

**T.C SAĞLIK BAKANLIĞI
ATATÜRK GÖĞÜS HASTALIKLARI
VE GÖĞÜS CERRAHİSİ EAH**

**AKCİĞER MALİGNİTELERİNDE
ENDOBRONŞİYAL KRİYOBİYOPSİLERİN TANI DEĞERİ VE
GÜVENLİĞİ
(KAÇ BİYOPSİ TANI İÇİN YETERLİDİR?)**

**Dr. Fatih SEĞMEN
UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA
2013**

**T.C SAĞLIK BAKANLIĞI
ATATÜRK GÖĞÜS HASTALIKLARI
VE GÖĞÜS CERRAHİSİ EAH**

**AKCİĞER MALİGNİTELERİNDE
ENDOBRONSİYAL KRİYOBİYOPSİLERİN TANI DEĞERİ VE
GÜVENLİĞİ
(KAÇ BİYOPSİ TANI İÇİN YETERLİDİR?)**

**Dr. Fatih SEĞMEN
UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA
2013**

İÇİNDEKİLER

1.TEŞEKKÜR	III
2.ÖZET (SUMMARY)	IV
3.GİRİŞ	1
4.GENEL BİLGİLER	
4.1. Bronkoskopi ve Endobronşiyal Biyopsi Teknikleri	1
4.2. Bronş lavajı	2
4.3. Bronkoalveolar lavaj	3
4.4. Bronşiyal fırçalama	4
4.5. Bronşiyal Biyopsi	5
4.6. Transbronşiyal akciğer biyopsisi (TBBx)	6
4.7. Transbronşiyal iğne aspirasyonu (TBİA)	7
4.8. Kriyobiyopsi	10
5.GEREÇ VE YÖNTEM	16
6.BULGULAR	19
7.TARTIŞMA	30
8.SONUÇ	34
9.KAYNAKLAR	36

1.TEŞEKKÜR

Eğitimime yaptıkları katkıları, asistanlığım süresince esirgemedikleri ilgi ve desteklerinden dolayı tüm klinik Őeflerime ve uzman doktorlarıma saygılarımla sunar, her birine ayrı ayrı teşekkür ederim. Asistan eğitimim sürecinde maddi-manevi desteğini esirgemeyen, tezimi yazmama vesile olan ağabeyim, arkadaŐım, hocam Dr. Zafer Aktaş'a sonsuz teŐekkürlerimi sunarım. Birlikte alıŐtıđım ve desteklerini benden esirgemeyen tüm değerli ve alıŐkan asistan arkadaŐlarımla, değerli hemŐire ve diğer yardımcı sağlık personeli arkadaŐlarıma teşekkür ederim.



2.ÖZET

Endobronşiyal kriyobiyopsilerin malign hastalıkların tanısında tanı için yeterli kriyobiyopsi sayısını bulmak ve kanama komplikasyonunun şiddeti ile korale ederek morbidite ve mortaliteyi artırmaksızın minimum kaç kriyobiyopsinin tanı için yeterli olacağını bulmayı amaçladık.

Şubat 2013–Ekim 2013 tarihleri arasında hastanemizde malignite şüphesi olan ve rutin fiberoptik bronkoskopi ile ilk seferde tanı konulamamış, görünür endobronşiyal lezyonu olan ve rijit brokoskopi ile tanısız girişim yapılan hastalar veya malign havayolu darlığı olan ve endobronşiyal tedavi endikasyonu konarak girişimsel bronkoskopik tedavi işlemleri için rijit bronkoskop ile entübe edilen toplam 50 hasta çalışmaya alındı. Hastalardan dört adet kriyobiyopsi alındı ve oluşan kanamalar kaydedildi. Alınan kriyobiyopsiler tek patoloji uzmanı tarafından alınma sırası bilinmeksizin değerlendirildi. Oluşan kanamalar müdahale gerektirmeyen kanamalar (Grade 0) ve müdahale gerektiren kanamalar (Grade 1, 2, 3) şeklinde sınıflandırıldı.

Birinci biyopsiden sonraki biyopsiler birinci biyopsiye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede üstün pozitif tanı başarısına sahipti ($p=0,034$, $0,034$, $0,016$). İkinci biyopsi ve sonraki biyopsilerde birinci biyopsiye göre anlamlı derecede daha fazla pozitif sonuç bulunurken ikinci, üçüncü ve dördüncü biyopsilerde bulunan pozitif sonuçlar arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı ($p=1,000$, $1,000$). İkinci biyopsiden sonraki biyopsilerin tanıya anlamlı katkısı yoktu. Bu nedenle ikiden fazla biyopsi almanın gerekli olmadığı düşünüldü.

Biyopsi sayısı arttıkça müdahale gerektiren kanamalar anlamlı derecede artmaktadır ($p=0,048$). Bir ve iki biyopsi yapılan hastaların kanama oranları ortalama %7,1 iken, üç ve dört biyopsi alındığında bu oran ortalama %17,3'e çıkmaktadır. İki grubun kanama oranları arasında anlamlı fark vardı ($p=0,027$). İki den sonraki biyopsilerde ikiye kadar olan biyopsilere göre kanama riski 2,76 kat daha fazladır.

Alınan biyopsilerde pozitif tanı bulma olasılığı ile kanama düzeyi arasındaki ilişkiye bakıldığında alınan biyopside tümör dokusu olup olmaması ile kanama varlığı ve şiddeti arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Kriyobiyopsi ile tümör dokusu alamamak oluşan kanamaları azaltmıyordu.

Sonuç olarak ilk forseps biyopsi ile endobronşiyal lezyona patolojik tanı konamayan hastalarda bronkoskopi tekrarı yerine sedasyon altında endotrakeal tüp içinden fleksibl kriyobiyopsi yapılmalıdır ve iki kez biyopsi tanı için yeterlidir. İkinci

biyopsiden sonraki biyopsiler hem tanıya katkı sağlamamakta hem de müdahale gerektiren kanamaları artırmaktadır.

Anahtar kelimeler: Kriyobiopsi, Girişimsel bronkoskopi, Rijit bronkoskopi

2.SUMMARY

We aimed to find minimum number of endobronchial cryobiopsy sufficient for diagnosis of malignant disease without increasing morbidity and mortality correlated with the severity of bleeding complications.

Between February 2013 to October 2013, a total of fifty patients who had suspected malignancy, and visible endobronchial lesion undiagnosed with routine fiberoptic bronchoscopic biopsy, and underwent interventional bronchoscopic process with rigid bronchoscopy for diagnosis or treatment of malignant airway obstruction, were enrolled. Four cryobiopsies were obtained from patients and bleedings during the process were recorded. Cryobiopsies evaluated by a single pathologist by ignoring the order of receipt. The bleedings were classified as not requiring intervention (Grade 0) and requiring intervention (Grade 1, 2, 3) for bleeding.

The biopsies after the first biopsy had significantly superior positive diagnostic success compared with first biopsy ($p = 0.034, 0.034, 0.016$). The second and subsequent biopsies had significantly more positive results compared with first biopsy, whereas statistically significant difference was not found between the second, third and fourth biopsies. ($p = 1.000, 1.000$). Biopsies after the second biopsy did not contribute to the diagnosis significantly. Therefore, It was thought that more than two biopsy is not necessary.

Bleedings that requiring intervention increased significantly with the number of biopsies ($p = 0.048$). The patients who underwent one and two biopsies, bleeding rate was 7.1%. This rate increases to an average of 17.3% with three and four biopsies. Between bleeding rates of groups, statistically significant difference was observed ($p = 0.027$). The risk of bleeding is 2.76 times more with biopsies after second according to up to two biopsies.

Regarding the relationship between the amount of bleeding and the possibility of finding a positive diagnosis in biopsies, statistically significant relationship has not been established between the presence of tumor tissue in the biopsies and severity of bleeding. Unable to get tumor tissue with cryobiopsy did not reduce the bleeding rates.

As a result, in patients failed for pathologic diagnosis of endobronchial lesions with the first forceps biopsy, flexible cryobiopsy should be performed under sedation through the endotracheal tube, rather than repeat bronchoscopy, and twice cryobiopsy is sufficient for diagnosis. The biopsies after second biopsy is both not contributing to the diagnosis as well as increasing bleeding that requires intervention.

Key words: cryobiopsy, interventional bronchoscopy, rigid bronchoscopy



3.GİRİŞ

Çalışmamızda endobronşiyal kriyobiyopsilerin malign hastalıkların tanısında tanı için yeterli kriyobiyopsi sayısını bulmak ve kanama komplikasyonunun şiddeti ile korale ederek morbidite ve mortaliteyi artırmaksızın minimum kaç kriyobiyopsinin tanı için yeterli olacağını bulmayı amaçladık

4.GENEL BİLGİLER

4.1. Bronkoskopi ve endobronşiyal biyopsi teknikleri

Endobronşiyal malignitelerin tanısında fiberoptik bronkoskopi (FOB) Shigeto Ikeda'nın 1960'ların sonunda tanıtmasından bu yana en önemli tanı yöntemidir (1). Fleksibl bronkoskoplar farklı ebatlarda üretilmiş olup bronşların beşinci dallanmasına kadar görüntülenmesine imkan verirler. Görüntü kalitesi, yeni nesil video bronkoskoplar, dar bant görüntü veren bronkoskoplar, otofloresans bronkoskoplar ve görüntüyü büyüten bronkoskoplar gibi özel teknolojik icatlarla büyük oranda geliştirilmiştir (2-4). Gelişen görüntü kalitesi ile biyopsi forsepsleri, fırçalar, farklı türdeki endoskopik iğneler gibi biyopsi araçları daha yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır.

Son yıllarda, mini prop ultrasonlar, endobronşiyal ultrason bronskopları (EBUS) ya da elektromanyetik navigasyon sistemleri gibi biyopsi araçlarını daha iyi yönlendiren yeni aletler tanıtılmıştır (5-7). Konfokal floresan lazer mikro endoskopi yöntemi ve optik koherens tomografi bronkoskopları hala araştırma safhasındadır (8,9).

Bronkoskop yardımıyla biyolojik materyal elde etme araçları çok çeşitlidir. Bronkoskopistler tarafından yaygın olarak uygulanmaktadır. Her biyopsi aracının özellikleri bronkoskopistler tarafından iyi bilinmelidir.

Birçok modeli olan bronkoskopik lavaj toplama kapları kolayca kullanılabilir olmalıdır ve sitolojik ve bakteriyolojik testler için yeterli miktarda bronş lavajı alabilmelidir. Yetişkinlerde bronkoalveoler lavaj için enjektörler 20 ve 60 mm boyutlarında olmalıdır.

Eksfoliyatif sitoloji için fırçalar, genellikle steril, tek kullanımlık, dış kılıfından geri çekilebilir, farklı büyüklük, sertlik ve esnekliklerde mevcuttur.

Mikrobiyolojik korumalı örnek fırça, koruyucu bir kılıfın içindedir ve geri dönüşümlü bir tıpayla kaplanmıştır ki bu da FOB'un çalışma kanalından geçiş esnasındaki bulaşmayı engellemektedir.

Üç ana tür forseps vardır. Tırtıklı kenarlı olanlar, pencereci veya penceresiz düz kenarlılar ve iğneli forsepsler. Forsepslerin ucundaki kaşıklar yuvarlak (kısa) veya oval (uzun) olabilirler. Bazılarının ucu asimetrik açılır, bazıları aynı zamanda birden çok biyopsi amaçlıdır ve hatta bazıları da özel anatomik lezyonlara ve yerlerine daha iyi bir yaklaşım için ucundaki kaşıkların dönmesine olanak sağlarlar. Forsepsler tek kullanımlık veya çok kullanımlık olabilirler. Forseps üreticileri forsepslerin özelliklerini ve çaplarını ayırt etmek için paketlerinde etiket kullanırlar. Etiketler sayesinde bronkoskop kanalının çapı için uygun olan forsepsi seçmemiz kolaylaşır.

Birçok türde iğne, transbronşiyal iğne aspirasyonu için kullanılabilir. 13-15 mm uzunluğunda ve 20-22 gauge çapındaki iğneler genellikle sitoloji örnekleri almak için, 19 gauge çapındaki iğneler ise histolojik doku parçası almak için kullanılırlar. Santral lezyonlarda iğneyi trakeobronşiyal duvardan geçirmede yeterli gücü sağlamak amacıyla kalın bir iğne kullanılır. Periferik lezyonlar için daha esnek bir kateter tercih edilir.

EBUS bronkoskopları için olan iğnelerin belirli özellikleri vardır. Genellikle 21-22 gauge çapındadırlar. İğnenin ucu, ultrasonda görünürlüğü arttırmak için çukurlu ekojenik bir yapıda dizayn edilmiştir. Bronkoskop kanalını korumak için iki yönlü ayarlanabilir emniyet kolu vardır. İğne boyu kilit mekanizmasıyla 20 mm den 40 mm ye kadar ayarlanabilir.

4.2. Bronş lavajı

Bronş lavajı sıklıkla diğer tanı teknikleriyle birlikte kullanılır. Biyopsi alınacak bölgedeki mukus veya salgıları temizlemek için 5 den 30 ml ye kadar serum fizyolojik vermek gereklidir. Alınan aspirat sitolojik ve mikrobiyolojik araştırmalarda kullanılır. Her bir araştırma için 10 mm gereklidir.

