

Kriyoterapi

Cengiz Özdemir

SBÜ Yedikule Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, İstanbul

Kriyoterapi, aşırı soğuşun, hızlı donma ve erime döngüleri ile canlı dokuları destrükte etmek için kullanılmasıdır. Bronkoskopik yolla ilk kriyoterapi uygulaması, 1968 yılında endobronşiyal bir tümöre, rijit bir aplikatör yoluyla yapılmıştır. Canlı dokulara kriyoterapi uygulamalarının temelini Joule-Thompson etkisi oluşturur. Bu fiziksel etki ile yüksek basınç altında sıkıştırılan gaz, düşük basınçlı bir ortama (atmosfer basıncına) ulaştığında genleşerek ortamda soğumaya neden olur. Bronkoskopik olarak çeşitli kriyocerrahi teknikleri uygulanmaktadır. Bunlar; doku destrüksiyonu amacıyla uygulanan kriyoablasyon (kriyoterapi olarak da adlandırılır), soğuşun kriyoadezif etkisinden de yararlanılarak uygulanan kriyoekstraksiyon (kriyorekanalizasyon), endobronşiyal ve transbronşiyal biyopsi işlemleri ve sprey kriyoterapi uygulamalarıdır.

1. Etki Mekanizması ve Ekipman

Canlı dokulara soğuk uygulanması ile intraselüler ve ekstraselüler alanda buz kristal oluşumu, organel hasarı, lokal vazokonstrüksiyon, trombozisin neden olduğu iskemi ve immün mekanizmalarla hücre ölümü gerçekleşir (1,2). Dokuların kriyoduyarlılığını belirleyen sıvı içeriği ve vaskülaritedir. Sinir kılıfı, yağ ve kıkırdak dokusu, konnektif doku ve fibrotik dokular kriyorezistan; tümör, granülasyon dokusu, deri, müköz membranlar, endotel ve sinirler kriyoduyarlı dokulardır (1).

Kriyoterapi uygulamaları fleksibl bronkoskopi ile, total intravenöz anestezi altında entübasyon tüpü içerisinde veya rijit bronkoskopi ile yapılabilir. Bu amaçla fleksibl ve rijit problar kullanılmaktadır. Kriyoterapi uygulamalarında gerekli ekipman; kriyojen ajanın yüksek basınç altında saklandığı tüp, konsol, ayak pedali ve gazın dokuya ulaşmasını sağlayan bir probdan oluşur. Kriyojen ajan olarak sıklıkla nitrik oksit, karbondioksit ve likit nitrojen kullanılır. Kullanılan gaz ile ilişkili olarak -70 ile -196 derece aralığına ısı

elde edilir. Standart prob kriyoterapi ve kriyorekanalizasyon işleminde prob dokuya temas edilerek kullanılırken, sprey kriyoterapide kriyojen ajanın iletildiği katater, uygulanacak alana temas ettirilmeden kullanılır.

2. Kriyoterapi Uygulama Teknikleri

I. Kriyoablasyon: Kriyoterapi olarak da bilinen kriyoablasyon yöntemi ile hedef dokuda hızlı donma ve yavaş erime siklusları şeklinde tekrarlayan uygulamalar ile doku destrüksiyonu amaçlanır. Kriyoablasyon, fleksibl bronkoskop ile veya genel anestezi altında rijit bronkoskop içinde kullanılan fleksibl ve rijit problemlerle uygulanabilir. Fleksibl bronkoskop ile kriyoterapi uygulanacak lezyon görüntülendikten sonra bronkoskopun çalışma kanalından ilerletilen prob, bronkoskopun distal ucundan yaklaşık 0.5-1 cm çıkartılır. Prob, dokuya temas ettirilerek ayak pedalı aracılığıyla donma siklusu başlatılır. 30-60 saniye donma işleminden sonra ayak pedalı bırakılarak pasif erimeye bırakılır. Bu alana donma-erime siklusu iki-üç defa uygulandıktan sonra prob 5-6 mm yer değiştirilerek donma-erime siklusları görüntülenen lezyonun tüm yüzeyine uygulanır (3,4).

Kriyoterapinin uygulandığı probun çapına bağlı olarak lezyon üzerinde yaklaşık 1 cm çapında ve 3 mm derinliğinde nekroz alanı oluşur (5). Kriyoterapinin dokularda nekroz etkisi geç oluşur. Nekroze olan doku ekspektore edilebildiği gibi bu dokuların uzaklaştırılması için ardışık temizlik bronkoskopileri gerekebilir. Bu nedenle 6-14 gün içinde yapılacak kontrol bronkoskopisi ile havayolundaki debrislerin temizlenmesi önerilir (6).

