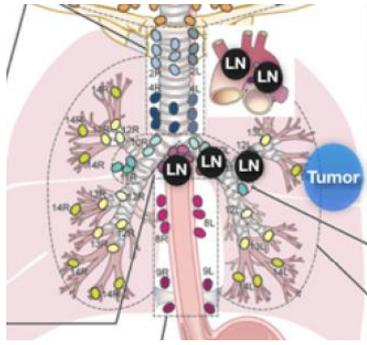
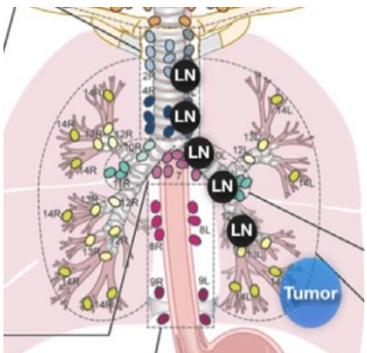
Dado que algunas de las consecuencias de la limitación de haber hallado una proporción significativa de ocasiones en las que se encuentran células malignas en un lavado adicional de la aguja aumentarían si se consolidase la 9ª edición de la Clasificación del TNM de cáncer de pulmón reseñada, sería necesario desarrollar una investigación más extensa que la realizada hasta ahora por la SPFC, con el fin de concluir si la subclasificación del componente N verdaderamente proporciona una mejor estadificación del tumor pulmonar.

Otro objetivo a estudio es correlacionar la estirpe celular del tumor del paciente y la persistencia de células tumorales en la aguja de ecobroncoscopia tras su lavado sistemático postpunción. Sin embargo, debido a que la mayoría de resultados son positivos en los segundos lavados y que el tamaño muestral del estudio es pequeño, no se ha podido revelar ninguna asociación estadísticamente significativa. Pese a ello, dado que todas las estirpes tumorales han obtenido un resultado positivo en los lavados adicionales se puede hipotetizar que la naturaleza histológica del cáncer no resulte relevante.

Por último, se pretende evaluar las estaciones ganglionares más frecuentemente metastatizadas por un tumor pulmonar y si la localización del mismo supone una variable para condicionar un orden de metastatización de los ganglios diferente. Del mismo modo, se puede observar si en nuestro estudio está presente dicho orden.

Como referencia se han adquirido las ilustraciones del Mapa de los Ganglios Linfáticos de la IASLC presentado por El-Sherief (Tabla 12)²³.

Tabla 12. Orden de metástasis de los ganglios linfáticos con base en la localización del tumor primario.

<p><u>Cáncer de pulmón del LSD*</u></p> 	<p>Estaciones ganglionares pulmonares: 10R, 11R, 12R, 13R, 14R</p> <p>Estaciones ganglionares mediastínicas: 3A, 4R</p>	<p><u>Cáncer de pulmón del LMD/LID*</u></p> 	<p>Estaciones ganglionares pulmonares: 10R, 11R, 12R, 13R, 14R</p> <p>Estaciones ganglionares mediastínicas: 4R, 7 (subcarinal)</p>
<p><u>Cáncer de pulmón del LSI* (excluyendo llingula)</u></p> 	<p>Estaciones ganglionares pulmonares: 10L, 11L, 12L, 13L, 14L</p> <p>Estaciones ganglionares mediastínicas: 5, 6</p>	<p><u>Cáncer de pulmón de la llingula del LSI*</u></p> 	<p>Estaciones ganglionares pulmonares: 10L, 11L, 12L, 13L, 14L</p> <p>Estaciones ganglionares mediastínicas: 5, 6, 7</p>
<p><u>Cáncer de pulmón del LII*</u></p> 	<p>Estaciones ganglionares pulmonares: 10L, 11L, 12L, 13L, 14L</p> <p>Estaciones ganglionares mediastínicas: 4L, 4R, 7 (subcarinal)</p>	<p>*LSD: Lóbulo superior derecha LMD: Lóbulo medio derecha LID: Lóbulo inferior derecha LSI: Lóbulo superior izquierda LII: Lóbulo inferior izquierda</p>	