Bronş lavajının diğer biyopsi teknikleri ile birlikte kullanılması sırasındaki önceliği ve tanıya katkısı araştırılmış ve akciğer malignitelerinde bronş lavajının diğer biyopsi yöntemlerinin tanı koyma başarısını etkilemediğini

bulunmuştur (10,11). Tanıya katkısı nispeten düşük olmasına rağmen, klinik olarak akciğer malignitesinden şüphelenilen hastaların tanısında bronş lavajı alınması düşük maliyetle tanı koyma olasılığı açısından gereklidir (12).

İngiliz Toraks Derneği'nin "Tanısal Fleksibl Bronkoskopi Rehberi"nde sadece lavajla tanı konmuş tümör sayısı az olsa bile akciğer malignitelerinin tanısında forseps biyopsi, bronş lavajı ve fırçalama yöntemlerinin hepsinin bir arada kullanılması önerilmektedir (13).

4.3. Bronkoalveolar lavaj

Bronkoalveolar lavaj (BAL), intertisyel akciğer hastalığı olan her hastada uygulanması gereken minimal invaziv bir yöntemdir.

Diffüz akciğer hastalığında BAL orta lob veya linguladan alınır. Radyografik heterojenitesi olan hastalarda tüm akciğer dokusunu daha fazla temsil etmesi amacıyla steril %0,9 sodyum klörür genellikle iki veya üç bölgeye verilir. Bronkoskop, üçüncü-dördüncü bronş dallanmasına kadar ilerletilir ve sıvı biyopsi kanalı yoluyla enjektörlerle yavaşça verilir. Sıvıyı geri alma işlemi bronşiyal kollapsı en aza indirmek için aralıksız olarak aspirasyonla nazik bir şekilde olmalıdır. Yetişkinlerde kullanılan standart sıvı miktarı her defasında 20 ve 60 mililitre olmak üzere toplamda 100-300 ml'dir. Genellikle verilen sıvının yüzde 40 ile 70 i arası geri alınır (14). Sıvının verilmeden önce ısıtılması öksürmeyi azaltabilir.

BAL alveoler proteinozis, lipoid pnömoni, akut eozinofilik pnömoni, pulmoner lenfoma ve lenfanjitis karsinomatoza gibi nadir görülen diffüz akciğer hastalıklarında tanı koydurucudur. BAL, açıklanamayan akciğer infiltratlı hastalarda difüz alveoler hemorajinin tanısında veya dışlanmasında gereklidir. Pneumocystis pnömonisi gibi, fırsatçı akciğer enfeksiyonunun tanısı sıklıkla BAL uygulanmasını gerektirir.

Fibrozis ile seyreden diffüz akciğer hastalıklarında, BAL'da nötrofil hakimiyeti ve sıklıkla eozinofil hakimiyeti görülür. Değişken nötrofil içeriğiyle birlikte BAL'da lenfosit hakimiyeti, granümatöz hastalıklara özgüdür. BAL'da lenfosit hakimiyetinin olmaması hipersensivite pnömonisi ve sarkodiyoz tanılarını dışlamada yardımcıdır.

İlaca bağılı akciğer hastalığı şüphelisinde, BAL'da eozinofil hakimiyeti olması ve amiodaron kaynaklı akciğer hastalığında köpüksü alveoler makrofajların BAL'da görülmesi tanı ihtimalini artırır (15).

4.4. Bronşiyal Fırçalama

Bronşiyal fırçalama, eksfoliyatif sitoloji veya mikrobiyolojik analiz için kullanılabilir. Her iki yöntemde de uygulama tekniği benzerdir. Fırça bronkoskopik kanaldan geçerken koruyucu kılıfın içerisinde tutulmalıdır. Fırça hedef alana yaklaşınca asistan fırçayı 3 cm iterek kılıfın içinden çıkarmalıdır. Görülen lezyon üzerinde dairesel hareketler ve ileri - geri hareketler aynı anda yapılabilir. Sonra fırça kılıfına çekilip çalışma kanalından geri çekilir. Distal bronşiyal fırçalama, lezyonun yerini belirlemek için ve pnömotoraks komplikasyonları önlemek amacıyla floroskopi eşliğinde yapılır. Tek kullanımlık bronşiyal fırçalama ile Eksfoliyatif sitoloji sırasıyla santral ve periferik lezyonlar için %72 ve %45 tanısal verimlilik sağlar (16).

Bir çok faktör fırçalamanın yararlılığını etkileyebilir. Michaelson ve arkadaşları iki farklı tür kılıflı sitoloji fırçasıyla hücrelerin sayısı olarak ifade edilen hücresel verimi inceledi. Daha uzun ve geniş fırçalılarda bir fırçada toplanan total hücre sayısının daha fazla verim sağladığı görüldü (17). Ayrıca Hansen ve arkadaşları 1, 1,7 ve 3 mm çapındaki fırçaları kullanmanın 3 fırça arasında hücre toplanmasında çok büyük bir farklılık olmadığını gösterdi (18). Sato ve arkadaşları, domuzlarda yapılan bir araştırmaya göre, fırçanın eninin de fırçalamanın verimini etkileyebileceğini belirtti (19). Popp, radyografik floroskopi yardımıyla fırçalamanın 5 kereye kadar yapıldığı akciğer tümörlü hastalar üzerinde bir araştırma yaptı. Tanı hassasiyeti ilk fırçalamadan dördüncü fırçalamaya doğru artmaktaydı ve periferik maling tümörlere göre santral tümörlerde daha iyiydi. Araştırmacılar, tekrar tekrar fırçalamanın daha yüksek bir tanısal verim elde etmek için yapılması gerektiğini önerdi (20).

Korumalı bakteriyel örnekler için çift kılıflı kateter kullanılmalıdır. Dıştaki kılıf bronkoskopun uç noktasından 3 cm dışarı çıkartılır ve daha sonra fırçanın olduğu iç kılıf örneklem alınacak bölgeye itilir. İç kılıfın ucundaki jel koruma fırçaya basınç uygulanması ile yerinden çıkar. Sitolojik fırçalamadaki aynı hareketler kullanılarak numune alınır. Bundan sonra fırça iç kılıfa, iç kılıf da

dış kılıfın içine çekilir ve bronkoskoptan çıkarılır. Kateterin uç noktasını %70 oranında alkolle sildikten sonra, fırçanın ucu steril bir makas ile kesilir, fırça en az 1 mL bakteriyostatik olmayan serum fizyolojik de bekletilir (21).

4.5 Bronşiyal Biyopsi

Bronşiyal forseps biyopsileri görülebilir malign yada benign bronşiyal lezyonların biyopsi alınımında ve endobronşiyal olarak görülemeyen periferik lezyonların biyopsisinin alınımında kullanılır.

Endobronşiyal lezyonlarda doğru bir bronşiyal biyopsi için lezyonları kaplayan kan ve mukusun temizlenmesi gerekir. Forsepler çalışma kanalının içindeyken bronkoskop hasarını önlemek için mandal nötr konumda tutulmalıdır. Bronkoskopa lezyona ulaşıldığı zaman biyopsi forsepsinin ucu çıkarılır ve lezyondan daha iyi biyopsi almak için sonuna kadar açılarak lezyona yerleştirilir. Forceps çenesi yeterli materyal ile dolduğunda forseps kapanır, forseps ve bronkoskop birlikte yavaşça çekilir. Forseps mandal nötral pozisyondayken bronkoskop içinden çıkarılabilir. Bu yöntem ihtiyaç doğrultusunda geniş çaplı veya daha derin lezyonlar için tekrarlanır.

Bazen forsepsi kapattıktan sonra, forseps uçta olacak biçimde bronkoskopa birlikte itilir ki bu daha uzun ve geniş biyopsi parçaları elde edilmesini sağlar (push biyopsi).

Trake duvarı boyunca olan lezyonlar daha titiz bir yaklaşım ya da iğneli forseplerin kullanımını gerektirir. Timsah forsepler daha sert veya kıkırdaklı lezyonlarda tercih edilir.

Tümörün histolojik tanı koyma başarısını arttırmak için aynı yerden en az beş biyopsi alınmalıdır (22).

Schreiber, otuz çalışma üzerinden sistematik bir literatür çalışması gerçekleştirmiş ve santral yerleşimli tümöral lezyonlarda endobronşiyal biyopsilerin sensitivitesini 0.74 (20 araştırma) , fırçalamanın sensitivitesini 0.59 (18 araştırma) ve lavajın sensitivitesini 0.48 (12 araştırma) olarak bulmuştur.. Santral yerleşimli endobronşiyal tümörlerde tüm bronkoskopik tekniklerle toplam sensitivite 0.88 idi (14 çalışma) (23).

Bronşiyal fırçalama ve biyopsi birleştirildiğinde pozitif tanı yüzdesi yüksek oranlardadır ve biyopsiden sonra fırçalamayı yapmak daha faydalıdır (24,25).

Sıcak biyopsi forseplerini kullanarak endobronşiyal lezyonlara tanıda yeni yaklaşımlar rapor edilmiştir. Tremblay ve arkadaşları elektrokoagülasyon forsepsleri (sıcak yöntemler) ile alınan biyopsileri geleneksel forsepslerle (soğuk yöntem) alınan biyopsiler ile karşılaştıran çalışmasında sıcak ve soğuk örneklerdeki uyumu, en az miktarda elektrokoagülasyon hasarıyla klinik patolojiler için %92.5 ve kör patolojiler için %87 oranında bulmuştur. Elektrokoagülasyon forsepleriyle biyopsi, müdahale gerektirmeyen kanamalarda forseps biyopsilere göre kanamaları azaltmasına rağmen, müdahale gerektiren kanamalarda (soğuk serum fizyolojik, topikal adrenalin ya da elektrokoagülasyon gerektiren) forseps biyopsilerdeki kanamalara göre bir azalma sağlamamıştır (26).

Khana ve arkadaşları, endobronşiyal lezyonların tanısında geleneksel biyopsiye karşı sıcak biyopsiyi karşılaştıran randomize bir çalışma yapmıştır. Çalışmada sıcak biyopsi ile alınan numunelerin niteliği ve kalitesi değişmezken kanamaların hiçbirinde azalma olmamıştır (27).

4.6. Transbronşiyal akciğer biyopsisi (TBBx)

Lokalize periferik akciğer lezyonu vakalarında TBBx floroskopi yardımıyla yapılır fakat diffüz akciğer hastalarında bu gerekli görülmemektedir (5). TBBx'yi gerçekleştirmek için bronkoskop gidebildiği kadar uzağa itilir ve biyopsi alınacak lobun bronşuyla ağızlaştırılır. Tam nokta belirlendikten sonra biyopsi forsepleri yavaşça bronş içine itilir ve biyopsi olacak alana 5-6 mm yakınlığında açılır. Biyopsi forseps lezyona doğru itilir ve kapatılır. Hasta bu anda acı hissederse forseps geri çekilip biyopsi için başka bir alan seçmek gerekir. Biyopsi forseps çalışma kanalından geri çekildikten sonra olabilecek kanamayı kontrol etmek ve bir sonraki biyopsiyi aynı yerden alabilmek için bronkoskop ağızlaştırıldığı bronşta tutulmalıdır.

Periferik akciğer lezyonları için TBBx'nin alınan biyopsi örneklerinin sayısına ve lezyonların büyüklüğüne göre değişen bir sensitivitesi vardır. 7 ile 8 transbronşiyal biyopsi alınması önerilmektedir (28).

Tanı başarısındaki oran ultrason eşliğinde veya elektromanyetik navigasyon sistemi kullanılarak daha da artırılabilir (7,29,30). EBUS yapmak için radyal transdüsel ultrason probları standart bronkoskop biyopsi kanalından geçirilebilir. Radyal ultrason minipropları bir rehber kılıf içinden geçirildiğinde floroskopi altında hedef periferik lezyonları belirlemek için uzatılmış çalışma kanalı görevi yapabilir. Lezyonlara ulaşıldığında miniprob rehber kılıfın içinden geri çekilir. Rehber kılıf biyopsi araçları için (biyopsi forsepleri veya fırçaları) lezyona ulaşmada uzatılmış çalışma kanalı görevi görür (7,28).

TBBx diffüz akciğer infiltratlarının tanı tetkiklerinde yüzde 75 başarıyla uygulanır. Bir akciğerden 4 ile 6 arası transbronşiyal biyopsi örnekleri alınabilir. Kullanılan forseplerin türü (timsah veya düz) tanıdaki başarıyı etkilememektedir, fakat düz kaşıklı forseplerin istenilen alveoler örneği elde etmesi daha olasıdır (31-35).

4.7. Transbronşiyal iğne aspirasyonu (TBİA)

TBİA akciğer dokularında veya hava yollarının duvarındaki lezyonların yanı sıra trakeobronşiyal alana yakın olan mediastinal yapılardan biyopsi almada kullanılır (36). TBİA peribronşiyal lenf nodları veya submukozal lezyonlar gibi endobronşiyal olmayan lezyonlardan doku örneği almayı sağlayan bilinen tek bronkoskopik biyopsi tekniğidir. Alınan örnekler sitolojik, histolojik ve mikrobiyolojik incelemeler için kullanılır.

TBİA fleksibl bronkoskop ile birlikte Wang tarafından 1970'lerin sonlarında geliştirilmiştir. Wang ayrıca sitoloji için bugünlerde hala kullanılmakta olan özel iğneler ve 1990'ların sonlarında bu teknikte bir simge olan histolojik amaçlı iğneler geliştirmiştir (37,38).

