

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA
SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA



**“Impatto della Criobiopsia Transbronchiale
Polmonare sulla gestione dei pazienti affetti da
Pneumopatie Infiltrative Diffuse”**

Relatore: Chiar.ma Prof.ssa Emanuela Barisione

Co-relatore: Chiar.mo Prof. Roberto Fiocca

Candidato: Sergio Gagliano

Anno accademico 2021-2022

Indice

<u>Capitolo I</u>	Pag. 3
1 Classificazione delle ILD	Pag. 3
2 Diagnosi delle ILD	Pag. 5
2.1 Aspetti clinici	Pag. 7
2.2 Indagini di laboratorio	Pag. 8
2.3 Imaging delle ILD	Pag. 10
2.4 Procedure invasive	Pag. 17
2.4.1 Lavaggio broncoalveolare	Pag. 17
2.4.2 Biopsia transbronchiale	Pag. 20
2.4.3 Biopsia polmonare chirurgica	Pag. 20
2.4.4 Criobiopsia transbronchiale	Pag. 22
2.5 Aspetti istopatologici delle ILD	Pag. 32
<u>Capitolo II</u>	Pag. 36
1 Introduzione	Pag. 36
2 Metodi	Pag. 38
2.1 Popolazione di pazienti	Pag. 38
2.2 Flusso di lavoro pre-procedurale	Pag. 39
2.3 Procedimento	Pag. 40
3 Risultati	Pag. 41
4 Discussioni	Pag. 45
4.1 Analisi dei costi	Pag. 49
5 Conclusioni	Pag. 52
<u>Bibliografia</u>	Pag. 53

Capitolo I

Classificazione delle ILD

Le pneumopatie interstiziali (ILD: interstitial lung disease) sono un gruppo di patologie di natura non neoplastica che interessano il parenchima polmonare nella porzione distale al bronchiolo respiratorio (lobulo secondario).

Si tratta di un vasto gruppo di circa 200 malattie spesso differenti tra loro considerando l'eziologia, il decorso, la prognosi e la terapia ma che, nonostante ciò, condividono alcuni importanti aspetti clinici, funzionali, anatomopatologici e radiologici che giustificano un approccio comune. Nelle tabelle 1 e 2 vediamo rispettivamente la classificazione delle ILD in base all'eziologia (tab.1) e all'esordio clinico (tab.2)

Le ILD sono patologie di difficile classificazione vista la loro eterogeneità e complessità e, per classificarle, negli anni sono stati proposti diversi metodi che hanno preso in considerazione soprattutto l'eziologia e la clinica.

Oggi si segue la classificazione ATS /ERS che considera i criteri istopatologici, di imaging e clinici, individuando così 4 categorie [1] come evidenziato in figura 1:

- a eziologia nota
- idiopatiche
- granulomatosi
- altre

Infine, si possono riscontrare anche processi neoplastici o infettivi che mimano pneumopatie interstiziali: si tratta di malattie che interessano e coinvolgono diverse discipline mediche, sia per le caratteristiche della patologia, che per le necessità diagnostiche (pneumologi, internisti, reumatologi, radiologi, anatomopatologi, chirurghi toracici).

Classificazione in base all'eziologia	
Causa conosciuta	Polveri inorganiche-Pneumoconiosi
	Polveri organiche- Polmoniti da ipersensibilità
	Farmaci
	Infezioni (Pneumocistosi)
	Inalazioni di gas (ossigeno, cloro), fumi (ossidi di metalli, anidride trimellitica), vapori (disocianati, idrocarburi) o aerosol (oli, grassi)
Causa sconosciuta	Polmoniti interstiziali idiopatiche
	Associate a connettiviti
	Malattie granulomatoze (Sarcoidosi)
	Malattie da riempimento endoalveolare (Proteinosi, Amiloidosi)
	Malattie cistiche (Istiocitosi X, LAM)
	Vasculiti (Wegener, Poliangoite microscopica)
	Polmonite eosinofila acuta e cronica
	Malattie ereditarie (Sclerosi tuberosa, Neurofibromatosi)
	Neoplasie (Linfangite carcinomatosa)

Tab.1: Classificazione eziologica delle ILD.

Classificazione in base all'esordio clinico	
Esordio acuto/subacuto	Polmonite interstiziale acuta (AIP)
	Polmonite interstiziale non specifica (NSIP)
	Polmonite organizzativa criptogenetica (COP/BOOP)
	Forme infettive in immunocompetente (Mycoplasma, Clamidia, Virus)
	Infezioni nell'immunodepresso (Pneumocistosi, Miliare tubercolare, Citomegalovirus)
	Polmonite eosinofila acuta (AEP)
	Polmonite da ipersensibilità (HP)
	Danno alveolare diffuso (DAD)
	Emorragia alveolare (farmaci, connettiviti, vasculiti)
Esordio cronico	Pneumoconiosi
	Sarcoidosi
	Polmonite da ipersensibilità cronica (HP)
	Istiocitosi X (granulomatosi a cellule di Langerhans)
	Fibrosi polmonare idiopatica (IPF)
	Neoplasie (linfangite carcinomatosa)
	Proteinosi alveolare
	Linfangioleiomiomatosi (LAM)
	Polmonite eosinofila cronica

Tab.2: Classificazione ILD basata sul criterio di esordio dei sintomi.

Diagnosi delle ILD

La diagnosi di ILD è un processo impegnativo che si basa sull'integrazione di varie specialità; il ragionamento deve considerare i dati clinici, laboratoristici, radiologici, e anatomicopatologici.

L'approccio diagnostico delle pneumopatie infiltrative diffuse si è modificato dopo l'introduzione dell'HRCT (High Resolution Computed Tomography); grazie alla quale si ottiene una migliore identificazione e definizione dei pattern radiologici.

Nelle linee guida ATS/ERS/JRS/ALAT per la diagnosi e la gestione di IPF è raccomandato una discussione multidisciplinare (MDD) e la necessità di una valutazione dei pazienti nei centri di riferimento per aumentare il livello di certezza diagnostica, per definire come proseguire il percorso diagnostico e per decidere la necessità di ricorrere a biopsia chirurgica nei casi in cui la diagnosi non è definita; è dimostrato che l'approccio multidisciplinare riduce il numero di biopsie chirurgiche non necessarie [2,3].

La MDD consiste nell'integrazione delle competenze del radiologo, del patologo e dello pneumologo cui possono aggiungersi altri specialisti (internista, immunologo, reumatologo, chirurgo toracico, ecc.).

Diversi studi hanno dimostrato che l'accordo tra pneumologi, radiologi e patologi aumenta in modo sostanziale dopo MDD, con l'aumento della concordanza diagnostica e un cambiamento nella diagnosi fino al 20% dei soggetti [4,5]. I dati riportano che per le ILD non idiopatiche vi sono maggior incertezza e disaccordo diagnostico tra diversi centri: ad esempio per le NSIP (Non Specific Interstitial Pneumonia) e HP (Hypersensitivity Pneumonia) il livello di disaccordo è significativamente più elevato rispetto a IPF (Idiopathic Pulmonary Fibrosis) [6]. Questo potrebbe essere giustificato dal fatto che le pneumopatie interstiziali non idiopatiche non sono attentamente considerate nelle linee guida internazionali.

Nonostante l'uso raccomandato, l'approccio multidisciplinare presenta alcuni limiti: in molte realtà locali non è realizzabile, è difficile da standardizzare in quanto è soggettivo e impreciso per cui a volte si riduce ad una diagnosi basata sull'eziologia "più probabile" e inoltre non esiste un metodo chiaro per valutare l'accuratezza delle MDD.

La "Fleischner Society" (comitato scientifico che ha elaborato i "Diagnostic criteria for Idiopathic Pulmonary Fibrosis", Lancet Respir Med 2018) ha convenuto che non tutti i casi di IPF richiedono discussione multidisciplinare: ad esempio, non è necessario discutere in pazienti con caratteristiche HRCT tipiche di fibrosi polmonare idiopatica e con contesto clinico corretto se il paziente è stato esaminato da un singolo radiologo esperto e clinico.

La MDD, invece, nei casi di diagnosi non certa è necessaria per:

- a) decidere se eseguire la biopsia se l'imaging e/o le caratteristiche cliniche non forniscono un livello adeguato di concordanza diagnostica;
- b) rivedere le caratteristiche cliniche, di imaging e patologiche dopo che è stata effettuata una biopsia;
- c) riesaminare i casi in cui gli esiti istologici sono discordanti con il quadro clinico.

Aspetti clinici

In ogni paziente con ILD i dati anamnestici sono fondamentali per orientare la diagnosi: età, sesso, familiarità, abitudine tabagica, fattori di rischio per esposizione professionale e ambientale, presenza di comorbidità, anamnesi farmacologica.

La modalità di esordio dei sintomi permette di differenziare le ILD ad esordio acuto da quelle subdole ad andamento più lento.

I sintomi respiratori sono aspecifici, è importante un'accurata ricerca di eventuali manifestazioni o segni (fenomeno di Raynaud, artralgie, dolori muscolo-scheletrici, parestesie, sindrome sicca) che possano orientare verso una patologia sistemica come connettiviti, sarcoidosi e vasculiti.

La dispnea, parametro strettamente soggettivo, deve essere valutata mediante l'uso di scale idonee basate sulla scelta da parte del paziente di frasi che descrivono un'intensità crescente del sintomo (come la scala di Borg). In alternativa, si fa ricorso ad analoghi visivi, invitando il paziente a segnare la gravità del sintomo su una linea estesa da un punto, che indica il livello minimo possibile, ad un altro che riporta il livello massimo (come la Visual-Analogue Scale, VAS).

L'esame obiettivo permette di rilevare un segno tipico dell'interessamento dell'interstizio polmonare: il "**velcro rales**", rumori bronchiali auscultabili alle basi polmonari sin dalle prime fasi della malattia. Sono presenti per tutta la durata dell'inspirazione e persistono anche dopo respiri profondi, sono dovuti all'improvvisa apertura degli alveoli irrigiditi dai fenomeni fibrotici.

Questi segni mancano tuttavia di specificità, essendo riscontrabili in pazienti con diverse malattie infiltrative diffuse fibrosanti quali NSIP, asbestosi e forme secondarie a connettiviti.

Se riscontrati in soggetti di età superiore o pari a 60 anni, al di fuori di altri contesti clinici che li possono prevedere (stasi polmonare), dovrebbero far nascere il sospetto di IPF, ponendo indicazione ad uno studio funzionale respiratorio completo e, successivamente, ad una HRCT.

Inoltre, l'esame obiettivo deve essere mirato alla ricerca anche di ippocratismo digitale, più frequente nella IPF.

Indagini di laboratorio

Gli esami di laboratorio sono utili nella diagnosi differenziale tra fibrosi idiopatiche e forme associate a connettiviti (CTD), vasculiti ed esposizioni ambientali.

La valutazione sierologica dovrebbe essere eseguita anche in assenza di segni o sintomi della malattia del tessuto connettivo (Ab antinucleo, profilo della sclerodermia, ANCA, fattore reumatoide, anti-citrullina) mentre nel sospetto di polmonite da ipersensibilità la ricerca di IgG specifiche (precipitine) per l'identificazione dell'Antigene è frequentemente negativa anche in caso di malattia manifesta; inoltre questo test non è disponibile in tutti i laboratori. In tabella 3 vengono descritti i principali autoanticorpi riscontrabili nelle Pneumopatie Infiltrative Diffuse secondarie a Connettiviti.

Peraltro le linee guida internazionali non considerano in modo adeguato questo settore della diagnostica e il ricorso nella routine clinica a questi esami può variare da centro a centro per cui nell'approccio multidisciplinare è utile poter disporre di uno specialista reumatologo o immunologo.

In prospettiva futura potrebbe assumere importanza la diagnostica molecolare, soprattutto nella IPF se integrata con caratteristiche cliniche e di imaging [7,8].

Infatti, negli ultimi anni diversi studi sono stati orientati all'identificazione di biomarcatori dell'IPF: si tratta di ricerche riguardanti piccole coorti per cui non vi è ancora una indicazione all'uso clinico routinario della biologia molecolare. Ad esempio, il declino della funzione polmonare e la ridotta sopravvivenza sono stati associati ad alti livelli sierici di alcune proteine epiteliali o correlate ai macrofagi come SP-A e SP-D (proteine del surfactante), KL-6 (Krebs von den Lungen-6), CCL18 (chemokine ligand-18) e MMP-7 (matrix metalloproteinase-7) [9,10].

Per quanto riguarda la diagnosi differenziale, i livelli sierici di SP-A e SP-D sono risultati significativamente più elevati in IPF rispetto a NSIP / COP o CVD-IP, rispettivamente. Allo stesso modo, livelli più elevati di DNA sierico sembrano distinguere i pazienti con IPF da pazienti non-IPF [11].

I biomarcatori, se convalidati, potrebbero essere clinicamente utili per identificare i pazienti ad alto rischio di progressione.

Autoanticorpi nelle CVD/ILD	
ANA (>1:320)	Qualsiasi CVD/ILD
RF (>60 IU/ml)	Artrite reumatoide, LES, Sindrome Sjogren
Anti CCP	Artrite reumatoide
Anti-centromero	Sclerodermia
Anti Ro (SS-A)	LES, Sindrome Sjogren
Anti LA (SS-B)	LES, Sindrome Sjogren
Anti-Rnp	SLE,
Anti-dsDNA	SLE
Anti- Smith	SLE
Anti RNA sintetasi	Poli-dermatomiosite (Sindrome antisintetasi)
Anti-PM-SCL	Overlapsclerodrmia/miosite
Anti-Th/To	Sclerodermia
Anti-U3NP	Sclerodermia
ANCA	Vasculiti
Anti-topoisomerasi (Scl-70)	Sclerodermia

Tab.3: Autoanticorpi riscontrabili nelle Pneumopatie Infiltrative Diffuse secondarie a Connettiviti.

Imaging delle ILD

La HRCT svolge un ruolo centrale nella valutazione di tutti i pazienti con ILD e può essere diagnostica in molte situazioni. Per ottenere immagini di alta qualità sono essenziali l'uso di sezioni sottili (<2 mm) e la ricostruzione ad alta risoluzione spaziale.

Le scansioni dovrebbero essere ottenute con piena ispirazione a capacità polmonare totale: l'ispirazione inadeguata aumenta l'attenuazione polmonare, portando potenzialmente a un'interpretazione errata di aspetti importanti (ad esempio opacità a vetro smerigliato e reticolazione fine) [12,13].

L' esecuzione della CT in posizione prona è utile quando si sospetta che eventuali anomalie riscontrate alla radiografia siano dipendenti dalla posizione (ad esempio la presenza di un quadro di stasi polmonare), inoltre può anche facilitare la diagnosi di honeycombing, riducendo la variazione dell'osservatore nella diagnosi di IPF [14,15].

Le scansioni in espirazione sono utili per identificare l'intrappolamento d'aria (air trapping), una caratteristica che suggerisce la presenza di polmonite da ipersensibilità cronica o connettiviti e vasculiti (CVD) [16].

La CT può identificare in modo non invasivo pattern specifici che possono essere virtualmente diagnostici o supportare fortemente alcune forme di ILD. Ciò ha notevolmente migliorato la capacità del clinico nell'ultimo decennio di restringere la diagnosi differenziale; nella maggior parte dei casi viene determinata una probabile diagnosi [17].

Le malattie interstiziali del polmone alla HRCT presentano alterazioni di tipo reticolare, alveolare, nodulare e cistico [18]; è frequente anche la presenza di alterazioni bronchiali.

Le alterazioni reticolari sono espressione dell'ispessimento dell'interstizio e sono costituite da opacità lineari sottili, variamente disposte a reticolo. La reticolazione si può presentare:

- liscia: edema interstiziale, amiloidosi, linfangite carcinomatosa;
- Nodulare: nel contesto dell'ispessimento interstiziale si associano focalità micronodulari, puntiformi che assumono a volte una disposizione a corona di rosario: possono essere presenti nella linfangite carcinomatosa, nella amiloidosi e nell'asbestosi;
- irregolare: le strie presentano irregolarità di percorso e aspetti a zig-zag che possono deformare l'architettura del lobulo: sarcoidosi fibrosante, NSIP, UIP (Usual Interstitial Pneumonia) iniziale, collagenopatie, polmonite da ipersensibilità.

Le alterazioni nodulari sono costituite da opacità rotondeggianti (definite micro- noduli se il diametro è inferiore a 3 mm, macronoduli tra 3 mm e 1cm); a seconda delle posizioni che assumono rispetto alla pleura si riconoscono:

- noduli avidi di pleura (si dispongono lungo le limitanti pleuriche e le

scissure: tipici di patologie che si diffondono per via linfatica come la sarcoidosi e la polmonite interstiziale linfoide idiopatica);

- noduli pavidati di pleura (si dispongono a distanza dalle pleure e dalle scissure, tipici di malattie che interessano i bronchioli come le alveoliti allergiche estrinseche subacute, istiocitosi X, bronchiolite interstiziale);
- noduli indifferenti alla pleura (in genere di densità aumentata, a margini netti si dispongono uniformemente nel parenchima polmonare: caratteristici della Tbc miliare, delle metastasi, della silicosi).

Le **alterazioni alveolari** sono costituite da opacità, espressioni della presenza negli alveoli di materiale diverso (liquido, cellulare) che sostituisce l'aria. La densità in rapporto all'entità del riempimento alveolare può essere:

- parziale (opacità ground-glass o a vetro smerigliato: nel contesto dell'opacità si distinguono le strutture vascolari e bronchiali);
 - completa (addensamento).

Questi due aspetti possono coesistere in percentuali variabili in patologie acute (alveolite emorragica, pneumocistosi, sindrome da distress respiratorio acuto, polmonite interstiziale acuta, edema polmonare acuto) e croniche (polmonite organizzativa, polmonite interstiziale desquamativa, polmoniti eosinofila cronica). Si possono associare alla presenza di aree di ipertrasparenza dovute all'intrappolamento d'aria (air trapping) che si manifestano in fase espiratoria (tipiche della bronchiolite costrittiva).

