

CRIORRECANALIZACIÓN TRAQUEOBRONQUIAL



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

Alumna: Candela González Vicario

Tutor: Carlos Disdier Vicente

Cotutor: Blanca de Vega Sánchez

Departamento de Medicina, Dermatología y Toxicología.

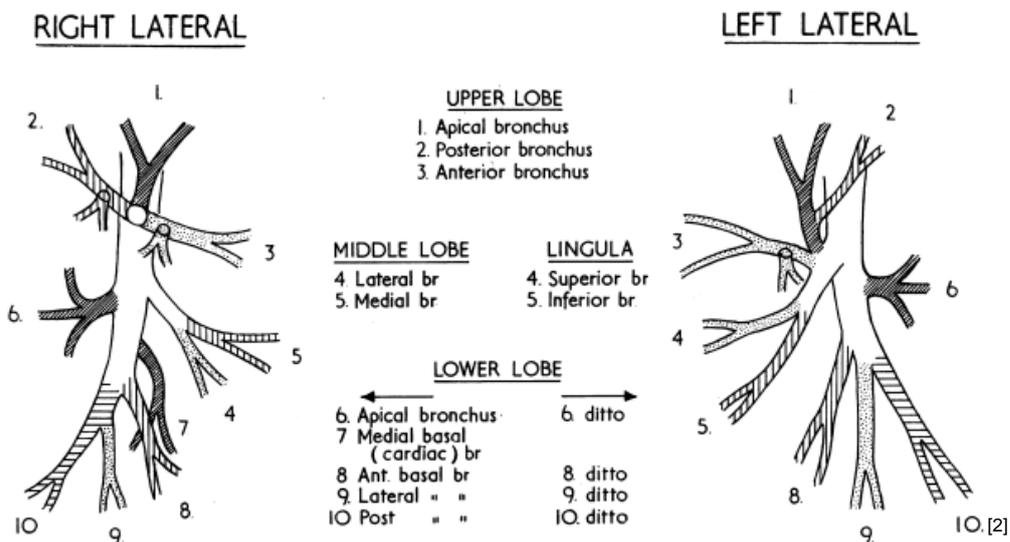
Servicio de Neumología. Unidad Intervencionista HCUV.

Índice

INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS	7
RESULTADOS	11
DISCUSIÓN	17
BIBLIOGRAFÍA	20
ANEXO 1	21
ANEXO 2	28

INTRODUCCIÓN

El sistema respiratorio está conformado por la vía aérea superior (boca, nariz, faringe) e inferior (laringe, tráquea, bronquios, bronquiolos, alveolos). El aire entra al sistema respiratorio por la nariz o boca, continua por faringe, laringe, tráquea, bronquios y bronquiolos (ya sin esqueleto cartilaginoso) hasta llegar a los alveolos, donde se realiza el intercambio gaseoso [1]. El pulmón derecho está dividido en tres lóbulos: inferior, medio y superior. Sin embargo, el izquierdo se divide en dos: lóbulo inferior y superior (la llingula, perteneciente al lóbulo superior, es la región anatómica equiparable al lóbulo medio)



Las estenosis y obstrucciones de la luz del árbol traqueobronquial dificultarán el intercambio gaseoso en los alveolos correspondientes, impidiendo una adecuada ventilación. Esta afección se conoce como OVAC: obstrucción de la vía aérea central.

OVAC: OBSTRUCCIÓN DE LA VÍA AÉREA CENTRAL.

Las OVAC pueden ser extrínsecas, intrínsecas o mixtas; y, además, tienen múltiples causas: cuerpos extraños, tapones mucosos, proliferaciones benignas, coágulos, o, las más frecuentes: las OVAC por tumores malignos.

Esta patología cada día es más frecuente verla en la práctica clínica debido al incremento de casos de neoplasias pulmonares primarias. No obstante, también han aumentado las OVAC benignas probablemente relacionado al uso ampliamente difundido de la ventilación asistida y su iatrogenia asociada [3].

Las obstrucciones causadas por tumores malignos, siendo éstas las obstrucciones mayoritarias, harán imposible la recanalización bronquial si el lecho distal estuviera muy invadido por células tumorales y no fuera funcional. La sintomatología en una OVAC depende fundamentalmente del grado de obstrucción y de la etiología, siendo frecuentes la disnea, tos, hemoptisis o alteraciones de la función pulmonar.

Ante sospecha de una OVAC, es imprescindible la exploración pulmonar para hacer diagnóstico diferencial con otras patologías neumológicas con sintomatología similar.

- Inspección: morfología del tórax y movimientos respiratorios.
- Percusión: sonido claro pulmonar como normalidad, sonido mate tras incremento de líquido a nivel pulmonar (ej: derrame pleural) y sonido hipertimpánico tras incremento de aire (ej: neumotórax)
- Palpación: las vibraciones vocales están aumentadas cuando el parénquima está consolidado.
- Auscultación: el murmullo vesicular es el sonido respiratorio normal, el cual puede desaparecer en algunas patologías pulmonares; es importante conocer los ruidos patológicos del pulmón: crepitantes, sibilancias, roncus, roce pleural, estridor.

Asimismo, se pueden solicitar pruebas de imagen con el objetivo de conocer la etiología subyacente al proceso obstructivo. No obstante, la confirmación de una OVAC se hace mediante la visualización de la vía aérea a través de la broncoscopia.

ROL DE LA BRONCOSCOPIA EN LAS ENFERMEDADES PULMONARES

La broncoscopia es una técnica endoscópica utilizada para visualizar la vía aérea a través de la cámara del tubo del broncoscopio introducido por la nariz o por la boca. Este procedimiento se usa tanto para fines diagnósticos como terapéuticos.

El broncoscopio puede ser rígido o flexible, usándose uno u otro dependiendo de las circunstancias anatómicas y clínico-fisiológicas del paciente, siendo a veces incluso necesario el uso de ambos.

El broncoscopio rígido permite la intubación y es más fácil de instrumentar y manejar por el profesional sanitario. Sin embargo, siempre que se pueda se intentará el uso del broncoscopio flexible, ya que no necesita de intubación ni de anestesia general, restando la morbimortalidad asociada a estos procesos. Además, tiene la ventaja de adaptarse mejor al paso de las estenosis de la vía aérea del paciente.

Es importante conocer la broncoscopia diagnóstica y terapéutica, así como las técnicas que se usan en cada una de ellas.

a. **Las técnicas broncoscópicas diagnósticas** básicas son el lavado broncoalveolar, la biopsia endobronquial y transbronquial y el cepillado citológico. Existen técnicas broncoscópicas más complejas, de gran importancia diagnóstica: ecografía endobronquial (EBUS) usada en la estadificación mediastínica en el cáncer, broncoscopia guiada, y criobiopsia. Esta última tiene la ventaja de tener un tejido de mejor calidad para el estudio histológico y de ser menos agresiva que una biopsia convencional ^[4].

b. **Entre las posibilidades terapéuticas de la broncoscopia se encuentran:** aspiración de coágulos, cuerpos extraños y tapones mucosos (pudiendo ser igualmente recanalizados mediante criosonda), manejo de obstrucciones de la vía aérea central por tumores benignos y malignos (fotocoagulación, láser, electrocauterio, plasma argón, terapia fotodinámica, crioterapia y criorrecanalización, extracción con pinzas) y manejo de cualquier otra estenosis de la vía aérea mediante colocación con stent o dilatación con balón ^{[5][6]}.

CRIORRECANALIZACION

La criorrecanalización es una de las técnicas terapéuticas en neumología intervencionista. Consiste en aplicar frío con una sonda introducida por broncoscopia sobre una lesión tumoral, tapón, coágulo o cuerpo extraño para la posterior adhesión y extracción de los mismos, con el objetivo de desocluir el árbol traqueobronquial. Estas obstrucciones respiratorias son de carácter generalmente grave y, como ya se ha explicado anteriormente, los pacientes suelen presentar síntomas y signos de disnea, tos, hemoptisis o pruebas pulmonares alteradas.

En comparación con otros métodos de recanalización de vías respiratorias bajas, la criorrecanalización es la técnica más inmediata y más económica, teniendo además apenas complicaciones tras la intervención.

1. Descripción de la técnica:

La criorrecanalización se realiza con broncoscopio y una criosonda flexible. La punta de la sonda se enfría mediante descompresión de gas en el cabezal, utilizando óxido nitroso a una temperatura de salida de -89°C en la punta de la sonda. El tejido que se quiere extraer queda

congelado y adherido a la criosonda, pudiendo retirar la masa causante de la obstrucción fácilmente. La sonda es un sistema cerrado que se puede reesterilizar y reutilizar para una nueva intervención ^[7].

2. Aplicaciones:

La criorrecanalización tiene una aplicación amplia en el tratamiento de variedad de afecciones malignas y benignas: en concreto estenosis por tumoración exofítica, cuerpos extraños, tapones de moco, coágulos sanguíneos.

a) OVAC maligna:

Los pacientes con tumores secundarios malignos de tráquea y bronquios principales pueden sufrir síntomas graves como resultado de una obstrucción importante. En este caso, la resección quirúrgica no es curativa debido a que son en su mayoría tumores inoperables dado el diagnóstico en estadios avanzados en la mayoría de los casos, asociándose un estado funcional pulmonar deficiente.