Sitoloji ve histoloji için TBİA tekniği benzerdir ve Dasgupta ile Mehta tarafından iyi tanımlanmıştır. İğne bronşiyal duvardan 4 teknikle geçirilir. Jabbing metodunda bronkoskop burunda veya ağızda sabit tutulurken, iğne kıkırdak arası mesafeden kateteri ile hızlı ve sert bir şekilde itilir. Piggyback metodunda, iğne itilip kıkırdak arası mesafeye dokundurular kateter parmak kullanılarak çalışma kanalının giriş noktasında sabitlenir. Sonra bronkoskop ve kateter iğnenin tamamı trakeobronşiyal duvara girene kadar birlikte itilir. Cough metodunda hasta öksürürken iğnenin girmesini kolaylaştırmak için Jabbing ya

da Piggyback tekniği uygulanır. Hub Against Wall metodunda, kateterin uç noktası kıkırdaklar arası mesafeye yaslanır ve iğne trakeobronşiyal duvara itilirken çalışma kanalının girişinde kateter sıkıca tutulur. Bütün bu teknikler tek başına veya birlikte kullanılabilir (39).

İğne havayolu duvarına girdikten sonra bir enjektör kullanılarak vakum yapılır. Şırınga içindeki vakum varken katetere hızlı ileri geri hareketler yapılır. Vakum bırakılır, iğne çekilir. Bronkoskobun ucu düzleştirilir ve sonra kateter tek bir hızlı hareketle çalışma kanalından dışarı çıkarılır. İğneyi çekmeden önce vakumu bırakmak istenmeyen materyalin bronş içinden iğnenin içine girmesini engeller (39).

Geliştirilmiş endobronşiyal ultrason (EBUS) -TBİA bronkoskobu 2004'ten beri kullanılmaktadır. EBUS trakeobronşiyal duvarın ve yakınındaki yapıların görüntülenmesine imkan verir (40,41).

EBUS bronkoskopuyla büyümüş lenf nodüllerinin varlığı ve yakındaki vasküler yapılar belirlendikten sonra, çalışma kanalına özel iğne yerleştirilir. Ultrasonik görüntü eşliğinde gerçek zamanlı TBİA yapılır (40).

TBİA veya EBUS-TBİA'nda tanısal başarı operasyon odasında örnek alındığı anda yapılacak sitolojik tespitlerle (ROSE) artırılabilir. Bu teknik az kullanılmaktadır. ROSE, alınan materyallerin uygun olup olmadığını tespit etmede ve teşhis koymada yararlıdır. Yerinde sitopatoloji değerlendirmesinin kullanımını arttırmak, bronkoskopi servislerinin niteliğini artırır ve işlemin daha az maliyetli olmasını sağlar (42-44).

EBUS-TBİA ile tanı için yeterli aspirat sayısını belirlemek için Chin, akciğer kanser şüpheli ya da akciğer kanserli ve büyümüş mediastinal lenf nodüllü hastalarda araştırma yapmış ve ilk aspiratın bile yüksek bir tanı başarısı olduğunu bulmuştur. Yedinciye kadar olan aspiratlarda tanı başarısı giderek artmaktadır ancak tanı başarısının %93'ü ilk dört denemede gerçekleşmiştir. Dörtten 7'ye kadar olan aspiratların tanıya katkısı sadece %7'dir. Araştırmacılar yeterli miktarda materyal elde etmek için tek bir lenf nodu istasyonundan en az 4 adet, maksimum tanı başarısı için ise 7 adet TBİA alınması gerektiği sonucuna varmışlardır (45).

Günümüzdeki akciğer kanseri evreleme rehberleri endoskopik ultrason eşliğindeki ince iğne aspirasyonu (EUS-FNA) ve EBUS-TBİA'nun cerrahi evreleme yöntemlerine alternatif olduğunu belirtmektedir (46,47). Yeni "International association for the study of lung cancer node map" de belirtildiği gibi EBUS-TBİA sağda ve solda 2 (üst paratrakeal), 4 (alt paratrakeal), 7 (subkarinal), 10 (hiler) ve 11(interlober) lenf nodlarına erişme imkanı verir (48-49). 8 ve 9 no'lu lenf nodlarını sadece EUS-FNA örnekleyebilmektedir (49).

Fakat, İngiliz Toraks Derneği'nin yeni "Guidelines for Advanced Diagnostic and Therapeutic Flexible Bronchoscopy in Adults" rehberinde; İşlem öncesi çekilen akciğer tomografisinde görülen mediastinal ve hiler lenfadenopatilerden örnek almak için ilk bronkoskopik işlem sırasında konvansiyonel TBİA'nun kullanılması ve konvansiyonel TBİA tanısal olmadığı takdirde EBUS-TBİA yapılması önerilmektedir (50).

Ayrıca Dooms, toraks BT'nde mediastinal lenfadenopati görülüyorsa ilk fleksibl bronkoskopi sürecinde TBİA'nın kullanımını önermektedir. Net olarak görülebilen sağ alt ve sol alt paratrakeal, hiler ve subkarinal lenf nodlarının en geniş kısa aksı 15 mm den fazla ise başarıyla örneklenebilmektedir (51).

Akciğer kanserini evrelemenin ötesinde TBİA endobronşiyal lezyonların tanısında ek bir yöntem olarak kullanılabilir. Biyopsiye veya fırçalamaya TBİA'nun eklenmesi tanısal başarıyı arttırabilir. Dasgupta TBİA'lu ve TBİA'suz geleneksel tanı yöntemlerini karşılaştıran bir prospektif araştırma yapmıştır. Araştırmada, sıradan yöntemlerin %65 tanı başarısıyla TBİA'lu yöntemin %96 olan tanı başarısı karşılaştırılmıştır. TBİA biyopsi ve fırçalamaya ek olarak yapıldığında, ekzofitik kitle lezyonunun tanı başarısında benzer bir artış söz konusudur. Araştırmacılar, TBİA'nun gücünü kitlenin derininden tümör örneğini alabilmesi ve tümörün yüzeyinde bulunan nekrozları baypas edebilmesi ile açıklamışlardır. Hava yollarına dışarıdan bası yapan lezyonlarda fırçalama veya forseps biyopsi yöntemleri lezyona ulaşmamaktadır. Bu gibi durumlarda, yeterli miktarda doku örneklemek için TBİA'nun mukoza altına veya direkt bronşiyal duvarı geçerek kitleye ulaşma yeteneği tanısal başarıyı arttırabilir (52). Bu sonuçlar diğer araştırmacılar tarafından da doğrulanmıştır (53,54).

Birçok araştırmacı, bronkoskopinin tanısal başarısını artırdığı için sarkoidozun birinci ve ikinci evrede olduğu hastalarda TBİA ve TBBx'nin birlikte kullanımını önermektedirler (55-57). İngiliz Toraks Derneği'nin yeni "Guidelines for Advanced Diagnostic and Therapeutic Flexible Bronchoscopy in Adults" rehberindeki verilere göre, şüpheli sarkoidoz durumlarında hilar ve mediastinal lenf nodlarından doku örneği almada en güvenilir teknik geleneksel TBİA'dur. Endobronşiyal ve transbronşiyal biyopsiyle birlikte kullanılabilir (50).

4.8. Kriyobiyopsi

Bilinen en başarılı tanı yöntemi olan forseps biyopsilerin en önemli sakıncası forseps çapına bağlı olarak küçük doku örnekleri alabilmesidir. Ek olarak forseps ucuna bağlı mekanik bası ve ezilme artefaktları patolojik incelemede örnek kalitesini düşürmekte ve tanı zorluklarına sebep olmaktadır (58,59). Bu durum lezyonlardan görerek biyopsi alsak bile yüksek oranda patolojik tanı başarısızlıklarına (%26), birkaç biyopsi tekniğini bir arada kullanma zorunluluğuna ve FOB tekrarlarına neden olmaktadır. Bilinen bütün biyopsi tekniklerinin bir arada kullanılmasıyla bile tanı olasılığı %88'i aşmamaktadır (60).

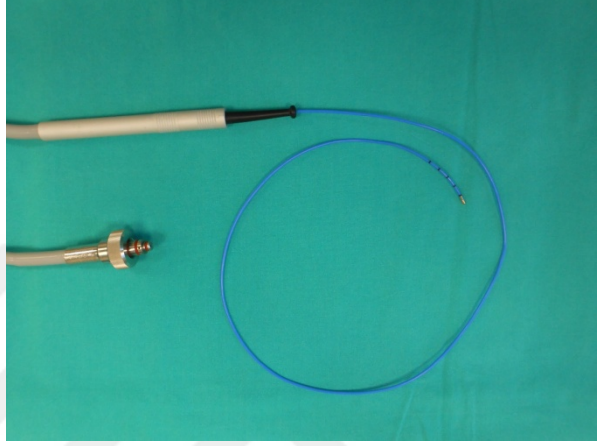
İyi bir bronkoskopik biyopsi aracı lezyona kolaylıkla iletilebilmeli, güvenle uygulanabilmeli, büyük biyopsi parçalarını artefaktsız alabilmeli, ek biyopsi tekniklerine ve tekrar bronkoskopisine ihtiyaç duymamalıdır. Fleksibl kriyoprop bu özelliklerin tamamına sahiptir (61).

Donanım ve çalışma şekli:

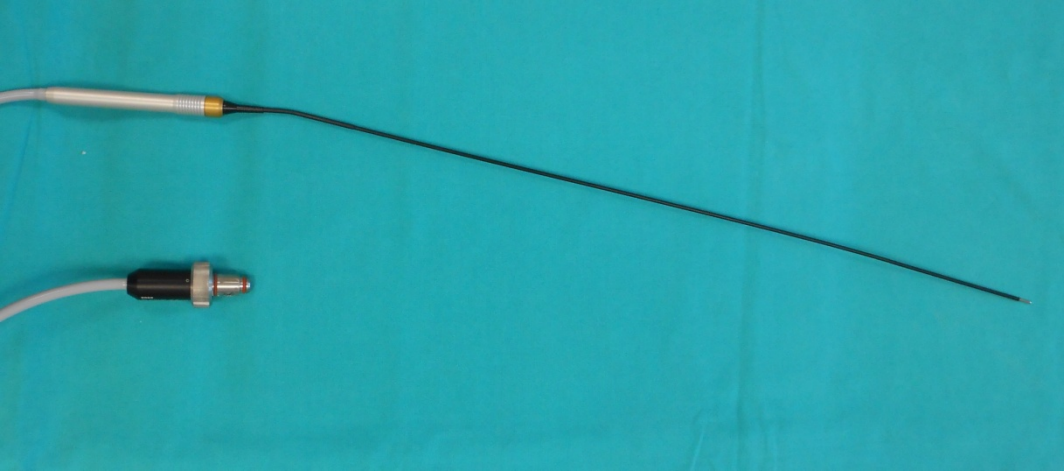
Kriyo cihazı soğutucu gaz tüpü, akımı kontrol eden sistem, ayak pedalı ve kriyoproptan oluşur (Resim 1). Rijit bronkoskop içinden geçebilen rijit ve semi-rijit proplar ile fleksibl bronkoskobun çalışma kanalından geçebilen fleksible proplar vardır (Resim 2,3).



Resim 1. Kriyo Cihazı



Resim 2. Fleksibl Kriyoprob



Resim 3. Rijit Kriyoprob

Çalışma şekli yüksek basınç altında sıkıştırılmış bir gazın, aniden düşük basınçlı bir ortama geçmesi sırasında genişlerken ortamdaki ısıyı alarak uzaklaşması fiziksel prensibine dayanmaktadır. Bu etkiye Joule-Thompson etkisi denmektedir.

Nitrik oksit probun ucunu -89°C soğutabilen bir gazdır. Yüksek basınçlı tüplerde oda sıcaklığında muhafaza edilir. Serbest bırakıldığında

probun ucundaki metalin iç kısmını soğutur ve metalin dış kısmında buz topu oluşturur (Resim 4). Buz topunun sıcaklığı -40 derecedir. (62,63).



Resim 4. Buz Topu

Etki mekanizması:

Aşırı soğuk temas ettiği maddelerdeki sıvı içeriğin donmasına ve maddenin soğuk kaynağına yapışmasına neden olur. Bu fiziksel etkiye “cryo adhesive = donarak yapışma” etki denir. Kriyobiopsi yöntemi bu fiziksel etkiden faydalanılarak geliştirilmiş bir tanı yöntemidir (61,64-66).

Uygulama tekniği:

Kriyopropun kriyoadeziv etkisini kullanarak biyopsi almak için endotrakeal tüp ile entübe edilen hastalarda tüpün içinden fiberoptik bronkoskop uzatılır, fiberoptik bronkoskopun çalışma kanalından geçirilen fleksibl kriyoprop tümöre ilerletilerek dokundurulur ve kriyoterapi cihazının pedalına basılarak 3 saniye dondurulur. Pedala basmaya devam ederken bronkoskop, kriyoprop ile birlikte tutularak hafifçe çekilir, donarak kriyopropun ucuna yapışan tümör parçasının ana kitleden ayrılması sağlanır ve bu sistem (fleksibl bronkoskop, kriyoprop ve ucundaki parça) bütünüyle hastadan çıkarılır. Dışarıda pedaldan ayak çekilerek donma sonlandırılır, kriyoprop ucu bir kaptaki SF içine sokularak ısının hızla düşmesi ve dokunun kriyopropun ucundan kolay ayrılması sağlanır. Tümör parçası %10'luk formalin içine konarak patolojiye gönderilir (61,64-66), (Resim 5).