Öneri

Kriyoablasyon tekniğinde, uygulanan dokudaki destrüksiyon etkisi geç ortaya çıktığı için, nekrotik dokuların temizliği ve yeniden kriyoterapi uygulanma ihtiyacının değerlendirilmesi için bir hafta sonra kontrol bronkoskopisi yapılması önerilir.

II. Kriyoekstraksiyon, endobronşiyal ve transbronşiyal kriyoprob biyopsi: Aşırı soğuşun canlı dokulara teması sırasında dokunun sıvı içeriği, donmaya ve proba yapışmasına neden olur. Bu kriyoadezif etki olarak tanımlanır ve bu fiziksel özellik bronkoskopik kriyo uygulamalarında kriyorekanalizasyona, endobronşiyal ve transbronşiyal biyopsilerin alınmasına imkan sağlar. Kriyoadezyon uygulamalarında alınan örneklerin çıkarılmasında kolaylık sağlaması, bronkoskop ile sık reentübasyona yardımcı olması, bronşiyal bloker gibi uygulamaların eş zamanlı yapılmasına yardım etmesi ve uygulanan sedasyon ile hedeflenen dokuya kriyo uygulamalarını kolaylaştırması nedeni ile endotrakeal tüp veya rijit bronkoskop içinden total intravenöz anestezi ile uygulanmaktadır (7-9).

Kriyoekstraksiyon sırasında probun dokuya yapışmasını sağlamak için 5-20 saniye donma işleminin aktive edilmesi gerekmektedir. Prob dokuya donarak yapıştıktan sonra hızlı bir çekme ile lümeninden ayrılır ve prob, ucuna yapışan doku ve skop birlikte

çıkartılır (10,11). Bu yöntem ile havayolundaki egzofitik lezyonlardan endobronşiyal kriyobiyopsi ile büyük boyutta doku örnekleri alınmasına ve kriyorekanalizasyona olanak sağlanır. Probun ucundaki doku dış ortamda salin solüsyonuna batırılarak erime-nin hızlanması sağlanır ve doku probdan ayrılır.

Transbronşiyal kriyobiyopsi tekniğinde entübasyon tüpü içinden veya rijit bronkoskop içerisinden kullanılan fleksibl bronkoskop ile uygulama yapılır. Floroskopi rehberliği ile biyopsi alınacak segment belirlenir. Fleksibl bronkoskopun çalışma kanalından geçirilen prob, bu segment içinden ilerletilir, plevraya 1-2 cm uzaklıkta sabitlendiği floroskopi ile kontrol edilir. Üç-dört saniye donma işleminden sonra proba yapışan doku bronkoskop ile birlikte çekilerek çıkartılır (12). Transbronşiyal kriyobiyopsi sırasında hemorajinin kontrolü için hemostatik balonlar oklüzyon amacı ile kullanılmaktadırlar. Balon, biyopsi işlemi öncesi biyopsi alınacak segmentin yanındaki komşu lobar bronşa şişirilmeden yerleştirilir. Ardından kriyoprob ile parankim biyopsisi alındıktan sonra prob, bronkoskop ile birlikte segmentten çıkartıldıktan sonra eğer kanama oluşmuş ise balon şişirilir. Böylece oluşan hemorajinin o segmentte izolasyonu ve hemostaz oluşumu hedeflenir.

Öneriler

- Kriyablasyon yöntemlerinin (kriyorekanalizasyon, endobronşiyal ve transbronşiyal biyopsiler) genel anestezi altında endotrakeal tüp veya rijit bronkoskop ile güvenli havayolu sağlanarak yapılması önerilir.
- Transbronşiyal kriyobiyopsi yapılacak hastalarda ilgili segmentin belirlenmesi ve prob lokalizasyonun kontrolü amacı ile floroskopi rehberliğinde işlem yapılması önerilir.
- Transbronşiyal kriyobiyopsi işleminde oluşacak hemorajinin kontrolü için hemostatik balonların kullanımı önerilir.