Le **alterazioni cistiche** sono costituite da areole di iperdiafania, delimitate o meno da parete, che interessano più' o meno diffusamente il parenchima; possono essere:

- "a grappolo" caratteristiche delle bronchiectasie (si aggregano come acini d'uva, con pareti spesse, a volte presentano inclusi tipo micetoma o livelli idroaerei dovuti a secrezioni);
- "a collana di perle" (organizzate in sede subpleuriche in un unico strato, con pareti sottili: se con diametro superiore al centimetro si definiscono bolle, dovute ad enfisema parasettale)
- "a random" (disposte in modo casuale, senza aggregarsi, con pareti di spessore variabile e a volte senza (istiocitosi X, LAM, enfisema centro lobulare));
- tipo honeycombing.

L'identificazione di quest'ultimo segno alla CT torace è importante sia per la diagnosi che per la prognosi nell'ILD fibrotico [19,3].

L' **honeycombing** è definito come spazi cistici a cluster, con pareti spesse, di diametro simile, generalmente di 3-5 mm, ma occasionalmente fino a 25 mm [20].

Mentre l'aspetto a nido d'ape può consistere di diversi strati sovrapposti di cisti, anche un singolo strato subpleurico di 2-3 cisti contigue è adeguato per la diagnosi [21].

A volte può essere difficile distinguere zone a nido d'ape da focolai di bronchiectasia da trazione [21,22].

Nei fumatori possono essere presenti delle anomalie definite "allargamento dello spazio aereo con fibrosi (AEF)", che può assomigliare a cisti a nido d'ape su HRCT.

Tuttavia, l'AEF tende a predominare nelle zone medio-alte del polmone, risparmia le parti più periferiche e mostra "pareti" più sottili rispetto alle cisti di honeycombing[23,1]. Inoltre, tende a non essere associato ad altri segni CT di fibrosi polmonare, con l'eccezione dei casi di overlap (associazione) fibrosi polmonare ed enfisema, che sono caratterizzati dalla presenza di enfisema, cisti e un pattern di fibrosi UIP. Vi è correlazione tra l'honeycombing radiologico e quello anatomopatologico [24]: in alcuni casi però cisti molto piccole presenti negli esemplari istopatologici (definite 'Microscopico honeycombing') non vengono evidenziate dalla risoluzione spaziale della TC e spesso non sono in correlazione con quadro radiologico [25].

L'esecuzione di micro-CT ha dimostrato che questo segno si sviluppa alla periferia del lobulo polmonare ed intorno ad alveoli collassati e ai bronchioli respiratori [26].

Vi è una significativa variazione interosservatore nell'identificazione di honeycombing, soprattutto a causa della coesistenza di altre anomalie come l'enfisema e la bronchiectasia da trazione.

In un recente studio in cui agli osservatori sono state presentate immagini CT singole, in circa un terzo dei casi non vi è stato accordo sulla presenza o assenza di honeycombing: la revisione di immagini multiplanari sequenziali è particolarmente importante in questo caso [27].

Le **alterazioni bronchiali** sono rappresentate da bronchiectasie che possono presentarsi come cistiche, "a binario", ad aspetto varicoso.

Consistono in dilatazioni bronchiali e bronchiolari irregolari causate da fibrosi retrattile nel parenchima polmonare circostante che a volte è difficile distinguere dall'honeycombing [20].

Le bronchiectasie e le **bronchiolectasie da trazione** sono un segno distintivo della fibrosi polmonare, un importante marcatore prognostico nella UIP [28]; assumono un aspetto varicoso irregolare e si trovano prevalentemente nella periferia dei polmoni.

Questa caratteristica, insieme ad uno sfondo fibrotico, alla presenza di reticolazioni e di opacità a vetro smerigliato aiuta a distinguere le bronchiectasie da trazione da quelle "indipendenti" non correlata alla fibrosi [21].

Le bronchiectasie da trazione sono anche un segno saliente del NSIP fibrotico, masi trovano solitamente in regioni più centrali [29].

La loro identificazione sembra dipendere un po' meno dalla variazione interosservatore rispetto a honeycombing, con un accordo da moderato a buono tra osservatori [30,31,28].

Distinguere le bronchiectasie dall'honeycombing a volte ha rilevante importanza diagnostica per cui può essere utile ottenere immagini sequenziali CT multiplanari e tramite algoritmi post-elaborazione ottenere ricostruzioni in proiezione coronale e laterale: seguendo il loro percorso e verificando che siano in rapporto con l'albero bronchiale si possono differenziare dall'honeycombing, che non ha rapporti con i bronchi [24].

Peraltro, è utile ricordare che entrambe possono coesistere.

Le alterazioni appena descritte difficilmente si presentano come un quadro radiologico unico ma si associano tra loro in vari modi, con possibile disomogeneità spaziale andando ad identificare differenti pattern; nelle malattie interstiziali i 2 più significativi e ricorrenti sono UIP e NSIP. In tabella 4 possiamo osservare le principali differenze tra i pattern UIP e NSIP alla HCRT.

Principali differenze HRTC tra Pattern UIP e pattern NSIP		
	UIP	NSIP
Distribuzione	Regioni medio basali, subpleurica, dorsale	Bilaterale, Diffusa o irregolare
	Dalla periferia (mantello pleurico) verso il centro (ili) e dalla base verso i lobi superiori	Omogenea
Principali aspetti HRTC	Honeycombing	Ampie opacità a vetro Smerigliato
	Reticolazione irregolare	Reticolazioni regolari, lisce.
	Bronchiectasie da trazione	

Tab.4: Pattern radiologici.

Il **pattern UIP** è caratterizzato da:

- reticolazione irregolare, caratterizzata dall'alternanza di linee spesse e sottili;
- bronchiectasie da trazione e bronchioloectasie;
- presenza di honeycombing: caratteristica chiave, si trova tipicamente in sede dorsale, basale, subpleurica del polmone e inizia ai lobi inferiori (in casi tipici a quelli superiori);
- rare aree a vetro smerigliato: la "Ground-glass opacity pura" non è specifica della UIP. La presenza di abbondante opacità a vetro smerigliato, in particolare in aree polmonari non fibrotiche, dovrebbe suggerire l'esacerbazione acuta.

Tuttavia, in alcuni pazienti si possono riscontrare modeste aree di ground-glass opacity sovrapposta ad altri aspetti: reticolazione, honeycombing, bronchiectasia da trazione [32,33,34].

Il pattern UIP, almeno nelle prime fasi di malattia è prevalente in sede basale e subpleurica, con una distribuzione che diminuisce dalla base agli apici e dall'periferia verso gli ili; può essere asimmetrica fino al 25% dei casi [35,33]. Nelle fasi iniziali la componente di honeycombing può essere modesta o assente. Una netta predominanza al lobo superiore, un risparmio subpleurico, la presenza di consolidamenti alveolari, una prevalenza di opacità a vetro smerigliato (in un quadro stabile che non fa sospettare un danno polmonare acuto), i noduli diffusi e le cisti sono osservate molto raramente [36,37,30].

In un contesto clinico appropriato, un tipico pattern UIP su HRCT è sufficiente per garantire una diagnosi di UIP/IPF [38].

Tuttavia, può essere presente anche in alcuni casi di fibrosi associata a connettiviti/vasculiti, HP cronico, pneumoconiosi e molto raramente, nella sarcoidosi [39,40,41]. In questi casi sono presenti elementi aggiuntivi: ad esempio nella HP è caratteristica la distribuzione ai lobi superiori [36], la presenza di noduli centrolobulari mal definiti e di aree di intrappolamento d'aria (air trapping); in caso di connettivite è frequente la presenza anche di altre anomalie come versamento pleurico o pericardico, dilatazione, ecc. [42].

Studi recenti hanno dimostrato che:

- l'assenza di honeycombing non dovrebbe escludere una diagnosi di UIP se sono presenti tutte le altre caratteristiche (in particolare predominanza subpleurica e basale e bronchiectasie da trazione). Questi aspetti CT possono essere considerati un probabile pattern UIP: l'82-94% di questi pazienti presenta anche un quadro istopatologico probabile o definitivo [43,25];
- la probabilità dell'istologia UIP è maggiore nei pazienti con alta probabilità clinica di IPF (età maggiore di 60 anni, storia di tabagismo, nessuna storia di altre potenziali cause di fibrosi) [44,45];

- inoltre, un pattern UIP istopatologico può essere riscontrato in pazienti che non hanno un quadro UIP radiologico tipico o probabile [25];
- aree di air trapping (per esempio bilaterale o in più di tre lobi polmonari) sono state osservate nel 35% dei casi di IPF [36].

In seguito alle recenti evidenze scientifiche di cui sopra la società scientifica dei radiologi (Fleischner Society) ha condotto una revisione sistematica cercando di fornire criteri diagnostici dell'IPF che abbiano una maggiore utilità per i clinici rispetto alle precedenti linee guida [46,3]

Anche le società scientifiche americana (ATS) ed europea (ERS) [34] della pneumologia hanno recentemente pubblicato le nuove linee guida sulla diagnosi dell'IPF che, come quelle dei radiologi, individuano 4 categorie di pattern UIP (vedi tabella 5):

- UIP
- Probabile UIP
- Indeterminata UIP
- Diagnosi alternativa

Criteri HRCT per pattern UIP (Linee guida ATS/ERS 2018)			
UIP	Probabile UIP	Indeterminata UIP	Diagnosi alternativa
Predominanza subpleurica e basale. Distribuzione spesso eterogenea.	Predominanza subpleurica e basale.	Predominanza alle regioni superiori emedie.	Caratteristiche che suggeriscono un'altra diagnosi.
Honeycombing con o senza bronchiectasie da trazione o bronchiolectasie.	Pattern reticolazione con bronchiectasie o bronchiolectasie	Sottile reticolazione; Può avere modeste ground-glass opacity o distorsione (iniziale pattern UIP).	<u>Particolari HRCT:</u> <ul style="list-style-type: none"> • cisti • marcata attenuazione a mosaico • predominante ground-glass opacity • micronoduli diffusi • noduli centrolobulari • noduli • consolidazioni
	Può avere modesteground-glass opacity.	Caratteristiche TC della fibrosi che non suggeriscono eziologie specifiche alternative (truly indeterminate)	<u>Distribuzione:</u> <ul style="list-style-type: none"> • peribroncovascolare • perilinfatica • campi superiori e medi <u>Altro:</u> <ul style="list-style-type: none"> • placche pleuriche (considerare asbestosi) • dilatazione esofagea (considerare sclerodermia) • erosione distale della clavicola (considerare Artrite Reumatoide) • linfadenomegalie diffuse (considerare altre eziologie) • versamento o ispessimento pleurico (considerare CDT o esposizione a farmaci)

Tab.5: Criteri diagnostici della HRCT per i pattern UIP.

Nel **pattern NSIP** i segni radiologici di base [18] sono:

- le opacità reticolari (con strie lisce, più omogenee e regolari, più distanziate tra loro);
- la presenza di opacità a vetro smerigliato di entità abbondante;
- aree di addensamento parenchimale.

La distribuzione è bilaterale, simmetrica, spesso a chiazze, può essere periferica o centrale; sono rari i riscontri di honeycombing e di bronchiectasie da trazione.

Il pattern NSIP può essere associato a NSIP/IIPs oppure anche ad altre condizioni come collagenopatie, polmoniti da farmaci, da ipersensibilità.

Procedure invasive

L'approccio diagnostico alle fibrosi polmonari è un processo graduale e le procedure invasive sono considerate solo quando lo scenario clinico, i test di laboratorio e la HRCT sono inconcludenti.

L'uso diffuso della CT del torace ha ridotto la necessità di tecniche diagnostiche invasive, sebbene il campionamento sia in alcuni casi necessario per una diagnosi accurata. Solo il 50% dei pazienti con IPF soddisfa i criteri clinico-radiologici per la diagnosi definitiva; invece necessitano di definizione istologica coloro che hanno un imaging compatibile ma non definitiva oppure che presentano un contesto clinico che indirizza verso altreILD [46,47,48,1,]. Indagini invasive vengono eseguite anche quando vi è un forte sospetto clinico diILD nonostante una HRCT normale.

La maggior parte delle pneumopatie interstiziali interessa il polmone in modo eterogeneo e irregolare per cui nella diagnostica istopatologica sono necessari campioni biotici di dimensioni adeguate: a tale scopo piccole biopsie in genere non forniscono elementi sufficienti [49,50,25].

Oltre alla biopsia chirurgica, che resta il "gold standard", altre procedure utilizzate nella diagnostica delleILD sono la biopsia transbronchiale con pinze convenzionali (TBB) e la criobiopsia transbronchiale (TCLB).

Il lavaggio broncoalveolare (BAL) riveste un ruolo secondario ma non trascurabile.

Lavaggio broncoalveolare (BAL)

Molti lavori scientifici riguardano l'uso del lavaggio broncoalveolare (BAL) per valutare pazienti con sospetto diILD, soprattutto prima che l'HRCT diventasse uno strumento diagnostico di routine che ha cambiato l'iter di queste malattie [51,52].

Il BAL è una tecnica di campionamento che raccoglie e recupera componenti cellulari e acellulari dei bronchioli distali e degli alveoli.

La sua analisi è raramente diagnostica da sola, ma può supportare una diagnosi e/o restringere quella differenziale quando considerata nel contesto clinico. In tabella 6 vediamo come si presenta una normale conta cellulare in un BAL.

Cellularità normale di BAL	
Macrofagi alveolari	>85%
Linfociti (CDS/CD=0.9-2.5)	10-15%
Neutrofilii	<3%
Eosinofili	<1%
Cellule epiteliali squamose/cellule ciliate	<5%

Tab.6: Conta cellulare fisiologica di un Lavaggio Broncoalveolare (BAL).

Peraltro, l'utilità del BAL è oggetto di dibattito a causa della sua scarsa sensibilità e specificità [53]. Inoltre, un normale profilo delle cellule dell'ambiente broncoalveolare non esclude la presenza di anomalie microscopiche nel tessuto polmonare.

Il BAL è facilmente eseguibile, ben tollerato e può essere praticato, con l'ausilio della ventilazione meccanica (invasiva e non), anche in pazienti con quadri clinici acuti (ad es. Pazienti con sindrome da distress respiratorio acuto) [54]. Raramente è causa di esacerbazioni acute o progressione di ILD. L'instabilità cardiopolmonare o la diatesi emorragica grave rappresentano una controindicazione relativa [55]. Per garantire l'efficacia e la sicurezza deve essere eseguito secondo un protocollo standard [56].

I pazienti candidati a praticare il lavaggio broncoalveolare devono essere sottoposti prima della procedura ad accertamenti (esami ematochimici, ecg) volti a ridurre i rischi.

La tecnica di esecuzione è estremamente importante per ottenere campioni BAL appropriati e per l'elaborazione e l'analisi del liquido recuperato.

L'HRCT è necessaria per identificare aree bersaglio del polmone che possono fornire campioni diagnostici utili durante il campionamento BAL (aree di opacità a vetro smerigliato, aree reticolo-nodulari ecc.). Le aree target e le caratteristiche delle anomalie parenchimali possono modificarsi nel tempo, per cui l'esecuzione di HRCT e BAL devono essere ravvicinati (HRCT non più di 6 settimane prima).

Il lavaggio viene praticato durante una broncoscopia flessibile standard: il broncoscopio deve essere incuneato all'interno del segmento broncopolmonare individuato con HRCT.

Attraverso questo strumento viene instillata soluzione salina normale a temperatura ambiente con un volume totale compreso tra 100 e 300 ml che può essere diviso in tre e cinque aliquote.

Dopo l'instillazione di ciascuna aliquota, il liquido viene recuperato utilizzando una pressione di aspirazione negativa inferiore a 100 mm Hg che deve essere regolata per evitare il collasso visibile delle vie aeree.

Il volume totale minimo recuperato deve essere maggiore o uguale al 5% di quello instillato (il campionamento ottimale recupera > 30%).

Se si recupera meno del 5% di ciascuna aliquota instillata la procedura deve essere interrotta per evitare sovraccarico idrico e quindi un aumento del rischio emodinamico per il paziente.

Un volume minimo recuperato di 5 ml è necessario per l'analisi cellulare BAL; tutto il fluido recuperato deve essere raggruppato in un unico campione.

Occasionalmente, l'esame macroscopico del liquido può fornire indicazioni diagnostiche (in caso di emorragia endoalveolare il liquido recuperato sarà "a lavatura di carne", mentre uno di colore lattiginoso o marrone chiaro-beige con materiale flocculante che si deposita per gravità sul fondo del contenitore è

altamente suggestivo di proteinosi alveolare polmonare).

Sul campione estratto si possono eseguire indagini citologiche (citometrica per la conta cellulare e citopatologica per ricerca neoplastica) e microbiologiche (ricerca germi comuni, virus, miceti, aspergillo).

La conta cellulare consiste nel conteggio di macrofagi, linfociti, eosinofili, al fine di identificare un eventuale pattern cellulare infiammatorio (non devono essere presenti cellule epiteliali che indicherebbero una contaminazione del BAL da secrezioni bronchiali).

Alcuni pattern sono correlati a certi tipi diILD: eosinofilia nella polmonite eosinofila e nella tossicità da farmaci, linfocitosi nella sarcoidosi, nella polmonite da ipersensibilità e nella NSIP-cellulare, neutrofilia nelle pneumoconiosi, nella UIP avanzata e nella NSIP-fibrosante ed un quadro macrofagico nelleILD fumo- correlate [57,58,59,60].

Si possono osservare pattern cellulari misti: in questi casi bisogna considerare il tipo di cellula dominante.

Una conta cellulare anormale suggerisce una patologia tipoILD (vedi tabella 7).