Resim 5. Kriyobiopsi Uygulama Tekniği



Sol Ana Bronş Tümör



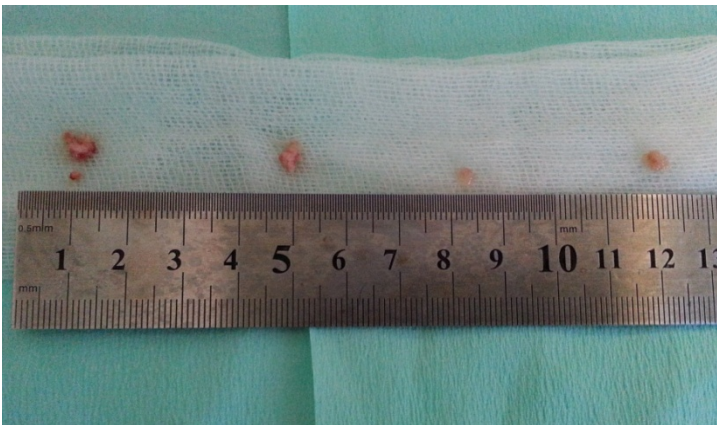
Kriyoprob ve Donma



Traksiyon



Çözünme



Tümör Parçalar

Endikasyonları:

Fleksibl kriyoprop ile yapılan çalışmalarda akciğer kanseri tanısında endobronşiyal kriyobiopsilerin tanı değęerinin forseps biyopsilere göre anlamlı

olarak üstün olduğu, daha büyük hacimli ve artefaktsız doku örneklerinin alınabildiği kanıtlanmıştır. (61,64-67). Endobronşiyal kriyobiyopsilerin tanı değeri % 77-97 gibi yüksek oranlara ulaşmaktadır (Tablo 1). Endobronşiyal kriyobiyopsi İngiliz Toraks Derneği'nin "Yetişkinler için ileri fiberoptik bronkoskopi rehberi"nde B tipi kanıtla önerilen bir endobronşiyal doku örnekleme yöntemi olarak yer almaktadır (50).

Tablo 1. Endobronşiyal Kriyobiyopsi Tanı Değerleri

Çalışmalar (Kaynak No)	Yıl	Hasta Sayısı n	Kriyobiyopsi Sayısı n	Donma Süresi Saniye	Tanı değeri %
Aktaş Z (64)	2010	41	1	20	92,7
Jabari H (69)	2012	60	1	3	80,0
Schumann C (65)	2010	296	2	3	89,5
Mobarak İS (66)	2011	35	2	3	94,3
Rubio ER (68)	2013	31	2	3	96,8
Hetzel J (61)	2012	296	3,45 ± 0,95	3	95,0

Fleksibl kriyoprob ile yapılan transbronşiyal kriyobiyopsiler ise interstisyel akciğer hastalıkları tanısında ve akciğer transplantasyonu sonrası rutin takip bronkoskopilerinde doku örnekleme tekniği olarak araştırılmaktadır. Yapılan az sayıdaki çalışmada forseps biyopsilere göre tanı değerinin daha yüksek olduğu, daha büyük hacimli ve kaliteli doku örnekleri alınabildiği saptanmıştır (70-73).

Torakoskopik yöntemle akciğer ve plevradan kriyobiyopsi alma teknikleri ile ilgili literatürdeki az sayıda yayında umut verici sonuçlar elde edilmiştir (74,75).

Yakın zamanda patoloji dergilerinde kriyobiyopsi ile alınmış materyallerin standart boyama, immünohistokimyasal ve elektronmikroskopik çalışmalarda diğer biyopsi tekniklerine göre üstünlüğünü bildiren çalışmalar

yayınlanmaktadır. Kriyoprop tümör mikroçevresini daha iyi anlamamıza yardımcı olacak büyüklükte ve kalitede doku örnekleri almamızı sağlamaktadır (76,77).

Kontrendikasyonları:

Bilinen bir özel kontrendikasyonu yoktur. Fiberoptik bronkoskopi ve forseps biyopsiler için olan kontrendikasyonlar kriyobiyopsiler için de geçerlidir.

Komplikasyonları:

Endobronşiyal kriyobiyopsilerin bilinen en önemli komplikasyonu kanamadır. Yapılan çalışmalarda kanama komplikasyonu açısından kriyobiyopsilerle forseps biyopsiler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (61,64-67). Ancak forseps biyopsilerde kendi kendine duran hafif kanama oranı % 10, argon plazma koagülasyon veya termokoagülasyon gerektiren orta dereceli kanama oranı % 0,7 ve hayatı tehdit eden ciddi kanama oranı % 0,02 gibi düşük düzeydedir (78,79). Kriyobiyopsi hasta serilerinde bu oranlar sırasıyla % 62, % 4,9, % 0,7'lere çıkabilmektedir (61,64-67). Her ne kadar istatistiksel olarak fark anlamlı olmasa da bu kanama oranlarının gerçekleşme ihtimali klinisyenler için endişe verici olabilmektedir. Bu durum endobronşiyal kriyobiyopsileri rutin kullanımdan uzaklaştırmaktadır.

Transbronşiyal kriyobiyopsilerin komplikasyonları ise kanama ve pnömotoraks gelişimidir. Hafif kanama dışında kanama komplikasyonu bildirilmemiştir. Yapılan çalışmalarda hafif kanama komplikasyonu açısından forseps biyopsilerle kriyobiyopsiler arasında anlamlı fark yoktur. Transbronşiyal kriyobiyopsilerin pnömotoraks komplikasyon oranları ise % 0-4,9 arasında değişmektedir (70-73).

Günümüzde kriyobiyopsileri rutin kullanımdan uzaklaştıran nedenlerden biri de kriyobiyopsilerin bronkoskop çalışma kanalından geçmeyecek büyüklükte parçalar olması, biyopsinin kriyoprop ve bronkoskopa birlikte hastadan çıkarılması zorunluluğu, kanama komplikasyonunu görmek veya bir başka kriyobiyopsi almak için bronkoskopa hastanın hava yoluna tekrar girme gerekliliği ve bu nedenle en azından hafif sedasyon altında endotrakeal tüp içinden yapılması şartıdır. Henüz kaç kriyobiyopsinin tanı için yeterli olduğu bulunmamıştır. Fırçalama, bronkoskopik lavaj, endobronşiyal iğne

aspirasyonu gibi sitolojik doku örnekleme yöntemleriyle kombine edilmesinin tanı değerini arttırıp arttırmayacağı araştırılmamıştır. Artan biyopsi sayılarının kanamanın şiddetini arttırıcı etkisi olup olmadığı bilinmemektedir.

Günümüzde rutin bronkoskopik yöntemlerle ilk seferde patolojik tanı konulamayan hastalarda bronkoskopi tekrarı yerine sedasyon altında endotrakeal tüp içinden fleksibl kriyobiyopsi yapılması tercih edilebilecek bir doku örnekleme yöntemidir. Kriyobiyopsilerin rutin kullanıma girebilmesi için daha çok araştırmaya ihtiyaç vardır.

5.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız malignite şüphesi olan ve rutin fiberoptik bronkoskopi ile ilk seferde tanı konulamamış, görünür endobronşiyal lezyonu olan, rijit brokoskopi ile tanısal girişim yapılacak hastalardan ve maling havayolu darlığı olan ve endobronşiyal tedavi endikasyonu konarak girişimsel bronkoskopik tedavi işlemleri (argon plazma koagülasyon + mekanik tümör rezeksiyonu, kriyorekanalizasyon, kriyoterapi, stent) yapılan hastalardan işlemlerinin başında fiberoptik teknikle kriyobiyopsiler alınması ve oluşan kanamanın kaydedilmesi şeklinde ileriye doğru uygulanan bir çalışma olarak dizayn edildi. Birincil amacımız hava yollarının endobronşiyal ekzofitik ve submukozal lezyonlarında patolojik tanı için yeterli olan kriyobiyopsi sayısını bulmak. İkincil amacımız kanama komplikasyonunun alınan biyopsi sayısı ile bağlantısını ortaya çıkarmaktı.

Dahil edilme kriterleri:

Onsekiz yaşından büyük, malignite şüphesi olup rutin fiberoptik bronkoskopi ile tanı konulamamış hastalar veya endobronşiyal maling hava yolu darlığı olan ve hava yolu açıklığı sağlamak için endobronşiyal tedavi yapılan hastalardan bilgilendirilmiş onamı olan hastalar çalışmaya alındı.

Dışlama kriterleri:

Kanama diyatezi olan, antikoagülan tedavi gören, 2lt/dk nazal oksijene rağmen oksijen satürasyonu % 90'ın altında olan, ciddi kalp hastalığı (anstabıl anjina pektoris, son bir ay içerisinde geçirilmiş miyokard enfarktüsü, dekompanse kalp yetmezliği) olan, bilgilendirilmiş onamı imzalamayan hastalar ve gebeler çalışmaya alınmadı.

Bronkoskopi:

Hastanemiz ameliyathanesinde rijit bronkoskopa (Efer-Dumon ap 11 mm, boy 43 cm, Efer Endoscopy, Marseille, France) entübe edilen hastalarda rijit bronkoskopun içinden fiberoptik bronkoskop (Pentax FB 18V, Pentax Europe GmbH, Hamburg, Germany) uzatılarak tümör görüntüledi. Fiberoptik bronkoskopun çalışma kanalından geçirilen fleksibl kriyopropla (90 cm uzunluk, 2,4 mm ap, ERBE, Medizintechnik GmbH, Tübingen, Germany) görerek kriyobiopsiler alındı. Rijit entübasyon için genel anestezi teknikleri uygulandı. İşlem sırasında hastaların oksijen satürasyonları, EKG'leri sürekli, kan basınçları tekrarlayan ölçümlerle takip edildi.

Doku örnekleme:

Rijit bronkoskopun içinden uzatılan fiberoptik bronkoskopun çalışma kanalından fleksibl kriyoprop geçirilerek tümöre dokunduruldu ve kriyoterapi cihazının (Erbokryo® CA, ERBE, Medizintechnik GmbH, Tübingen, Germany) pedalına basılarak 3 sn donduruldu. Pedala basmaya devam ederken fiberoptik bronkoskop, kriyopropla birlikte tutularak hafifçe çekildi, donarak kriyoprobun ucuna yapışan parçanın ana kitleden ayrılması sağlandı ve bu sistem (fleksibl bronkoskop, kriyoprop ve ucundaki parça) bütünüyle hastadan dışarı çıkarıldı.

Dışarıda pedaldan ayak çekilerek donma sonlandırıldı, kriyoprop ucu bir kaptaki SF içine sokularak ısının hızla düşmesi ve dokunun kriyoprobun ucundan kolay ayrılması sağlandı. Parça %10'luk formalin içine konuldu ve biyopsi alma sırası kodlanarak permanent kalemle formalin şişesinin üzerine yazıldı. Her lezyondan 4 kriyobiyopsi alındı ve her biri ayrı kodlu formalin şişesine konuldu.

Her lezyonun lokalizasyonu, ekzofitik veya submukozal olması, biyopsi süresi, kriyopropla lezyona ulaşma kolaylığı (kolay, orta, zor), kanama dışındaki komplikasyonlar kaydedildi.

Kanama:

Her kriyobiyopsiden sonra;

Grade 0 kanama: Kanama olmaması veya hafif kanama olması (5 dakika içinde kendiliğinden duruyorsa) Grade 0 kanama olarak kaydedildi. Hafif

kanamalarda satürasyon düşüklüğüne neden olmuyorsa veya miktarı fazla değilse aspire etmek dışında kanamaya müdahale edilmedi.

Grade 1 kanama: Soğuk SF veya adrenalinli SF ile müdahale edilerek durdurulan kanama olması Grade 1 kanama olarak kaydedildi.

Grade 2 kanama: Argon plazma koagülasyon veya balon tamponadı gerektiren kanamalar olması Grade 2 kanama olarak kaydedildi.

Grade 3 kanama: İşlem sırasında kanama nedeniyle kan transfüzyonu gerekmesi, vazopressör desteği gerektiren hipotansiyon gelişmesi, kurtarıcı cerrahi işlem gerektirmesi, ölüm gerçekleşmesi gibi durumlar Grade 3 kanama olarak kaydedildi (80).

Patoloji:

Her bir biyopsi alınma sırası kodlanarak ve bu kod şişenin üzerine yazılarak %10'luk formalinle fikse edildi. Her parça parafin bloğa gömülerek 4 mikrometre kalınlığında kesilip hematoksil-eozin yöntemi ile boyandı. Kodlu preparatlar tek patoloji uzmanı tarafından alınma sırası bilinmeksizin (tek kör) değerlendirdi. Gerekli ek boyalar ve immünohistokimyasal çalışmalar yapıldı. Her kodlu parça için ayrı patoloji raporu yazıldı. Maligniteler için bilinen sınıflamalar (Akciğer kanserleri için WHO sınıflaması gibi) kullanıldı.

İstatistik:

Verilerin analizi SPSS 18.0 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler kesikli ve sürekli sayısal değişkenler için ortalama \pm standart sapma veya ortanca (minimum - maksimum) biçiminde kategorik değişkenler ise vaka sayısı ve (%) şeklinde ifade edildi.

Bağımlı kategorik değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek için McNemar Testi ve tanılar arasındaki uyumu belirlemek için Kappa Testi kullanıldı.