III. Sprey kriyoterapi: Sprey kriyoterapi son yıllarda kriyoterapinin bronkoskopik olarak havayollarında yeni bir uygulama şekli olarak kullanıma girmiştir. Kriyojen ajan olarak likit nitrojen kullanılır. 2.8 mm çalışma kanallı veya daha geniş bir bronkoskopun çalışma kanalından geçirilen 7 french (F) katater, hedef alana 1-3 cm uzaklıkta tutularak 5-10 saniyelik 2 siklus şeklinde uygulanır (13). Böylece daha geniş bir yüzeye kısa sürede kriyoterapi uygulanması sağlanır.

3. Endikasyonlar

Kriyoterapi yöntemleri asıl olarak havayolu obstrüksiyonuna neden olan ekzofitik benign ve malign havayolu lezyonlarının palyasyonunda endikedir. Kriyoekstraksiyon yöntemi ile ciddi havayolu darlıklarının acil tedavisinde kullanılabilir. Yabancı cisim,

koagulum, sekresyonların bronkoskopik yolla çıkartılmasında yararlıdır. Low grade malign havayolu lezyonlarında ve karsinoma in situ da etkindir. Ezilme artefaktından korunmuş, daha büyük ölçekli örnek alınmasında endobronşiyal ve transbronşiyal kriyobiyopsi yöntemleri kullanılabilir.

Akciğer transplantasyonu sonrası gelişen granülasyon dokusuna bağlı havayolu obstrüksiyonlu 21 hastada prob kriyoterapi uygulanması ile FEV₁'de %34, FVC'de %25 artış sağlandığı belirtilmiştir (14). Endobronşiyal tüberkülozlu hastaların alındığı bir çalışmada mikrobiyal tedavi ile birlikte uygulanan kriyoterapi ile hastaların tamamında komplet cevap elde edilirken, sadece mikrobiyal tedavi alan grupta hastaların %78.9' unda komplet cevap elde edilmiştir (15). Standart prob kriyoterapi karsinoma in situ ve tipik karsinoid tümör tedavisinde etkin olduğu olgu serilerinde tanımlanmıştır (16-18). Karsinoid tümör tedavisinde kriyoterapi etkinliği seçilmiş olgularda, endoluminal alanla sınırlı tümörlerde etkilidir. Kriyorekanalizasyon yöntemi ile 156 hastayı içeren bir çalışmada 68 benign nedene bağlı havayolu obstrüksiyonunda, rekanalizasyon ile %87'sinde komplet rezölüsyon sağlanmıştır (19). Prob kriyoterapi malign havayolu obstrüksiyonlarının tedavisinde özellikle semptom palyasyonunda etkilidir. Bir çalışmada, 153 trakeobronşiyal karsinomaya bağlı gelişen havayolu obstrüksiyonlu olguda kriyoterapi uygulanması ile dispne, öksürük, hemoptizi semptomlarında düzelme ile birlikte FEV₁'de ortalama 110 mL artış sağlandığı belirtilmiştir (20). Başka bir çalışmada, yine trakeobronşiyal havayolu obstrüksiyonlu 476 olguda kriyoterapi uygulamalarının semptomlarda düzelmeyi yanı sıra, ortalama Karnofsky skorunda belirgin düzelme sağladığı ve komplikasyon oranının %3.5 olduğu belirtilmiştir. Ortalama sağkalım 8.2 ay, 1 ve 2 yıllık sağkalım oranları ise %38.4 ve %15.9 olarak saptanmıştır (21).

Kriyorekanalizasyon yönteminin havayolu darlıklarının tedavisinde etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada 60 hastadan malign nedenlere bağlı havayolu darlığı bulunan 57'sinde bu yöntem ile komplet rekanalizasyon hastaların %61'inde, kısmi açıklık ise %22'sinde sağlanabilmiştir (10). 225 hastayı içeren diğer bir çalışmada malign (197 olgu) ve benign nedenlere bağlı semptomatik havayolu obstrüksiyonunda kriyorekanalizasyon ile olguların %91'inde rekanalizasyon başarılı olarak bildirilmiştir. Sadece 28 hastada (%12) hafif-orta dereceli kanama komplikasyonu görülmüştür (22).

Kriyoadazyon tekniği, forseps ve aspirasyon yöntemleri ile kolaylıkla çıkartılamayan, özellikle sıvı içeriği fazla yabancı cisimlerin, sekresyonların ve kan pıhtılarının çıkartılmasında etkindir (23-26).