Patologie associate ad un anormale conta cellulare nel BAL		
Linfociti > 15%	Eosinofili > 1%	Neutrofili >3%
Sarcoidosi (CD4/CD8:>4)	Polmonite eosinofila	Fibrosi polmonare idiopatica
NSIP	Tossicità da farmaci	Danno polmonare acuto-ARDS
Polmonite da ipersensibilità (HP)	Trapianto midollo osseo	Danno polmonare acuto-DAD
Tossicità da farmaci	Asma	Asbestosi
Collagenopatie	Sindrome di Churg-Strauss	Collagenopatie
Polmonite da radiazioni	Aspergillosi allergica broncopolmonare	Polmonite suppurativa
Polmonite organizzativa criptogenetica (COP)	Infezione da pneumocistis, elminti, miceti, batteri	Polmonite da aspirazione
Malattie linfoproliferative	Malattia di Hodgkin	Bronchite
Se linfociti>25%: suggestivo per granulomatosi (sarcoidosi,HP), NSIP,LIP,COP		
Se eosinofili>25%: diagnosi di polmonite eosinofila acuta o cronica		
Se neutrofili>50%: suggestivo per danno polmonare acuto (ARDS)		
Se aumento dei macrofagi:ILD fumo-correlate		

Tab.7: Conta cellulare anomala del BAL suggestiva di Pneumopatia.

Non ci sono studi clinici controllati che hanno valutato se il BAL eseguito di routine nei pazienti conILD migliora i risultati ma è stato recentemente dimostrato che l'aggiunta di tale procedura al quadro clinico-radiologico di pazienti con sospetto può modificare la diagnosi solo nell'8% dei casi [61,62].

Tuttavia, l'esperienza clinica suggerisce che i risultati (analisi cellulare, ricerche microbiologiche) possano aiutare nella diagnosi differenziale; per questo la decisione di ricorrere a questo esame dovrebbe essere determinata caso per caso considerando che comunque l'affidabilità diagnostica dipende dalla competenza del centro.

Nella valutazione dei pazienti con sospetta IPF, l'applicazione più importante del BAL è l'esclusione della polmonite da ipersensibilità cronica: una linfocitosi > 40% dovrebbe suggerire la diagnosi.

Le recenti linee guida ATS/ERS 2018 raccomandano di non praticare il lavaggio broncoalveolare (BAL) nei pazienti con sospetta IPF con pattern HRCT di UIP certa, mentre nel caso di UIP probabile o indeterminato o nel caso di possibile diagnosi alternativa di ILD viene consigliata l'esecuzione per la conta cellulare (l'accordo degli esperti è maggiore quando la diagnosi differenziale riguarda polmonite eosinofila, sarcoidosi, COP, polmoniti da infezioni) [34].

Biopsia transbronchiale (TBB)

Non ci sono evidenze scientifiche per dimostrare che la biopsia transbronchiale può essere utilizzata con sicurezza per diagnosticare l'IPF.

Le TBB sono utili nelle malattie broncocentriche o perilinfatiche in cui HRCT documenta la presenza di opacità a vetro smerigliato o noduli perilinfatici e in quelle con caratteristiche istopatologiche distintive che possono essere riconosciute anche in piccoli campioni come la sarcoidosi, la linfoangite carcinomatosa, la tubercolosi polmonite organizzativa [63,64,34].

Il tessuto ottenuto mediante biopsia transbronchiale è di solito inadeguato per una diagnosi sicura di UIP. Le biopsie sono piccole, soggette ad artefatti e potrebbero non essere rappresentative nella eterogeneità spaziale della malattia [65].

L'identificazione di un pattern istopatologico UIP richiede il rilevamento di reperti microscopici che generalmente possono essere pienamente apprezzati solo su una biopsia chirurgica. Aspetti come i foci fibroblastici se ottenuti tramite biopsia transbronchiale possono non essere specifici.

Le linee guida ATS/ERS 2018 non raccomandano l'utilizzo in caso di pazienti con pattern HRCT di UIP certo nel sospetto di IPF; non vengono fornite raccomandazioni per i pazienti con pattern probabile e indeterminato [34].

Biopsia polmonare chirurgica (SLB)

Secondo i criteri stabiliti nelle linee guida ATS/ERS circa i due terzi dei casi di IPF possono essere diagnosticati sulla base dei risultati clinici e radiologici tipici di UIP; tuttavia, solo il 7,5-12% dei pazienti con quadro sospetto è sottoposto a biopsia polmonare chirurgica nel Regno Unito.

Tale procedura è generalmente raccomandata per le persone con ILD non

diagnosticata a meno che ci siano controindicazioni; peraltro bisogna considerare che la biopsia polmonare chirurgica non garantisce sempre una diagnosi patologica definitiva, con tassi di specificità che vanno dal 34 al 100% [66,67].

Le biopsie dovrebbero essere eseguite su più lobi [68,69], e dovrebbero interessare aree di polmone patologico, ma non allo stadio terminale: modelli istologici differenti si possono trovare su campioni di sedi diverse.

Ogni biopsia dovrebbe misurare almeno 2-3 cm lungo l'asse pleurico e 1-2 cm in profondità [70]. Sono possibili anche biopsie che misurano 4 cm nella dimensione massima [71].

Diversi studi hanno confrontato la biopsia polmonare in VATS (Video Assisted Thoracic Surgery) con quella per via toracotomica: la resa diagnostica è simile [72,73].

La VATS è associata a una minore morbilità e durata della degenza rispetto alla toracotomia.

La degenza ospedaliera media associata alla biopsia VATS è di 2-4 giorni, con tassi di mortalità del 3-4% e una percentuale complessiva di complicanze fino al 16% [66,67].

La decisione su quale procedura eseguire deve basarsi sulle caratteristiche individuali del paziente e sull'esperienza chirurgica del centro; tuttavia attualmente si propende per la VATS [74,34].

Le complicazioni più comuni sono la perdita d'aria persistente (3-12%), l'esacerbazione della ILD conseguente allo stress meccanico della ventilazione polmonare, il sanguinamento e la ritardata guarigione della ferita. Inoltre, il 57% dei pazienti riferisce dolore al sito di incisione ancora 6-12 mesi dopo l'intervento [75].

Il rischio di complicanze post biopsia è maggiore nei pazienti con diagnosi di IPF rispetto a quelli con altre ILD, soprattutto in termini di riacutizzazioni acute [76,77,78]; la mortalità a 30 giorni può aumentare al 18,8%.

La SLB (Surgical Lung Biopsy) è stata considerata come la procedura ideale per ottenere campioni biotici adeguati. Tuttavia, in molti pazienti, il rapporto rischio/beneficio è inaccettabile.

Morbilità e mortalità sono maggiori nei soggetti più anziani, nei pazienti con comorbilità significative o grave insufficienza respiratoria e nei casi con una diagnosi finale di IPF [79,76].

Pertanto in tali pazienti i rischi della biopsia polmonare chirurgica possono superare i benefici di stabilire una diagnosi sicura di IPF. La decisione finale sull'opportunità o meno di eseguire una SLB deve essere adattata alla situazione clinica.

Criobiopsia transbronchiale (TBCB)

La diagnosi di IPF è probabilmente sottovalutata poiché i risultati HRCT definitivi per la polmonite interstiziale usuale (UIP) sono presenti solo in circa il 50% dei casi ed il ricorso alla SLB è inferiore alle reali indicazioni per lo scarso rapporto rischio/beneficio.

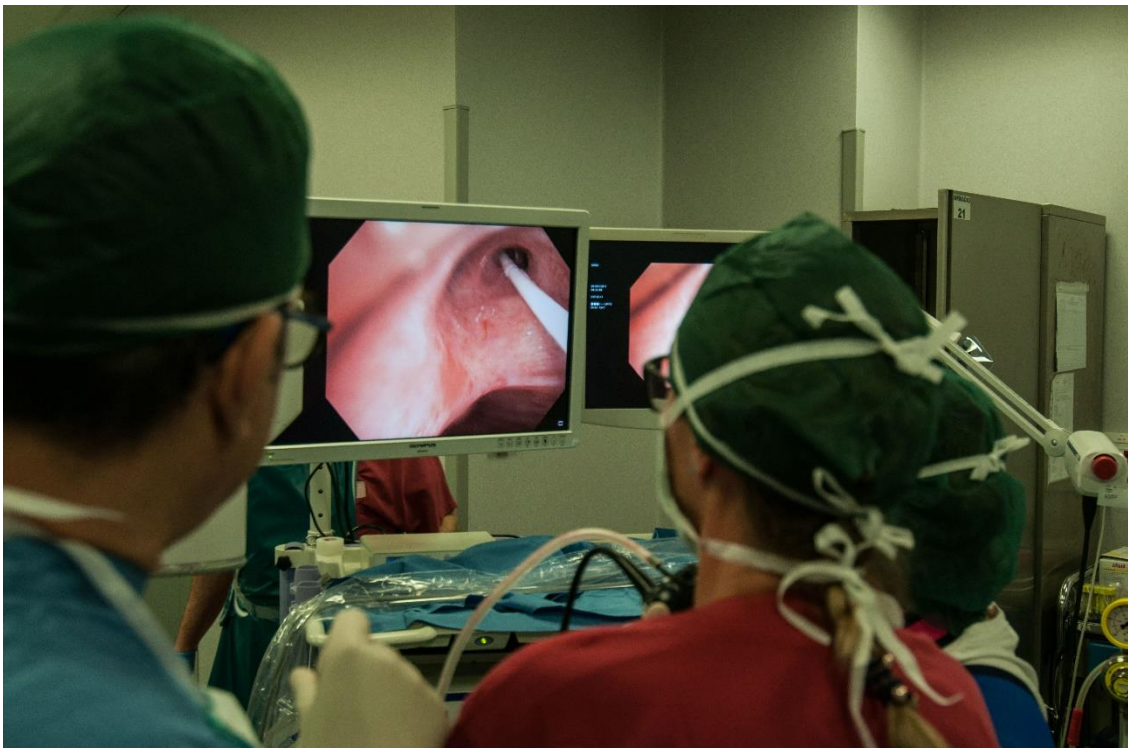
La ricerca di un'alternativa minimamente invasiva alla biopsia chirurgica è motivata dalla necessità di ridurre il tasso di complicanze e ottenere campioni rappresentativi di tessuto polmonare [54].

La recente introduzione della criobiopsia transbronchiale (TBCB) come tecnica promettente e sicura sta generando un notevole interesse nella comunità scientifica interessata a queste patologie [80,81].

La TBCB è stata descritta per la prima volta nel 2008 [82,80]; da allora si è dimostrata uno strumento diagnostico sicuro, minimamente invasivo ed efficace per la diagnosi istologica di ILD, con una resa diagnostica fino al 74-80% per cui è emersa come una possibile alternativa alla biopsia polmonare chirurgica con morbilità e mortalità potenzialmente inferiori [83,84].

Le recenti linee guida ATS/ERS pubblicate nel settembre 2018 considerano la criobiopsia una possibilità diagnostica in caso di pattern UIP HRCT probabile o indeterminato o in caso di possibili diagnosi alternative.

Inoltre raccomandano che la TBCB sia praticata in centri con esperienza al riguardo e lasciano ancora senza risposta una serie di problematiche che dovranno essere oggetto di ulteriori dimostrazioni scientifiche (raffreddamento della sonda, numero dei campioni, sedi di prelievo, ecc.) [34].



Procedura

La tecnica di criobiopsia si è evoluta negli anni ed è attualmente eseguita con variazioni significative tra i centri.

Non è stabilito un protocollo di valutazione pre-procedurale ben definito ma dovrebbero essere eseguiti preventivamente gli esami ematochimici (con emocromo, funzione renale e test coagulazione), la spirometria con il test della diffusione del CO (DLCO), l'emogasanalisi e l'ecocardiografia per valutare le pressioni polmonari.

Una diatesi emorragica, la FVC<50% e il DLCO<35% dovrebbero essere considerate controindicazioni relative [85].

Nella maggior parte dei centri, la criobiopsia viene di solito eseguita in pazienti intubati con tubo tracheale o in broncoscopia rigida con posizionamento preventivo di catetere di Fogarty per controllare eventuali emorragie; peraltro, altri praticano la procedura in sedazione senza intubazione e senza posizionamento di un bloccaggio bronchiale e alcuni utilizzano la maschera faringea [86,87,88].

L'impiego dell'anestesia generale o la sedazione profonda permettono anche di controllare la tosse che durante la procedura costituisce una criticità perché causa lo spostamento della criosonda comportando biopsie troppo prossimali (rischio emorragia) o troppo distali (rischio pneumotorace). I pazienti profondamente sedati possono mantenere una respirazione spontanea, mentre l'anestesia generale richiede ventilazione meccanica. I sostenitori della sedazione profonda la motivano in quanto permette di evitare la tradizionale ventilazione a pressione positiva o la jet-ventilation.

Le criosonde sono cateteri flessibili lunghi 90 cm con punte metalliche smussate che vengono fatte avanzare attraverso il canale operativo del broncoscopio flessibile (introdotto nel tubo tracheale o nel broncoscopio rigido) fino ad entrare in contatto con il tessuto che si vuole campionare.

All'interno della sonda viene fatto fluire gas allo stato liquido (biossido di carbonio CO₂) che espandendosi sulla punta, per effetto Joule-Thompson, la raffredda a circa -75°C (in teoria si potrebbe usare protossido di azoto che raggiunge una temperatura di -89° e riduce i tempi di congelamento; il suo uso però è impedito da aspetti normativi).

Il tessuto polmonare congelato aderente alla punta della criosonda viene avulso meccanicamente, consentendone l'immediata estrazione [89].

Il broncoscopio flessibile e la criosonda con adeso il tessuto polmonare congelato vengono quindi rimossi in blocco dalle vie aeree; questo è necessario perché il campione ottenuto è significativamente più grande del canale operativo del broncoscopio e quindi non può essere estratto attraverso di esso.

La punta della criosonda con biopsia congelata viene quindi immersa in soluzione salina per essere scongelata rapidamente e quindi il materiale prelevato può essere facilmente separato dalla sonda.

Si possono usare criosonde del diametro esterno di 1.1, 1.7 e 2.4 mm [90,91,80]. Utilizzando quella più piccola potrebbe essere necessario un tempo di congelamento più lungo per ottenere la stessa dimensione del campione [92,86].

La capacità di congelamento, oltre al gas utilizzato, è ulteriormente influenzata dal sistema criochirurgico (ERBE CA vs. ERBE CA II®) e dalle caratteristiche del tessuto polmonare sottoposto a biopsia.

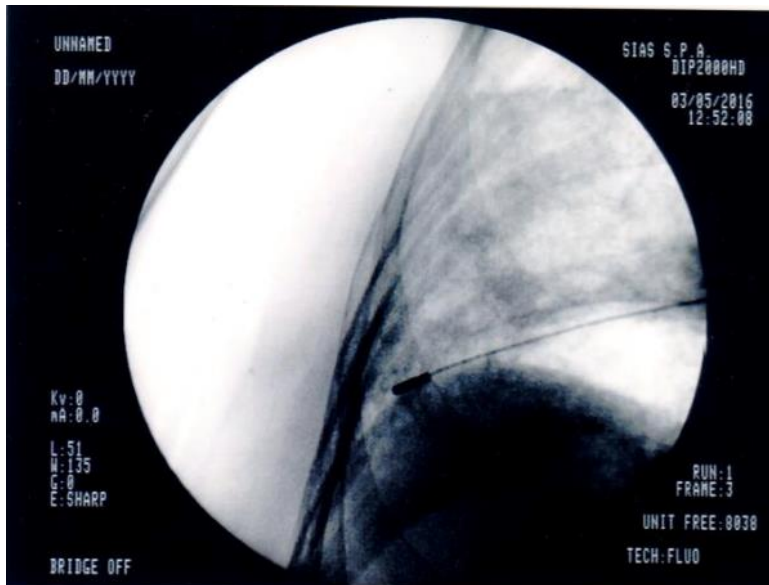
Diversi studi pilota hanno descritto l'uso di una sonda più piccola da 1,1 mm, che può essere introdotta attraverso una guaina posizionata nel canale di lavoro del broncoscopio, consentendo allo strumento di rimanere in posizione durante il recupero del crioscopio e riducendo le preoccupazioni per il sanguinamento endobronchiale incontrollato [93]. Tuttavia, non è chiaro se queste criobiopsie più piccole producono rese diagnostiche simili a quelle descritte.

Le biopsie devono essere praticate in sede periferica polmonare, di solito nelle aree più interessate da malattia, evitando il parenchima polmonare più densamente fibrotico per il limitato valore diagnostico.

Criobiopsie ad una distanza inferiore di 1 cm dalla pleura sono associate a un rischio significativamente maggiore di pneumotorace; viceversa, quelle eseguite in modo troppo prossimale aumentano il rischio di gravi emorragiche [94,90].

Inoltre, le biopsie ottenute in sede più distale vicino al lobulo secondario forniscono campioni istologici più appropriati per la diagnosi di UIP.

Pertanto è raccomandabile condurre la procedura sotto guida fluoroscopica facendo avanzare la criosonda che, dopo essere entrata in contatto con la pleura viscerale, deve essere ritratta di 1 cm [86,90].



Il numero ottimale di biopsie non può essere stabilito in modo uniforme perché è influenzato dalla dimensione del campione, dal grado di eterogeneità della malattia e dalla distribuzione della patologia; nella maggior parte dei centri vengono generalmente effettuati 3-5 prelievi. Biopsie eseguite in differenti segmenti dello stesso lobo sono associate a una maggiore resa diagnostica rispetto a quelle nello stesso segmento [95].

L'elaborazione dei campioni di TBCB è simile alle altre tecniche bioptiche polmonari: fissazione in formalina, inclusione in paraffina e preparazione di vetrini di ematossilina e eosina (EE).

Un aspetto chiave nella gestione e nell'elaborazione del materiale è l'attenzione nella manipolazione del tessuto durante l'intero processo, dalla rimozione del campione dalla sonda all'inserimento in paraffina.

La separazione forzata del tessuto dalla punta della sonda può diminuire la resa diagnostica; lo scongelamento nell'acqua calda a mano può facilitare la rimozione del campione.