Dokular bağımsız olarak ele alındığında kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerde Pearson Chi-Square veya Fisher's Exact Test kullanıldı.

Biyopsi sayısı ile kanama durumu arasındaki doğrusal ilişkinin anlamlılığı Linear-by-Linear Association Testi ile belirlendi. Biyopsi sayısının kanamadaki riskini belirlemede Odds Oranı (%95 güven aralığıyla) verildi.

$p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

6.BULGULAR

Şubat 2013 – Ekim 2013 tarihleri arasında hastanemizde malignite şüphesi olan ve rutin fiberoptik bronkoskopi ile ilk seferde tanı konulamamış, görünür endobronşiyal lezyonu olan ve rijit brokoskopi ile tanısal girişim yapılan hastalar veya maling havayolu darlığı olan ve endobronşiyal tedavi endikasyonu konarak girişimsel bronkoskopik tedavi işlemleri (argon plazma koagülasyon + mekanik tümör rezeksiyonu, kriyorekanalizasyon, kriyoterapi, stent) için rijit bronkoskop ile entübe edilen toplam 50 hasta çalışmaya alındı. Hastaların yaş ortalaması $60,3 \pm 12,0$ (min.23- max 80) idi. Hastaların 49'u erkek, 1'i kadındı. Hastaların ortalama INR değeri $1,1 \pm 0,2$, APTT değeri $29,4 \pm 5,0$ saniye idi. Lezyonların 4'ü (%8) trakeada, 16'sı (%32) sağ ana bronşta, 4'ü (%8) sağ üst lob bronşunda, 8'i (%16) sağ intermedier bronşta, 1'i (%2) sağ orta lobda, 10'u (%20) sol ana bronşta, 5'i (%10) sol üst lobda, 2'si (%4) sol alt lobda idi (Tablo 2).

Tablo 2. Lezyonların Lokalizasyonları

Lokalizasyon	n	%
Trakea	4	8,0
Sağ ana bronş	16	32,0
Sağ üst lob	4	8,0
Sağ İntermedier bronş	8	16,0
Sağ orta lob	1	2,0
Sol ana bronş	10	20,0
Sol üst lob	5	10,0
Sol alt lob	2	4,0
Toplam	50	

Lezyonların 4'ü (%8) trakeada, 26'sı (%52) ana bronşlarda, 20'si (%40) lob bronşları ve intermediyer bronşta idi (Tablo 3).

Tablo 3 Lezyonların Lokalizasyonlarına Göre Dağılımları

Lokalizasyon	n	%
Trakea	4	8,0
Ana bronşlar	26	52,0
Lob bronşları + intermediyer bronş	20	40,0
Toplam	50	

Lezyonların 37'si (%74) ekzofitik, 7'si (%14) mikst, 6'sı (%12) submukozaldı (Tablo 4).

Tablo 4. Lezyon Tipleri

Lezyon Tipi	n	%
Ekzofitik	37	74,0
Ekzofitik + Submukozal	7	14,0
Submukozal	6	12,0
Toplam	50	

Ortalama biyopsi süresi $8,0 \pm 4,3$ dakika (min.3 –maks.28 dakika) idi.

Trakeadaki lezyonların 4'ü (%100), ana bronşlardaki lezyonların 25'i (%96,2), lob bronşları ve intermediyer bronştaki lezyonların 4'üne (%20) kolay ulaşıldı. Ana bronştaki lezyonların 1'ine (%3,8), lob bronşları ve intermediyer bronştaki lezyonların 5'ine (%25) orta zorlukta ulaşıldı. Lob bronşları ve intermediyer bronşdaki lezyonların 11'ine(%55) zor ulaşıldı. Lezyonlara ulaşmak hava yollarında distale gittikçe zorlaşıyordu (Tablo 5).

Tablo 5. Lezyonların Ulaşımına Göre Sınıflandırılması

	Lezyona Ulaşım					
	Kolay		Orta		Zor	
	n	%	n	%	n	%
Trakea	4	100	0	0	0	0
Ana bronşlar	25	96,2	1	3,8	0	0
Lob bronşları + intermediyer bronş	4	20,0	5	25,0	11	55,0
Toplam	33	66	6	12	11	22

Alınan biyopsilerdeki patolojik tanılar: 2'si (%4) küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), 2'si (%4) spindle hücreli az differansiye KHDAK, 30'u (%60) skuamöz hücreli karsinom, 5'i (%10) adenokarsinom, 1'i (%2) küçük hücreli akciğer karsinomu (KHAK), 1'i (%2) mukoepidermoid karsinom, 1'i (%2) adenoid kistik karsinom, 1'i (%2) karsinoid tümör, 2'si (%4) renal hücreli karsinom metastazı, 1'i (%2) kolon ca metastazı, 1'i (%2) testis yolk sac tümörü metastazı idi. İki hastada (%4) alınan 4 kriyobiyopsi ile tanıya ulaşılamadı (Tablo 6).

Tablo 6. Lezyonların patolojik sınıflaması

Kriyobiyopsi Patoloji	n	%
KHDAK (NOS)	2	4,0
Spindle hücreli az differansiye KHDAK	2	4,0
Skvamöz	30	60,0
Adeno	5	10,0
Adenoskvamöz	1	2,0
KHAK	1	2,0
Mukoepidermoid Ca	1	2,0
Adenoid Kistik Karsinoma	1	2,0
Karsinoid Tümör	1	2,0
Renal Hücreli Ca metastazı	2	4,0
Kolon ca metastazı	1	2,0
Testis yalk sac tümörü metastazı	1	2,0
Tanı yok	2	4,0
Toplam	50	

Patolojik tanıları gruplandırdığımızda patolojik tanıların 40'ı (%80) KHDAK, 1'i (%2) KHAK, 7'si (%14) diğer maligniteler idi. Kriyobiyopsilerle 2 (%4) vakaya tanı konulamadı. Fleksible kriyobiyopsi tekniği ile tanı konulamayan 2 vakaya endobronşiyal debulking materyalinin patolojik incelenmesiyle tanı kondu. Tanılardan 1 tanesi (%2) adeno kanser, 1 tanesi de (%2) skvamöz hücreli kanserdi (Tablo 7).

Tablo 7. Lezyonların patolojik tanısına göre dağılımları

Kriyo BX Patoloji	n	%
KHDAK	40	80,0
KHAK	1	2,0
Diğer	7	14,0
Tanı yok	2	4,0
Toplam	50	

Alınan biyopsilerde patolojik tanı gelme olasılığı tablo 8'de özetlenmiştir. 35'inci hastada birinci biyopside gelişen orta dereceli kanama nedeniyle 2, 3, 4'üncü biyopsiler alınamadı.

Tablo 8 Alınan biyopsiler ve sonuçları

SIRA NO	AD SOYAD	1. BIOPSİ TANI	2. BIOPSİ TANI	3. BIOPSİ TANI	4. BIOPSİ TANI
1	MB	+	-	+	+
2	EA	+	+	-	+
3	MD	+	+	-	+
4	BG	-	-	-	-
5	VÇ	-	+	+	+
6	EA	+	+	+	+
7	FT	+	+	+	+
8	MB	-	+	-	+
9	MG	+	-	-	+
10	İG	+	+	+	+
11	NM	+	+	+	-
12	MD	-	+	-	+
13	CT	-	-	-	+
14	DA	+	+	+	+
15	OK	+	-	-	+
16	AÇ	+	+	+	-
17	AÖ	+	+	+	+
18	HK	+	+	+	+
19	KÇ	-	-	-	-
20	AK	+	+	+	+
21	HK	+	+	-	+
22	OŞ	+	+	+	+
23	İÖ	+	-	-	+
24	AST	+	+	+	+
25	HÇ	+	+	+	+
26	YÖ	+	+	+	+
27	AK	+	+	+	+
28	FB	+	+	-	-
29	EA	+	+	+	+
30	ŞT	+	+	+	+
31	OB	+	+	+	+
32	AZ	+	+	+	+
33	MAE	+	+	+	+
34	SÇ	+	+	-	+
35	AA	+	BA	BA	BA
36	ŞÖ	+	+	-	+
37	NK	+	+	+	+
38	KÖ	+	+	+	-
39	SÇ	+	+	+	+
40	ÜG	+	+	+	+
41	MÇ	+	+	+	+
42	MÖ	-	+	+	-
43	MK	+	-	-	+
44	TK	+	+	+	+
45	CK	+	+	+	-
46	KÖ	-	+	-	-
47	RÖ	+	+	+	-
48	YB	+	+	-	-
49	AA	+	+	+	+
50	AK	-	+	+	+

(+)=Patolojik tanı var, (-)= Patolojik tanı yok, BA= Biyopsi alınamadı.

Her biyopsi bağımsız tek bir biyopsi olarak düşünülduğünde 1'inci biyopsi ile 50 biyopsi materyalinin 41'inde (%82,0), 2'inci biyopsi ile 49 biyopsi materyalinin 41'inde (%83,7), 3'üncü biyopsi ile 49 biyopsi materyalinin 32'sinde (%65,3), 4'üncü biyopsilerle 49 biyopsi materyalinin 38'ine (%77,6) ve toplam 197 biyopsi materyalinin 152'sinde (%77,2) malignite açısından pozitif patolojik tanıya ulaşıldı (Tablo 8),

Tablo 9. Alınan biyopsiler ve tanı gelme oranları

	n	T	%
1.Biyopsi İle Tanı	41	50	82,0
2.Biyopsi İle Tanı	41	49	83,7
3.Biyopsi İle Tanı	32	49	65,3
4.Biyopsi İle Tanı	38	49	77,6
Toplam	152	197	77,2

Hastalara tanı koyma oranı olarak bakıldığında çalışmamızı tek biyopsi alma üzerine planlasaydık 50 hastanın 41'nde (%82), 2 biyopsi alma üzerine planlasaydık 50 hastanın 47'sine (%94,0), 3 biyopsi alma üzerine planlasaydık 50 hastanın 47'sine (%94,0), 4 biyopsi alma üzerine planlasaydık 50 hastanın 48'ine(%96,0) patolojik tanı koymuş olacaktık. Fiberoptik kriyobiyopsi ile 2 (%4) hastaya tanı koyamayacaktık (Tablo 10).

Tablo 10. Biyopsi sayısına göre tanı koyma oranları

	n	T	%
Tek Biyopsi Alsaydık	41	50	82,0
İki Biyopsi Alsaydık	47	50	94,0
Üç Biyopsi Alsaydık	47	50	94,0
Dört Biyopsi Alsaydık	48	50	96,0
Tanı Yok	2	50	4,0

Her bir hastanın biyopsi sonuçları birbiriyle karşılaştırıldığında; 1. biyopsi ve 2. biyopsiden elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,034$). İki test arasında % 45,1 oranında orta düzeyli (moderate) bir uyum vardır ($p<0,001$). 2. Biyopsinin 1'inci biyopsiye katkısı 6 hastadır (%12,8). Tüm sonuçlara bakıldığında iki biyopsinin uyumlu sonuç verme oranı %88 (44/50)'dir (Tablo 11).

Tablo 11. 1.ve 2. Biyopsilerin Tanı Başarısı Açısından Karşılaştırılması

	Biyopsi 2 -	Biyopsi 2 +	p
Biyopsi 1 -	3	6	Concordant pairs: %88 McNemar (Binomial distribution) p=0,034 Kappa p<0,001 Kappa Value κ=0,451
Biyopsi 1 +	0	41	

1. biyopsi ve 3. biyopsiden elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p=0,034). İki test arasında % 45,1 oranında orta düzeyli (moderate) bir uyum vardır (p<0,001). 3. Biyopsinin 1'inci biyopsiye katkısı 6 hastadır (%12,77). Tüm sonuçlara bakıldığında iki biyopsinin uyumlu sonuç verme oranı %88 (44/50)'dir (Tablo 12).

Tablo 12. 1.ve 3.Biyosilerin Tanı Başarısı Açısından karşılaştırılması

	Biyopsi 3 -	Biyopsi 3 +	p
Biyopsi 1 -	3	6	Concordant pairs: %88 McNemar (Binomial distribution) p=0,034 Kappa p<0,001 Kappa Value κ=0,451
Biyopsi 1 +	0	41	

1. biyopsi ve 4. biyopsiden elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,016$). İki test arasında % 31,9 oranında orta düzeyli (moderate) bir uyum vardır ($p=0,002$). 4. Biyopsinin 1'inci biyopsiye katkısı 7 hastadır (%14,58). Tüm sonuçlara bakıldığında iki biyopsinin uyumlu sonuç verme oranı %98 (49/50)'dir (Tablo 13).

Tablo 13. 1.ve 4. Biyopsilerin Tanı Başarısı Açısından Karşılaştırılması

	Biyopsi 4 -	Biyopsi 4 +	p
Biyopsi 1 -	2	7	Concordant pairs: %86 McNemar (Binomial distribution) $p=0,016$ Kappa $p=0,002$ Kappa Value $\kappa=0,319$
Biyopsi 1 +	0	41	

1'inci biyopsiden sonraki biyopsiler 1'inci biyopsiye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede üstün pozitif tanı başarısına sahiptir ($p=0,034, 0,034, 0,016$)

2. ve 3. biyopsilerde tamamen aynı sonuçlar bulunmuştur (Tablo 14).