La criorrecanalización es eficaz en términos de calidad de vida por el alivio inmediato de los síntomas obstructivos y podría alargar mínimamente la supervivencia, ya que hace que muchos pacientes que no eran candidatos a la cirugía o quimio-radioterapia lo sean tras la mejoría de la función respiratoria y restauración de la reserva pulmonar ^[8].

El tipo histológico predominante en las obstrucciones de la vía aérea central por tumor maligno es el carcinoma epidermoide. No obstante, se pueden evidenciar otros muchos tipos histológicos, destacando las metástasis endobronquiales de tumores primarios no intratorácicos

A diferencia de otras técnicas de broncoscopia terapéutica (terapia fotodinámica o crioterapia), la criorrecanalización es inmediatamente eficaz sin necesidad de intervenir en un segundo tiempo ^{[7][9]}.

b) OVAC por coágulos:

La presencia de coágulos en la vía aérea central, derivados por ejemplo de una hemorragia alveolar, es una situación crítica que puede conllevar dificultad para una correcta ventilación tanto mecánica como espontánea. La sonda de crioterapia adhiere los coágulos y permite su extracción, lo cual conlleva una exitosa desobstrucción y mejora la ventilación en estos pacientes ^[10].

3. Efectos terapéuticos ^[11]:

En general, se mejoran las pruebas de función pulmonar ventilación – perfusión tras la técnica de criorrecanalización. Según la bibliografía revisada se disminuye también la tos, hemoptisis y disnea en los pacientes que se sometieron a dicha técnica.

CRIOBIOPSIA

La criobiopsia es una técnica broncoscópica diagnóstica que consiste en la extracción de tejido de una lesión pulmonar a través de la congelación y adhesión de éste por una criosonda.

A diferencia de la criorrecanalización, los fragmentos extraídos no se usan en sí para la desobstrucción del árbol traqueobronquial sino que se utilizan como biopsia para su posterior análisis. Dicha biopsia se puede obtener endo o transbronquialmente, por lo que es posible llegar a zonas de difícil acceso.

En la criobiopsia se extrae el tejido congelado de forma directa sin aplicar ninguna fuerza mecánica, por lo que se conservan la arquitectura, tamaño y revestimiento histológico, evitándose desgarramientos de la muestra y hemorragias tisulares.

La histología del tejido tumoral extirpado es unas tres veces mayor en comparación con la pincería convencional, en donde el tamaño del tejido se limita al instrumento utilizado: las pinzas. Esto es útil cuando se requieren muestras de un mayor tamaño macroscópico para el análisis anatomopatológico.

Por tanto, a pesar de que la criosonda no se utiliza generalmente para la obtención de biopsias pulmonares, la criobiopsia será la mejor técnica cuando sea necesario obtener un tejido de mayor tamaño y con una histología mejor conservada ^[12].

INDICACIONES Y CONTRAINDICACIONES DE LA CRIORRECANALIZACIÓN ^[13].

INDICACIONES	CONTRAINDICACIONES
<ul style="list-style-type: none">• Manejo paliativo de obstrucción tumoral exofítica• Tratamiento de lesiones malignas de bajo grado y carcinoma in situ• Sustracción de tejido de granulación• Estudio histopatológico• Biopsias de nódulos pulmonares, especialmente criobiopsias.• Extracción de cuerpos extraños y coágulos	<ul style="list-style-type: none">• Trombopenia intensa• TPPA o INR altos• Anticoagulación o antiagregación no suspendida• Uremia elevada• Inestabilidad hemodinámica• Hipoxemia severa• Presión sistólica pulmonar alta• Neoplasias extraluminales con compresión extrínseca• Tejidos crioresistentes

MATERIAL Y MÉTODOS

En primer lugar, se realizó una revisión bibliográfica de artículos científicos sobre broncoscopias terapéuticas y criorrecanalización. Algunos artículos fueron obtenidos a través de la plataforma PubMed por búsqueda propia y otros fueron proporcionados por la tutora. Los criterios y palabras clave utilizadas han sido: “central airway obstruction”, “cryorecanalization” y “cryosurgery”. Una vez revisada la bibliografía recopilada, se procedió a la redacción de la introducción del trabajo fin de grado.

Tras la investigación y revisión teórica de la técnica, y como forma de integración de los conocimientos teóricos, se asistió a una broncoscopia terapéutica en el quirófano del Hospital Clínico Universitario de Valladolid con la finalidad de mejorar la comprensión de la técnica tras la visualización de dicha broncoscopia terapéutica. En ese procedimiento, se intervino a una paciente con lesión tumoral endobronquial por extensión de adenocarcinoma pulmonar, en el que hubo que combinar varias técnicas endoscópicas, incluyendo la criorrecanalización, para la resolución de la obstrucción de la vía aérea central.

A través de un listado en formato Excel proporcionada por la tutora (número de historia clínica y fecha de realización de la broncoscopia), se realizó la búsqueda de los informes pertinentes y se clasificaron en carpetas según el tipo de obstrucción de la vía aérea (lesión tumoral, coágulos, cuerpo extraño, etc.).

Todos esos informes fueron obtenidos desde la Intranet de Sacyl "JIMENA" en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid. En dicho proceso, fue necesario descartar algunos casos debido a no cumplir los criterios de inclusión posteriormente mencionados.

De este modo, se obtuvieron informes de broncoscopias con criorre canalización de los pacientes seleccionados, así como se consiguieron también espirometrías previas y posteriores. También se buscaron otros informes clínicos relacionados con el proceso de los que se pudiera obtener algún dato de los que nos interesara para el estudio, como la disnea previa y posterior a la criorre canalización.

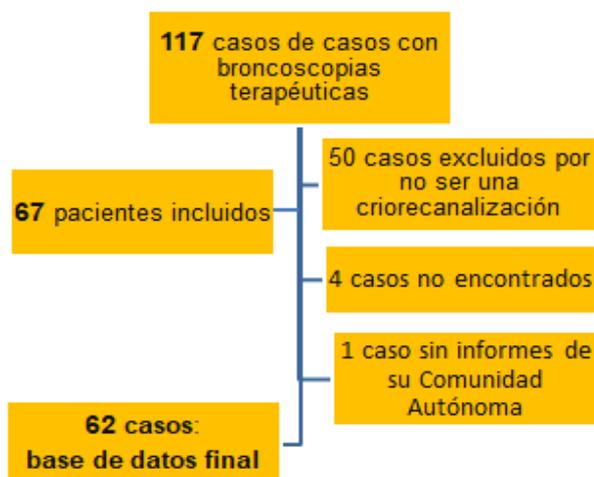
Según el interés del trabajo, organizamos las siguientes categorías en el Excel:

- Edad y sexo (0 hombre, 1 mujer)
- Anestesia (0 sedación, 1 anestesia general)
- Paciente crítico (0 no, 1 sí)
- Tipo de fibrobroncoscopio (0 rígido, 1 flexible, 2 ambos)
- Intubación orotraqueal (0 rígido, 1 mascarilla laríngea, 2 IOT, 3 No IOT)
- Diámetro IOT y utilización de peritubo (0 no, 1 sí)
- Tipo (0 coágulo, 1 cuerpo extraño, 2 neoplasia, 3 otros)
- Neoplasia (0 no procede, 1 torácica, 2 extratorácica)
- Estirpe histológica (0 no procede, 1 epidermoide, 2 adenocarcinoma, 3 microcítico, 4 otra neoplasia maligna torácica, 5 otra neoplasia extratorácica, 6 coágulo, 7 lesión benigna)
- Fecha diagnóstico neoplasia y OVAC
- Días desde el diagnóstico de neoplasia hasta la OVAC
- Días desde la OVAC hasta la criorre canalización
- Tratamiento oncológico previo (0 no, 1 sí) y tipo (0 QT, 1 RT, 3 cirugía, 4 bioquímica, 5 técnicas endobronquiales, 6 combinación, 7 no procede)
- FEV1 pre, post y su diferencia
- Disnea pre, post y su diferencia
- Combinación de técnicas (0 no, 1 sí)
- Colocación de prótesis (0 no, 1 si)
- Sangrado (0 no, 1 leve, 2 moderado, 3 masivo)
- Localización (0 tráquea, 1 BPD, 2 BPI, 3 LSD, 4 BI, 5 LM, 6 LID, 7 LSI, 8 LII)
- Éxito endoscópico (0 <50%, 1 50-79%, 2 >80%)

Una vez examinados los casos de pacientes del listado proporcionado por la tutora, se acordaron unos criterios de inclusión y exclusión en base al interés de nuestro estudio.

- **Criterios de inclusión:** Se partió de una muestra de la base de datos de broncoscopias terapéuticas en el periodo comprendido entre los años 2015 y 2020 en el servicio de Neumología Intervencionista en el HCUV siendo necesario para incluir al paciente en el estudio que el procedimiento que se realizó fuera una criorre canalización de la vía aérea.
- **Criterios de exclusión:** El principal criterio de exclusión fue la no realización de una criorre canalización. En estos casos, en el informe de broncoscopia aparecían otras técnicas distintas a la criorre canalización: extracción con pinzas, electrocauterio, láser, fotocoagulación, plasma argón, asa de diatermia, terapia fotodinámica o crioterapia. También se tomó como criterio de exclusión a los pacientes que, por un motivo u otro no se pudo acceder a sus informes.