Inoltre è importante orientare il tessuto nel blocco di paraffina in modo da massimizzare l'area superficiale sul vetrino [96].

Al termine della procedura (se sono presenti desaturazione, tosse persistente e/o dolore toracico) o 2 ore dopo se il paziente è asintomatico bisogna eseguire un esame radiografico o ecografico del torace per valutare l'eventuale presenza di pneumotorace [97].

Un panel di esperti [96] raccomanda che la TBCB venga eseguita da pneumologi interventisti opportunamente addestrati in un centro con esperienza di criobiopsia e familiarità con procedure broncoscopiche terapeutiche avanzate (gestione dell'emottisi massiva e pneumotorace iperteso) con accesso immediato alla radiologia interventistica e alla chirurgia toracica.

Questo concetto è stato ribadito anche nelle recenti linee guida ATS/ERS del 2018 [34].

Una procedura sicura e tecnicamente efficace comporta quanto segue [85]:

- ossigenazione e ventilazione adeguate;
- recupero di biopsie di dimensioni sufficienti da regioni rappresentative dianormalità per consentire una valutazione istopatologica di alta qualità;
- posizionamento ottimale della criosonda rispetto alla pleura per minimizzare il rischio di pneumotorace e sanguinamento maggiore;
- gestione del sanguinamento e dello pneumotorace.

Sicurezza della criobiopsia

Il profilo di sicurezza è paragonabile alla biopsia transbronchiale convenzionale; non è stato suggerito alcun limite di età all'esecuzione della procedura a patto che le comorbidità e l'idoneità all'anestesia siano ritenute idonee [98].

Le principali complicanze riferite sono lo pneumotorace e il sanguinamento; inoltre in letteratura è stato riportato un caso di pneumomediastino [99].

Il tasso di pneumotorace varia notevolmente tra i diversi studi, da meno dell'1% a quasi il 30% tra i vari centri: quando è necessario il drenaggio (circa 4%) il tempo di permanenza è simile a quello dopo VATS [100,101,98].

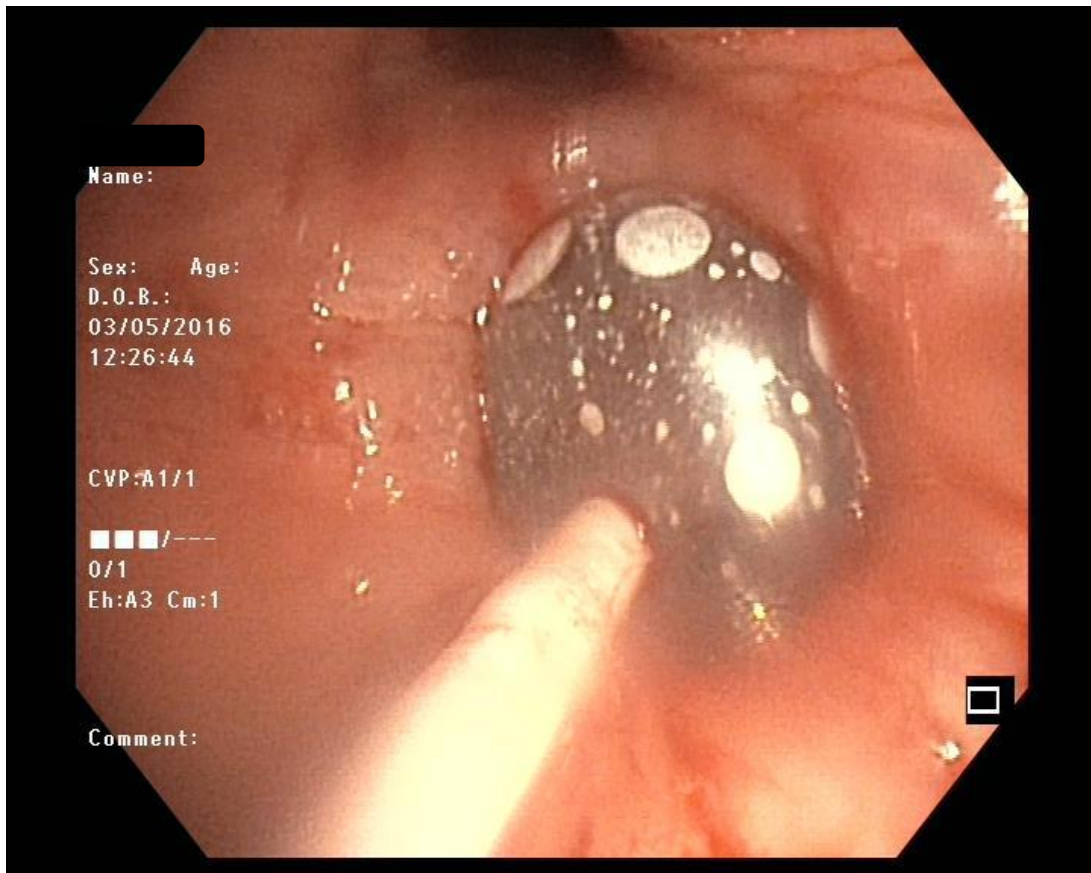
Il rischio di questa complicanza aumenta se l'istologia inquadra una UIP, con una reticolazione fibrotica sulla HRCT, con biopsie eseguite vicino alla pleura e nei pazienti intubati rispetto a quelli in sedazione profonda [90,98].

Il sanguinamento durante la criobiopsia è comune [102,103,104,86], ma in genere facilmente controllato per via endoscopica mediante l'utilizzo di bloccanti bronchiali come palloncino Fogarty® o altri strumenti [105,90,98].

La maggior parte degli studi classifica l'emorragia in 4 classi:

- nessun sanguinamento;
- lieve emorragia (ad esempio, richiede solo aspirazione);
- sanguinamento moderato (richiede procedure endoscopiche come occlusione bronchiale o instillazione di soluzione fisiologica fredda);
- sanguinamento grave (causa di instabilità emodinamica o respiratoria, può richiedere tamponamento o altri interventi chirurgici, trasfusioni o assistenza in unità di terapia intensiva).

In letteratura non sono riportati casi di emorragia grave e letale quando vengono gestiti con il catetere di Fogarty® [100], ma si è a conoscenza di casi inediti in cui tale condizione ha portato alla morte quando non era stato impiegato preventivamente un blocco bronchiale.



Le principali controindicazioni sono i valori anomali dei test della coagulazione, l'uso di clopidogrel o di altri nuovi farmaci antiplastrinici o di anticoagulanti e la trombocitopenia ($<50 \times 10^9/L$).

La terapia con aspirina e l'ipertensione polmonare > 50 mm/hg sono considerate una controindicazione relativa al TBCB [106,102].

Inoltre in alcuni studi anche un'ipossiemia significativa, definita come $PaO_2 < 55-60$ mm Hg nell'aria è considerata una controindicazione [107, 90].

Esacerbazioni di ILD sono rare (0,5%) e solo una mortalità è stata riportata (0,2%) [108].

Per quanto riguarda la funzionalità respiratoria mentre pazienti con una più grave compromissione della capacità vitale forzata (FVC) hanno un rischio più elevato di sviluppare eventi avversi dopo biopsia chirurgica [98], le complicazioni dopo criobiopsia sembrano invece essere indipendenti dai valori della funzione polmonare: quindi, secondo questi dati, pazienti che non possono sottoporsi a VATS per deficit respiratori funzionali potrebbero essere presi in considerazione per una TBCB.

Peraltro la capacità di diffusione <35% o capacità vitale forzata (FVC) <50% dovrebbe essere considerata una controindicazione relativa alla criobiopsia per motivi di sicurezza.

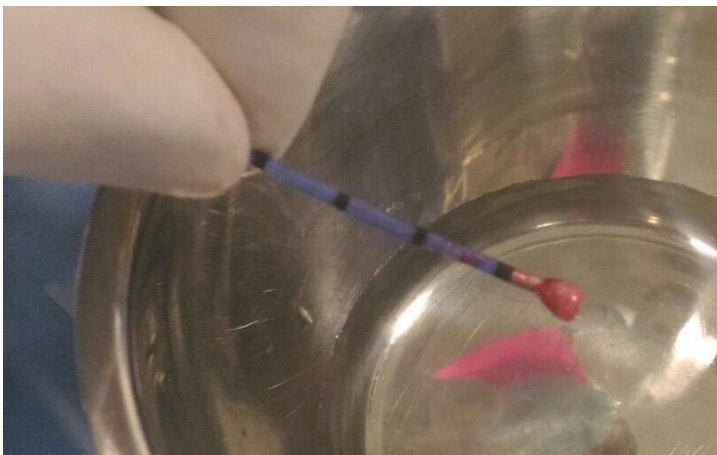
Nei pazienti con ILD fibrosante grave, l'analisi rischio-beneficio è meno vantaggiosa perché il significato prognostico di una diagnosi istologica esatta è ridotto [109].

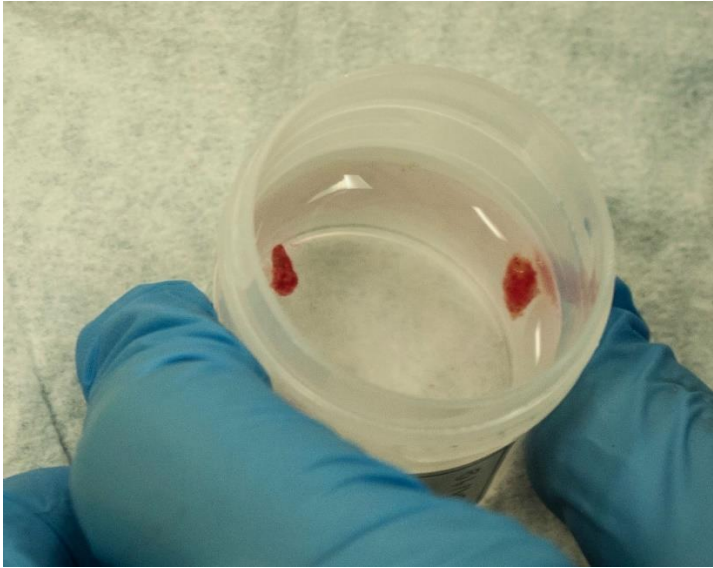
Infine nel confronto tra biopsia chirurgica e criobiopsia bisogna anche considerare i tempi di ospedalizzazione (per la prima variano tra 4 e 8 giorni, con pazienti anziani a maggior rischio di ospedalizzazione prolungata mentre per la seconda sono di solito più brevi e potrebbe anche essere eseguita in ambiente ambulatoriale) e i costi delle procedure (in uno studio condotto in Spagna è stato riportato un risparmio tra 953,09 e 1,925,29 EUR per ogni paziente sottoposto a TBCB rispetto a quelli che avevano praticato una VATS) [110,111,112,98].

Resa diagnostica

Rispetto alla biopsia transbronchiale i vantaggi della criobiopsia sono la dimensione del campione più grande e la mancanza di artefatti da schiacciamento che possono distorcere l'architettura del tessuto.

Il campione prelevato ha una dimensione media di 9-64 mm² [80,107].





Tuttavia, le criobiopsie sono significativamente più piccole di quelle chirurgiche [84] e questo ha implicazioni in termini di tasso diagnostico: fino all'80% per le prime e maggiore del 95% per queste ultime.

Inoltre, le TBCB sono generalmente ottenute da una sede polmonare più centrale (lontano dalla superficie pleurica), e ciò può ridurre ulteriormente la resa diagnostica per IPF [84].

Il rendimento diagnostico e il tasso di complicanze è variabile ed è operatore dipendente.

L'approccio patologico alla TBCB e ad altri campioni di biopsia polmonare è simile: in alcuni casi, può essere fatta una diagnosi istologica specifica (ad es. PLCH, malignità) mentre in altri viene identificato un pattern di lesione (ad es. UIP) utile alla diagnosi multidisciplinare con l'integrazione di riscontri clinici e di HRCT.

Anche i pattern istopatologici, che richiedono un campione più grande per la diagnosi (ad es. UIP), possono essere identificati attraverso criobiopsia seppur con una frequenza più bassa (75-80 vs > 95%).

Circa il 20% delle TBCB non è diagnostico: per tessuto polmonare inadeguato (per esempio se è stato prelevato materiale soprattutto dalla parete delle vie aeree), per tessuto polmonare normale (errore di campionamento in sede inadeguata) o per tessuto polmonare con patologia molto lieve e non specifica.

La dimensione ottimale del campione bioptico polmonare nella diagnosi di ILD non è stata stabilita anche se alcuni ritengono ottimali per una buona performance diagnostica dei prelievi di almeno 25 mm² [94].

La diagnosi istologica può essere ottenuta anche con un solo campione qualitativamente significativo, indipendentemente dal numero totale di campioni utili. Tuttavia, Casoni et al. hanno mostrato che l'area dei prelievi è fortemente correlata alla resa diagnostica. In questo studio, l'area media dei campioni era 41,99 ± 14,43 mm² nel gruppo che ha ricevuto una diagnosi morfologica e 28,43 ± 11,66 mm² nei casi senza una diagnosi morfologica:

viene suggerito che prelievi adeguati dovrebbero misurare almeno 5 mm di diametro che corrisponde a quello di un campo intero con un obiettivo 4x su molti microscopi [94,90].

La diagnosi istologica del pattern UIP è fattibile su TBCB [86]: gli elementi caratterizzanti (fibrosi a chiazze, focolai fibroblastici, aree a nido d'ape) sono identificabili con elevata confidenza nei criocampi [94].

La variabilità inter-osservatore tra esperti patologi per la diagnosi del pattern UIP su criobiopsia era simile a quella descritta per la biopsia chirurgica (SLB) (0,72 vs 0,86) [83].

Le evidenze scientifiche indicano chiaramente che, in caso di sospetta IPF, la specificità e il valore predittivo positivo (PPV) di piccole biopsie trans bronchiali (TBB) convenzionali per UIP sono molto alti (specificità 92-100% e PPV 86-100%) [82], ma con una sensibilità molto bassa (30%).

In questo contesto, la criobiopsia presenta una sensibilità maggiore rispetto a TBB (dal 30% di resa diagnostica per TBB all'80% per TBCB).

C'è accordo sul fatto che la criobiopsia è chiaramente utile per confermare la presenza di UIP in caso di sospetta/possibile IPF.

In quelli sospetti di non IPF, in particolare HP e NSIP, la diagnosi è molto più impegnativa e il problema è più complesso. In questa impostazione, la TBB non ha alcun ruolo, con un valore predittivo negativo per una diagnosi UIP compresa tra il 46% e il 55% [112].

I pattern istopatologici NSIP o DIP o altri più rari possono essere identificati anche incampioni ottenuti da criosonde, sebbene con una frequenza inferiore rispetto alla biopsia chirurgica [95].

Le evidenze scientifiche confermano senz'altro il ruolo della criobiopsia nella maggior parte dei casi discussi dal gruppo multidisciplinare (MDD).

Tuttavia, le preoccupazioni ruotano attorno alla possibilità di perdere "caratteristiche ausiliarie rilevanti" (ad esempio granulomi o fibrosi centrolobulare suggestiva di HP) o "pattern coesistenti" (ad es.: caratteristiche istologiche miste di UIP e NSIP nello stesso paziente) quando si utilizzano campioni di dimensioni inferiori a quelli delle biopsie chirurgiche.

La medicina molecolare mostra chiaramente che molte differenze attuali (patologiche e radiologiche) che diversificano le varie entità morfologiche potrebbero non essere così importanti; infatti diverse entità patologiche-radiologiche con lo stesso difetto molecolare sembrano comportarsi dal punto di vista patogenetico allo stesso modo (ad esempio le telomeropatie hanno la stessa prognosi infausta, indipendentemente dal fatto che assomiglino a NSIP, UIP o HP) per cui le vere differenze potrebbero essere determinate soprattutto dagli aspetti biomolecolari.

La prova definitiva del valore della criobiopsia probabilmente non starà nella capacità di identificare la stessa quantità di "caratteristiche ausiliarie" attualmente rilevate dalla biopsia chirurgica, ma sarà dimostrare che il campione ottenuto è affidabile per analisi molecolare [113].

Indicazioni

I criteri clinico-radiologici utilizzati per selezionare i pazienti per la biopsia potrebbero dover essere rivalutati. Infatti la disponibilità della criobiopsia e la morbilità inferiore rispetto alla biopsia chirurgica potrebbero ampliare l'indicazione per l'accertamento istopatologico invasivo:

pazienti con ILD senza una diagnosi dopo l'integrazione di profilo clinico, test di laboratorio, funzionalità respiratoria e pattern HRCT, in considerazione del miglior rapporto rischio/benefici, potrebbero essere sottoposti a TBCB invece di SLB in centri con una consolidata esperienza in MDD e TBCB [96]: soprattutto casi di ILD fibrosante cronica con bassi valori di funzionalità polmonare sono associati a un più alto tasso di complicanze significative dopo SLB.

- un tipico pattern UIP su HRCT è generalmente sufficiente per la diagnosi; peraltro in certi contesti clinici può essere necessaria una valutazione istologica [96]: in pazienti che clinicamente presentano elementi di dubbio (esposizioni equivoche o sospetto di una malattia vascolare o di una collagenopatia occulta) per cui indizi istopatologici (ad esempio, piccoli granulomi, focolai di organizzazione di polmonite, follicoli linfoidi, infiammazione cronica polmonare e pleurica) sulla criobiopsia potrebbero condurre ad altre diagnosi [114,115].
- i pazienti con una bassa probabilità di avere esacerbazione acuta (EA) di IPF che presentano una malattia polmonare subacuta che non progredisce rapidamente potrebbero trarre beneficio da TBCB.

Peraltro in considerazione di casi documentati di EA dopo criobiopsia il rischio deve essere valutato prima della procedura, in particolare in caso di recente peggioramento [76,79]: l'insorgenza recente di aree irregolari a vetro smerigliato sulla scansione HRCT, il deterioramento funzionale e/o l'aumento della dispnea durante lo sforzo nell'ultimo mese e/o alti livelli di marcatori infiammatori o più specifici (KL-6) potrebbero essere perditori di alto rischio di EA [116].