Tablo 14. 2.ve 3. Biyopsilerin Tanı Başarısı Açısından Karşılaştırılması

	Biyopsi 3 -	Biyopsi 3 +	p
Biyopsi 2 -	3	0	Concordant pairs: %100 McNemar (Binomial distribution) $p=1$ Kappa $p<0,001$ Kappa Value $\kappa=1$
Biyopsi 2 +	0	47	

3. biyopsinin 2. biyopsiye tanı katkısı yoktur ($p=1,000$).

2. biyopsi ve 4. biyopsiden elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=1,000$). İki test arasında % 79 oranında iyi dereceli (good) bir uyum vardır ($p<0,001$). 4. Biyopsinin 2'inci biyopsiye pozitif tanı katkısı 1 hastadır (%2). Tüm sonuçlara bakıldığında iki biyopsinin uyumlu sonuç verme oranı %98 (49/50)'dir (Tablo 15).

Tablo 15 . 2.ve 4. Biyopsilerin Tanı Başarısı Açısından Karşılaştırılması

	Biyopsi 4 -	Biyopsi 4 +	p
Biyopsi 2 -	2	1	Concordant pairs: %98 McNemar (Binomial distribution) $p=1$ Kappa $p<0,001$ Kappa Value $\kappa=0,79$
Biyopsi 2 +	0	47	

4. biyopsinin 2. biyopsiye tanı katkısı yoktur ($p=1,000$).

3. biyopsi ve 4. biyopsiden elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=1,000$). İki test arasında % 79 oranında iyi dereceli (good) bir uyum vardır ($p<0,001$). 4. Biyopsinin 3'üncü biyopsiye katkısı 1 hastadır (%2). Tüm sonuçlara bakıldığında iki biyopsinin uyumlu sonuç verme oranı %98 (49/50)'dir (Tablo 16).

Tablo 16. 3.ve 4. Biyopsilerin Tanı Başarısı Açısından Karşılaştırılması

	Biyopsi 4 -	Biyopsi 4 +	p
Biyopsi 3 -	2	1	Concordant pairs: %98 McNemar (Binomial distribution) p=1 Kappa p<0,001 Kappa Value $\kappa=0,79$
Biyopsi 3 +	0	47	

4. biyopsinin 3. biyopsiye tanı katkısı yoktur ($p=1,000$).

2. biyopsi ve sonraki biyopsilerde 1. biyopsiye göre anlamlı derecede daha fazla pozitif sonuç bulunurken ikinci, üçüncü ve dördüncü biyopsilerde bulunan pozitif bulgular arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu nedenle 2'den fazla biyopsi almanın hastalara tanı koyma oranında artış sağlamadığı ve gerekli olmadığı düşünüldü.

Kanamalar için müdahale gerektiren ve gerektirmeyen kanamalar olarak temelde ikiye ayrılan bir sınıflama sistemi kullanıldı. Buradaki amaç müdahale gerektirmeyen kanama oranlarına ulaşarak kriyobiyopsilerin güvenli kullanımı hakkında fikir sahibi olmaktı. Buna göre her kriyobiyopsiden sonra;

Grade 0 kanama: Kanama olmaması veya hafif kanama olması (5 dakika içinde kendiliğinden duruyorsa) Grade 0 kanama olarak kaydedildi. Hafif kanamalarda satürasyon düşüklüğüne neden olmuyorsa veya miktarı fazla değilse aspire etmek dışında kanamaya müdahale edilmedi.

Grade 1 kanama: Soğuk SF veya adrenalinli SF ile müdahale edilerek durdurulan kanama olması Grade 1 kanama olarak kaydedildi.

Grade 2 kanama: Argon plazma koagülasyon veya balon tamponadı gerektiren kanamalar olması Grade 2 kanama olarak kaydedildi.

Grade 3 kanama: İşlem sırasında kanama nedeniyle kan transfüzyonu gerekmesi, vazopressör desteği gerektiren hipotansiyon gelişmesi, kurtarıcı

cerrahi işlem gerektirmesi, ölüm gerçekleşmesi gibi durumlar Grade 3 kanama olarak kaydedildi (80).

Birinci biyopsi ile 50 hastanın 46'sında (%92) Grade 0, 3'ünde (%6) Grade 1 ve 1'inde (%2) Grade 2 kanama görüldü. 2'inci biyopside 49 hastanın 46'sında (%93,9) Grade 0, 3'ünde (%6,1) Grade 1 kanama görüldü. 3'üncü biyopside 49 hastanın 41'inde (%83,7) Grade 0, 8'inde (%16,3) Grade 1 kanama görüldü. 4'üncü biyopside 49 hastanın 40'ında (%81,6) Grade 0, 9'unda (%18,4) Grade 1 kanama görüldü. Grade 3 kanama hiçbir biyopsi sonrası görülmedi (Tablo 17).

Tablo 17. Biyopsilere göre kanama dağılımı

	1. Biyopsi kanamalar		2. Biyopsi kanamalar		3. Biyopsi kanamalar		4. Biyopsi kanamalar	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Grade 0	46	92,0	46	93,9	41	83,7	40	81,6
Grade 1	3	6,0	3	6,1	8	16,3	9	18,4
Grade 2	1	2,0	0	0	0	0	0	0
Grade 3	0	0,0	0	0	0	0	0	0
Toplam	50		49		49		49	

Rijid bronkoskopi ve genel anesteziye bağlı kanama dışı komplikasyonlar ise 1 hastada (%2) diş kırılması, 2 hastada (%4) geçici karbondioksit retansiyonu ve 1 hastada (%2) işlem sırasında ventriküler ekstra sistol, toplam 4 hastada (%8) komplikasyon görüldü (Tablo 18)

Tablo 18. Diğer komplikasyonlar

Kanama dışı komplikasyonlar	n	%
Diş kırılması	1	2,0
CO2 retansiyonu	2	4,0
VES	1	2,0
Toplam	4	8,0

Müdahale gerektiren kanamalar (Grade1 ve 2) müdahale gerektirmeyen kanamalar (Grade 0) olarak kanamaları iki gruba ayırıp istatistiklerine bakarsak; 50 hastanın dokuları ayrı ayrı ele alındığında (n=197), biyopsi sayısı ile kanama

düzeyi arasında pozitif yönlü doğrusal artış (eğim) görülmektedir. Biyopsi sayısı arttıkça müdahale gerektiren kanamalar anlamlı derecede artmaktadır ($p=0,048$) (Tablo 19).

Tablo 19. Biyopsi sayısına göre kanama sayı ve oranları

Biyopsi sayısı	Kanama Grade 0	Kanama Grade 1/Grade 2	Linear-by-Linear Association Testi
1	46 (%92)	4 (%8)	LbLA=3,90 p=0,048
2	46 (%93,9)	3 (%6,1)	
3	41 (%83,7)	8 (%16,3)	
4	40 (%81,6)	9 (%18,4)	

50 hastaya yapılan 4 biyopsiden elde edilen sonuçlar birlikte incelendiğinde 1 veya 2 biyopsi yapılan hastaların kanama oranları %7,1 iken, 3 ve 4 biyopsi alındığında bu oran %17,3'e çıkmaktadır. İki grubun kanama oranlarında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,027$). 3'den sonraki biyopsilerde 2'ye kadar olan biyopsilere göre kanama riski 2,76 kat daha fazladır (%95 CI 1,089-6,987), (Tablo 19)

Tablo 19. 1. veya 2. Kriyobiopsi ile 3. Veya 4. Kriyobiopsinin karşılaştırılması

Kriyobiopsi sayısı	Kanama Grade 0	Kanama Grade 1 ve 2	Sonuç
1 veya 2	92 (%92,9)	7 (%7,1)	$\chi^2 = 4,861$; $p = 0,027$ OR= 2,758 (%95 CI 1,089-6,987)
3 veya 4	81 (%82,7)	17 (17,3)	

Alınan biyopsilerde pozitif tanı bulma olasılığı ile kanama düzeyi arasındaki ilişkiye bakıldığında alınan biyopsinin pozitif yada negatif tanısı

olması ile kanama varlığı ve şiddeti arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır. Pozitif tanılarda negatif tanılara göre daha fazla kanama olduğu söylenemez ($p<0,234$) (Tablo 20).

Tablo 20. Tanı kanama ilişkisi

Tanı	Kanama Grade 0	Kanama Grade 1/2	p
-	17 (%100)	0 (%0)	Fisher's exact test $p=0,234$
+	156 (%86,7)	24 (%13,3)	

7.TARTIŞMA

Çalışmamızda endobronşiyal kriyobiyopsilerin malign hastalıkların tanısında tanı için yeterli kriyobiyopsi sayısını bulmak ve kanama komplikasyonunun şiddeti ile korale ederek morbidite ve mortaliteyi artırmaksızın minimum kaç kriyobiyopsinin tanı için yeterli olacağını bulmayı amaçladık.

Yapılan çalışmalarda endobronşiyal kriyobiyopsilerin forseps biyopsilere göre tanı değerinin anlamlı derecede yüksek olduğu, daha büyük ve daha kaliteli doku örnekleri alabildiği kanıtlanmıştır (61,64-67). Bilinen tek komplikasyon olan kanamaların da forseps biyopsilere göre daha fazla olmadığı bulunmuştur (61,64-66). Forseps biyopsilerle yapılan çalışmalar incelendiğinde endobronşiyal kriyobiyopsiler için çalışma metodolojilerinin farklı olduğu görülmektedir. Çalışmalarda alınan kriyobiyopsi sayıları 1 - $3,45\pm 0,95$ arasında değişmektedir. Kriyobiyopsi alınırken dokuyu dondurma süreleri standardize edilmemiştir. Kaç kriyobiyopsinin tanı için yeterli olduğu bilinmemektedir. Kanama komplikasyonu ile korale edilerek tanı için yeterli olan optimum kriyobiyopsi sayısı bulunmamıştır.

Çalışmamızı hastalardan tek kriyobiyopsi almak üzere dizayn etseydik üç saniye dondurarak aldığımız tek biyopsi ile hastaların %82'sine tanı koyacaktık. Klasik tanı yöntemlerinden forseps biyopsi + bronşiyal lavaj + bronşiyal fırçalama + TBİA birlikte kullanıldığında tanı değeri %88'i bulmaktadır. Bu yüzden de tanı koymada alınan bir adet kriyobiyopsi konvansiyonel yöntemlere

üstün değildir. Bir kriyobiyopsi alınarak yapılan çalışmalarda %76,6-%92,7 arasında tanı başarısı yayınlanmıştır. Aktaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada alınan bir kriyobiyopsiyle tanı koyma başarısı %92,7'i bulmaktadır ancak çalışmada donma süresi çalışmamızdan farklı olarak yirmi saniyedir. Tek kriyobiyopsilerde daha uzun donma süresi daha iyi tanı koydurmasına rağmen kanama komplikasyonunu anlamlı oranda artırmaktadır (64). Jabari ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada çalışmamızdaki gibi üç saniye dondurma süresi ile alınan tek kriyobiyopsi ile tanı koyma başarısı %80 bulunmuştur (69). Çalışmamızda bulduğumuz %82 tanı koyma başarısı oranı bu yönden literatürle uyumludur.

Çalışmamızı hastalardan iki kriyobiyopsi almak üzere dizayn etseydik üç saniye dondurarak aldığımız iki kriyobiyopsi ile tanı koyma başarımız %94 olacaktı. Tek biyopsi ile ulaştığımız %82 tanı başarısına göre iki kriyobiyopsi ile ulaştığımız %94 tanı başarısı istatistiki olarak anlamlı derecede üstündür ($p=0,034$). Aynı zamanda %94 tanı koyma başarısı klasik yöntemlerin bir arada kullanılması ile elde edilen maksimum %88 tanı başarısı oranının çok üstündür. Yayınlarda üç saniye donma süresi ile alınan iki kriyobiyopsinin tanı değerleri %89,1-%96,8 arasında değişmektedir. Çalışmamızda bulduğumuz %94 tanı başarısı değeri bu yönden literatürle uyumludur.

Çalışmamızı hastalardan üç kriyobiyopsi almak üzere dizayn etseydik üç saniye dondurarak aldığımız üç adet kriyobiyopsi ile hastaların %94'üne tanı koyacaktık. Üç saniye dondurarak aldığımız tek kriyobiyopsinin %82 tanı değerine göre üç biyopsinin %94 olan tanı değeri istatistiki olarak anlamlı derecede üstündür ($p=0,034$). Ancak iki kriyobiyopsi ile ulaştığımız %94'lük tanı değeri ile aralarında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=1,000$). Üçüncü kriyobiyopsinin ikinci kriyobiyopsiye tanı katkısı yoktur. Literatürde üç kriyobiyopsi alınarak yapılmış çalışmaya rastlanmadı.

Çalışmamızı hastalardan dört kriyobiyopsi almak üzere dizayn etseydik hastaların %96'sına tanı koyacaktık. Üç saniye dondurarak aldığımız tek biyopsinin %82 tanı değerine göre dört biyopsinin %96 olan tanı değeri istatistiki olarak anlamlı derecede üstündür ($p=0,016$). Ancak iki kriyobiyopsi ile ulaştığımız %94'lük tanı değeri, üç kriyobiyopsi ile ulaştığımız %94'lük tanı

değeri ve dört biyopsi ile ulaştığımız %96'lık tanı değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=1,000$, $p=1,000$). Hetzel ve arkadaşlarının yaptığı ve alınacak kriyobiyopsi sayısını kriyobiyopsi alan doktorun insiyatifine bırakan ve alınacak biyopsi sayısını en çok dört biyopsi ile sınırlayan çok merkezli yüksek vaka sayılı bir çalışmada alınan kriyobiyopsi sayısı ortalama $3,45\pm 0,95$ 'dir. Bu çalışmada hastalara tanı koyma başarısı %95'dir. Çalışmamızda dört biyopsi ile ulaştığımız %96 tanı koyma başarısı bu yönden literatürle uyumludur.