Se aplicaron los criterios mencionados y se pudo terminar de completar la tabla Excel con los casos de pacientes que sí fueron incluidos, con el fin posterior de analizar todos esos datos con el programa *IBM SPSS Statistics 24*.



De los 117 casos del listado inicial, se excluyeron 50 por ser broncoscopias diagnósticas (lavado broncoalveolar, EBUS...) o broncoscopias terapéuticas de otras técnicas distintas a la criorre canalización (crioterapia, láser Argón, asa de diatermia...).

De los 67 pacientes restantes hubo que excluir posteriormente otros 4 pacientes por no encontrar su informe de broncoscopia en la Intranet Jimena a través de su número de historia clínica.

Además, otro caso tuvo que ser excluido por pertenecer a otra Comunidad Autónoma de la que no se pudo acceder a sus otros informes clínicos.

Finalmente, se obtuvo una base de datos de 62 casos para nuestro estudio.

De acuerdo con la base de datos obtenida y los conocimientos teóricos de los artículos estudiados, se redactaron los siguientes objetivos del trabajo:

❖ Objetivos primarios:

- Análisis descriptivo de la muestra de nuestra población, describiendo la incidencia por edad y sexo.
- Analizar el tipo de instrumental empleado y tipo de anestesia.
- Analizar el porcentaje de éxito endoscópico en las intervenciones realizadas comparando el éxito entre los distintos tipos de OVAC.
- Observar la mejoría clínica de los pacientes y los efectos terapéuticos de la criorre canalización, realizando un estudio descriptivo de la disnea y FEV1 expresado en % previo y posterior a la intervención.
- Observar posibles complicaciones tras la criorre canalización. Analizar prevalencia de sangrado leve, moderado y severo.

❖ Objetivos secundarios:

- Describir las frecuencias de las neoplasias torácicas y extratorácicas.
- Describir la localización anatómica preferente.
- Descripción del perfil del paciente crítico con el no crítico.
- Analizar tabla comparativa del éxito endoscópico en pacientes con criorre canalización en monoterapia vs combinación de técnicas.
- Hacer una tabla comparativa del éxito según el tipo histológico.
- Describir la prevalencia de sangrado según la edad.
- Realizar y analizar tabla comparativa de la mejoría de la disnea según el tipo histológico y el éxito endoscópico logrado.
- Cruzar datos de éxito terapéutico según el tiempo transcurrido desde el inicio de la OVAC hasta la criorre canalización.
- Comparar prevalencia de sangrado según el tipo histológico.
- Describir la prevalencia de sangrado según el tipo de broncoscopio.

Por último, se aplicó el análisis estadístico a nuestra base de datos, y en base a los objetivos del estudio, se redactaron los resultados y conclusiones del trabajo.

RESULTADOS

Objetivos primarios:

- Análisis descriptivo de la muestra de nuestra población, describiendo la incidencia por edad y sexo.

La muestra final del estudio n= 62 ha sido obtenida de la base de datos de broncoscopias del Servicio de Neumología Intervencionista del HCUV en el periodo 01.01.2015 a 09.11.2020. Durante ese periodo se realizaron un total de 6941 broncoscopias, siendo la incidencia de nuestra muestra 0,0089.

El paciente prototipo en el que se indicó criorrecanalización es varón (91,9%) con una mediana de edad de 66 años (intervalo de edad de 47 a 85 años). La etiología de las obstrucciones endobronquiales fue variada siendo un 69,4% por neoplasias malignas, un 16,1% por coágulos, un 6,5% por neoplasias benignas, un 6,5% por tapones mucosos y un 1,3% n=1 por cuerpo extraño.

De los 43 casos de OVAC por neoplasias malignas y en orden de frecuencia según su histología: 22 son carcinoma epidermoide (51,2%), 8 son otras neoplasias malignas torácicas -carcinoide o adenoide quístico- (18,6%), 6 son adenocarcinoma (13,9%), 5 neoplasias extratorácicas (11,6%) y 2 son carcinoma microcítico (4,7%). (Imagen nº1)

- Analizar el tipo de instrumental empleado y tipo de anestesia.

De los 62 pacientes, se usó sedación en 23 (37,1%) y anestesia general en 39 (62,9%). En 16 se usó broncoscopio rígido (25,8%), en 43 se usó fibrobroncoscopio flexible (69,4%) y en 3 se usaron ambos (4,8%).

- Analizar el porcentaje de éxito endoscópico en las intervenciones realizadas comparando el éxito entre los distintos tipos de OVAC.

De las OVAC por coágulos, el 100% (n=10) tuvo un éxito endoscópico >50% y el 80% un éxito >80%.

El 100% de las OVAC por neoplasias benignas, tapones y cuerpo extraño tuvieron un éxito superior al 80% de la luz bronquial.

En las criorrecanalizaciones por neoplasias malignas se obtuvo un éxito >80% en el 51,2% de los casos (n=22), un éxito entre el 50 y 79 en el 37,2% de los casos (n=16), y un éxito <50% el 11,6% (n=5). (Imagen nº2)

Éxito endoscópico en la resolución de la obstrucción con <u>SOLO</u> CRIORRECANALIZACIÓN según los distintos tipos de OVAC.			
ÉXITO ENDOSCÓPICO	<50%	50-79%	>80%
TIPO DE OVAC			
COÁGULOS	0	1 (11,1%)	8 (88,9%)
CUERPO EXTRAÑO	0	0	1 (100%)
NEOPLASIAS BENIGNAS	0	0	3 (100%)
TAPONES MUCOSOS	0	0	4 (100%)
NEOPLASIAS MALIGNAS	2(10,5%)	8 (42,1%)	9 (47,4%)

Como se observa en la tabla expuesta, con el empleo únicamente de la criorrecanalización endoscópica, se consigue la desobstrucción de más del 80% de la vía aérea en el 69% de los casos y >50% en el 94,4% de los casos.

La recanalización con una luz de la vía aérea superior al 80% fue del 94,1% en las OVAC por coágulos, cuerpo extraño, neoplasias benignas y tapones. Sin embargo, en las OVAC por neoplasias malignas fue del 47,4%. Es destacable mencionar, que a pesar de dichos resultados, la mejoría endobronquial superior al 50% en estos pacientes ocurrió el 89,5% de las veces. En las obstrucciones endobronquiales por neoplasias malignas fue preciso el empleo de varias técnicas endoscópicas en el 56% de los casos.

Con o sin combinación de técnicas, con la criorrecanalización se consigue una luz endobronquial >50% en 57 casos de los 62 totales; es decir, en el 91,9% de la muestra.

- Observar la mejoría clínica de los pacientes y los efectos terapéuticos de la criorrecanalización, realizando un estudio descriptivo de la disnea y FEV1 (expresado en %) previo y posterior a la intervención.

La FEV1 es el volumen espiratorio forzado en el primer segundo medido en una espirometría. La FEV1 permite estudiar la efectividad del tratamiento, comparándola con valores previos. En el estudio se observa que la media de FEV1 pre intervención es de 58,7%, siendo la media de FEV1 posterior de 73,1% (mejoría de unos 14 puntos). Igualmente, los percentiles 25, 50 y 75 de la FEV1 son mayores tras la criorrecanalización. (Imagen nº3)

Según la escala mMRC, la diferencia de disnea adquiere un valor medio en esos pacientes de 1,14 puntos; es decir, los pacientes estudiados mejoran su disnea en al menos 1 punto. Además, como se puede observar en las tablas adjuntas, hay un número menor de pacientes con disnea grado III y grado IV posterior a la intervención. De los 34 casos con disnea previa a la intervención, 28 refirieron mejoría (el 82,4% de los pacientes). (Imagen nº4)

- Observar posibles complicaciones tras la criorrecanalización. Analizar prevalencia de sangrado leve, moderado y severo.

No se observaron complicaciones graves en los informes, siendo todas ellas subsanadas de forma endoscópica en el mismo procedimiento. Dadas las características del procedimiento, la complicación más común fue el sangrado endobronquial, siendo: inexistente en el 75,8% de los procedimientos, leve en el 11,3%, moderado en el 11,3% y severo en el 1,6% de los casos.

Objetivos secundarios:

- Describir las frecuencias de las neoplasias torácicas y extratorácicas.

De las 47 neoplasias, 42 fueron torácicas (89,4%) y 5 extratorácicas (10,6%).

- Describir la localización anatómica preferente en las criorrecanalizaciones.

La localización anatómica preferente observada ha sido el bronquio principal derecho y la tráquea, siendo también muy frecuente la combinación de varias localizaciones. Estas tres situaciones son el 72,6% de los casos. (Imagen nº5)

- Tabla descriptiva del perfil del paciente crítico en comparación con el no crítico.