Aspetti istopatologici delle IPF

Il primo obiettivo dell'anatomopatologo dovrebbe essere provare a fare una diagnosi specifica (ad esempio, carcinoma, istiocitosi a cellule di Langerhans polmonare, ecc) o identificare caratteristiche distintive che restringono notevolmente la diagnosi differenziale (come i granulomi).

Se una diagnosi definitiva non potesse essere fatta, il patologo dovrebbe cercare di identificare un pattern istologico che può essere correlato con i risultati clinici e radiologici al momento della discussione multidisciplinare.

I pattern più ricorrenti sono l'“Usual Interstitial Pneumonia” (UIP) e quello “Non-specific interstitial pneumonia” (NSIP).

Pattern UIP

Il pattern istopatologico UIP è caratteristico dell'IPF ma può anche essere presente in altre malattie fibrosanti come CVD, HP, tossicità da farmaci e pneumoconiosi (soprattutto asbestosi).

Per questo motivo, viene utilizzata la terminologia “UIP/IPF” per distinguere il pattern UIP in IPF da UIP che si verifica in altre condizioni.

Le caratteristiche patologiche includono:

- fibrosi densa che causa il rimodellamento dell'architettura polmonare con frequente fibrosi a nido d'ape (honeycombing); l'infiammazione è generalmente lieve. L'honeycombing microscopico è costituito da spazi aereistici frequentemente rivestiti da epitelio bronchiolare e riempiti di muco e talora cellule infiammatorie;
- foci fibroblasti (costituiti da fibroblasti proliferanti e miofibroblasti) tipicamente posizionati ai bordi di cicatrici dense; essi costituiscono l'eterogeneità temporale della lesione e sono un aspetto costante dell'IPF;
- distribuzione eterogenea delle lesioni (eterogeneità spaziale) in cui aree di fibrosi con cicatrizzazione e a nido d'ape si alternano con aree di parenchima meno coinvolto o normale (fibrosis patchy) [49];
- frequente distribuzione subpleurica e parasettale.

Nella IPF dovrebbero essere assenti aspetti specifici che possono richiamare altreILD, come il danno alveolare diffuso (DAD), polmonite organizzativa (OP), polmonite da ipersensibilità e flogosi granulomatosa.

Una eccezione è la riesacerbazione acuta di UIP/IPF in cui è presente DAD e aspetti di OP sovrapposti al pattern UIP.

Alcune biopsie possono rivelare un tipo di fibrosi che non soddisfa i criteri sopra indicati per il pattern UIP [49]. Queste possono essere definite "fibrosi non classificabili".

In assenza di caratteristiche istologiche diagnostiche di una condizione alternativa (ad esempio, polmonite da ipersensibilità, sarcoidosi, ecc.), tali biopsie possono essere coerenti con la diagnosi di IPF nell'apposito contesto clinico e radiologico e dopo un'attenta discussione multidisciplinare.

Le linee guida dell'ATS/ERS 2018, facendo proprie le conclusioni della revisione della Fleischner Society” [117], classificano il pattern istopatologico in 4 categorie (vedi tabella 8) (classificazione coerente con i termini usati anche per i pattern HRCT):

- UIP
- UIP Probabile
- UIP Indeterminata
- Diagnosi alternativa

Pattern istopatologico UIP			
UIP	Probabile UIP	Indeterminata UIP	Diagnosi alternativa
Fibrosi densa con distorsione strutturale (es.:fibrosi cicatriziale e/o honeycombing)	Alcuni aspetti della colonna 1 ma in misura non sufficiente per una diagnosi di UIP definitivae assenza di aspetti che suggeriscono diagnosi alternative o solo honeycombing	Fibrosi con o senza distorsione strutturale, con caratteristiche che suggeriscono altri pattern oltre a UIP o caratteristiche che suggeriscono un pattern UIP secondario ad altre cause*	Aspetti di altri pattern istologici di IIPs (es.: assenza di foci fibroblastici o fibrosi sparsa) in tutte e biopsie
Predominante distribuzione della fibrosi subpleurica e/o parasettale		Qualche aspetto istologico della colonna 1 ma con altre caratteristiche che suggeriscono una diagnosi alternativa**	Aspetti istologici indicativi di altre malattie (polmonite da ipersensibilità, istiocitosi X, sarcoidosi, LAM).
Irregolare interessamento fibrotico del parenchima polmonare			
Foci fibroblastici			
Assenza di aspetti che suggeriscono diagnosi Alternative			
*granulomi, membrane ialine (oltre a quelle associate ad esacerbazione acuta di IPF), marcata fibrosi pleurica, polmonite organizzativa			
**le caratteristiche che dovrebbero suggerire la possibilità di una diagnosi alternativa includono un infiltrato infiammatorio cellulare distante da aree di honeycombing, iperplasia linfoide prominente includente il centro germinativo, e una distribuzione nettamente bronchiolocentrica con estesa metaplasia peribronchiolare			
Linee guida ATS/ERS 2018			

Tab.8: Pattern Istopatologico UIP.

Tuttavia, questi criteri non tengono conto del crescente riconoscimento di pattern UIP che si verificano in malattie diverse dall'IPF, come HP cronico e CTD.

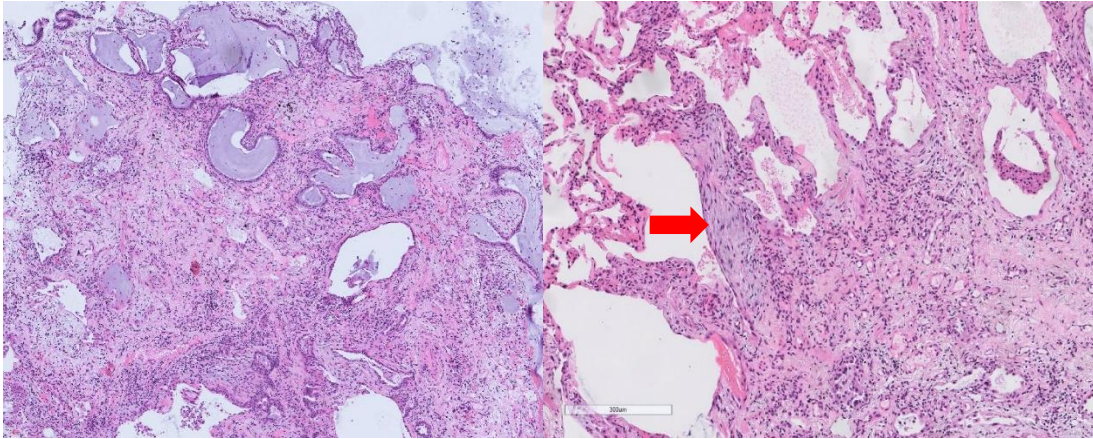


Fig. 1a,b. Pattern UIP: a) Diffusa fibrosi cicatriziale, bronchiolizzazione alveolare ed honeycombing; b) fibrosi interstiziale, focolai fibroblastici, interessamento irregolare.

Pattern NSIP

Le caratteristiche istologiche sono rappresentate in proporzioni variabili, da fibrosi e flogosi (infiltrati di tipo linfoplasmacellulare) a carico dell'interstizio alveolare.

A seconda del prevalere dell'una o dell'altra si distinguono 2 tipi:

- NSIP cellulata: prevalgono gli infiltrati flogistici;
- NSIP fibrosante: predomina una fibrosi densa o lassa che infiltra uniformemente i setti interalveolari.

Il quadro è caratterizzato da omogeneità spaziale (le aree interessate possono essere multipli, intervallate con parenchima conservato, ma all'interno di ogni singolo focolaio le lesioni sono omogenee) e omogeneità temporale (le aree colpite sono ovunque nella stessa fase di evoluzione); i foci fibroblastici sono pochi o assenti.

Diversi pattern anatomopatologici possono coesistere nello stesso paziente in differenti regioni del polmone (in particolare pattern UIP e NSIP in pazienti con IPF) [68].

Inoltre, questi quadri istologici non sono specifici di una sola malattia in quanto alcuni di loro possono presentarsi in diverse entità patologiche.

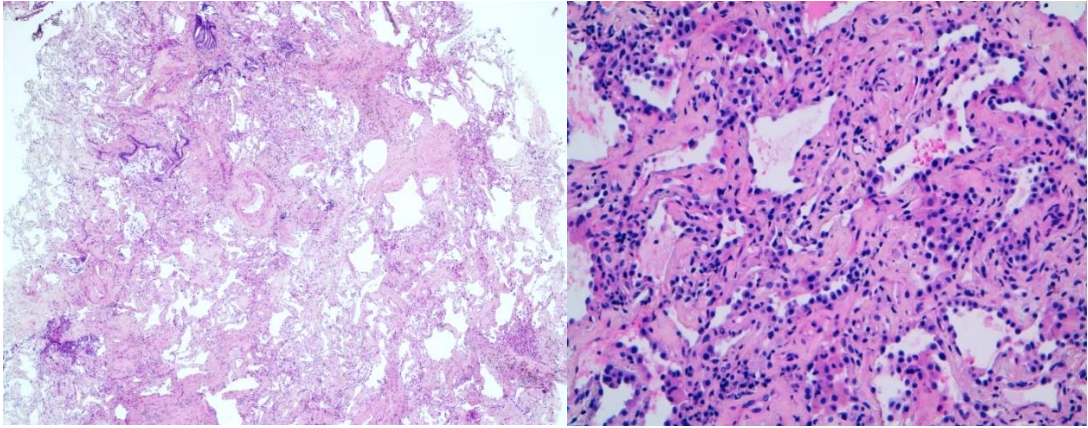


Fig. 2a,b. Pattern NSIP fibrosante: a) Fibrosi interstiziale diffusa, assenza di rimodellamento strutturale; b) Fibrosi interstiziale, assenza di foci fibroblastici, scarsa infiammazione.

Capitolo II

Introduzione

La distinzione tra fibrosi polmonare idiopatica (IPF) e altre malattie polmonari interstiziali (ILD) è fondamentale in termini di gestione diagnostica e terapeutica. Le ultime linee guida ATS/ERS/JRS/ALAT [118] per l'IPF, dopo una revisione di venticinque articoli e una sotto selezione di tredici, hanno concluso che una diagnosi specifica si ottiene mediante criobiopsia polmonare trans-bronchiale (TBLC) in più di quattro casi su cinque (83%), con il restante ritenuto indeterminato (17%). Il panel ha sottolineato la necessità di standardizzare la procedura tra i diversi centri, sottolineando i tassi eterogenei di eventi avversi riportati nelle serie pubblicate; hanno identificato le domande chiave a cui è necessario rispondere prima di raccomandare la procedura e infine hanno affermato che è ragionevole per centri e professionisti esperti con una comprovata esperienza di procedure eseguite in modo sicuro continuare a eseguire TBLC in pazienti il cui modello della tomografia computerizzata ad alta risoluzione (HRCT) è "probabile UIP", "indeterminato" o suggestivo per una diagnosi alternativa. Tuttavia, il panel raccomanda vivamente e incoraggia i professionisti a lavorare per lo sviluppo di un approccio standardizzato che ottimizzi l'equilibrio tra valore diagnostico e tasso di complicanze. Riconoscendo queste raccomandazioni, abbiamo incrementato la nostra esperienza con TBLC, aggiungendo i nostri dati alla letteratura e cercando di contribuire a rispondere alle dichiarazioni espresse dal panel nelle linee guida ATS/ERS/JRS/ALAT.

A partire dagli anni Settanta, la crioterapia è stata utilizzata in associazione con la broncoscopia per molti anni per il trattamento e l'escissione delle lesioni endobronchiali, in particolare in caso di ostruzione bronchiale [119,120,121,122,123,124]. Dal 2009, quando un gruppo tedesco di esperti ha utilizzato la criosonda per ottenere campioni in pazienti affetti da malattia polmonare diffusa [125], molti centri hanno iniziato ad eseguire questa procedura [126,127,128,129,130]. Il volume di tessuto polmonare ottenuto da TBLC è stato segnalato per essere significativamente superiore a quello ottenuto con pinze convenzionali, e la procedura ha mostrato un eccellente profilo di sicurezza [126,130,131].

Il primo articolo pubblicato sulla standardizzazione nella TBLC è stato presentato nel 2015 [132] e gli autori hanno sottolineato aspetti tecnici che sono ancora oggi oggetto di discussione: intubazione con tubo endotracheale contro broncoscopio rigido, forma di sedazione, gestione e quantificazione oggettiva del sanguinamento.

Successivamente è stata pubblicata una dichiarazione di consenso degli esperti volta a definire quali aspetti principali necessitano di standardizzazione: selezione del paziente, interpretazione del patologo, controindicazioni e profili di sicurezza, considerazioni tecniche e ambientali, qualificazione e curriculum dei professionisti che eseguono la procedura [133].

Le opinioni sull'utilità e la sicurezza della TBLC per diagnosticare l'ILD rimangono ancora controverse; mentre l'uso della biopsia polmonare chirurgica (SLB) è sempre più messo in discussione nella comunità ILD, le recenti linee guida sull'IPF raccomandano ancora la SLB come opzione nei pazienti con possibile modello UIP / sospetto IPF quando la diagnosi non può essere stabilita clinicamente e radiologicamente [118,134]; la TBLC sembra essere più sicuro e più conveniente della SLB e il suo contributo alla diagnosi nel contesto della discussione multidisciplinare (MDD) è considerato essenzialmente equivalente a quello di SLB quando sono disponibili competenze locali (medici, radiologi e patologi). Gli obiettivi di questo studio sono di riportare un'ampia serie di pazienti sottoposti a TBLC per la valutazione diagnostica dell'ILD, di definire una strategia di campionamento associata ad un'elevata resa diagnostica e ad un rapporto rischio/beneficio favorevole e di indagare l'impatto della TBLC sul decorso diagnostico della sospetta ILD, nel contesto di una discussione multidisciplinare.

Obiettivi dello studio

Abbiamo valutato retrospettivamente la casistica delle criobiopsie transbronchiali eseguite nella UOC Pneumologia ad Indirizzo Interventistico dell'Ospedale Policlinico San Martino dal marzo 2016 all'ottobre 2020, reinserendo sia il pattern radiologico che quello istopatologico con le nuove classificazioni [118].

L'obiettivo principale del presente studio è valutare l'impatto della TBLC sull'ipotesi diagnostica provvisoria espressa dal panel MDD.

Gli obiettivi secondari sono: valutare la resa diagnostica nel nostro centro, valutare le complicanze della procedura e considerare i vantaggi economici della criobiopsia rispetto alla VATS.

Metodi

Popolazione di pazienti

Da marzo 2016 a ottobre 2020 abbiamo riscontrato 485 casi di malattia infiltrativa polmonare diffusa nel nostro MDD dedicato. La TBLC è stata proposta a 123 pazienti, 8 pazienti hanno rifiutato la procedura; pertanto, sono state eseguite 115 criobiopsie.

Tra i pazienti arruolati 75 erano uomini (65,2%); l'età media generale era di 69,9 anni. Le caratteristiche della popolazione sono riassunte nella tabella 9. Tredici pazienti (11,3%) aveva DLCO \leq 40% e 5 (4,4%) aveva FVC (Capacità Vitale Forzata) \leq 50%. Diciannove pazienti avevano un BMI di 30 o superiore; 63 pazienti erano ex fumatori (58,4%) mentre 9 erano fumatori attivi (7,8%). Arbitrariamente abbiamo definito il sanguinamento lieve come un'emorragia della durata inferiore a 4 minuti, moderata se è durata da 4 a 20 minuti e grave se è durata più di 20 minuti o quei casi che hanno richiesto un upgrade delle cure (intervento chirurgico toracico, recupero in unità di terapia intensiva, trasfusione di sangue o uso farmacologico di ammine).

	N°	Range o %
Età (media, anni)	69,9	37-85
Maschio	75	65,2%
BMI	27,4	21-38
FVC %	82,9	40-158
DLCO %	57,8	21-130
PAP (mmHg)	26,7	18-59
Fumatori attuali	9	7,8%
Ex fumatori	63	54,7%

Tab.9 Caratteristiche della popolazione.

Y: età; BMI: indice di massa corporea; FVC: capacità vitale forzata; DLCO diffusione alveolo-capillare di monossido di carbonio; PAP: pressione polmonare sistolica.

Flusso di lavoro pre-procedurale

Il flusso di lavoro ordinario per TBLC presso la nostra istituzione è il seguente: i pazienti segnalati sono presentati nel MDD composto da professionisti dedicati tra cui pneumologi, reumatologi e immunologi, patologi, chirurghi toracici, radiologi e infermieri. Le informazioni comunemente necessarie per la discussione sono la storia personale e familiare, l'esame obiettivo, i risultati degli esami ematochimici, i test di funzionalità respiratoria e la tomografia computerizzata toracica ad alta risoluzione (HRCT). Tutti i dati vengono esaminati congiuntamente, comprese le immagini HRCT. Quindi il consiglio MDD controlla le controindicazioni ed eventualmente esprime l'indicazione per TBLC.

Un'ulteriore valutazione delle immagini viene effettuata dagli pneumologi interventisti, che selezionano la zona campione, identificando i segmenti polmonari più adatti per eseguire la procedura; l'area ideale da cui prelevare il campione dovrebbe essere coinvolta dal processo patologico, ma preferibilmente non dovrebbe essere fibrotica. Le terapie anticoagulanti ed eventualmente antiaggreganti vengono interrotte prima della procedura; in caso di pazienti con alto rischio trombotico, l'acido acetilsalicilico viene mantenuto. Tutti i candidati devono essere sottoposti a spirometria, valutazione dei volumi polmonari e DLCO; inoltre, vengono necessariamente eseguiti il conteggio delle cellule ematiche, il test dei parametri della coagulazione e l'ecocardiogramma. I pazienti con conta piastrinica $< 70000/uL$, INR (International Normalized Ratio) $>1,5$, FEV₁ (volume espiratorio forzato nel 1° secondo) $<0,8$ L, DLCO $<30\%$, PaO₂ (pressione parziale di ossigeno) < 55 mmHg in aria ambiente e PAPs (pressione polmonare sistolica) >40 mmHg sono considerati non adatti alla procedura. I pazienti idonei vengono ricoverati il giorno prima della procedura e, se non si verifica alcuna complicanza rilevante, dimessi il giorno dopo.