Sonuç olarak tanı koyma başarısı açısından tek kriyobiyopsi yetersizdir, üçüncü ve dördüncü biyopsilerin ikinci biyopsiye katkısı yoktur. Hastalardan en az iki kriyobiyopsi alınmalıdır. Fleksibl kriyobiyopsilerin alınma tekniği nedeniyle iki kriyobiyopsi alabilmek için hastanın havayollarına bronkoskopi en az üç kez girmek gerekir. Bu nedenle kriyobiyopsiler en azından sedasyon altında endotrakeal tüp içinden yapılmalıdır. Dolayısıyla rutin fiberoptik bronkoskopik biyopsi amacı ile kullanılamaz. Bize göre ilk forseps biyopsi ile endobronşiyal lezyona patolojik tanı konamayan hastalarda bronkoskopi tekrarı yerine sedasyon altında endotrakeal tüp içinden fleksibl kriyobiyopsi yapılmalıdır.

Kriyobiyopsilerin bilinen tek komplikasyonu kanamadır. Çalışmamızda kriyobiyopsilerin oluşturduğu kanamaları müdahale gerektirmeyen (Grade 0) ve gerektiren (Grade 1,2,3) kanamalar olarak sınıflandırdık. Her tür bronkoskopik biyopsi işleminde (forseps biyopsi, bronkoskopik lavaj, fırçalama, TBİA, kriyobiyopsi) belli oranlarda kanama olması beklenen bir durumdur. Müdahale gerektirmeyen, kendiliğinden duran kanamaların klinikte bir önemi yoktur. Kriyobiyopsilerin kanama ciddiyetini anlamak açısından müdahale gerektiren kanama ile müdahale gerektirmeyen kanamayı ayırt etmek klinik pratikte önemlidir. Daha önce yapılan çalışmalarda (Hetzel'in çalışması hariç) kriyobiyopsilerin forseps biyopsilere göre müdahale gerektirmeyen ve müdahale gerektiren kanamalar arasında farklılık izlenmemiştir. Hetzel'in çalışmasında ise kriyobiyopsilerde forseps biyopsiye göre müdahale gerektirmeyen kanamalar daha fazla izlenmiştir. Çalışmamızda ise alınan kriyobiyopsi sayısı arttıkça müdahale gerektiren kanama oranları istatistiksel olarak anlamlı derecede artıyordu ($p=0,048$). Bu konuda literatürde benzer bir çalışmaya rastlanmadı.

Çalışmamızı hastalardan bir kriyobiyopsi almak üzere dizayn etseydik müdahale gerektirmeyen grade 0 kanama oranı %92, müdahale gerektiren grade 1-2 kanama oranını %8 bulacaktık. Aktaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada grade 0 kanama oranı %75,6, grade 1-2 kanama oranı %24,4 bulunmuştur. Bu çalışmada müdahale gerektiren kanama oranı çalışmamıza göre üç kat fazladır. Bunun nedeni Aktaş ve arkadaşların yaptığı çalışmada kriyobiyopsi alınırken dondurma sürelerinin bizim çalışmamıza göre daha uzun (20 saniye) olması olabilir. Jabari ve arkadaşlarını yaptığı çalışmada müdahale gerektirmeyen kanama oranı %90, müdahale gerektiren kanama oranı %10'dur. Bizimki gibi üç saniye dondurma süresi ile kriyobiyopsi alınan bu çalışma ile verilerimiz uyumludur.

Çalışmamızı hastalardan iki kriyobiyopsi almak üzere dizayn etseydik müdahale gerektirmeyen grade 0 kanama oranı %93,9 müdahale gerektiren grade 1-2 kanama oranı %6,1 bulacaktık. Çalışmamızda ikinci biyopsi ile oluşan müdahale gerektiren kanama oranı birinci biyopsideki müdahale gerektiren kanama oranına göre daha düşüktür. Literatürde iki kriyobiyopsi alınması ile yapılan en geniş vaka sayısına sahip çalışmada grade 0 kanama oranı %98,6, grade 1-2-3 kanama oranı %1,3 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızdaki kanama oranları literatürle uyumludur.

Çalışmamızı hastalardan üç ve dört kriyobiyopsi almak üzere dizayn etseydik müdahale gerektirmeyen grade 0 kanama oranı sırasıyla %83,7 ve %81,6, müdahale gerektiren grade 1-2 kanama oranı sırasıyla %16,3, %18,4 bulacaktık. Çalışmamızda üçüncü ve dördüncü biyopsideki müdahale gerektiren kanama oranları ile bir ve ikinci biyopsideki müdahale gerektiren kanama oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p= 0,027$). Üçüncü ve dördüncü biyopsiler, birinci ve ikinci biyopsiye göre müdahale gerektiren kanama oranını 2,76 kat arttırıyordu ($OR= 2,758$ (%95 CI 1,089-6,987)). Üç kriyobiyopsi alınan çalışmaya literatürde rastlanmadığı için karşılaştırma yapılamadı. Çalışmamızdaki dört kriyobiyopsinin kanama oranlarını Hetzel ve arkadaşlarının yaptığı ve her hastadan $3,45 \pm 0,95$ kriyobiyopsi aldığı çalışmadaki kanama oranları ile karşılaştırdığımızda Hetzel ve arkadaşlarının

bulduğu %18,3'lük müdahale gerektiren kanama oranı bizim çalışmamızdaki %18,4'lük oranla nerdeyse aynıdır.

Çalışmamızda negatif patolojik tanısı olan kriyobiyopsilerin müdahale gerektiren kanama oranı ile pozitif patolojik tanısı olan kriyobiyopsilerin müdahale gerektiren kanama oranları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,234$). Alınan kriyobiyopside tümörün olup olmamasının kanama komplikasyonu ile bir ilişkisi yoktur.

8.SONUÇ

Çalışmamızda endobronşiyal malignitelerin tanısında, kanama komplikasyonunun sıklığı ve şiddeti ile korele ederek morbidite ve mortaliteyi artırmaksızın minimum kaç kriyobiyopsinin tanı için yeterli olacağını bulmayı amaçladık.

Şubat 2013-Ekim 2013 tarihleri arasında hastanemizde malignite şüphesi olan ve rutin fiberoptik bronkoskopi ile ilk seferde tanı konulamamış, görünür endobronşiyal lezyonu olan ve rijit brokoskopi ile tanısız girişim yapılan hastalar veya maling havayolu darlığı olan ve endobronşiyal tedavi endikasyonu konarak girişimsel bronkoskopik tedavi işlemleri için rijit bronkoskop ile entübe edilen toplam 50 hasta çalışmaya alındı. Hastalardan dört adet kriyobiyopsi alındı ve oluşan kanamalar kaydedildi. Alınan kriyobiyopsiler tek patoloji uzmanı tarafından alınma sırası bilinmeksizin değerlendirildi. Oluşan kanamalar müdahale gerektirmeyen kanamalar (Grade 0) ve müdahale gerektiren kanamalar (Grade 1, 2, 3) şeklinde sınıflandırıldı.

Çalışmamızda endobronşiyal maligitelerin tanısında alınan dört kriyobiyopsinin hastalara tanı koyma başarısı sırasıyla %82, %94, %94 ve %96'dır. Konvansiyonel yöntemlerin endobronşiyal maligitelerin tanısındaki tanı başarıları ile karşılaştırıldığında çalışmamızda alınan bir kriyobiyopsinin tanı başarısı (%82) tek tek diğer yöntemlerin (forseps biyopsi %76, fırçalama %61, bronşiyal lavaj %47, TBİA %56) tanı başarılarından üstün olsa da konvansiyonel yöntemlerin bir arada kullanılması ile elde edilen %88'lik tanı başarısından düşüktür (60). Bu yönden endobronşiyal maligitelerin tanısında alınan bir kriyobiyopsi tanı için yeterli değildir. Çalışmamızda alınan iki, üç ve dört kriyobiyopsinin tanı başarıları ise konvansiyonel yöntemlere göre üstündür.

Çalışmamızda birinci kriyobiyopsiden sonraki kriyobiyopsiler, birinci kriyobiyopsiye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede üstün pozitif tanı başarısına sahipti (sırasıyla $p=0,034$, $0,034$, $0,016$). İkinci biyopsi ve sonraki biyopsilerle birinci biyopsiye göre anlamlı derecede daha fazla sayıda hastaya tanı konuldu. Bu yönden de endobronşiyal maligitelere tanısında alınan bir kriyobiyopsi tanı için yeterli değildi.

Bir kriyobiyopsinin endobronşiyal maligitelere tanı koyma başarısı (%82) hem konvansiyonel yöntemlerin beraberce kullanılması ile elde edilen tanı başarısından (%88) düşüktür hem de iki kriyobiyopsiye göre (%94) anlamlı derecede daha az sayıda hastaya tanı koydurmaktadır ($p=0,034$). Dolayısıyla bir kriyobiyopsi endobronşiyal maligitelere tanı koymada yetersizdir. En az iki kriyobiyopsi alınması gereklidir. Fleksibl kriyobiyopsilerin alınma tekniği nedeniyle iki kriyobiyopsi alabilmek için hastanın havayollarına bronkoskopi en az üç kez girmek gerekir. Bu nedenle kriyobiyopsiler en azından sedasyon altında endotrakeal tüp içinden yapılmalıdır. Dolayısıyla rutin fiberoptik bronkoskopik biyopsi amacı ile kullanılamaz.

Çalışmamızda ikinci, üçüncü ve dördüncü kriyobiyopsilerle tanı konan hasta sayıları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı ($p=1,000$, $1,000$). İkinci kriyobiyopsiden sonraki kriyobiyopsilerin tanıya anlamlı katkısı yoktu. Bu nedenle ikiden fazla biyopsi almanın gerekli olmadığı sonucuna varıldı.

Çalışmamızda kriyobiyopsi sayısı arttıkça müdahale gerektiren kanamalar anlamlı derecede artmaktaydı ($p=0,048$). Bir ve iki kriyobiyopsi yapılan hastaların kanama oranları ortalama %7,1 iken, üç ve dört kriyobiyopsi alındığında bu oran ortalama %17,3'e çıkmaktadır. İki grubun kanama oranları arasında anlamlı fark vardı ($p=0,027$). İkiden sonraki kriyobiyopsilerde ikiye kadar olan kriyobiyopsilere göre kanama riski 2,76 kat daha fazladır.

Alınan biyopsilerde pozitif tanı bulma olasılığı ile kanama düzeyi arasındaki ilişkiye bakıldığında alınan kriyobiyopside tümör dokusu olup olmaması ile kanama varlığı ve şiddeti arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki yoktu. Kriyobiyopsi ile tümör dokusu alamamak oluşan kanamaları azaltmıyordu.

Sonuç olarak ilk fiberoptik bronkoskopide forseps biyopsi ile endobronşiyal lezyona patolojik tanı konamayan hastalarda bronkoskopi tekrarı yerine sedasyon altında endotrakeal tüp içinden fleksibl kriyobiyopsi yapılmalıdır ve üç saniye donma süresi ile alınan iki adet kriyobiyopsi tanı için yeterlidir. İkinci kriyobiyopsiden sonraki biyopsiler hem tanıya katkı sağlamamakta hem de müdahale gerektiren kanamaları artırmaktadır.

9.KAYNAKLAR

1. Ikeda S, Tsuboi E, Ono R, Ishikawa S. Flexible Bronchofiberscope. Jap J Clin Oncol. 1971;1:55-65.
2. Herth F, Eberhardt R, Anantham D, et al. Narrow-Band Imaging Bronchoscopy Increases the Specificity of Bronchoscopic Early Lung Cancer Detection. Journal of Thoracic Oncology. 2009;4:1060-5.
3. Lam B, Wong M, Fung S, et al. The clinical value of autofluorescence bronchoscopy for the diagnosis of lung cancer. Eur Respir J. 2006;28:915-9.
4. Shibuya K, Hoshino H, Chiyo M, et al. Subepithelial vascular patterns in bronchial dys-plasias using a high magnification bronchovideoscope. Thorax. 2002;57:902-7.
5. Kurimoto N, Miyazawa T, Okimasa S, et al. Endobronchial Ultrasonography Using a Guide Sheath Increases the Ability To Diagnose Peripheral Pulmonary Lesions Endoscopically. Chest 2004;126:959-65.
6. Sheski F, Mathur P. Endobronchial Ultrasound. Chest 2008;133:264-70.
7. Hautmann H, Schneider A, Pinkau T, et al. Electromagnetic Catheter Navigation During Bronchoscopy. Chest 2005;128:382-7.
8. Thiberville L, Salaün M, Lachkar S, et al. Confocal Fluorescence Endomicroscopy of the Human Airways. The Proceedings of the American Thoracic Society 2009;6:444-9.