	CRÍTICOS n=18	NO CRÍTICOS n=44
Edad media	65	66
Sexo	Varón (88,9%)	Varón (93,2%)
FEV1 pre media	41%	64%
FEV1 post media	54%	76%
%casos con disnea previa a la intervención	61,1%	52,3%
%casos con mejoría de disnea ≥ 1 punto en la escala mMRC	72,7%	87%
Tipo histológico mayoritario	Epidermoide y coágulos <small>(el 50% de pacientes con OVAC por coágulos fueron críticos)</small>	Epidermoide
Localización anatómica preferente	Bronquio Principal Derecho	BPD
%casos con éxito endoscópico $< 50\%$	16,7%	4,5%
%casos con combinación de técnicas	61,1%	34,1%
% casos con colocación de prótesis traqueal	16,7%	2,3%
%casos con ausencia de complicaciones	72,2%	77,3%
%casos con intubación orotraqueal	44,4%	25%

- Realizar y analizar tabla comparativa del éxito endoscópico en pacientes con criorrecanalización en monoterapia (Grupo 1) vs pacientes con varias técnicas broncoscópicas terapéuticas (Grupo 2).

En los 36 pacientes que componían el grupo 1 se obtuvo un éxito mayor del 80% de la luz endobronquial en 25 de ellos (69,4%). Por otro lado, en los 26 pacientes del grupo 2, se consiguió un éxito superior al 80% en el 53,4% de los casos (n=14).

Éxito endoscópico					Total
<50%		50-79%	>80%		
Combinación de técnicas	NO(grupo1)	2	9	25	36
	SÍ (grupo2)	3	9	14	26
Total		5	18	39	62

- Hacer una tabla comparativa del éxito endoscópico según el tipo histológico de la OVAC maligna.

	Éxito endoscópico			Total
	<50%	50-79%	>80%	
EPIDERMOIDE (nº=)	5	4	13	22
% epidermoide	22,7%	18,2%	59,1%	100,0%
ADENOCARCINOMA (nº=)	0	3	3	6
% adenocarcinoma	0,0%	50,0%	50,0%	100,0%
MICROCÍTICO (nº=)	0	0	2	2
% microcítico	0,0%	0,0%	100,0%	100,0%
Otras neos torácicas (nº=)	0	7	1	8
% otras neo malignas tx	0,0%	87,5%	12,5%	100,0%
Neos EXTRTÓRAX (nº=)	0	2	3	5
% neos extratorácicas	0,0%	40,0%	60,0%	100,0%

- Describir la prevalencia de sangrado (no sangrado, leve, moderado o severo) según la edad del paciente: ≥ 65 años y < 65 años.

De los 29 pacientes menores de 65 años, el 82,8% no tuvo ningún sangrado durante la intervención (n=24), siendo el resto sangrados tipo leve-moderado (n=5). Sin embargo, en los pacientes mayores de 65 años (n=33) el porcentaje de los casos sin sangrado disminuye al 69,7% (n=23). (Imagen nº6)

- Realizar y analizar tabla comparativa de la mejoría de la disnea según el tipo histológico y el éxito endoscópico logrado en la criorre canalización.

Agrupando a los pacientes según el éxito endoscópico, destaca que el 81% de los pacientes sometidos a criorre canalización y un éxito endoscópico $>80\%$, refirieron mejoría en la disnea. (Imagen nº7)

Por otro lado, todos los pacientes con disnea previa al ingreso y cuerpo extraño, tapones mucosos, neoplasias benignas, carcinoma microcítico, otras neoplasias malignas torácicas o neoplasias extratorácicas refirieron mejoría de la disnea tras la criorre canalización (n=16, 100%). En los casos de obstrucción por carcinoma epidermoide, adenocarcinoma o coágulos endobronquiales, se consiguió una mejoría de la disnea pre intervención en el 66,7% de los casos. Los resultados descritos se muestran en la siguiente tabla. (Imagen nº8)

- Cruzar datos de éxito terapéutico según el tiempo transcurrido desde el inicio de la OVAC hasta la criorre canalización, dividiendo la muestra en tres grupos: menos de un mes, de uno a tres meses, más de tres meses).

Cabe destacar que los casos en los que se tardó menos de un mes se logró una recanalización superior al 80% en el 71,4% de los casos (n=30).

Sin embargo, en los casos en los que el procedimiento fue realizado en un plazo superior a 30 días, el éxito endoscópico superior al 80% se redujo al 45% de los casos (n=9). (Imagen nº9)

- Realizar y analizar tabla comparativa de la prevalencia de sangrado (no sangrado, leve, moderado o masivo) según el tipo histológico.

No se registraron complicaciones en los casos cuya etiología se debía a: tapones mucosos, neoplasias benignas, cuerpos extraños y adenocarcinoma pulmonar (n=15,100%).

Se objetivó la presencia de complicaciones durante el procedimiento en los casos de carcinoma epidermoide (sangrado leve 18,2%, moderado 9,1%), carcinoma microcítico (sangrado moderado 50% n=1), neoplasias malignas torácicas (sangrado leve 12,5% n=1, moderado 25% n=2), neoplasias extratorácicas (sangrado leve 20% n=1, moderado 20%), OVAC por coágulos (sangrado leve, moderado y masivo: en todos 10% n=1). (Imagen nº10)

- Describir la prevalencia de sangrado según el tipo de fibrobroncoscopio.

De los 19 casos en los que se usó fibrobroncoscopio rígido o ambos, 10 no tuvieron ningún sangrado (52,6%), 2 sangrado leve, 6 moderado y 1 severo.

De los 43 casos en los que se usó únicamente fibrobroncoscopio flexible, 37 no tuvieron ningún sangrado (86%), 5 sangrado leve y 1 sangrado moderado.

Se observa, por tanto, una clara disminución en la incidencia de sangrado con el uso del broncoscopio flexible. (Imagen nº11)

DISCUSIÓN

La mayoría de criorrecanalizaciones de nuestra serie fueron obstrucciones por tumores malignos y, como era de esperar, la mayoría de éstas fueron neoplasias torácicas. El más frecuente de las neoplasias malignas fue el carcinoma epidermoide (51%). Esto se debe a la alta frecuencia de este tipo histológico en nuestro medio y a su localización central en contraposición con el adenocarcinoma, que tiende a situarse en la periferia pulmonar. El carcinoma microcítico, siendo central, presenta la minoría de casos ya que el pronóstico es nefasto y los pacientes fallecen de forma precoz.

Los efectos terapéuticos de la criorrecanalización que se han analizado en este estudio han sido la mejoría de la disnea y del FEV1.

- La mayoría de pacientes refirieron una disminución de la disnea, reflejándose en una mejoría de la sintomatología tras la intervención.
- Por otro lado, y, a pesar de tener una muestra muy pequeña de pacientes con FEV1 previa y posterior, se observa una media de mejoría de 14 puntos porcentuales tras la intervención. Los datos obtenidos en el estudio sumados a la revisión bibliográfica sobre el tema, parecen indicar que, efectivamente, hay una mejoría de la función pulmonar tras la criorrecanalización ^[11].

La criorrecanalización en nuestra muestra se asocia a una mejoría de la disnea en el 82,4% de los pacientes con una media de mejoría de 1,14 puntos en la escala mMRC, así como a una mejoría en la función pulmonar (medida como FEV1) del 14%.

En este contexto, se concluye que la criorrecanalización es una intervención terapéutica útil que mejora notablemente la sintomatología observada en los pacientes con obstrucciones de la vía aérea.

En cuanto a las complicaciones registradas en el estudio, destacó únicamente el sangrado endobronquial, que apareció en el 24,2% de los casos. A pesar de que la incidencia no es despreciable, en su mayoría fueron sangrados leves que se resolvieron adecuadamente durante el procedimiento. En consecuencia, se deduce que la criorrecanalización es una técnica endoscópica segura, en manos expertas.

Dividiendo la muestra según el tipo de fibrobroncoscopio, se ha observado que esta complicación tuvo una alta relación con el uso de fibrobroncoscopio rígido (47.4%) en comparación con el flexible (14%).

El uso del fibrobroncoscopio flexible se asocia con menos complicaciones y puede realizarse sin anestesia general pero, como desventaja, no permite asegurar la vía aérea del paciente. Se preferirá usar el fibrobroncoscopio rígido en pacientes con mucha morbilidad asociada y con elevada previsión de instrumentalización endoscópica, asegurando de esta forma la vía aérea y con ello, mejorando su estabilidad hemodinámica. En resumen, se individualizará el tratamiento y tipo de fibrobroncoscopio según las circunstancias concretas de cada paciente.

Los tipos de OVAC en los que se observó sangrado endobronquial con la criorrecanalización fueron obstrucciones por coágulos y por neoplasias malignas, sin observarse ninguna complicación en obstrucciones por neoplasias benignas, tapones mucosos o cuerpos extraños. La mayor incidencia de sangrado endobronquial observada en las neoplasias malignas puede ser debida a la neovascularización propia de los tumores malignos.

Igualmente, se ha observado un leve incremento de incidencia de sangrado en los mayores de 65 años, en probable relación con la morbilidad propia de la edad y la mayor toma de algunos fármacos respecto a otros pacientes más jóvenes (antiagregantes, anticoagulantes).