En la **Tabla 11**, en el apartado 4. *Resultados*, se observan los casos de los pacientes con las variables de localización del tumor primario y de las estaciones ganglionares puncionadas. Aun así, tal y como se ha indicado en el apartado 3.4. *Técnica de EBUS-TBNA*, al puncionar primeros los ganglios sospechosos de haber sido metastatizados por imagen que implicasen un grado mayor de estadificación del componente N, los ganglios sospechosos de un menor grado no son registrados una vez que la estación ganglionar de grado mayor es positiva. No obstante, a pesar de no estar todos los ganglios linfáticos sospechosos recogidos, en la **Tabla 11** se aprecia que se cumple el orden estudiado por el autor El-Sherief.

5.2. DISCUSIÓN SOBRE HIPÓTESIS ADICIONALES

En la presente investigación, además de los objetivos comentados, también se pueden extraer ciertas ideas e hipótesis adicionales a partir de los resultados obtenidos.

En primer lugar, se puede apreciar que en el apartado 4. *Resultados* hay distintas variables independientes, entre las que se encuentran el sexo del paciente y el tipo histológico de tumor del mismo. Estas variables se pueden comparar con las de la población general para conocer si la muestra estudiada es representativa, y de no serlo, si existe alguna explicación para ello.

Por un lado, observamos que 8 de los 12 pacientes del estudio son hombres, lo que constituye un 66.67% del total. Este porcentaje no se corresponde a la proporción de hombres respecto al de mujeres afectadas por un tumor pulmonar en la población, ya que como reflejan los últimos estudios publicados sobre la incidencia de cáncer de pulmón en Estados Unidos^{24,25}, el número de hombres afectados es ciertamente mayor que el de mujeres, pero la diferencia no es tanta como la obtenida en este trabajo. Este resultado probablemente pueda deberse al tamaño muestral del estudio, y no a una posible discriminación por sexo de los criterios de inclusión, pudiéndose alcanzar valores similares a los presentados en las últimas investigaciones sobre la incidencia del cáncer de pulmón si aumentase el número de participantes en el mismo. Sin embargo, si se llevase a cabo un estudio con un tamaño muestral mayor y el porcentaje de hombres respecto al de mujeres plasmase una disparidad semejante a la de este trabajo, se podría hipotetizar con la existencia de variables que modificasen dicha proporción. En ese caso, una posible hipótesis sería que dependiendo del sexo

de los pacientes a los que se les ha realizado el procedimiento EBUS-TBNA hubiese mayor probabilidad de que la muestra del material que se extrae a partir de la técnica y que después es extendida sobre el portaobjetos en fresco fuese positiva. Es decir, que en la muestra en fresco sobre el portaobjetos se obtuviese una proporción distinta de resultados positivos condicionada a la variable independiente del sexo del paciente.

Por otro lado, también se puede comparar las proporciones de los distintos tipos histológicos de cánceres de este estudio con las proporciones que se hallan en la población actual. Si los porcentajes no fuesen similares, podría ser que existiese una predisposición más alta de ciertos tumores para cumplir los criterios de inclusión propuestos en este trabajo, pero como ya se ha comentado en el apartado 5.1. *Discusión de los objetivos principales y secundarios* esta no es la situación que se ha reflejado de acuerdo a los resultados recogidos. Aun así, se puede estudiar si la prevalencia en la población de las estirpes tumorales es una variable relevante para la obtención de resultados positivos de la muestra. De hecho, como se puede apreciar con los datos ofrecidos por la investigación de Meza et al.²⁶, en la cual se observa la evolución y la progresión de los diferentes tipos principales de tumor de pulmón a lo largo de 38 años en Estados Unidos (**Figura 5 y Figura 6**), los tumores más frecuentes de su investigación se correlacionan con los del presente estudio. El adenocarcinoma ha sustituido al carcinoma epidermoide como el subtipo histológico más frecuente en Estados Unidos²⁷.