9. Williamson J, McLaughlin R, Phillips M, et al. Using Optical Coherence Tomography To Improve Diagnostic and Therapeutic Bronchoscopy. *Chest* 2009;136:272-6.
10. Fernández-Villar A, González A, Leiro V, et al. Effect of Different Bronchial Washing Sequences on Diagnostic Yield in Endoscopically Visible Lung Cancer. *Arch Bronconeumol.* 2006;42:278-82.
11. Lee H, Kwon S, Kim D, et al. Bronchial washing yield before and after forceps biopsy in patients with endoscopically visible lung cancers. *Respirology* 2007;12:277-82.
12. van der Drift M, van der Wilt G-J, Thunnissen F, Janssen JA. Prospective Study of the Timing and Cost-Effectiveness of Bronchial Washing During Bronchoscopy for Pulmonary Malignant Tumors. *Chest.* 2005;128:394-400.
13. British Thoracic Society Bronchoscopy Guidelines Committee, a Subcommittee of the Standards of Care Committee of the British Thoracic Society. British Thoracic Society guidelines on diagnostic flexible bronchoscopy. *Thorax.* 2001;56(1):i1-21.
14. Bonella F, Ohshimo S, Bauer P, Guzman J, Costabel U. Bronchoalveolar lavage. *Eur Respir Mon.* 2010;48:59-72.
15. Wells A. The clinical utility of bronchoalveolar lavage in diffuse parenchymal lung disease. *Eur Respir Rev.* 2010;19:237-41.
16. Plekker D, Koegelenberg CFN, Bolliger CT. Different techniques of bronchoscopy. *Eur Respir Mon.* 2010;48:1-17.
17. Michaelson ED, Serafini SM. Quantitative differences in the cellular yield of two bronchial brushes. *Am Rev Respir Dis.* 1975;112:267-8.
18. Hanson FN, Wesselius LJ. Effect of bronchial brush size on cell recovery. *Am Rev Respir Dis.* 1987;136:1450-2.

19. Sato M, Honda M, Sagawa M, et al. The efficacy of cell collection devices with a cytologic brush depends on the diameter of the bristles, not on the diameter of the brush. *J of Bronchology*. 2002;9:177-81.
20. Popp W, Merkle M, Schreiber B, et al. How much brushing is enough for the diagnosis of lung tumors? *Cancer*. 1992;70:2278-80.
21. Lamb C. Bronchial washing, bronchoalveolar lavage, bronchial brush and endobronchial biopsy. In: Armin Ernst, editor. *Introduction to Bronchoscopy*. Cambridge University Press; 2009.
22. Gellert A, Rudd R, Sinha G, Geddes D. Fibreoptic bronchoscopy: Effect of multiple bronchial biopsies on diagnostic yield in bronchial carcinoma. *Thorax*. 1982;37:684-7.
23. Schreiber G, McCrory D. Performance Characteristics of Different Modalities for Diagnosis of Suspected Lung Cancer. Summary of Published Evidence. *Chest*. 2003;123:115S-28S.
24. Matsuda M, Horai T, Nakamura S, et al. Bronchial brushing and bronchial biopsy: comparison of diagnostic accuracy and cell typing reliability in lung cancer. *Thorax*. 1986;41:475-8.
25. Chen W-T, Chao T-Y, Wu C-P, et al. Comparison of the diagnostic yield of bronchial brushing cytology before and after endobronchial biopsy of flexible fiberoptic bronchoscopy - A prospective study. *J Med Sci*. 1997;18:165-70.
26. Tremblay A, Michaud G, Urbanski SJ. Hot biopsy forceps in the diagnosis of endobronchial lesions. *Eur Respir J*. 2007;29:108-11.
27. Khana A, Aggarwala A, Agarwala R, Balb A, Gupta DA. Randomized controlled trial of electrocoagulation-enabled biopsy versus conventional biopsy in the diagnosis of endobronchial lesions. *Respiration*. 2011;81:129-33.

28. Casoni G, Gurioli C, Poletti V. Transbronchial Pulmonary Biopsies. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2011;75:39-41.
29. Herth F, Eberhardt R, Becker H, Ernst A. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial lung biopsy in fluoroscopically invisible solitary pulmonary nodules. *Chest.* 2006;129:147-50.
30. Herth F, Ernst A, Becker H. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial lung biopsy in solitary pulmonary nodules and peripheral lesions. *Eur Respir J.* 2002;20: 972-4.
31. Ensminger S, Prakash U. Is bronchoscopic lung biopsy helpful in the management of patients with diffuse lung disease? *Eur Respir J.* 2006;28:1081-4.
32. BTS guidelines on the diagnosis, assessment and treatment of diffuse parenchymal lung disease in adults. *Thorax.* 1999;54 Suppl 1:S1.
33. Wang KP, Wise RA, Terry PB. Comparison of standard and enlarged forceps for transbronchial lung biopsy in the diagnosis of lung infiltrates. *Endoscopy.* 1980;12:151-4.
34. Jabbar Darjani H, Eslaminejad A, Mohammad Taheri Z, et al. The effect of cup versus alligator forceps on the results of transbronchial lung biopsy. *Journal of Bronchology.* 2010;17:117-21.
35. Smith L, Seaquist M, Schillaci R. Comparison of forceps used for transbronchial lung biopsy. Bigger may not be better. *Chest.* 1985;87:574--6.
36. Bolliger C, Mathur P, Beamis J, Becker H, Cavaliere S, Colt H, et al. ERS/ATS statement on interventional pulmonology. *Eur Respir J.* 2002;19:356-73.
37. Wang KP, Selcuk ZT, Erozan Y. Transbronchial needle aspiration for cytological specimens. *Monaldi Arch Chest Dis.* 1994;49:265-7.

38. Wang K-P. Transbronchial needle aspiration to obtain histology specimen. *J of Bronchology*. 1994;1:116-22.
39. Dasgupta A, Mehta AC. Transbronchial needle aspiration. An underused diagnostic technique. *Clin Chest Med*. 1999;20:39-51.
40. Bugalho A, Doris M, Hamacher J, et al. Endobronchial ultrasound: Practical aspects and clinical applications. *Rev Port Pneumol*. 2008;XIV:55-88.
41. Sharma M, Arya C, Somasundaram A, Rameshbabu C. Techniques of Linear Endobronchial Ultrasound Imaging. *J Bronchol Intervent Pulmonol*. 2010;17:177-87.
42. Diette G, White P, Terry P, et al. Utility of on-site cytopathology assessment for bronchoscopic evaluation of lung masses and adenopathy. *Chest*. 2000;117:1186-90.
43. Baram D, Garcia R, Richman P. Impact of rapid on-site cytologic evaluation during transbronchial needle aspiration. *Chest*. 2005;128:869-75.
44. Gasparini. It Is Time for This 'ROSE' to Flower. *Respiration*. 2005;72:129-31.
45. Chin R, McCain T, Lucia M, et al. Transbronchial Needle Aspiration in Diagnosing and Staging Lung Cancer. How Many Aspirates Are Needed? *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:377-81.
46. Detterbeck FC, Jantz MA, Wallace MB, Vansteenkiste J, Silvestri GA. Invasive mediastinal staging of lung cancer. ACCP evidence based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest*. 2007;132:202S-20S.
47. De Leyn P, Lardinois D, Van Schil PE, Rami-Porta R, Passlick B, Zielinski M, et al. ESTS guidelines for preoperative lymph node staging for non-small cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2007;32:1-8.

48. Detterbeck F, Boffa D, Tanoue L. The New Lung Cancer Staging System. *Chest*. 2009;36:260-71.
49. Tournoy K, Annema J, Krasnik M, Herth, Fand, van Meerbeeck J. Endoscopic and Endobronchial Ultrasonography According to the Proposed Lymph Node Map Definition in the Seventh Edition of the Tumor, Node, Metastasis Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2009;4:1576-84.
50. Du Rand A, Barber P, Goldring J, et al., on behalf of the British Thoracic Society Interventional Bronchoscopy Guideline Group. British Thoracic Society guideline for advanced diagnostic and therapeutic flexible bronchoscopy in adults. *Thorax*. 2011;66(iii1):eiii21.
51. Doms C, Seijo L, Gasparini S, Trisolini R, Ninane V, Tournoy K. Diagnostic bronchoscopy: state of the art. *Eur Respir Rev*. 2010;19:229-36.
52. Dasgupta A, Jain P, Minai O, Sandur S, Meli Y, Arroliga A, et al. Utility of Transbronchial Needle Aspiration in the Diagnosis of Endobronchial Lesions. *Chest*. 1999;115:1237-41.
53. Caglayan B, Akturk U, Fidan A, et al. Transbronchial Needle Aspiration in the Diagnosis of Endobronchial Malignant Lesions. *Chest*. 2005;128:704-8.
54. Gullón J, Fernández R, Medina A, et al. Transbronchial Needle Aspiration in Bronchogenic Carcinoma With Visible Lesions: Diagnostic Yield and Cost. *Arch Bronconeumol*. 2003;39:496-500.
55. Morales M, Patefield A, Strollo P, Schenk D. Flexible Trans-bronchial Needle Aspiration in the Diagnosis of Sarcoidosis. *Chest*. 1994;106:709-11.
56. Leonard C, Tormey V, O'Keane C, Burke C. Bronchoscopic diagnosis of sarcoidosis. *Eur Respir J*. 1997;10:2722-4.

57. Charalambatou M, Katsiva B, Liapi G, et al. A comparison of transbronchial needle aspiration (TBNA) of mediastinal lymph nodes with transbronchial lung biopsy (TBB) in the diagnosis of sarcoidosis. *Pneumon*. 2006;2:118-22.
58. Ohno N, Terada N, Saitoh S, et al. Recent development of in vivo cryotechnique to cryobiopsy for living animals. *Histol Histopathol*. 2007; 22(11): 1281-90
59. Hetzel J, Hetzel M, Hasel C, et al. Old meets modern: The use of traditional cryoprobes in the age of molecular biology. *Respiration* 2008; 76: 193-197
60. Rivera MP, Mehta AC. Initial diagnosis of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007; 132(3): 131-148
61. Hetzel J, Eberhardt R, Herth FJ, et al. Cryobiopsy increases the diagnostic yield of endobronchial biopsy: A multicentre trial. *Eur Respir J*. 2012; 39(3): 685-90
62. Sunna R: Cryotherapy and cryodebridement. In: Ernst A, eds. *Principles and practise of interventional pulmonology*. New York: Springer Science+Business Media; 2013:343-350
63. Ernst A, Silvestri GA, Johnstone D. Interventional pulmonary procedures: Guidelines from the American College of Chest Physicians. *Chest* 2003; 123: 1693-717
64. Aktas Z, Gunay E, Taci Hoca N, et al. Endobronchial cryobiopsy or forceps biopsy for lung cancer diagnosis. *Ann Thorac Med*. 2010; 5(4): 242-6.
65. Schumann C, Hetzel J, Babiak AJ, et al. Cryoprobe biopsy increases the diagnostic yield in endobronchial tumor lesions *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010; 140(2): 417-21

66. Mobarak IS, Eel-Zahraa F, El-Deen S. Diagnostic yield of cryobiopsy and forceps biopsy in visible endobronchial lung tumors: A comparative study. *Egyptian Journal of Bronchology* 2011; 5(1): 26-32
67. Franke KJ, Theegarten D, Hann von Weyhern C, et al. Prospective controlled animal study on biopsy sampling with new flexible cryoprobes versus forceps: evaluation of biopsy size, histological quality and bleeding risk. *Respiration*. 2010; 80(2): 127-32.
68. Jabari H, Sami R, Fakhri M, Kaini A. Different protocols for cryobiopsy versus forceps biopsy in diagnosis of patients with endobronchial tumors. *Pneumologia* 2012;61(4):230-233
69. Rubio ER, Susanti R, Whatley RE, Boyd MB. Cryobiopsy: Should this be used in place of endobronchial forceps biopsies? *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 730574, 6 pages, 2013. doi:10.1155/2013/730574
70. Babiak A, Hetzel J, Krishna G, et al. Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. *Respiration* 2009; 78: 203-8
71. Pajares V, Torrego A, Puzo C, et al. Transbronchial lung biopsy using cryoprobes. *Arch Bronconeumol*. 2010; 46(3): 111-115
72. Yarmus L, Akulian J, Gilbert C, et al. Cryoprobe transbronchial lung biopsy in lung transplant patients: A safety pilot. *Chest* 2013; 143(3): 621-6
73. Fruchter O, Fridel L, Rosengarten D, et al Transbronchial cryo-biopsy in lung transplantation patients: First report. *Respirology* 2013;18(4): 669-73
74. Bonniot JP, Homasson JP, Roden SL, et al. Pleural and lung cryobiopsies during thoracoscopy. *Chest* 1989; 95(3): 492-3.
75. Rozman A, Marc-Malovrh M, Camlek L, Kern I. Cryobiopsy versus forceps biopsy during semirigid thoracoscopy. ERS Annual Congress, Vienna 2012 1-5 September, 3356.

76. Ohno N, Terada N, Bai Y, et al. Application of cryobiopsy to morphological and immunohistochemical analyses of xenografted human lung cancer tissues and functional blood vessels. *Cancer* 2008; 113: 1068–79.
77. Griff S, Ammenwerth W, Schönfeld N, et al. Morphometrical analysis of transbronchial cryobiopsies. *Diagnostic Pathology* 2011; 6: 53
78. Shure D, Astarita R. Bronchogenic carcinoma presenting as an endobronchial mass. *Chest* 1983; 83: 865–867.
79. Doms C. Should we abandon standard forceps biopsy to diagnose an endobronchial lesion? *Eur Respir J* 2012; 39: 513–514
80. Schumann C, Hetzel M, Babiak AJ, et al. Endobronchial tumour debulking with a flexible cryoprobe for immediate treatment of malignant stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2010; 139(4): 997-1000