Respecto al éxito endoscópico observado en el estudio se concluye que la criorrecanalización fue exitosa para el 91,9% de los casos (>50% de la luz bronquial) y para el 62,9% de los casos se logró una criorrecanalización completa (>80% de la luz).

Cabe destacar que los 5 casos del estudio en los que no se consiguió el 50% de la recanalización eran todos ellos obstrucciones por neoplasias epidermoides, el tipo histológico que más frecuentemente obstruye el árbol traqueobronquial.

El resto de neoplasias malignas tienen frecuencias similares entre un éxito medio (50-79%) y un éxito completo (>80%). Por el contrario, las obstrucciones no malignas tienen mejores tasas de éxito endoscópico endobronquial: casi el 100% de los casos no malignos tuvieron un éxito endoscópico de una luz bronquial >80%.

El tiempo desde el diagnóstico de la OVAC hasta su tratamiento parece resultar fundamental para obtener unos mejores resultados endoscópicos, y por ende, mejoría de la disnea y función pulmonar.

Por otro lado, el éxito endoscópico es levemente superior con la criorre canalización en monoterapia. Esto puede ser debido a que la combinación de técnicas tiende a usarse más en pacientes críticos y en neoplasias malignas, las cuales son más complicadas de base y tienen peor pronóstico y éxito en general.

En pocas palabras, la criorre canalización es una técnica broncoscópica terapéutica y diagnóstica (criobiopsia) que se utiliza para el tratamiento de las estenosis endobronquiales sintomáticas, con efecto terapéutico inmediato.

Las ventajas de la criorre canalización son el buen control locorregional, la eficacia inmediata, la selectividad por el tejido extraído y la adecuada hemostasia. De igual forma, es menos compleja para la extracción de coágulos sanguíneos, sin presentar complicaciones graves ^[10].

Por todo ello se concluye que la criorre canalización es una opción segura, eficaz y poco agresiva, tanto en las OVAC malignas como en el resto de OVAC ^[9], con una alta tasa de éxito en la desobstrucción de la vía aérea central.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cdc.gov2021 [cited 2021 May 26];Available from: https://www.cdc.gov/spanish/niosh/docs/2004-154c_sp/pdfs/2004-154c-ch1.pdf
2. The Nomenclature of Broncho-pulmonary Anatomy : An International Nomenclature Accepted by the Thoracic Society. Thorax 1950;5:222-228.
3. Ernst A, Feller-Kopman D, Becker H, Mehta A. Central Airway Obstruction. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 2004;169:1278-1297.
4. Ong P, Debiante L, Casal R. Recent advances in diagnostic bronchoscopy. Journal of Thoracic Disease 2016;8:3808-3817.

5. Rosell A, Stratakos G. Therapeutic bronchoscopy for central airway diseases. *European Respiratory Review* 2020;29:190178.
6. Dumoulin E. Recent advances in bronchoscopy. *F1000Research* 2018;7:1646.
7. Hetzel M, Hetzel J, Schumann C, Marx N, Babiak A. Cryorecanalization: a new approach for the immediate management of acute airway obstruction. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2004;127:1427-1431.
8. Ma Q, Shi B, Tian Y, Liu D. Fibrobronchoscopic cryosurgery for secondary malignant tumors of the trachea and main bronchi. *Thoracic Cancer* 2016;7:459-466.
9. Maiwand M, Asimakopoulos G. Cryosurgery for Lung Cancer: Clinical Results and Technical Aspects. *Technology in Cancer Research & Treatment* 2004;3:143-150.
10. Schmidt L, Schulze A, Goerlich D, Schliemann C, Kessler T, Rottmann V et al. Blood clot removal by cryoextraction in critically ill patients with pulmonary hemorrhage. *Journal of Thoracic Disease* 2019;11:4319-4327.
11. Ernst A, Feller-Kopman D, Becker HD, Mehta AC. Central airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Jun 15;169(12):1278-97. doi: 10.1164/rccm.200210-1181SO.
12. Asimakopoulos G, Beeson J, Evans J, Maiwand M. Cryosurgery for Malignant Endobronchial Tumors. *Chest* 2005;127:2007-2014.
13. Hetzel J, Hetzel M, Hasel C, Moeller P, Babiak A. Old Meets Modern: The Use of Traditional Cryoprobe in the Age of Molecular Biology. *Respiration* 2008;76:193-197.
14. Montufar F, Moral L, Labarca G, Folch E, Majid A, Fernandez-Bussy S. Utilidad de la crio-tecnología para uso diagnóstico y terapéutico en neumología intervencionista: crio-biopsia pulmonar transbronquial y crioterapia. *Revista médica de Chile* 2018;146:1033-1040.

ANEXO 1

IMAGEN 1

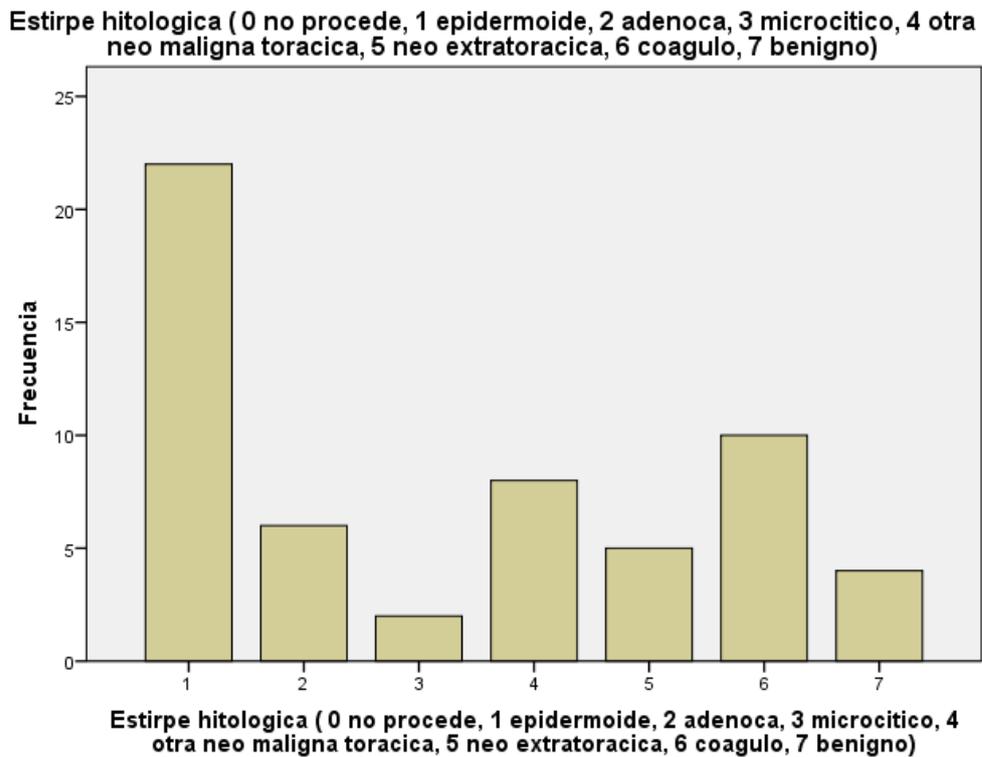
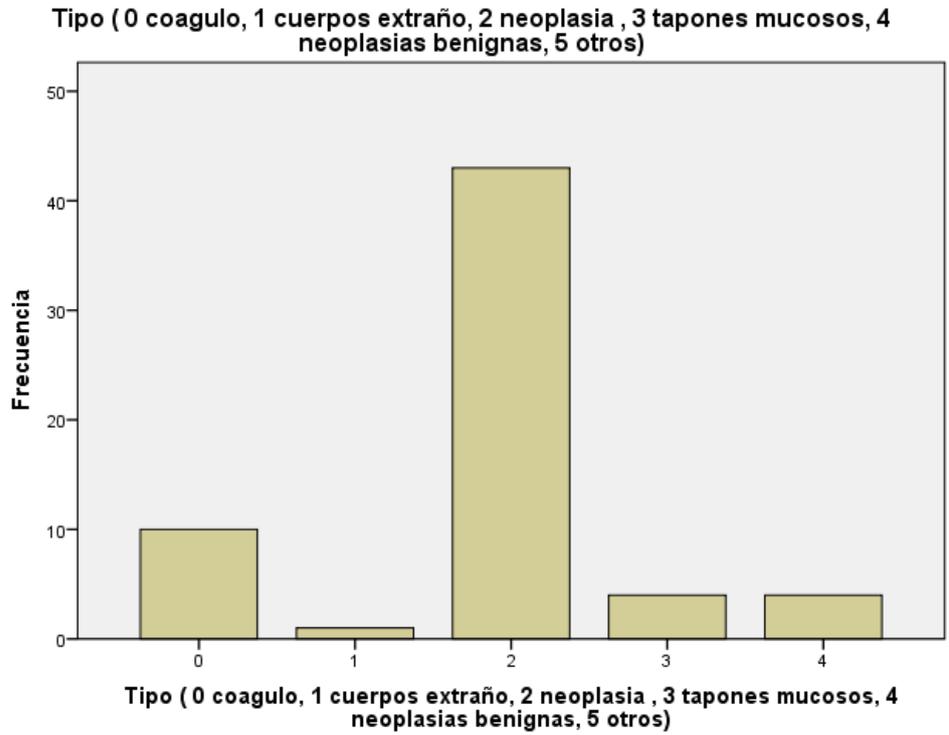