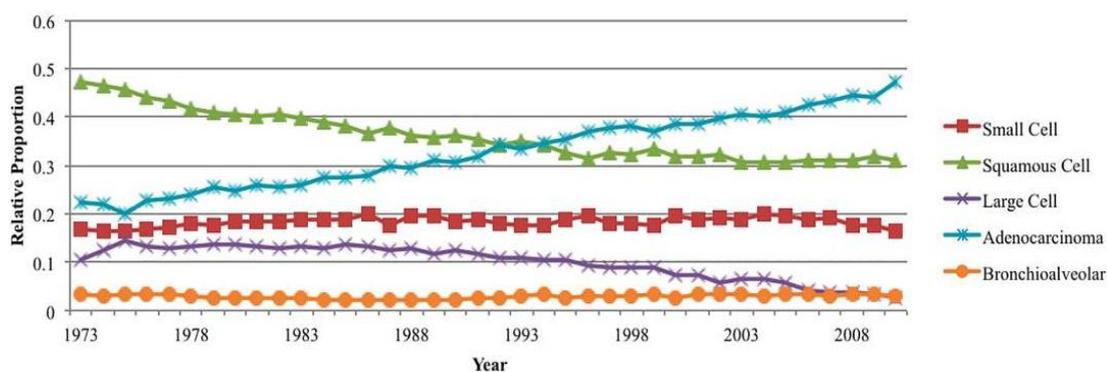


Figura 5. Incidencia de los distintos tipos de cáncer de pulmón en varones en Estados Unidos (1973-2010)²⁶.

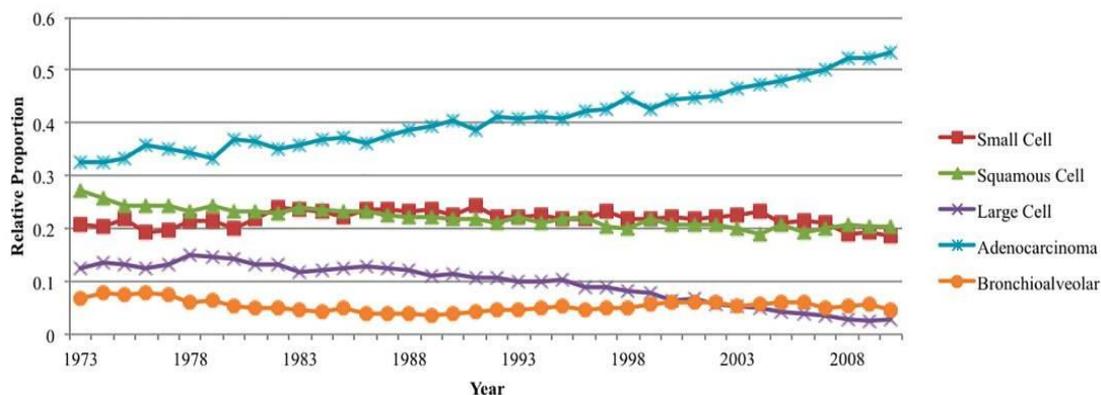


Figura 6. Incidencia de los distintos tipos de cáncer de pulmón en mujeres en Estados Unidos (1973-2010)²⁶.

La correlación de las reseñadas proporciones parece indicar que la variable independiente de la estirpe tumoral condiciona según su prevalencia en la población la obtención de más resultados positivos de las muestras extendidas en fresco sobre el portaobjetos, así como la presencia de células malignas en el primer lavado de la aguja de punción. Sin embargo, y del mismo modo que ha sucedido con la hipótesis anterior, esta no se puede corroborar con total seguridad debido al tamaño muestral del estudio.

