

Elisa Lappi-Blanco, Jukka Randell, Airi Jartti, Lauri Ahvenjärvi ja Maija Halme

Hyvä näytteenotto keuhkosyövän diagnostiikassa ja levinneisyyden arvioissa

Keuhkosyövän diagnostiikassa kudosis- ja solunäytteitä tarvitaan diagnoosin varmistamiseen, keuhkosyövän histologisen tyyppin selvittämiseen, syövän levinneisyyden määrittämiseen ja yhä useammin myös lääkehoidon suunnittelun vaatimiin molekyylibiologisiin tutkimuksiin. Näytteenottoaika ja -menetelmä valitaan monialaisesti kuvantamistutkimusten perusteella huomioiden kliininen kuva ja potilasturvallisuus. Molekyylibiologiset analyysit edellyttävät korkealaatuisia ja määrällisesti edustavia näytteitä, ja lääkehoidon vasteen arviointi tai hoidon muuttaminen voi edellyttää myös uusintanäytettä, joka voi olla kudosis- tai solunäyte tai nestebiopsia. Patologian laboratorion toiminnan tulee olla suunnitelmallista ja korkeatasoista, ja patologin tulee voida ohjata näytteen käsittelyä. Kehittyvät syöpähoidot edellyttävät hyviä hoitoketjuja ja kaikkien hoitoketjussa työskentelevien jatkuvaa täydennyskoulutusta.

Keuhkosyövän diagnostiikassa solu- ja kudosisnäytteitä tarvitaan sekä diagnoosin varmistamiseen että levinneisyyden arviointiin. Keuhkokarsinoomien molekyylibiologiaa koskevan tietämyksen lisääntyä ei-pienisoluisen, ei-levyepiteeliperäisen keuhkokarsinooman hoitoon on tullut uusia lääkkeitä, ja näiden karsinoomien hoidon suunnittelu edellyttää geneettisiä muutoksia kartoitettavia molekyylibiologisia tutkimuksia. Kirurginen biopsia kasvaimesta on yleensä materiaalina edustavin mutta käytettävissä vain harvoin, sillä 70–80 % keuhkosyövistä diagnosoidaan tilanteessa, jossa operatiivinen hoito ei ole mahdollista (1). Suurin osa keuhkosyöprien diagnostiikasta tehdäänkin niin sanottujen pienten näytteiden eli solunäytteiden ja biopsioiden perusteella, jolloin usein niukasta näytemateriaalista tehdään sekä keuhkosyövän histologiseen luokitteluun tarvittavat että mahdolliset molekyylibiologiset tutkimukset. Tämä asettaa uudenlaisia vaatimuksia sekä näytteenotolle, näytteen laadun ja riittävyyden arvioin-

nille että näytteen parhaalle mahdolliselle käsittelylle.

Näytteenottoaikan valinta

Kuvantaminen on keskeisessä roolissa näytteenottoaikkaa valittaessa. Varjoainetehosteinen keuhkojen ja ylävatsan tietokonetomografia (TT) antaa tarkan ja hyvän yleiskäsityksen muun muassa kasvaimen sijainnista, koosta ja keuhkojen tilanteesta, ja se toimii levinneisyys-selvittelyn lähtökohtana (2). TT:n perusteella voidaan kohtalaisen luotettavasti arvioida, mikä useista kasvaimista on mahdollinen primaarikasvain ja mitkä ovat metastaaseja. Jos primaarikasvaimia arvioidaan olevan useita, jokaisesta tulisi ottaa näyte histologian ja mutaatiostatuksen määrittämiseksi (3). Radiologi tekee TT:n perusteella alustavan TNM-luokituksen ja ottaa kantaa siihen, millä menetelmällä kudosisnäytteitä on parhaiten saatavissa. Keuhkosyövän levinneisyyden kuvaamisessa käytetään IASLC (International Association

TAULUKKO. Keuhkosyöpänäytteiden ottomenetelmien ominaisuuksia.