Procedimento

La broncoscopia viene eseguita da pneumologi interventisti esperti; ogni paziente esprime il proprio consenso informato scritto prima del TBLC, al fine di confermare la propria volontà di sottoporsi all'intervento. La procedura viene eseguita con supporto anestesilogico, utilizzando propofol (1-2,5 mg/kg per induzione, 0,05-0,2 mg/kg/min per il mantenimento) e remifentanil cloridrato (somministrazione endovenosa, 0,025-0,1 µg/kg/min) per la sedazione. I pazienti respirano spontaneamente durante l'intera procedura. I pazienti vengono intubati utilizzando un broncoscopio rigido; in seguito, viene introdotto un video-broncoscopio flessibile all'interno, viene eseguita l'ispezione e viene effettuato il lavaggio bronco-alveolare. Successivamente un sistema di bloccaggio bronchiale (Palloncino Fogarty®) viene posizionato nel bronco dove verranno eseguite biopsie. Viene testato e, se in posizione stabile, viene fissato al broncoscopio rigido. Il broncoscopio flessibile viene utilizzato per introdurre la criosonda da 1.7 mm, che viene spinta attraverso il bronco fino a raggiungere la zona interessata e, utilizzando la guida fluoroscopica, viene posizionata a circa 10 mm di distanza dalla parete toracica; quando la criosonda è posizionata in modo soddisfacente, viene congelata a -75°C per circa 6 secondi.

A questo punto la sonda viene rimossa con un movimento deciso in modo tale da staccare il campione bioptico dal resto del parenchima polmonare e, sia la sonda che il broncoscopio, vengono estratti simultaneamente per evitare la perdita del campione. In sede rimane solo il palloncino Fogarty che, a questo punto, viene gonfiato con soluzione salina per arrestare l'eventuale emorragia. Il campione estratto viene trattato subito in sala endoscopica, dapprima viene posto in soluzione salina per scongelarlo e successivamente fissato in formalina.

Trascorse tre ore dall'intervento, viene effettuata una radiografia di controllo tenendo presente che tale accertamento può essere anticipato in caso di insorgenza di complicanze quali dolore, emoftoe o dispnea.

Risultati

In conformità con le linee guida di pratica clinica ATS / ERS / JRS / ALAT abbiamo esaminato tutte le scansioni TC e i pazienti sono stati divisi come segue: "probabile UIP", "Indeterminato per UIP" e suggestivo per una "diagnosi alternativa" (Tabella 10).

Modello HRCT	N (%)
Probabile UIP	50 (43,5%)
Indeterminato per UIP	11 (9,6 %)
Diagnosi alternativa	54 (46,9%)

Tab.10 Modello HRCT definito dopo la revisione completa delle TAC.

Una sonda da 1.7 mm è stata utilizzata per tutte le procedure. Le biopsie sono state effettuate in 2 segmenti in 88 pazienti (76,5%), solo in 1 segmento in 27 pazienti (23,5%) e in 2 lobi diversi in 18 pazienti (15,6%). Le procedure sono durate 32,1 minuti in media (range 13-66 min). Nei casi in cui la TBLC è durata più a lungo, la principale causa riconosciuta è sempre stata il sanguinamento, ma nessun caso ha necessitato di un upgrade di cura né di un cambiamento nella gestione del paziente. Il tempo medio di ospedalizzazione dopo la procedura è stato 1,6 giorni (range 1-12).

Sono state eseguite complessivamente 402 biopsie, 3,5 biopsie per paziente (media, range 2-5). I siti da cui sono stati prelevati i campioni erano costituiti da: lobi inferiori nell'88,1%, lobo medio nel 2,7% e lobi superiori nel 9,2% dei casi (tabella 11).

In 44 campioni (10,9%) è stato rilevato tessuto pleurico. L'area media del campione era 63,7 mm² (range 27,0-146,3 mm²); l'area media dei campioni utili (definita come area di campione in cui vi sono reperti anatomo-patologici tali da poter definire la diagnosi) era di 54,3 mm².

Caratteristica del campione	Numero	(% o range)
Numero di campioni	3,5	(2-6)
Campione LL	354	(88,1%)
Campione ML	11	(2,7%)
Campione UL	37	(9,2%)
Area media	63,7 mm ²	(27,0-146,3)
Tessuto pleurico presente	44	(10,9%)

Tab.11: Caratteristiche del campione e strategie di campionamento. LL: lobo inferiore; ML: lobo medio; UP: lobo superiore.

Dopo la valutazione patologica, ogni caso è stato rivisto nel consiglio MDD, ottenendo finalmente una diagnosi condivisa definitiva.

La resa diagnostica, dopo una discussione multidisciplinare, è risultata pari a 88,7 % (102/115); la diagnosi definitiva è riportata nella Tabella 12.

DIAGNOSI DOPO DISCUSSIONE MDD	N°	%
IPF	58	50,5
CTD-ILD	3	2,6
OP	8	6,8
AFOP	1	0,9
HP	7	6,1
Sarcoidosi	7	6,1
IPAF	6	5,2
SRIF	2	1,7
TB	1	0,9
IgG4 correlati	1	0,9
Polmonite lipidica	1	0,9
ADK	3	2,6
NSIP	4	3,5
Inclassificabile	13	11,3

Tab.12: diagnosi finale. CTD-ILD: malattia del tessuto connettivo associata a malattia polmonare interstiziale. OP: polmonite organizzativa. AFOP: polmonite fibrinosa organizzativa acuta HP: Polmonite da ipersensibilità. IPAF: polmonite interstiziale con caratteristiche autoimmuni. SRIF: polmonite interstiziale correlata al fumo. TB: tubercolosi.

Una diagnosi definitiva non è stata raggiunta neanche dopo TBLC in 13 casi e, di questi, 6 hanno ottenuto una diagnosi con ulteriori valutazioni.

Quattro pazienti su 13 erano candidati per VATS; 2 hanno rifiutato mentre i 2 pazienti che hanno accettato avevano una diagnosi finale di IPF e IPAF.

Un paziente ha ripetuto TBLC in un altro centro con una diagnosi finale di HP. Un paziente è stato sottoposto ad agobiopsia transtoracica TC guidata con diagnosi finale di IPAF; 6 pazienti sono stati sottoposti a follow-up, 2 dei quali con diagnosi finale di IPF e OP.

I risultati di sicurezza sono riassunti nella Tabella 13. Lo pneumotorace si è verificato in 30 casi (6,1%), richiedendo il drenaggio toracico solo in 13.

Sul pool totale di pazienti, risulta rispettivamente un tasso di emorragia lieve di 348/402 (86,6%), un tasso di emorragia moderato di 53/402 (13,2%) e un tasso di emorragia grave di 1/402 (0,2%).

In quest'ultimo caso l'emorragia è durata 23 minuti e abbiamo utilizzato 4 fiale di acido tranexamico, ottenendo la stabilizzazione. Non abbiamo riscontrato alcuna emorragia mortale. Sottolineiamo che 6 pazienti non avevano interrotto l'acido acetilsalicilico (ASA) prima della procedura, perché il loro rischio trombotico era considerato troppo alto. In questo sottogruppo di pazienti, non

abbiamo riscontrato un tasso di emorragia più elevato rispetto alla popolazione dello studio con un tasso di emorragia lieve di 4/6 (66,7%) dei campioni e moderato in 2/6 (33,3%). Sebbene il campione non sia rappresentativo dell'intera popolazione e troppo piccolo per portare a considerazioni statisticamente significative, si è ritenuto utile riportare questa osservazione al fine di stimolare ulteriori indagini sulla necessità di interruzione dell'ASA prima del TBLC.

Due pazienti hanno sviluppato dolore toracico, risolto spontaneamente, non associato a pneumotorace. Due pazienti hanno sviluppato pneumomediastino con risoluzione spontanea senza conseguenze a lungo termine [135]. Nessun paziente è morto durante la procedura o a causa di complicanze correlate al TBLC e nessun caso di esacerbazione acuta si è verificato in 30 giorni di follow-up.

	N (totale)	%
Pneumotorace	30 (115)	26,1
Sanguinamento	348 (campione	86,6
Lieve	402)	
Moderato	53 (campione 402)	13,2
Forte	1 (campione 402)	0,2
Pneumomediastino	2 (115)	1,7
Dolore al torace	2 (115)	1,7

Tab.13: tasso di complicanze nella popolazione esaminata.

Il confronto tra l'ipotesi iniziale (basata sul modello HRCT e sull'impressione clinica) e l'assunzione delle conclusioni MDD ha permesso di identificare 2 gruppi, i risultati sono ripresi nella Tabella 14.

MDD	N°	%
Concordanza	76	66,1%
Discordanza	39	33,9%

Tab.14: Concordanza tra ipotesi MDD e conclusioni MDD.

Discussioni

Ottenere campioni di tessuto dal parenchima polmonare è spesso cruciale per la diagnosi e il trattamento delle ILD. Negli ultimi cinque anni il TBLC è emerso come una tecnica leader per eseguire biopsie polmonari in molti centri in tutto il mondo. TBLC comporta l'utilizzo di una criosonda flessibile per congelare rapidamente un'area del polmone periferico, che viene successivamente estratta. I campioni sono più grandi di quelli ottenuti utilizzando pinze tradizionali, che caratteristicamente hanno un valore diagnostico limitato a causa delle piccole dimensioni del campione e del frequente artefatto da schiacciamento [136,137]. Nella pratica clinica TBLC e biopsia polmonare chirurgica non devono essere considerati concorrenti; ciò significa che la criobiopsia non deve essere utilizzata come alternativa alla biopsia chirurgica, ma piuttosto come indagine complementare nel complesso flusso di lavoro diagnostico delle malattie polmonari interstiziali [138].

La TBLC può essere considerata un'alternativa alla biopsia polmonare chirurgica in pazienti che presentano una comorbilità significativa e quindi un alto rischio chirurgico.

Nel nostro centro, seguiamo le raccomandazioni che sono state proposte da Hetzel et al nel 2018 [133], in termini di prerequisiti per le attrezzature, personale dedicato alla procedura, indicazioni e controindicazioni, rischi e requisiti di formazione. Aderendo a queste raccomandazioni, abbiamo cercato di conformarci all'esempio proposto da Ravaglia et al [139], che hanno pubblicato la più grande serie di pazienti. I nostri risultati mostrano che il tessuto polmonare ottenuto da TBLC era sufficiente, in associazione con i risultati clinici e di imaging, per stabilire una diagnosi sicura in 102 casi su 115 (88,7%), consentendo un'ulteriore gestione di questi pazienti. Nella maggior parte dei casi (43,5%) abbiamo ottenuto almeno 4 campioni; sono stati ottenuti da un segmento polmonare solo in 6 casi (12%), da almeno 2 segmenti in 44 (88%) e l'area media del campione era di 63,7 mm² (range 27,0-146,3 mm²). Per quanto riguarda le complicanze, il tasso di pneumotorace è risultato più alto (n =30, 26,1%), rispetto a precedenti studi pubblicati che richiedevano il drenaggio toracico nel 12,2% e questo tasso non è cambiato significativamente nel corso della nostra esperienza; tutti i pazienti sono stati profondamente sedati e sottoposti alla procedura intubati con un tracheoscopio rigido con respirazione spontanea. Nessuna caratteristica specifica del paziente è risultata associata a un tasso di pneumotorace più elevato. Sanguinamento moderato si è verificato solo in quei casi in cui il palloncino è stato tenuto gonfiato per più di 20 minuti. Nessun paziente ha dovuto essere indirizzato alla terapia intensiva né ha subito un intervento chirurgico toracico o ha mostrato instabilità respiratoria o emodinamica. Ogni sanguinamento era controllato solo dal "Palloncino Fogarty®". Nessun paziente è morto o ha incontrato complicazioni di lunga durata.

Vogliamo sottolineare un punto cruciale: per quanto riguarda 115 procedure, 50 pazienti avevano un sospetto clinico di IPF alla fine della prima MDD, 43 di loro sono stati successivamente confermati per tale patologia (37,4%), mentre 4 casi (3,5%) hanno avuto la diagnosi provvisoria modificata da TBLC e 3 (2,6%) sono risultati non classificabili anche dopo la valutazione del patologo. Inoltre, tra 54 pazienti con un modello HRCT di diagnosi alternativa, 42 biopsie (36,5%) hanno confermato il sospetto della prima ipotesi di MDD, mentre in 12 (10,4%) casi la procedura ha portato a considerazioni sul modello UIP che hanno convinto il gruppo multidisciplinare a dichiarare la diagnosi finale di IPF. Nello stesso gruppo altri 4 pazienti hanno avuto la diagnosi modificata (3,5%). Infine, tra 11 pazienti con un modello HRCT indeterminato, per 4 pazienti (9,5%) il TBLC cambia la diagnosi rispetto alla prima ipotesi iniziale di MDD. In modo completo, la presunta diagnosi espressa dal gruppo MDD è stata modificata nel 23,47% dei casi sottoposti a TBLC. Tabella 15,16,17.

Prima ipotesi MDD	Concordanza	Discordanza
43 IPF	43 IPF	0
3 IPF	0	3 inclassificabile
1 IPF	0	1 sarcoidosi
1 IPF	0	1 CTD-ILD
1 IPF	0	1 IPAF
1 IPF	0	1 HP
TOTALE	43	4 (3 non classificabili)

Tab.15: concordanza tra prima ipotesi MDD e diagnosi finale MDD in 50 casi con pattern "probable UIP" alla HRCT.

Prima ipotesi MDD	Concordanza	Discordanza
12 OP	9	2 non classificabili – 1 polmonite lipidica
9 HP	5	2 IPF – 1 non classificabile – 1 NSIP Fibrosante
9 nessuna	4	5 IPF
8 sarcoidosi	5	2 IPF – 1 non classificabile
8 NSIP	5	3 IPF
4 adenocarcinoma	3	1 sarcoidosi
1 CTD-ILD	1	0
1 farmaco PID	0	1 non classificabile
1 TBC	1	0
1 Infezione da BCG	0	1 HP
TOTALE	33	16 (5 non classificabili)

Tab.16: concordanza tra la prima ipotesi MDD e la diagnosi finale MDD in 54 casi con pattern “alternative diagnosis” alla HRCT.

Prima ipotesi MDD	Concordanza	Discordanza
1 HP	1	0
1 nessuno	0	1 NSIP Fibrosante
3 NSIP	1	1 IPF – 1 IPAF
5 IPF	3	1 SRIF – 1 non classificabile
1 IPAF	1	0
TOTALE	6	4 (1 non classificabile)

Tab.17: concordanza tra prima ipotesi MDD e diagnosi finale MDD in 11 casi con pattern “indeterminate” HRCT

Come ultimo punto, sottolineiamo alcune considerazioni sui 13 casi non classificabili (11,1%). A tre pazienti è stata offerta chirurgia toracica video assistita (VATS), ma solo uno ha ottenuto una diagnosi di IPF. Un paziente è stato sottoposto a una seconda TBLC in un altro centro ed è stato infine definito come HP. Nove pazienti sono stati seguiti nel nostro gruppo MDD, di questi 4 sono stati diagnosticati come IPF e 1 come OP, gli ultimi 4 pazienti hanno un HRCT stabile nel tempo.

In questo sottogruppo il numero medio del campione è 3,5 per paziente, ma il numero di campione utile diminuisce a 2,1. Inoltre, l'area media della biopsia è di 52,7 mm² ma l'area utile della biopsia utile scende a 40,6 mm² (25,3% in meno rispetto ai campioni diagnostici).

Analisi dei costi

La valutazione istologica rimane un importante componente decisionale nel MDD. Inoltre, un'accurata e precoce diagnosi comporta una riduzione degli errori di trattamento. Attualmente il gold standard per la diagnosi delle ILD è la biopsia chirurgica. In primo luogo la biopsia chirurgica, seppur nell'era della tecnologia mininvasiva, non è scevra da complicanze anche piuttosto rilevanti, prima tra tutte l'esacerbazione di patologia, soprattutto se la diagnosi definitiva è proprio fibrosi polmonare idiopatica. La mortalità in questi casi va dal 2% al 6% dimostrata in più studi. Lo pneumotorace si verifica di default, pertanto il paziente esce dalla sala operatoria a fine procedura con un tubo di drenaggio toracico, che verrà poi rimosso nei giorni successivi.

In secondo luogo la biopsia chirurgica, che di fatto è una resezione polmonare, seppur di piccole dimensioni, necessita di una sala operatoria e personale dedicato con un notevole aumento dei costi.

Inserendo all'interno delle matrici le varie fasi delle due procedure con le risorse necessarie e i relativi costi, risulta evidente come il costo totale della biopsia chirurgica (euro 11568,54) rispetto a quello della criobiopsia (euro 4750,1) sia più del doppio.

Inoltre vi è un dato non trascurabile, a parità di costi, la mortalità della biopsia chirurgica è piuttosto alta (2-6%) mentre quella della biopsia con criosonda è prossima allo 0 (circa il 2 per 1000).

Le due figure seguenti pongono a confronto i costi di esecuzione di una procedura rispetto all'altra.