6. CONCLUSIONES

Después de la realización de este estudio retrospectivo, se concluye que tras la obtención de una positividad de la muestra extendida sobre el portaobjetos y el primer lavado de aguja de punción, existe asociación entre la realización de un lavado adicional de la aguja de punción y el hallazgo de células de origen tumoral. Este hallazgo supone una limitación de la técnica y, por consiguiente, conlleva ciertas consecuencias:

- Un único lavado de aguja no ofrece una completa seguridad de que la especificidad no disminuya, pudiéndose obtener resultados falsos positivos y consecuentemente obteniendo una estadificación del tumor no tan precisa. Por esta razón, sería conveniente realizar más estudios y recalcular la sensibilidad y la especificidad del procedimiento teniendo en cuenta el nuevo factor. Asimismo, para minimizar los resultados falsos positivos sería

pertinente cambiar la aguja del EBUS si la punción previa a otro ganglio linfático fuera positiva. En consecuencia, los cambios de las agujas fina de punción incrementarían el coste del proceso del EBUS-TBNA debido al alto precio de las mismas, implicando esta circunstancia una limitación en sí misma. Un futuro trabajo sobre este tema debería afrontar estrategias para la eliminación de las células tumorales utilizando una sola aguja.

- Un tercer lavado de la aguja de punción no es una estrategia que permita hacer indetectable las células malignas en la aguja en subsecuentes punciones.
- Teniendo en consideración la anterior asociación y la 8ª edición de la Clasificación TNM del cáncer de pulmón vigente, podemos concluir que el esquema de actuación del procedimiento EBUS actual está justificado. De este modo se efectúan las menores punciones posibles y minimizan las complicaciones que pudiesen derivar de las mismas.
- La dificultad de una buena estadificación puede verse aún más acentuada en una posible futura subclasificación del componente N para una 9ª edición de la clasificación TNM del cáncer de pulmón. Además, el hecho de tener que puncionar más veces para llevar a cabo dicha estadificación, podría suponer un aumento del riesgo de complicaciones del procedimiento, por lo que se recomienda la realización de una investigación al respecto. De la misma manera, habría que considerar que esta clasificación requiere la utilización de un número de agujas de punción mayor, aumentando aún más el coste del procedimiento.
- Debido a que algunas de las consecuencias de la limitación principal estudiada se incrementarían si se consolidase la 9ª edición de la Clasificación del TNM de cáncer de pulmón reseñada, sería necesario desarrollar una investigación más extensa sobre ella, con el fin de concluir si la subclasificación del componente N se justifica solamente por la mejora de la precisión pronóstica.

En segundo lugar, en cuanto al estudio de la asociación de ciertas variables independientes con una mayor proporción de resultados positivos en un segundo y tercer lavado de aguja se concluye lo siguiente:

- La variable independiente de la estirpe tumoral parece condicionar según su prevalencia en la población, la obtención de más resultados positivos de las muestras extendidas en fresco sobre el portaobjetos, así como la presencia de células malignas en el primer lavado de la aguja de punción. Por otra parte, parece vislumbrarse que la estirpe tumoral en sí misma no condiciona una mayor probabilidad de obtención de un resultado positivo. Sin embargo, esta hipótesis no se puede corroborar con total seguridad debido al tamaño muestral del que se dispone, de modo que sería conveniente la realización de más estudios al respecto.
- Dado el tamaño muestral del presente estudio sería conveniente valorar, mediante un estudio que recoja los datos de un mayor número de pacientes, si la positividad de la muestra en fresco sobre el portaobjetos y la positividad del primer lavado de aguja de punción se encuentra condicionada a la variable independiente del sexo del paciente.
- Se recomienda una extensión del estudio para observar si la variable independiente del tamaño de la estación ganglionar en el momento de la punción está correlacionada con una probabilidad de positividad mayor en el segundo lavado de aguja.

Por otro lado, se concluye que las estaciones ganglionares más frecuentemente metastatizadas por un tumor pulmonar y la localización del mismo justifican el orden empírico de muestreo.