	Bronkoskopia	EBUS / EUS	Välikarsinan tähytys	TT / UÄ-biopsia
Keuhkoputken sisäinen muutos	+	–	–	–
Välikarsinan muutokset / imusolmukkeet	+	+	+	– (etuvälikarsinan kookkaat ekspansiot +)
Keuhkoputken ulkopuoliset kasvaimet	+	+	+	+
			(henkitorven alueella, subkari-naalisesti, trakeobronkiaalikulmat, oikean pääkeuhkoputken proksimaaliosan alue)	
Keuhkokudoksen muutokset	+	+	–	+
	(sentraaliset)	(radiaalinen UÄ)		TT (pleuran myötäiset myös UÄ)
Erityisvaatimukset			anestesiakelpoisuus	yhteistyö, riittävä keuhkojen toiminta
Vasta-aiheet	vaikea vuototaipumus	vaikea vuototaipumus	– voimakas kyfoosi – trakeostomia – vuototaipumus (relatiivinen) – vena cava -oireyhtymä (relatiivinen)	vaikea vuototaipumus

Lyhenteet: UÄ = kaikukuvaus, TT = tietokonetomografia, EBUS = keuhkoputkien kaikutähytys, EUS = kaikutähytys.

for the Study of Lung Cancer) 2009 -levinneyssyysluokitusta sekä päivitettyä TNM7-luokitusta. Paikallisten imusolmukkeiden sijainnin määrittelyssä käytetään TNM7-luokituksen imusolmukekarttaa (4, 5, 6, 7, 8, 9).

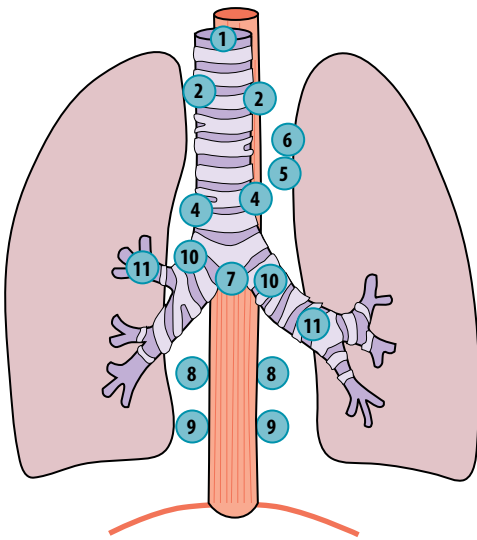
Fluorideoksiglukoosi-PET (FDG-PET) yhdistettynä TT:hen on todettu levinneisyyden sekä välikarsinan imusolmukkeiden laadun osalta herkemäksi ja tarkemmaksi kuin tavallinen TT (10, 11), mutta etenkin N2-taudissa tarvitaan usein myös solu- tai histologinen näyte (12). FDG-PET-TT:n on osoitettu olevan tavallista TT:tä herkempi ja tarkempi myös metastasoinnin osoittamisessa (13). FDG-PET-TT ei kuitenkaan korvaa varjoainetehosteista TT:tä.

Kuvantamisen perusteella voidaan valita myös laadullisesti mahdollisimman edustava näytteenottokohde, sillä histologisen ja ennen kaikkea myös molekyylibiologisen testin tarkkuus riippuu paitsi testimenetelmästä, myös testattavan materiaalin laadusta. Nekroosi-alueilta ei kannata ottaa näytettä, ja kudoksen

pehmentämistä vaativia luuta tai kalkkeja sisältäviä alueita tulee mahdollisuuksien mukaan välttää (3). Näytteenottokohteen valintaan vaikuttaa myös tutkimuksen turvallisuus ja helpous potilaalle.