Endobronşiyal kriyoprob biyopsi ile ezilme artefaktı daha az oluşur ve daha büyük boyutta doku örnekleri almak mümkündür (27-29). Çok merkezli bir çalışmada endobronşiyal kriyobiyopsi ile tanı oranı %95, forseps biyopsi ile %85.1 ($p < 0.001$) saptanmıştır. Bu çalışmada müdahale gerektirmeyen minimal kanama oranı kriyobiyopsi kolunda daha fazla iken müdahale gerektiren kanama oranı açısından forseps biyopsi

koluyla karşılaştırıldığında farklılık saptanmamıştır (29). Endobronşiyal tümörlerde tanı için en az iki kriyobiopsi alınması yeterli kabul edilmektedir (30).

Transbronşiyal kriyobiopsilerin forceps biyopsiyle tanısallık ve komplikasyon oranlarının araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Randomize bir çalışmada transbronşiyal kriyobiopsi ile kesin tanı 39 hastanın 20'sinde (%51), forceps biyopsi ile 38 hastanın 11'inde (%29) ($p= 0.038$) elde edilmiştir. Transbronşiyal kriyobiopsi ile forceps biyopsiyle elde edilenlerden daha büyük örnekler elde etmek mümkündür. Yine aynı çalışmada kriyobiopsi ile 14.7 ± 11 mm² örnek elde edilmişken, forceps transbronşiyal biyopsi ile 3.3 ± 4.1 mm² boyutunda örnekler elde edildiği bildirilmiştir (12). Kanama ve pnömotoraks oranı her iki grup arasında benzer bulunmuştur. Kanamalar aspirasyon, bronşiyal oklüzyon balonları veya soğuk salin ile kontrol altına alınmıştır (12). Yakın tarihli bir metaanalizde 8 çalışmadan elde edilen veriler değerlendirilmiş, transbronşiyal kriyobiopsi ile kümülatif tanı oranı %79 (%95 CI, 65-93) olarak saptanmıştır (31). Çalışmalardaki sonuçlar farklılıklar içermekle birlikte transbronşiyal kriyobiopsi ile pnömotoraks ve orta-ciddi kanama riskinde bir artış olduğu yönünde veriler bulunmaktadır (31-33).

Öneriler

- Kriyoablasyon ve kriyorekanalizasyon yöntemlerinin benign ve malign nedenlere bağlı santral havayolu lezyonlarının ablasyonunda kullanımı önerilir.
- Kriyoablasyon tekniği, cerrahinin endike olmadığı durumlarda benign endobronşiyal tümörler ve endobronşiyal yerleşimli karsinoid tümör ablasyonunda, endobronşiyal komponent çıkartıldıktan sonra, lezyon tabanına çepeçevre uygulanarak küratif bir yöntem olarak kullanılabilir.
- Kriyoadezyon tekniği ile hava yolunda yabancı cisim, aspirasyonla temizlenmekte güçlük çekilen sekresyon ve koagulumların havayolundan uzaklaştırılmasında kullanımı önerilir.
- Endobronşiyal kriyobiopsi tekniği ile havayolu lezyonlarından alınacak biyopsiler, konvansiyonel forceps biyopsi tekniğine göre tanı oranında artış sağlayabileceğinden kullanılabilir.
- Transbronşiyal kriyobiopsi yöntemi, genel anestezi altında entübasyon tüpü ya da rijit bronkoskop eşliğinde uygulandığında interstisyel akciğer hastalıklarının tanısında katkı sağlayabilir. Ancak komplikasyon oranının yüksek olduğu akıld tutulmalıdır.

4. Komplikasyonlar

Standart prob kriyoterapi genel olarak güvenli bir prosedürdür. Olgu serilerinde komplikasyonlar hemoptizi (%4-10), bronkospazm (%4.5), kardiyak aritmi (%11) ve ölüm (%1.3) olarak tanımlanmıştır (6,21,34-38).

Bronkoskopik kriyoadazyon uygulamalarında (kriyoekestraksiyon, endobronşiyal ve transbronşiyal kriyoprob biyopsi) çalışmalarında bildirilmiş en önemli komplikasyon kanama ve pnömotorakstır. Kanama oranı %4-10 arasındadır, APC ve elektokoter gibi yardımcı bir yöntem ihtiyacı duyulabilir (19-22-42). Transbronşiyal kriyobiopsi için yapılan bir metaanalizde pnömotoraks 12% (95% CI, 3-21), orta/ciddi kanama 39% (95% CI, 3-76), saptanmıştır (31). Transbronşiyal kriyobiopside kanama riskindeki artış hemostatik amaçlı balon uygulanması, soğuk salin ve adrenalin uygulamaları ile yönetilebilir.