IMAGEN 2

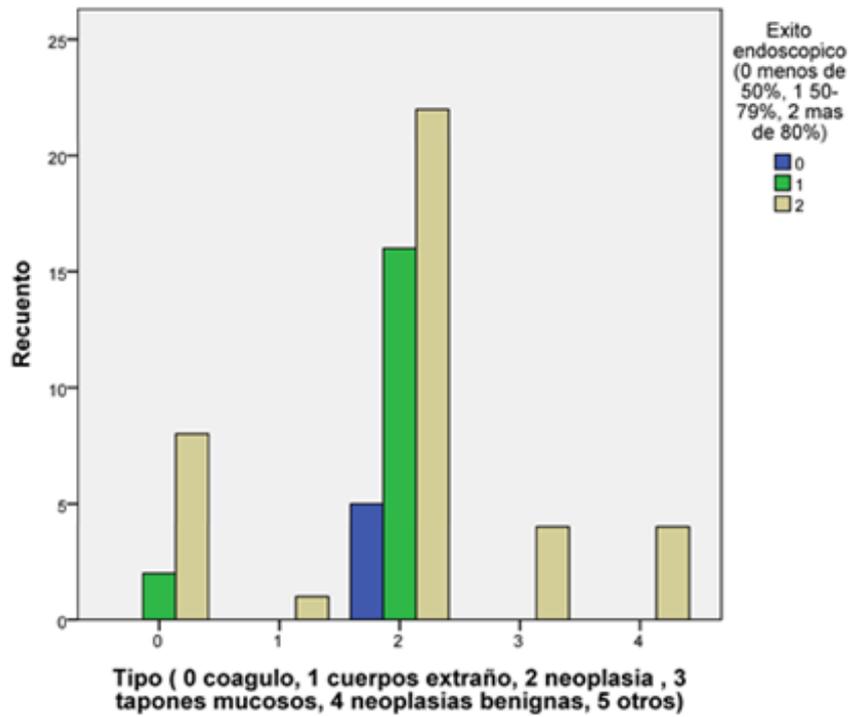


IMAGEN 3

		Diferencia FEV1	FEV1 postqx	FEV1 preqx (%)
N	Válido	13	19	26
	Perdidos	49	43	36
Media		7,838	73,132	58,7115
Mediana		3,300	67,000	54,5000
Moda		16,0	41,0 ^a	27,00 ^a
Desviación estándar		16,8270	27,7266	24,07946
Varianza		283,148	768,762	579,820
Asimetría		,024	,343	,591
Error estándar de asimetría		,616	,524	,456
Curtosis		-,557	-1,074	-,133
Error estándar de curtosis		1,191	1,014	,887
Rango		60,0	84,6	94,00
Mínimo		-22,7	35,0	25,00
Máximo		37,3	119,6	119,00
Percentiles	25	-4,550	51,300	40,4250
	50	3,300	67,000	54,5000
	75	21,850	102,000	74,2250

IMAGEN 4

Escala mMRC de disnea en grados I – IV:

GRADO	ACTIVIDAD
0	Ausencia de disnea excepto al realizar ejercicio intenso.
1	Disnea al andar deprisa en llano, o al andar subiendo una pendiente poco pronunciada.
2	La disnea le produce una incapacidad de mantener el paso de otras personas de la misma edad caminando en llano o tener que parar a descansar al andar en llano al propio paso.
3	La disnea hace que tenga que parar a descansar al andar unos 100 metros o después de pocos minutos de andar en llano.
4	La disnea impide al paciente salir de casa o aparece con actividades como vestirse o desvestirse

Gráfica de comparación de la disnea previa y posterior a la intervención realizada en los pacientes del estudio:

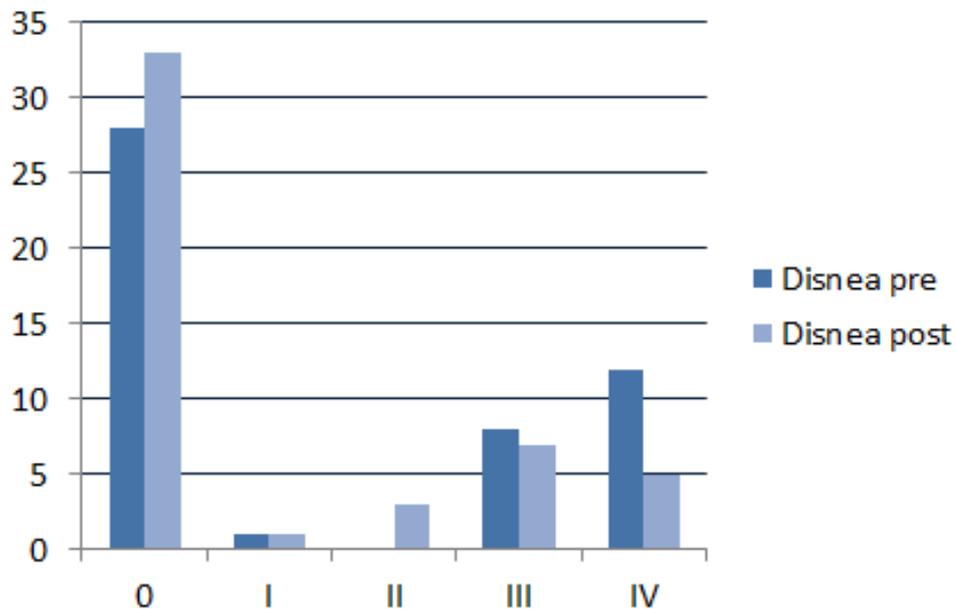
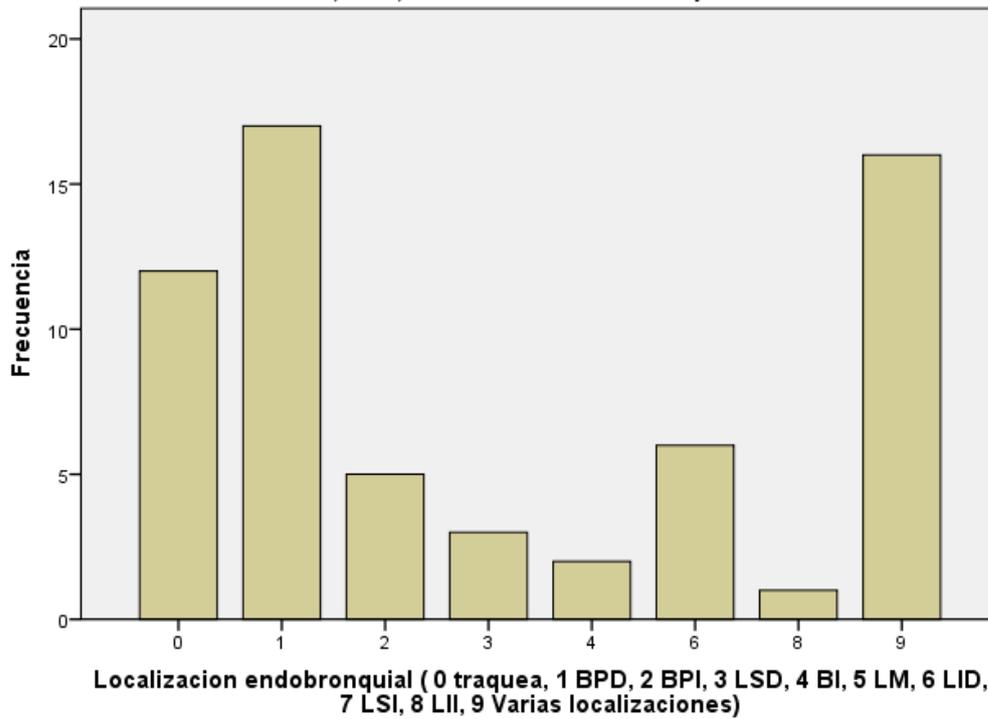


IMAGEN 5

Localizacion endobronquial (0 traquea, 1 BPD, 2 BPI, 3 LSD, 4 BI, 5 LM, 6 LID, 7 LSI, 8 LII, 9 Varias localizaciones)



BPD: bronquio principal derecho, BPI: bronquio principal izquierdo, LSD: lóbulo superior derecho, LSI: lóbulo superior izquierdo, BI: bronquio intermedio, LM: lóbulo medio, LID: lóbulo inferior derecho, LII: lóbulo inferior izquierdo