PROCEDURA	CRIOBIOPSIA			
PRERICOVERO risorse	Unità misura	Quantità	Costo unitario	Costo complessivo
Infermiere	2 ore	1	22,62	45,24
Medico	1 ora	1	55,10	55,10
Esami prechirurgici	Ematochimici	1	15,00	138,00
	ECG	1	11,00	
	PFR DLCO	1	46,00	
	Rx torace	1	15,00	
	Ecocardio		51,00	
INTERVENTO				
Sala day surgery	1 ora	1	288	288
Medici	1 ora	2	55,10	110,20
Infermieri	2 ore	3	22,62	135,72
Anestesista	1 ora	1	55,10	55,10
Materiali di consumo	*	*	10	10
Farmaci sala	Ipnovel	-	30	30
	Propofol	-		
	Fentanyl			
	Lidocaina locale			
POSTOPERATORIO				
Degenza	Giornate	2	420	840
Esami	Rx torace	1	15,00	15,00
Farmaci	0		0	0
Infermiere	48 ore	1	22,62	1085,76
Medico	24 ore	1	55,10	1322,4
SPESE GENERALI	15% costi diretti ed indiretti			619,58
COSTO TOTALE				4750,1

* Materiale di consumo:

- 1 set per broncoscopio rigido e 1 set per broncoscopio flessibile (risterilizzabili)
- Criosonda riutilizzabile + bombola gas
- 1 catetere Fogarty®
- 1 contenitore per campioni

PROCEDURA	BIOPSIA CHIRURGICA				
PRERICOVERO risorse	Unità misura	Quantità	Costo unitario	Costo complessivo	
Infermiere	2 ore	1	22,62	45,24	
Medico (toracico e cardiologo)	3 ore	2	55,10	330,60	
Esami prechirurgici	Ematochimici	1	15,00	87,00	
	ECG	1	11,00		
	PFR-DLCO	1	46,00		
	Rx torace	1	15,00		
INTERVENTO					
Sala operatoria	2 ore	1	288	576	
Medici	1 ora	2	55,10	110,20	
Infermieri	2 ore	3	22,62	135,72	
Anestesista	2 ore	1	55,10	110,20	
Materiali di consumo	*	*	3000	3000	
Farmaci sala	Innovel	-	1300	1300	
	Propofol	-			
	Curaro	-			
	Fentanyl	1			
	Cat. peridurale x analgesia	opzionale			
POSTOPERATORIO					
Degenza	Giornate	3	420	1260	
Esami	Rx torace	2	15,00	30,00	
	Esami completi	1	15,00		
Farmaci	Cefalosporina profilassi	5 somm.	2	46	
	Analgesia (paracetamolo, chetorolac)	6 somm. AB	4		
	Idratazione (fisio 100 cc + ringer lattato 500 cc)	1	2		
	Ranitidina ev	1	1		
		1	1		
		2	5		
Infermiere	72 ore	1	22,62		1628,64
Medico	24 ore (+ reperibile 12h)	1	1400		1400
SPESE GENERALI	15% costi diretti ed indiretti			1508,94	
COSTO TOTALE				11568,54	

*Materiali di consumo chirurgico:

- 1 set ferri torascopici + 1 set di ferri da toracotomia
- 2 lame da bisturi standard
- Elettrobisturi
- Suturatrice endoGIA 45mm 3 cariche
- 20 garza piccole
- Punti di sutura vycril (2 confezioni) vycril 0 (2 confezioni) seta 1 (1 confezione) seta 2-0 (2 confezioni)
- 1 contenitore per campioni
- 1 tubo di drenaggio
- 1 aquaseal tricamerale
- Garze per medicazione (1 confezione)
- 1 cerotto per medicazione

Conclusioni

In conclusione possiamo dire che nel 23.47% dei casi l'ipotesi diagnostica del MDD viene modificata dal dato istopatologico ottenuto con la criobiopsia transbronchiale.

Tenendo conto dei nostri risultati e soprattutto considerando il basso tasso di complicanze riscontrato, i tempi procedurali e i costi, suggeriamo di eseguire TBLC come prima opzione in pazienti idonei con sospetto clinico di ILD, riservando l'approccio chirurgico per quei casi in cui non si raggiunge una diagnosi sicura attraverso il campionamento endobronchiale. Per concludere, sottolineiamo l'importanza delle precedenti esperienze in pneumologia interventistica e gestione diagnostica e terapeutica dell'ILD per i centri che stanno pianificando di avvicinarsi alla TBLC.

Il principale limite del nostro studio è stato il suo disegno retrospettivo; altre limitazioni includono il numero relativamente scarso di pazienti e la mancanza di confronto con i risultati della biopsia polmonare chirurgica, che è tuttora considerata la tecnica standard [140].

Bibliografia

1. Travis WD, Costabel U, Hansell DM, et al. An Official American Thoracic Society/European Respiratory Society Statement: Update of the International Multidisciplinary Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;188:733-48
2. Flaherty KR, Andrei A-C, King TE et al. Idiopathic interstitial pneumonia: do community and academic physicians agree on diagnosis? *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175 : 1054 – 60 .
3. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183: 788–824
4. Chaudhuri N, Spencer L, Greaves M, Bishop P, Chaturvedi A, Leonard C. A Review of the Multidisciplinary Diagnosis of Interstitial Lung Diseases: A Retrospective Analysis in a Single UK Specialist Centre. *Journal of clinical medicine*. 2016 Jul 27;5(8).
5. Jo HE, Glaspole IN, Levin KC, McCormack SR, Mahar AM, Cooper WA, et al. Clinical impact of the interstitial lung disease multidisciplinary service. *Respirology*. 2016 Nov;21(8):1438-44
6. Walsh SL, Wells AU, Desai SR, et al. Multicentre evaluation of multidisciplinary team meeting agreement on diagnosis in diffuse parenchymal lung disease: a case-cohort study. *Lancet Respir Med* 2016; 4: 557–565.
7. Pankratz DG, Choi Y, Imtiaz U, Fedorowicz GM, Anderson JD, Colby TV, et al. Usual Interstitial Pneumonia Can Be Detected in Transbronchial Biopsies Using Machine Learning. *Ann Am Thorac Soc*. 2017 Jun 22
8. Kim SY, Diggans J, Pankratz D, Huang J, Pagan M, Sindy N, et al. Classification of usual interstitial pneumonia in patients with interstitial lung disease: assessment of a machine learning approach using high-dimensional transcriptional data. *Lancet Respir Med*. 2015 Jun;3(6):473-82
9. Barlo NP, van Moorsel CHM, Ruven HJT, Zanen P, van den Bosch JMM, Grutters JC. Surfactant protein-D predicts survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2009;26:155–161.
10. Kinder BW, Brown KK, McCormack FX, Ix JH, Kervitsky A, Schwarz MI, King TE Jr. Serum surfactant protein-A is a strong predictor of early mortality in idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 2009;135: 1557–1563
11. Casoni GL, Ulivi P, Mercatali L, Chilosi M, Tomassetti S, Romagnoli M, Ravaglia C, Gurioli C, Gurioli C, Zoli W, et al. Increased levels of free circulating DNA in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Int J Biol Markers* 2010;25:229–235.
12. Bankier AA, O'Donnell CR, Boiselle PM. Quality initiatives. Respiratory instructions for CT examinations of the lungs: a hands-on guide. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2008 Jul-Aug;28(4):919-31.
13. Mayo JR. CT evaluation of diffuse infiltrative lung disease: dose considerations and optimal technique. *Journal of thoracic imaging*. 2009 Nov;24(4):252-9.
14. Hansell DM. Thin-section CT of the lungs: the Hinterland of normal. *Radiology*. 2010 Sep;256(3):695-711.
15. Kim M, Lee SM, Song JW, Do KH, Lee HJ, Lim S, et al. Added value of prone CT in the assessment of honeycombing and classification of usual interstitial pneumonia pattern. *Eur J Radiol*. 2017 Jun;91:6670.
16. Tokura S, Okuma T, Akira M, Arai T, Inoue Y, Kitaichi M. Utility of expiratory thin-section CT for fibrotic interstitial pneumonia. *Acta Radiol*. 2014 Nov;55(9):1050-5.
17. Kanne JP. Interstitial lung disease (ILD): imaging finding, and the role of imaging in the evaluating the patient with known or suspected ILD. *Semin Roentgenol* 2010;45:3
18. Maffessanti M, Dalpiaz G. Pneumopatie infiltrative diffuse. *Clinica, anatomia patologica, HRTC*. 2004
19. Shin KM, Lee KS, Chung MP, Han J, Bae YA, Kim TS, et al. Prognostic determinants among clinical, thin-section CT, and histopathologic findings for fibrotic idiopathic interstitial pneumonias: tertiary hospital study. *Radiology*. 2008 Oct;249(1):328-37
20. Hansell DM, Bankier AA, MacMahon H, McLoud TC, Muller NL, Remy J. Fleischner Society: glossary of terms for thoracic imaging. *Radiology*. 2008 Mar;246(3):697-722.

21. Jacob J, Hansell DM. HRCT of fibrosing lung disease. *Respirology*. 2015 Aug;20(6):859-72
22. Staats P, Kligerman S, Todd N, Tavora F, Xu L, Burke A. A comparative study of honeycombing on high resolution computed tomography with histologic lung remodeling in explants with usual interstitial pneumonia. *Pathol Res Pract*. 2015 Jan;211(1):55-61
23. Watanabe Y, Kawabata Y, Kanauchi T, Hoshi E, Kurashima K, Koyama S, et al. Multiple, thinwalled cysts are one of the HRCT features of airspace enlargement with fibrosis. *Eur J Radiol*. 2015 May;84(5):986-92.
24. Johkoh T, Sakai F, Noma S, Akira M, Fujimoto K, Watadani T, et al. Honeycombing on CT; its definition, pathologic correlation, and future direction of its diagnosis. *Eur J Radiol*. 2014 Jan;83(1):2731
25. Chung JH, Chawla A, Peljto AL, Cool CD, Groshong SD, Talbert JL, et al. CT scan findings of probable usual interstitial pneumonitis have a high predictive value for histologic usual interstitial pneumonitis. *Chest*. 2015 Feb;147(2):450-9.
26. Mai C, Verleden SE, McDonough JE, Willems S, De Wever W, Coolen J, et al. Thin-Section CT Features of Idiopathic Pulmonary Fibrosis Correlated with Micro-CT and Histologic Analysis. *Radiology*. 2017 Apr;283(1):252-63.
27. Watadani T, Sakai F, Johkoh T, Noma S, Akira M, Fujimoto K, et al. Interobserver variability in the CT assessment of honeycombing in the lungs. *Radiology*. 2013 Mar;266(3):936-44.
28. Edey AJ, Devaraj AA, Barker RP, Nicholson AG, Wells AU, Hansell DM. Fibrotic idiopathic interstitial pneumonias: HRCT findings that predict mortality. *Eur Radiol*. 2011 Aug;21(8):1586-93
29. Travis WD, Hunninghake G, King TE, Jr., Lynch DA, Colby TV, Galvin JR, et al. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia: report of an American Thoracic Society project. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Jun 15;177(12):1338-47.
30. Sumikawa H, Johkoh T, Colby TV, Ichikado K, Suga M, Taniguchi H, et al. Computed tomography findings in pathological usual interstitial pneumonia: relationship to survival. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Feb 15;177(4):433-9.
31. Walsh SL, Sverzellati N, Devaraj A, Keir GJ, Wells AU, Hansell DM. Connective tissue disease related fibrotic lung disease: high resolution computed tomographic and pulmonary function indices as prognostic determinants. *Thorax*. 2014 Mar;69(3):216-22
32. Akira M, Kozuka T, Yamamoto S, Sakatani M. Computed tomography findings in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Aug 15;178(4):372-8.
33. Gruden JF, Panse PM, Leslie KO, Tazelaar HD, Colby TV. UIP diagnosed at surgical lung biopsy, 2000-2009: HRCT patterns and proposed classification system. *AJR Am J Roentgenol*. 2013 May;200(5):W458-67.
34. Raghu G, Martine Remy-Jardin, Jeffrey L. Myers, Luca Richeldi, et al. AMERICAN THORACIC SOCIETY DOCUMENTS Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* Volume 198 Number 5| September 1 2018.
35. Tcherakian C, Cottin V, Brillet PY, Freynet O, Naggara N, Carton Z, et al. Progression of idiopathic pulmonary fibrosis: lessons from asymmetrical disease. *Thorax*. 2011 Mar;66(3):226-31.
36. Silva CI, Müller NL, Lynch DA, Curran-Everett D, Brown KK, Lee KS, et al. Chronic hypersensitivity pneumonitis: differentiation from idiopathic pulmonary fibrosis and nonspecific interstitial pneumonia by using thin-section CT. *Radiology*. 2008 Jan;246(1):288-97.
37. Sverzellati N, Wells AU, Tomassetti S, Desai SR, Copley SJ, Aziz ZA, et al. Biopsy-proved idiopathic pulmonary fibrosis: spectrum of nondiagnostic thin-section CT diagnoses. *Radiology*. 2010 Mar;254(3):957-64
38. Hunninghake GW, Lynch DA, Galvin JR, Gross BH, Müller N, Schwartz DA, et al. Radiologic findings are strongly associated with a pathologic diagnosis of usual interstitial pneumonia. *Chest*. 2003 Oct;124(4):1215-23
39. Briche A, Tonnel AB, Brambilla E, Devouassoux G, Remy-Jardin M, Copin MC, et al. Chronic interstitial pneumonia with honeycombing in coal workers. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2002 Oct;19(3):211-9.

40. Akira M, Yamamoto S, Inoue Y, Sakatani M. High-resolution CT of asbestosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *AJR Am J Roentgenol*. 2003 Jul;181(1):163-9.
41. Song JW, Do KH, Kim MY, Jang SJ, Colby TV, Kim DS. Pathologic and radiologic differences between idiopathic and collagen vascular disease-related usual interstitial pneumonia. *Chest*. 2009 Jul;136(1):23-30.
42. Hwang JH, Misumi S, Sahin H, Brown KK, Newell JD, Lynch DA. Computed tomographic features of idiopathic fibrosing interstitial pneumonia: comparison with pulmonary fibrosis related to collagen vascular disease. *J Comput Assist Tomogr*. 2009 May-Jun;33(3):410-5.
43. Raghu G, Lynch D, Godwin JD, Webb R, Colby TV, Leslie KO, et al. Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis with high-resolution CT in patients with little or no radiological evidence of honeycombing: secondary analysis of a randomised, controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2014 Apr;2(4):277-84.
44. Brownell R, Moua T, Henry TS, Elicker BM, White D, Vittinghoff E, et al. The use of pretest probability increases the value of high-resolution CT in diagnosing usual interstitial pneumonia. *Thorax*. 2017 May;72(5):424-9.
45. Fell CD, Martinez FJ, Liu LX, Murray S, Han MK, Kazerooni EA, et al. Clinical predictors of a diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Apr 15;181(8):832-7.
46. Raghu G, Mageo YN, Lockhart D, et al. The accuracy of the clinical diagnosis of new-onset idiopathic pulmonary fibrosis and other interstitial lung disease: A prospective study. *Chest* 1999;116:1168-74.
47. American Thoracic Society; European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. This joint statement of the American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) was adopted by the ATS board of directors, June 2001 and by the ERS Executive Committee, June 2001. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:277-304.
48. Hunninghake GW, Zimmerman MB, Schwartz DA, et al. Utility of a lung biopsy for the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:193-6.
49. American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:277–304.
50. Aziz ZA, Wells AU, Hansell DM, Bain GA, Copley SJ, Desai SR, Ellis SM, Gleeson FV, Grubnic S, Nicholson AG, et al. HRCT diagnosis of diffuse parenchymal lung disease: inter- observer variation. *Thorax* 2004;59:506–511
51. Klech H, Pohl W, editors. Technical recommendations and guidelines for bronchoalveolar lavage (BAL): report of the European society of pneumology task group. *Eur Respir J* 1989;2:561–585.
52. BAL Co-operative Group Steering Committee. Bronchoalveolar lavage constituents in healthy individuals, idiopathic pulmonary fibrosis, and selected comparison groups. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:S169–S202.
53. Wells AU. The clinical utility of bronchoalveolar lavage in diffuse parenchymal lung disease. *Eur Respir Rev* 2010;19:237–241.
54. Hertz MI, Woodward ME, Gross CR, Swart M, Marcy TW, Bitterman PB. Safety of bronchoalveolar lavage in the critically ill, mechanically ventilated patient. *Crit Care Med* 1991;19:1526–1532 J. Hetzel, F. Maldonado, C. Ravaglia, V. Poletti et al. Transbronchial Cryobiopsies for the Diagnosis of Diffuse Parenchymal Lung Diseases: Expert Statement from the Cryobiopsy Working Group on Safety and Utility and a Call for Standardization of the Procedure. *Respiration* 2018;95:188–200.
55. Kim DS, Park JH, Park BK, Lee JS, Nicholson AG, Colby T. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis: frequency and clinical features. *Eur Respir J* 2006;27:143–150.
56. Dransfield MT, Garver RI, Weill D. Standardized guidelines for surveillance bronchoscopy reduce complications in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2004;23:110–114.
57. Pope-Harman AL, Davis WB, Allen ED, Christoforidis AJ, Allen JN. Acute eosinophilic pneumonia: a summary of 15 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1996;75:334–342