Sprey kriyoterapide kullanılan likit nitrojenin havayolunda hızlı ekspansiyonu intratorasik yüksek basınç nedeniyle barotravmaya ve oksijen ile yer değiştirerek hipoksemiye yol açabilir. Bu nedenle likit nitrojenin bronkoskopi sırasında havayolundan hızla uzaklaştırılması için bazı manevralar tanımlanmıştır. Sprey kriyoterapi sırasında açık havalandırma uygulaması (endotrakeal tüp balonunun indirilmesi, ventilatör bağlantısının tüp ve rijit bronkoskoptan ayrılması) ile likit nitrojenin ortamdan hızlıca uzaklaştırılması gerekir. Ayrıca, FDA sprej kriyoterapi uygulanması sırasında akım hızını 25 watttan 12.5 watta azaltılmasını önermektedir ve bu da komplikasyon gelişim riskini azaltmada etkin olabilir (13,39).

Öneri

Kriyoadazyon teknikleri (kriyorekanalizasyon, endobronşiyal ve transbronşiyal kriyobiopsi) kullanıldığında orta ve ciddi dereceli kanama açısından dikkatli olunmalı ve bu durumlar için APC, elektrokoter, bronşiyal oklüzyon balonları gibi yardımcı yöntemlerin hazır tutulması gerektiği akılda tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Manzur P. *The role of intracellular freezing in the death of cells cooled at supraoptimal rates. Cryobiology 1977;14:251-72.*
2. Gage AA, Baust J. *Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. Cryobiology 1998;37(3):171- 86.*
3. Bolliger CT, Mathur PN, Beamis JF, et al.; European Respiratory Society/American Thoracic Society. *ERS/ATS statement on interventional pulmonology. European Respiratory Society/American Thoracic Society. Eur Respir J 2002;19(2):356-73.*
4. Ernst A, Silvestri GA, Johnstone D; American College of Chest Physicians. *Interventional pulmonary procedures: Guidelines from the American College of Chest Physicians. Chest. 2003 May;123(5):1693-717.*
5. Vergnon JM, Huber RM, Moghissi K. *Place of cryotherapy, brachytherapy, and photodynamic therapy in bronchoscopy of lung cancers. Eur Respir J 2006;28:200-18.*
6. Mathur PN, Wolf KM, Busk MF, et al. *Fiberoptic bronchoscopic cryotherapy in the management of tracheobronchial obstruction. Chest 1996;110:718-723.*
7. Hetzel M, Hetzel J, Schumann C, et al. *Cryorecanalization: a new approach for the immediate management of acute airway obstruction. J Thorac Cardiovasc Surg 2004;127(5):1427-31.*