Por último, se aconseja la ampliación de este estudio con objeto de desarrollarlo con un tamaño muestral mayor y así poder obtener conclusiones más precisas sobre las limitaciones descritas en este trabajo.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Fernández-Villar A e. Ten Years of Linear Endobronchial Ultrasound: Evidence of Efficacy, Safety and Cost-effectiveness. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2016 [cited 4 October 2017]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26565072>
2. Rosell A. Ecobroncoscopia. 1st ed. Barcelona: ICG Marge; 2009.

3. Bilal A, Jalil A, Yasufuku K, Maqbul Khan A. Uses, limitations, and complications of endobronchial ultrasound [Internet]. PubMed Central (PMC). 2018 [cited 8 December 2017]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4462211/>
4. Detterbeck F, Lewis S, Diekemper R, Addrizzo-Harris D, Alberts W. Executive Summary: Diagnosis and Management of Lung Cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. Chest [Internet]. 2013 [cited 8 December 2017];143(5):7S-37S. Available from: [http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692\(13\)60283-4/fulltext](http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692(13)60283-4/fulltext)
5. De Leyn P, Doooms C, Kuzdzal J, Lardinois D, Passlick B, Rami-Porta R et al. Revised ESTS guidelines for preoperative mediastinal lymph node staging for non-small-cell lung cancer. European Journal of Cardio-Thoracic Surgery [Internet]. 2014 [cited 8 December 2017];45(5):787-798. Available from: <https://academic.oup.com/ejcts/article/45/5/787/407588>
6. Neat MJ, Foot NJ, Hicks A, Breen R, Wilkins B, McLean E et al. ALK rearrangements in EBUS-derived transbronchial needle aspiration cytology in lung cancer. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2013 [cited 6 November 2017]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23551582>
7. Kazandjian D, Blumenthal G, Yuan W. FDA Approval of Gefitinib for the Treatment of Patients with Metastatic EGFR Mutation-Positive Non-Small Cell Lung Cancer. - PubMed - NCBI [Internet]. Ncbi.nlm.nih.gov. 2016 [cited 7 November 2017]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26980062>
8. Wallace M, Pascual J, Raimondo M, Woodward T, McComb B, Crook J et al. Minimally Invasive Endoscopic Staging of Suspected Lung Cancer. JAMA [Internet]. 2008 [cited 8 December 2017];299(5):540. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/1152696>
9. Detterbeck F, Boffa D, Kim A, Tanoue L. The Eighth Edition Lung Cancer Stage Classification. Chest [Internet]. 2017 [cited 12 September 2017];151(1):193-203. Available from: [http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692\(16\)60780-8/fulltext](http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692(16)60780-8/fulltext)

10. Ernst A, Eberhardt R, Wahidi M, Becker H, Herth F. Effect of Routine Clopidogrel Use on Bleeding Complications After Transbronchial Biopsy in Humans. *Chest* [Internet]. 2006 [cited 8 December 2017];129(3):734-737. Available from: [http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692\(15\)52278-2/fulltext](http://journal.chestnet.org/article/S0012-3692(15)52278-2/fulltext)
11. von Bartheld MB, van Breda A, Annema JT. Complication rate of endosonography (endobronchial and endoscopic ultrasound): a systematic review [Internet]. *Karger*. 2014 [cited 19 September 2017]. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/357066>
12. Çağlayan B, Yılmaz A, Bilaçeroğlu S, Cömert S, Demirci N, Salepci B. Complications of Convex-Probe Endobronchial Ultrasound-Guided Transbronchial Needle Aspiration: A Multi-Center Retrospective Study. - PubMed - NCBI [Internet]. *Ncbi.nlm.nih.gov*. 2016 [cited 19 September 2017]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26556895>
13. Reyes Núñez N, Luque Crespo E, Santos Morano J, Alfageme Michavila I. Broncoscopia diagnóstica. Requisitos, sedación y técnicas [Internet]. *Neumosur.net*. 2016 [cited 24 February 2018]. Available from: https://www.neumosur.net/files/publicaciones/ebook/10-BRONCOSCOPIA-Neumologia-3_ed.pdf
14. Gu P, Zhao Y, Jiang L, Zhang W, Xin Y, Han B. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for staging of lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cancer* [Internet]. 2009 [cited 19 September 2017];45(8):1389-1396. Available from: [http://www.ejccancer.com/article/S0959-8049\(08\)00979-9/fulltext](http://www.ejccancer.com/article/S0959-8049(08)00979-9/fulltext)
15. Al-Qadi M, Maldonado F. Focal Tracheal Stenosis Due to Intramural Hematoma Following Endobronchial Ultrasound-guided Transbronchial Needle Aspiration. *Journal of Bronchology & Interventional Pulmonology*. 2014;21(3):274-276.
16. Navani N, Brown J, Nankivell M, Woolhouse I, Harrison R, Jeebun V et al. 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 [Internet]. *PubMed Central (PMC)*. 2012 [cited