IMAGEN 6

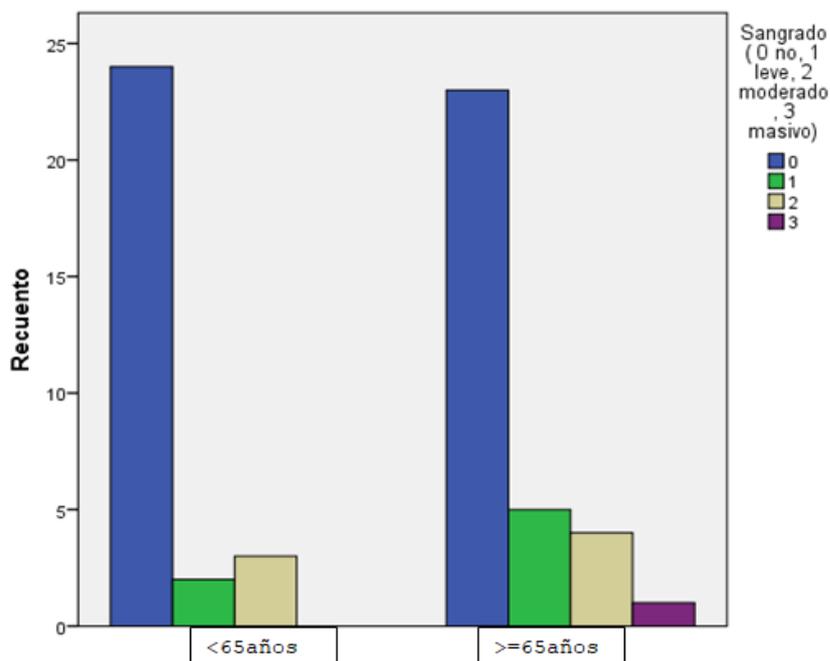


IMAGEN 7

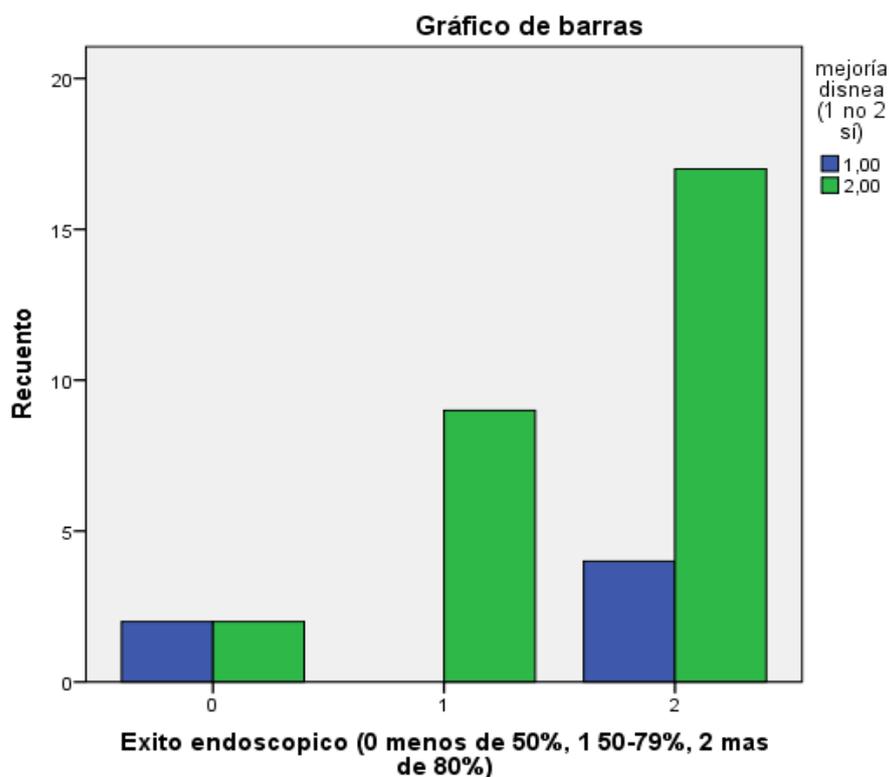


IMAGEN 8

	Mejoría disnea; n=34 pacientes con disnea previa		Total
	NO	SÍ	
Cuerpo extraño y tapones moco	0	4	4
%	0,0%	100,0%	100,0%
EPIDERMOIDE	4	8	12
%	33,3%	66,7%	100,0%
ADENOCARCINOMA	1	2	3
%	33,3%	66,7%	100,0%
microcítico	0	2	2
%	0,0%	100,0%	100,0%
Otras neo malignas torácicas	0	2	2
%	0,0%	100,0%	100,0%
Neos extratorácicas	0	5	5
%	0,0%	100,0%	100,0%
COÁGULOS	1	2	3
%	33,3%	66,7%	100,0%
Neoplasias BENIGNAS	0	3	3
%	0,0%	100,0%	100,0%

IMAGEN 9

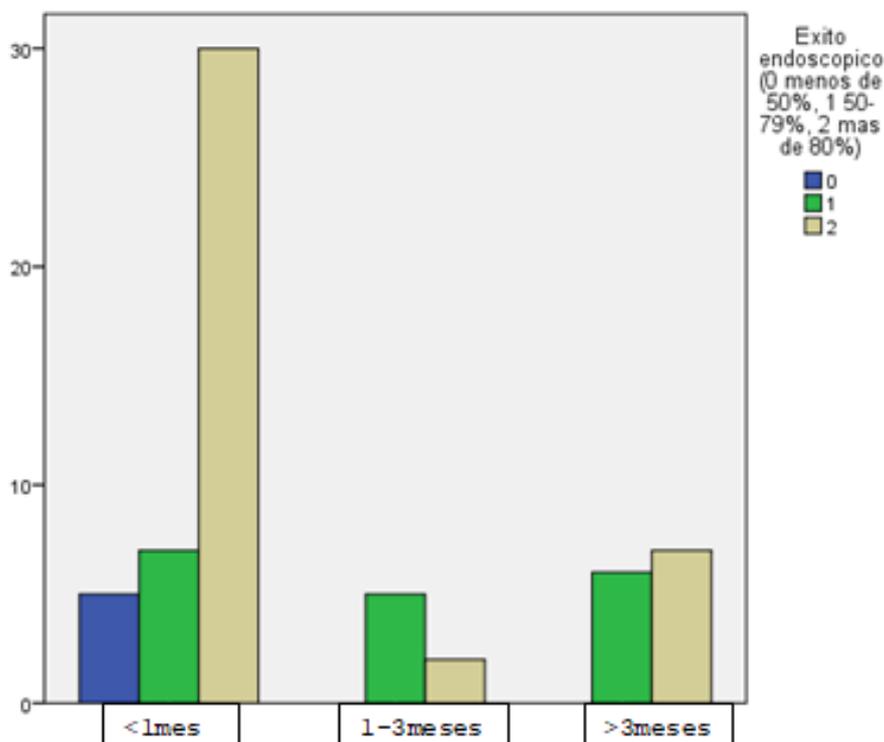
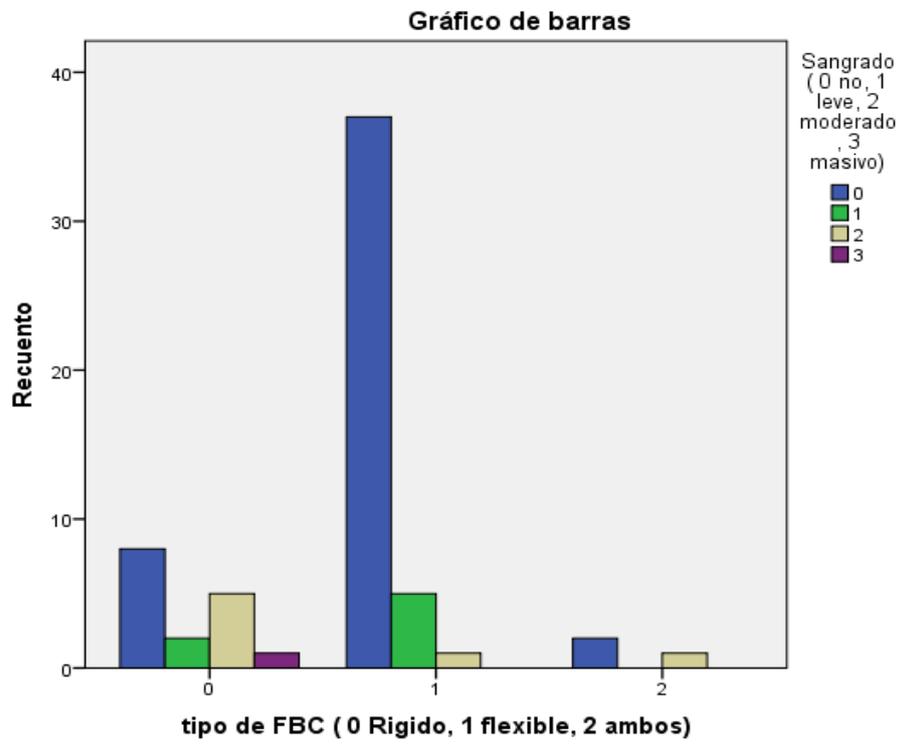


IMAGEN 10

	Sangrado				Total
	NO	leve	moderado	masivo	
Tapones y cuerpo extraño	5	0	0	0	5
%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
EPIDERMOIDE	16	4	2	0	22
%	72,7%	18,2%	9,1%	0,0%	100,0%
ADENOCARCINOMA	6	0	0	0	6
%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
MICROCÍTICO	1	0	1	0	2
%	50,0%	0,0%	50,0%	0,0%	100,0%
Otras neos torácicas	5	1	2	0	8
%	62,5%	12,5%	25,0%	0,0%	100,0%
Neos EXTRATORÁRICAS	3	1	1	0	5
%	60,0%	20,0%	20,0%	0,0%	100,0%
COÁGULOS	7	1	1	1	10
%	70,0%	10,0%	10,0%	10,0%	100,0%
Neoplasias BENIGNAS	4	0	0	0	4
%	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%

IMAGEN 11



CRIORRECANALIZACIÓN TRAQUEOBRONQUIAL



Servicio de Neumología Intervencionista del HCUV



Alumna: **Candela González Vicario**
Tutores: **Carlos Disdier Vicente, Blanca de Vega Sánchez**

INTRODUCCIÓN

La **broncoscopia** es una técnica endoscópica utilizada con fines diagnósticos y/o terapéuticos en la que se visualiza la vía aérea con un fibrobronoscopio introducido por nariz o boca. El bronoscopio puede ser rígido o flexible, eligiéndose en base a las circunstancias clínicas de cada paciente.