8. Schumann C, Kropf C, Wibmer T, et al. Therapy of exophytic bronchial tumorous stenosis by flexible cryoprobe. *Eur Respir J* 2006;28(6):1286-7.
9. Babiak A, Hetzel J, Krishna G, et al. Transbronchial cryobiopsy: a new tool for lung biopsies. *Respiration* 2009;78:203-8.
10. Hetzel M, Hetzel J, Schumann C, et al. Cryorecanalization: a new approach for the immediate management of acute airway obstruction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127(5):1427-31.
11. Yilmaz A, Aktas Z, Alici IO, et al. Cryorecanalization: keys to success. *Surg Endosc*. 2012 Oct;26(10):2969-74. Epub 2012 May
12. Pajares V, Puzo C, Castillo D, et al. Diagnostic yield of transbronchial cryobiopsy in interstitial lung disease: a randomized trial. *Respirology* 2014;19:900-6.
13. Browning R, Turner JF, Parrish S. Spray cryotherapy (spray cryotherapy): institutional evolution of techniques and clinical practice from early experience in the treatment of malignant airway disease. *J Thorac Dis*. 2015; 7(Suppl 4): S405–S414).
14. Maiwand MO, Zehr KJ, Dyke CM, et al. The role of cryotherapy for airway complications after lung and heart-lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997;12:549.
15. Mu D, Nan D, Li W, et al. Efficacy and safety of bronchoscopic cryotherapy for granular endobronchial tuberculosis. *Respiration* 2011;82(3):268-72.
16. Deygas N, Froudarakis M, Ozenne G, Vergnon JM. Cryotherapy in early superficial bronchogenic carcinoma. *Chest* 2001;120(1):26-31.
17. Bertoletti L, Elleuch R, Kaczmarek D, et al. Bronchoscopic cryotherapy treatment of isolated endoluminal typical carcinoid tumor. *Chest* 2006;130(5):1405-11.
18. Dalar L, Ozdemir C, Abul Y, et al. Endobronchial Treatment of Carcinoid Tumors of the Lung. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2016 Mar;64(2):166-71. doi: 10.1055/s-0035-1549274.)
19. Inaty H, Folch E, Berger R, et al. Unimodality and multimodality cryodebridement for airway obstruction: a single center experience of safety and efficacy. *Ann Am Thorac Soc* 2016; Epub ahead of print
20. Maiwand MO. The role of cryosurgery in palliation of tracheo-bronchial carcinoma. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;15(6):764-8.
21. Maiwand MO, Evans JM, Beeson JE. The application of cryosurgery in the treatment of lung cancer. *Cryobiology* 2004;48(1):55-61.
22. Schumann C, Hetzel M, Babiak AJ. Endobronchial tumor debulking with a flexible cryoprobe for immediate treatment of malignant stenosis. *J Throac Cardiovasc Surg* 2010;139(4):997- 1000.
23. Weerdts S, Noppen M, Remels L, et al. Successful removal of a massive endobronchial clot by means of cryotherapy. *Journal of Bronchology* 2005;12(1):23-4.
24. Rubio E, Gupta P, le S, Boyd M. Cryoextraction: A novel approach to remove aspirated chewing gum. *Ann Thorac Med* 2013;8:58-9.
25. Seaman JC, Knepler JL, Bauer K, Rashkin M. The mean green popsicle: using cryotherapy to remove aspirated foreign bodies. *J Bronchology Interv Pulmonol* 2010;17(4):348-50.
26. Schumann C, Kropf C, Rudiger S, et al. Removal of an aspirated foreign body with a flexible cryoprobe. *Resp Care* 2010;55(8):1097-99.
27. Schumann C, Hetzel J, Babiak AJ, et al. Cryobiopsy increases the diagnostic yield in endobronchial tumor lesions. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010;140(2):417-21.

28. Aktas Z, Gunay E, Hoca NT, et al. Endobronchial cryobiopsy or forceps biopsy for lung cancer diagnosis. *Ann Thorac Med* 2010;5(4):242-6.
29. Hetzel J, Eberhardt R, Herth FJ, et al. Cryobiopsy increases the diagnostic yield of endobronchial biopsy: a multicentre trial. *Eur Respir J* 2012;39(3):685-90.
30. Segmen F, Aktas Z, Öztürk A, et al. How many samples would be optimal for endobronchial cryobiopsy? *Surg Endosc*. 2016 Jul 13. [Epub ahead of print]
31. Johannson KA, Marcoux VS, Ronksley PE, Ryerson CJ. Diagnostic Yield and Complications of Transbronchial Lung Cryobiopsy for Interstitial Lung Disease. A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Am Thorac Soc*. 2016 Oct;13(10):1828-1838.
32. Kropski JA, Pritchett JM, Mason WR, et al. Bronchoscopic cryobiopsy for the diagnosis of diffuse parenchymal lung disease. *PLoS One* 2013;8(11):e78674.
33. Hagmeyer L, Theegarten D, Wohlschläger J, et al. The role of transbronchial cryobiopsy and surgical lung biopsy in the diagnostic algorithm of interstitial lung disease. *Clin Respir J* 2015. doi: 10.1111/crj.12261.
34. Homasson JP, Renault P, Angebault M. Bronchoscopic cryotherapy for airway strictures caused by tumors. *Chest* 1986;90:159-64.
35. Asimakopoulos G, Beeson J, Evans J, et al. Cryosurgery for malignant endobronchial tumors: analysis of outcome. *Chest* 2005;127:2007-14.
36. Marasso A, Gallo E, Massaglia GM, et al. Cryosurgery in bronchoscopic treatment of tracheobronchial stenosis. Indications, limits, personal experience. *Chest* 1993;103:472-4.
37. Maiwand MO. Cryotherapy for advanced carcinoma of the trachea and bronchi. *BMJ (Clin Res Ed)* 1986;293:181-2.
38. Vergnon JM, Schmitt T, Alamartine E, et al. Initial combined cryotherapy and irradiation for unresectable non-small cell lung cancer; preliminary results. *Chest* 1992;102:1436-40.
39. Finley DJ, Dycoco J, Sarkar S, et al. Airway spray cryotherapy: initial outcomes from a multiinstitutional registry. *Ann Thorac Surg* 2012;94(1):199-203.