- 23 September 2017]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3378660/>
17. Tasas de supervivencia por etapa para el cáncer de pulmón no microcítico [Internet]. Cancer.org. 2017 [cited 3 November 2017]. Available from: <https://www.cancer.org/es/cancer/cancer-de-pulmon-no-microcitico/deteccion-diagnostico-clasificacion-por-etapas/tasas-de-supervivencia.html>
 18. Small Cell Lung Cancer Survival Rates, by Stage [Internet]. Cancer.org. 2016 [cited 3 November 2017]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/small-cell-lung-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html>
 19. Du Rand I, Blaikley J, Booton R, Chaudhuri N, Gupta V, Khalid S et al. British Thoracic Society guideline for diagnostic flexible bronchoscopy in adults: accredited by NICE. *Thorax* [Internet]. 2013 [cited 5 April 2018];68(Suppl 1):i1-i44. Available from: http://thorax.bmj.com/content/68/Suppl_1/i1.long
 20. Loukides S, Katsoulis K, Tsarpalis K, Panagou P, Kalogeropoulos N. Serum Concentrations of Lignocaine before, during and after Fiberoptic Bronchoscopy. *Respiration*. 2000;67(1):13-17.
 21. Oki M, Saka H, Kitagawa C, Kogure Y, Murata N, Adachi T et al. Rapid on-site cytologic evaluation during endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration for diagnosing lung cancer: a randomized study [Internet]. *Kager*. 2013 [cited 26 December 2017]. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/346987>
 22. El-Sherief A, Drake, R., Abbott, G. and Rice, T. C, Wu C, Drake R, Abbott G, Rice T. International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) Lymph Node Map: Radiologic Review with CT Illustration. *RadioGraphics* [Internet]. RSNA. 2014 [cited 27 March 2018]. Available from: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/rg.346130097>
 23. El-Sherief A. The IASLC Lymph Node Map. Presentation presented at; 2012; Huntington Beach, CA.
 24. S. Jane Henley T. Lung Cancer Incidence Trends Among Men and Women — United States, 2005–2009 [Internet]. PubMed Central (PMC). 2014 [cited 30 March 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5779336/>

25. Mowls D, McCaffree D, Beebe L. Trends in Lung Cancer Incidence Rates, Oklahoma 2005–2010 [Internet]. PubMed Central (PMC). 2018 [cited 30 March 2018]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4406440/>
26. Meza R, Meernik C, Jeon J, Cote M. Lung Cancer Incidence Trends by Gender, Race and Histology in the United States, 1973–2010 [Internet]. PubMed Central (PMC). 2015 [cited 30 March 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4379166/>
27. Blengio Pinto J, Fauci A, Hauser S, Jameson J, Kasper D, Longo D et al. Harrison principios de medicina interna. 18th ed. México D.F. (México): McGraw-Hill; 2012.