Las **obstrucciones de la vía aérea central (OVAC)** pueden ser extrínsecas, intrínsecas o mixtas; teniendo éstas múltiples causas: cuerpos extraños, tapones mucosos, proliferaciones benignas, coágulos, o, las más frecuentes: las OVAC por tumores malignos. La sintomatología en las OVAC depende fundamentalmente del grado de obstrucción y de la etiología, siendo frecuentes la disnea, tos, hemoptisis o la alteración de la función pulmonar.

La **criorrecanalización** es una de las técnicas terapéuticas en neumología intervencionista. Consiste en aplicar frío con una sonda introducida por broncoscopia sobre una lesión tumoral, tapón, coágulo o cuerpo extraño para la posterior adhesión y extracción de los mismos. En comparación con otras técnicas broncoscópicas, la criorrecanalización es la más inmediata y barata, con pocas complicaciones a priori tras la intervención. Según la bibliografía revisada, mejora la función pulmonar y disminuyen tos, hemoptisis y disnea.

MATERIAL Y MÉTODOS

En primer lugar, se hizo una revisión bibliográfica de artículos científicos sobre broncoscopias terapéuticas y criorrecanalización a través de *PubMed*.

Se proporcionó una base de datos en formato Excel de las broncoscopias registradas en el Servicio de Neumología Intervencionista, de la cual se estudiaron los informes pertinentes y los pacientes fueron clasificados en carpetas según el tipo de obstrucción de la vía aérea. En base a los criterios de inclusión y exclusión, se obtuvo una muestra final de casos n=62.

En base a los intereses del trabajo, se incluyeron varias categorías: edad y sexo, anestesia, paciente crítico, IOT, tipo de bronoscopio, estirpe histológica, días hasta la recanalización, FEV1 previo y posterior, disnea previa y posterior, combinación de técnicas, sangrado, o éxito endoscópico.

De los 5 objetivos primarios y 10 secundarios, se destaca por su importancia los siguientes: realizar un estudio descriptivo de la disnea y FEV1 (en %) previo y posterior a la intervención, describir el perfil del paciente crítico en la criorrecanalización, analizar la prevalencia de sangrado según el tipo de fibrobronoscopio y describir el éxito endoscópico.

RESULTADOS

Se parte de una muestra n=62 en la que se cruzan y analizan los datos de interés, siendo considerados los más relevantes los siguientes:

El paciente tipo fue varón (91,9%) con una media de 66 años. La etiología de la OVAC fue variada, siendo las neoplasias malignas las más frecuentemente observadas (69,4%), y dentro de éstas, el carcinoma epidermoide (35,5%).

La principal complicación fue el sangrado endobronquial, siendo inexistente en el 75,8% de los procedimientos, leve en el 11,3%, moderado en el 11,3% y severo en el 1,6% de los casos. No se registró ningún tipo de sangrado en los casos cuya etiología se debía a: tapones mucosos, neoplasias benignas, cuerpos extraños y adenocarcinoma pulmonar (n=15,100%).

En el 47,4% de los casos en los que se usó bronoscopio rígido se registró sangrado endobronquial de algún tipo, reduciéndose al 14% con el flexible. Por otro lado, el porcentaje de sangrado endobronquial en menores de 65 años fue del 17,2%, ascendiendo a 30,3% en mayores de 65 años.

En los pacientes en los que se realizó la criorrecanalización en menos de un mes desde el diagnóstico de la OVAC, el éxito endoscópico completo (>80% de luz bronquial) se logró en el 71,4% de los casos. Sin embargo, en aquellos que se tardó más de 30 días, el porcentaje se redujo al 45% de los casos

Respecto a los efectos terapéuticos de la criorrecanalización, se observó una disminución de la disnea en el 82,4% de los casos con una media de mejoría de 1,14 en la escala mMRC, así como a una mejoría del 14% del FEV1.

Por último, en cuanto al éxito endoscópico observado, la criorrecanalización fue exitosa para el 91,9% de los casos (>50% de la luz bronquial) y para el 62,9% de los casos se logró una criorrecanalización total (>80% de la luz).

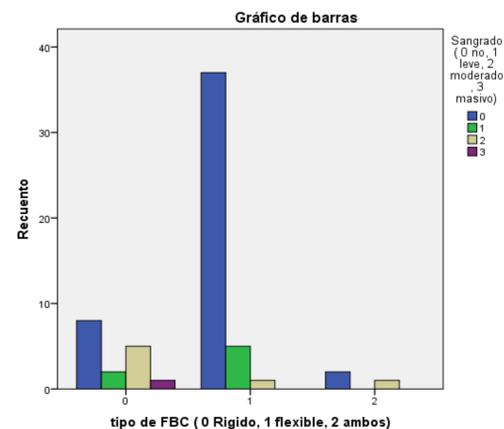


Figura 1: Sangrado endobronquial según bronoscopio

❖ 0= FBC rígido, 1= FBC flexible, 2= ambos.

❖ Azul: no sangrado, Verde: leve, Marrón: moderado, Morado: severo

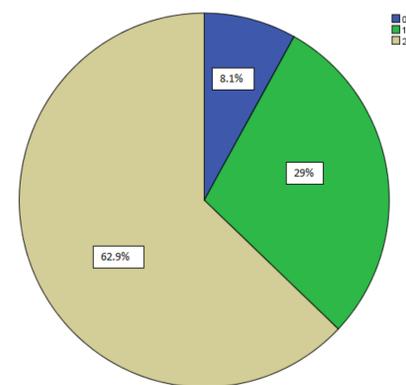


Figura 2: Porcentajes de éxito endoscópico

❖ Azul: <50%, Verde: 50-79%, Marrón: >=80%

DISCUSIÓN

Tras los resultados observados de mejoría de disnea y función pulmonar, se concluye que la criorrecanalización mejora notablemente la sintomatología de los pacientes con OVAC, siendo el tiempo desde el diagnóstico de la OVAC hasta su tratamiento fundamental para obtener mejores resultados.

La principal complicación fue el sangrado endobronquial, sin registrarse otras complicaciones en los casos estudiados (n=62). La mayoría fueron sangrados leves, que se resolvieron adecuadamente durante la intervención. Hubo una incidencia aumentada de sangrado en los mayores de 65 años, atribuible a un mayor uso de anticoagulantes y antiagregantes por este grupo.

Lo más destacable es que la incidencia del sangrado endobronquial aumenta más de tres veces con el uso del fibrobronoscopio rígido respecto al flexible: 47,4% vs 14%. No obstante, en pacientes que requieran asegurarla vía aérea, se hace imprescindible su uso, siendo el sangrado endobronquial un riesgo asumible con una previsible resolución durante el procedimiento.

La criorrecanalización es, por tanto, una técnica segura y se elegirá el tipo de fibrobronoscopio en función de las circunstancias de cada paciente.

Tras una criorrecanalización exitosa para el 91,9% de la muestra, se concluye que es una técnica eficaz en la desobstrucción del árbol bronquial.

En resumen: las ventajas de la criorrecanalización son el buen control locorregional, la eficacia inmediata, la selectividad por el tejido maligno, la extracción sencilla de coágulos y la adecuada hemostasia. De igual forma cabe destacar que la criorrecanalización no se relaciona con complicaciones graves y tiene una alta tasa de éxito en la desobstrucción de la vía aérea, reflejándose en una mejoría de la sintomatología de estos pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Asimakopoulos G, Beeson J, Evans J, Maiwand MO. Cryosurgery for malignant endobronchial tumors: analysis of outcome. *Chest*. 2005 Jun;127(6):2007-14.
- Asimakopoulos G, Maiwand MO. Cryosurgery for lung cancer: clinical results and technical aspects. *Technol Cancer Res Treat*. 2004 Apr;3(2):143-50.
- Rosell A, Stratakos G. Therapeutic bronchoscopy for central airway diseases. *Eur Respir Rev*. 2020 Nov 18;29(158):190178.
- Hetzel J, Hetzel M, Hasel C, Moeller P, Babiak A. Old Meets Modern: The Use of Traditional Cryoprobes in the Age of Molecular Biology. *Respiration* 2008;76(2):193-7.