58. Shimizu S, Yoshinouchi T, Ohtsuki Y, Fujita J, Sugiura Y, Banno S, Yamadori I, Eimoto T, Ueda R. The appearance of s-100 proteinpositive dendritic cells and the distribution of lymphocyte subsets in idiopathic nonspecific interstitial pneumonia. *Respir Med* 2002;96:770–776.
59. Ratjen F, Costabel U, Griese M, Paul K. Bronchoalveolar lavage fluid findings in children with hypersensitivity pneumonitis. *Eur Respir J* 2003;21:144–148.
60. Ryu YJ, Chung MP, Han J, Kim TS, Lee KS, Chun EM, Kyung SY, Jeong SH, Colby TV, Kim H, et al. Bronchoalveolar lavage in fibrotic idiopathic interstitial pneumonias. *Respir Med* 2007;101:655–660.
61. Ohshimo S, Bonella F, Cui A, Beume M, Kohno N, Guzman J, Costabel U. Significance of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179:1043–1047
62. Tomassetti S, Wells AU, Costabel U, Cavazza A, Colby TV, Rossi G, Sverzellati N, Carloni A, Carretta E, Buccioli M, Tantalocco P, Ravaglia C, Gurioli C, Dubini A, Piciocchi S, Ryu JH, Poletti V: Bronchoscopic lung cryobiopsy increases diagnostic confidence in the multidisciplinary diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2015, Epub ahead of print.
63. Poletti V, Chilosi M, Olivieri D: Diagnostic invasive procedures in diffuse infiltrative lung diseases. *Respiration* 2004; 71: 107–119.
64. Benzaquen S, Aragaki-Nakahodo AA: Bronchoscopic modalities to diagnose sarcoidosis. *Current Opin Pulm Med* 2017; 23: 433–438.
65. Shim HS , Park MS , Park IK . Histopathologic findings of transbronchial biopsy in usual interstitial pneumonia. *Pathol Int* 2010 ; 60 : 373 – 7 .
66. Morris D , Zamvar V . The efficacy of video-assisted thoracoscopic surgery lung biopsies in patients with interstitial lung disease: a retrospective study of 66 patients . *J Cardiothorac Surg* 2014 ; 9 : 45 .
67. Kaarteenaho R. The current position of surgical lung biopsy in the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis . *Respir Res* 2013 ; 14 : 43
68. Flaherty KR, Travis WD, Colby TV, Toews GB, Kazerooni EA, Gross BH, et al. Histopathologic variability in usual and nonspecific interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Nov 1;164(9):1722-7
69. Monaghan H, Wells AU, Colby TV, du Bois RM, Hansell DM, Nicholson AG. Prognostic implications of histologic patterns in multiple surgical lung biopsies from patients with idiopathic interstitial pneumonias. *Chest*. 2004 Feb;125(2):522-6.
70. Qureshi RA, Ahmed TA, Grayson AD, Soorae AS, Drakeley MJ, Page RD. Does lung biopsy help patients with interstitial lung disease? *Eur J Cardiothorac Surg*. 2002 Apr;21(4):621-6; discussion 6.
71. Kadokura M, Colby TV, Myers JL, Allen MS, Deschamps C, Trastek VF, et al. Pathologic comparison of video-assisted thoracic surgical lung biopsy with traditional open lung biopsy. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1995 Mar;109(3):494-8
72. Bensard DD, McIntyre RC Jr, Waring BJ, Simon JS. Comparison of video thoracoscopic lung biopsy to open lung biopsy in the diagnosis of interstitial lung disease. *Chest* 1993;103:765–770.
73. Ferson PF, Landreneau RJ, Dowling RD, Hazelrigg SR, Ritter P, Nunchuck S, Perrino MK, Bowers CM, Mack MJ, Magee MJ. Comparison of open versus thoracoscopic lung biopsy for diffuse infiltrative pulmonary disease. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106: 194–199.
74. Demedts M, Costabel U: ATS/ERS international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Eur Respir J* 2002; 19: 794–796.
75. Maguire MF , Ravenscroft A , Beggs D , Duffy JP . A questionnaire study investigating the prevalence of the neuropathic component of chronic pain after thoracic surgery . *Eur J Cardiothorac Surg* 2006
76. Utz JP, Ryu JH, Douglas WW, Hartman TE, Tazelaar HD, Myers JL, Allen MS, Schroeder DR: High short-term mortality following lung biopsy for usual interstitial pneumonia. *Eur Respir J* 2001; 17: 175–179.

77. Kondoh Y, Taniguchi H, Kitaichi M, Yokoi T, Johkoh T, Oishi T, Kimura T, Nishiyama O, Kato K, du Bois RM: Acute exacerbation of interstitial pneumonia following surgical lung biopsy. *Respir Med* 2006;
78. Park JH, Kim DK, Kim DS, Koh Y, Lee SD, Kim WS, Kim WD, Park SI: Mortality and risk factors for surgical lung biopsy in patients with idiopathic interstitial pneumonia. *Eur J Cardiothorac Surg* 2007; 31: 1115–1119.
79. Hutchinson JP, Fogarty AW, McKeever TM, Hubbard RB: In-Hospital Mortality after surgical lung biopsy for interstitial lung disease in the United States. 2000–2011. *Am J Respir Crit Care Med* 2016; 193: 1161–1167.
80. Babiak A, Hetzel J, Krishna G, Fritz P, Moeller P, Balli T, Hetzel M: Tranbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. *Respiration* 2009; 78: 203–208.
81. Poletti V, Ravaglia C, Gurioli C, Piciucchi S, Dubini A, Cavazza A, Chilosi M, Rossi A, Tomassetti S: Invasive diagnostic techniques in idiopathic interstitial pneumonias. *Respirology* 2016; 21: 44–50.
82. Griff S, Schönfeld N, Ammenwerth W et al. Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in non-neoplastic lung disease: a retrospective case series. *BMC Pulm Med* 2014; 14: 171
83. Tomassetti S, Wells AU, Costabel U, Cavazza A, Colby TV, Rossi G, et al. Bronchoscopic Lung Cryobiopsy Increases Diagnostic Confidence in the Multidisciplinary Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016 Apr 1;193(7):745-52.
84. Johannson KA, Marcoux VS, Ronksley PE, Ryerson CJ. Diagnostic Yield and Complications of Transbronchial Lung Cryobiopsy for Interstitial Lung Disease. A Systematic Review and Metaanalysis. *Ann Am Thorac Soc*. 2016 Oct;13(10):1828-38.
85. Lentz RJ, AC Argento, V Colby et al. Transbronchial cryobiopsy for diffuse parenchymal lung disease: a state-of-the-art review of procedural techniques, current evidence, and future challenges. *J Thorac Dis* 2017;9(7):2186-2203
86. Poletti V, Hetzel J: Transbronchial cryobiopsy in diffuse parenchymal lung disease: need for procedural standardization. *Respiration* 2015; 90: 275–278
87. Linhas R, Marçõa R, Oliveira A, Almeida J, Neves S, Campainha S: Transbronchial lung cryobiopsy: associated complications. *Rev Port Pneumol (2006)* 2017;23:331–337.
88. Gelzinis TA: Supraglottic airway device for transbronchial lung cryobiopsy. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2017; 31: 1348–1350.
89. Marshall RP, Puddicombe A, Cookson WO, Laurent GJ. Adult familial cryptogenic fibrosing alveolitis in the United Kingdom. *Thorax* 2000; 55:143–146.
90. Casoni GL, Tomassetti S, Cavazza A, et al: Transbronchial lung cryobiopsy in the diagnosis of fibrotic interstitial lung diseases. *PLoS One* 2014; 9:e86716.
91. Kropski JA, Pritchett JM, Mason WR, Sivarajan L, Gleaves LA, Johnson JE, Lancaster LH, Lawson WE, Blackwell TS, Steele MP, Loyd JE, Rickman OB: Bronchoscopic cryobiopsy for the diagnosis of diffuse parenchymal lung disease. *PLoS One* 2013; 12:e78674
92. Reif F: Simple applications of macroscopic thermodynamics; in Condon EU (ed): *Mc Graw Hill Series: Fundamentals of Statistical and Thermal Physics*. Colorado, Waveland Press 2008, pp 152–190.
93. Franke KJ, Linzenbold W, Nuessle D, Enderle M, Boesmueller H, Nilius G, Hetzel J: A new tool for transbronchial cryobiopsies in the lung: an experimental feasibility ex vivo study. *Respiration* 2016; 91: 228–234.
94. Colby TV, Tomassetti S, Cavazza A, Dubini A, Poletti V: Transbronchial cryobiopsy in diffuse lung disease: update for the pathologist. *Arch Pathol Lab Med* 2017; 141: 891–900.
95. Ravaglia C, Wells AU, Tomassetti S, Dubini A, Cavazza A, et al: Transbronchial lung cryobiopsy in diffuse parenchymal lung disease: comparison between biopsy from 1 segment and biopsy from 2 segments - diagnostic yield and complications. *Respiration* 2017; 93: 285– 292.
96. Hetzl J, F. Maldonado, C. Ravaglia, V. Poletti et al. Transbronchial Cryobiopsies for the Diagnosis of Diffuse Parenchymal Lung Diseases: Expert Statement from the Cryobiopsy Working Group on Safety and Utility and a Call for Standardization of the Procedure. *Respiration* 2018;95:188–200

97. Viglietta L, Inchingolo R, Pavano C, Tomassetti S, Piciucchi S, Smargiassi A, Ravaglia C, Dubini A, Gurioli C, Gurioli C, Poletti V: Ultrasonography for the diagnosis of pneumothorax after transbronchial lung cryobiopsy in diffuse cryobiopsy in diffuse parenchymal lung diseases. *Respiration* 2017; 94: 232–236.
98. Ravaglia C, Bonifazi M, Wells AU, Tomassetti S, Gurioli C, et al: Safety and diagnostic yield of transbronchial lung cryobiopsy in diffuse parenchymal lung diseases: a comparative study versus video-assisted thoracoscopic lung biopsy and a systematic review of the literature. *Respiration* 2016; 91: 215–227.
99. Barisione E, Bianchi R, Fiocca R, Salio M. Pneumomediastinum after transbronchial cryobiopsy. *Monaldi Archives for Chest Disease* 2018; 88:909
100. Hagemeyer L, Theegarten D, Wohlschläger J, Tremel M, Matthes S, Priegnitz C, Randerath WJ: The role of transbronchial cryobiopsy and surgical lung biopsy in the diagnostic algorithm of interstitial lung disease. *Clin Respir J* 2016; 10: 589–595.
101. Iftikhar IH, Alghothani L, Sardi A, Berkowitz D, Musani AI: Transbronchial lung cryobiopsy and video-assisted thoracoscopic lung biopsy in the diagnosis of diffuse parenchymal lung disease: a meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Ann Am Thorac Soc* 2017; 14: 1197– 1211.
102. Chan JWM, Yeung YC, Sin KM, Lam DCL: Guidelines of procedural and sedation safety in flexible bronchoscopy and pleuroscopy. Hong Kong Thoracic Society, American College of Chest Physicians (Hong Kong and Macau Chapter), Hong Kong Lung Foundation, 2015.
103. Echevarria-Uraga JJ, Pèerez-Izquierdo J, García-Garai N, Gómez-Jiménez E, AramburuOjembarrena A, Tena-Tudanca L, MiguélezVidales JL, Capelastequi-Saiz A: Usefulness of an angioplasty balloon as selective bronchial blockade device after transbronchial cryobiopsy. *Respirology* 2016; 21: 1094–1099.
104. Sharp C, McCabe M, Adamali H, Medford AR: Use of transbronchial cryobiopsy in the diagnosis of interstitial lung disease—a systematic review and cost analysis. *QJM* 2017; 110: 207–214.
105. Tomic R, Cortes-Puentes GA, Murugan P, Joo Kim H, Amin K, Dinkier HE: Acute exacerbation of interstitial lung disease after cryobiopsy. *J Bronchology Interv Pulmonol* 2017;24: 319–322.
106. Galiè N, Humbert M, Vachiery JL, et al: 2015 ESC/ERS guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. The Joint Task Force for The diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J* 2015; 46: 903–975.
107. Hagemeyer L , Theegarten D , Wohlschläger J et al . Transbronchial cryobiopsy and open lung biopsy in interstitial lung disease: Comparison of two diagnostic tools . *Eur Respir J* 2014 ; 42 (Suppl 57): P2303 .
108. Pajares V, Puzo C, Castillo D, Lerma E, Montero MA, Ramos-Barbón D, Amor-Carro O, Gil de Bernabé A, Franquet T, Plaza V, Hetzel J, Sanchis J, Torrego A: Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in interstitial lung disease: a randomized trial. *Respirology* 2014; 19: 900–906.
109. Latsi PI, du Bois RM, Nicholson AG, et al: Fibrotic idiopathic interstitial pneumonia: the prognostic value of longitudinal functional trends. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 531–537.
110. Plönes T, Osei-Agyemang T, Elze M, et al: Morbidity and mortality in patients with usual interstitial pneumonia (UIP) pattern undergoing surgery for lung biopsy. *Respir Med* 2013; 107: 629–632.
111. Matsuoka K, Kuroda A, Kang A, et al: Surgical results of video-assisted thoracic surgery and risk factors for prolonged hospitalization for secondary pneumothorax in elderly patients. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2013; 19: 18–23. 4
112. Tomassetti S, Cavazza A, Colby TV, et al. Transbronchial biopsy is useful in predicting UIP pattern. *Respir Res* 2012; 13: 96.
113. Tomassetti S, Ravaglia C, Poletti V. Diffuse parenchymal lung disease. *Eur Respir Rev* 2017; 26: 170004

114. Spagnolo P, Tzouveleakis A, Maher TM: Personalized medicine in idiopathic pulmonary fibrosis: facts and promises. *Curr Opin Pulm Med* 2015; 21: 470–478.
115. Sánchez-Cabral O, Martínez-Mendoza D, Fernandez-Bussy S, Perea-Talamantes C, Martínez-Orozco JA, Patricio Santillán Doherty P, Reyes-Terán G: Utility of transbronchial lung cryobiopsy in non-interstitial diseases. *Respiration* 2017; 94: 285–292.
116. Qiu M, Chen Y, Ye Q: Risk factors for acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review and meta-analysis. *Clin Respir J* 2017, Epub ahead of print.
117. Lynch DA, Sverzellati N, Travis W, et al. Diagnostic criteria for idiopathic pulmonary fibrosis: a Fleischner Society White Paper. *Lancet Respir Med*. 2018 Feb;6(2):138-153.
118. Raghu G, Remy-Jardin M et al. Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis, an official guideline of clinical practice ATS / ERS / JRS / ALAT; *Am J Respir Crit Care Med* 2018 September; Vol 198, Iss 5, pp e44-e68.
119. Rodgers BM, Talbert JL. Clinical application of endotracheal cryotherapy; *J Pediatr Surg* 1978 December;13(6D):662-8.
120. Mathur PN, Wolf KM, Busk MF et al. Bronchoscopic fiberoptic cryotherapy in the management of tracheobronchial obstruction; *Chest* 1996 Set; 110(3):718-23
121. Hetzel M, Hetzel J, Schumann C et al. Cryorecanalization: a new approach for the immediate management of acute airway obstruction *J Thoracic cardiovascular surgery* 2004 May; 127(5): 1427-31
122. Hetzel J, Eberhardt R, Herth FJ et al: Cryobiopsy increases the diagnostic yield of endobronchial biopsy: a multicenter study. *Eur Respir J* 2012;39:685-690.
123. Aktas Z, Gunnay E, Hoca NT et al: Endobronchial cryobiopsy or forceps biopsy for lung cancer diagnosis. *Ann Thorac Med* 2010;5:242-246.
124. Schumann C, Hetzel J, Babiak AJ et al: Cryoprobe biopsy increases diagnostic yield in endobronchial tumor lesions. *Thorac Cardiovasc Surg* 2010;140:417-421.
125. Babiak A, Hetzel J, Krishna G et al: Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. *Breathing* 2009;78:803-208.
126. Griff S, Ammenwerth W, Schonfeld N et al. Analisi morfometrica della criobiopsia transbronchiale. *Diagn Pathol* 2001;166:53.
127. Schumann PA, Bostanci K, Burgalho A et al: Endobronchial ultrasound-guided cryobiopsy in peripheral lung lesions: a feasibility study. *Eur Respir J* 2014;43:223-239.
128. Franke KJ, Theegarten D, Hann von Weyhern C et al: Prospective controlled animal biopsy on flexible cryoprobe biopsy new versus forceps: assessment of biopsy size, histological quality and risk of bleeding. *Breathing* 2010;80:127-132.
129. Franke KJ, Szyrach M, Nilius G et al: Experimental study on biopsy sampling using new flexible cryoprobe: influence of activation time, probe, size, tissue consistency and contact pressure of the probe on the size of the biopsy sample. *Lung* 2009;187:253-673.
130. Fruchter O, Fridel L, Rosengarten D, Ravivi Y et al.: Transbronchial cryo-biopsy in patients with pulmonary transsplantation: first report. *Respirology* 2013;18:669-673.
131. Fruchter O, Fridel L, Rosengarten D et al: Tranbronchial cryobiopsy in immunocompromised patients with pulmonary infiltrates: a pilot study. *Lung* 2013; 191:619-624.
132. Poletti V, Hetzel J Transbronchial cryobiopsy in diffuse parenchymal disease: need for procedural standardization *Breathing*;90(4):275-8.
133. Hetzel J, Maldonado F, Ravaglia C et al. Tranbronchial cryobiopsy for the diagnosis of diffuse parenchymal lung disease: expert statement of the cryobioptic working group on safety and usefulness and a call to standardize the procedure *Breathing* 2018;95(3):188-200.
134. Lynch DA, Sverzellati N, Travis WD, et al. Diagnostic criteria for idiopathic pulmonary fibrosis: a white paper from the Fleischner Society. *Lancet Respir Med*. 2018;6(2):138-153.
135. Barisione E, Bianchi R, Fiocca R et al. Pneumomediastinum after transbronchial cryobiopsy; *Monaldi Arch for Chest Dis* 2018 22;88(2):909
136. Barbescu EA, Katzenstein A-LA, Snow JL et al. Tranbronchial biopsy in usual interstitial pneumoniae *Chest* 2006;129:1126-31.
137. Grigg S, Ammenwerth W, Schonfeld N et al. Morphometrical analysis of tranbronchial cryobiopsies. *Diagn Pathol* 2011;6:53.
138. Maldonado F, Danoff SK et al. Transbronchial Cryobiopsy for the Diagnosis of Interstitial Lung Diseases, CHEST Guideline and Expert Panel Report CHEST, in press.
139. Ravaglia C, Wells AU, Tomassetti S et al. Diagnostic yield and risk/benefit analysis of transbronchial lung cryobiopsy in diffuse parenchymal lung diseases: a large cohort of 699 patients

- Ravaglia et al. BMC Pulmonary Medicine (2019) 19:16
140. Barisione E, Salio M, Romagnoli M et al. Competence in transbronchial cryobiopsy Panminerva Med 2018 Oct 31