Näytteenottomenetelmän valinta

Diagnoosin varmentava näytteenottomenetelmä valitaan yleensä bronkoskopiattisesti otettavien näytteiden ja TT- tai kaikuohjatun, rintakehän seinämän läpi pistettävän ohut- tai karkeaneulanäytteen väliltä. Näytteenottomenetelmän valinta perustuu kohteen sijaintiin, sairaalan endoskooppisten ja radiologisten tutkimusyksikköjen tekniseen valmiuteen ja keuhkolääkäreiden ja radiologien toimenpidevalmiuteen (**TAULUKKO**). Tavoitteena on histologinen näyte, sillä se on usein morfologisesti solunäytettä edustavampi ja riittää paremmin sekä kasvaimen tyyppittämiseen että molekyylibiologisiin analyysihin (3, 14, 15, 16). Samalla



KUVA 1. Keuhkoputkien (EBUS) ja ruokatorven (EUS) kautta suoritettavan kaikuohjatun ohutneulanäytteen sekä välikarsinan tähytyksessä otettavien biopsioiden ulottuvuudet välikarsinan imusolmukkeiden näytteenotossa. EBUS-tekniikka soveltuu parhaiten kansainvälisen imusolmukeluokituksen sijainteihin 2, 4, 7, 10 ja 11 (henkitorven edessä ja sivussa ja haarauman alapuolella olevat imusolmukkeet sekä hilusimusolmukkeet), EUS sijainteihin 2, 4, 7, 8 ja 9 (henkitorven takana ja ruokatorven ympärillä olevat imusolmukkeet) ja välikarsinan tähytys sijainteihin 2, 4, 5, 6 ja 7 (henkitorven edessä ja sivulla olevat imusolmukkeet).

pyritään valitsemaan mahdollisimman vähän kajoava menetelmä (16).

Bronkoskopian kautta otettavat näytteet.

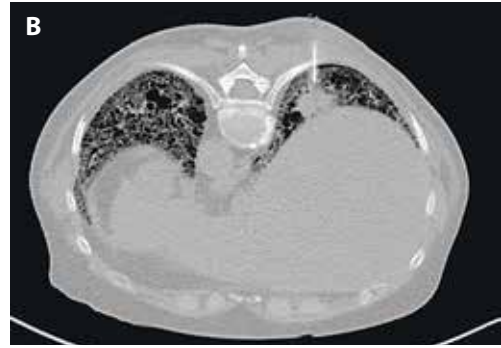
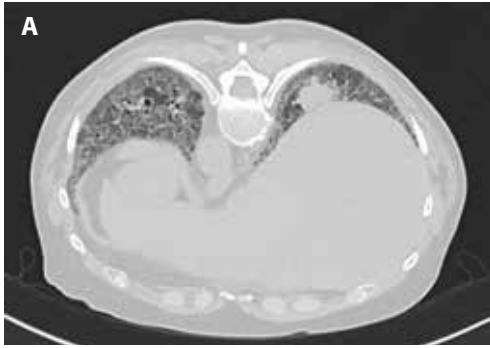
Keuhkoputkien tähytyksessä eli bronkoskopiassa näyte voidaan ottaa keuhkoputken sisällä olevasta kasvaimesta pihdillä, ja keuhkoputken ulkopuolella sijaitsevasta muutoksesta näyte voidaan ottaa seinämän läpi ohutneulanäytteenä joko keuhkoputkien kaikutähytyksessä tai ilman sitä TT-löydöstä apuna käyttäen (17). Tavoitteena on ottaa vähintään viisi ja tarvittaessa jopa kymmenen pihtiäbiopsiaa samasta kohteesta, ja ohutneulanäytteenotto on syytä varmistaa pistämällä kohteeseen 2–4 kertaa riittävän materiaalin saamiseksi (15, 16). Muita bronkoskopiassa käytettäviä menetelmiä sytologisen näytteen saa-

Usein tilanne on sellainen, että niukasta materiaalista joudutaan tekemään sekä perusdiagnostiikka että molekyyli-biologiset analyysit.

miseksi ovat imutekniikka ja harjasolunäytteen otto. Suurempien tai sentraalisemmin sijaitsevien kasvaimien näytteenotossa biopsiat, ohutneulanäytteet tai kryobiopsianäytteet antavat yleensä imu- ja harjanäytteitä enemmän diagnostista materiaalia jatkok tutkimuksia varten, ja histologinen näyte on solunäytettä suositeltavampi (3, 16, 18). Verenvuoto haittaa usein kudoksenäytteen ottoa, ja elektrokoagulaation käyttö saattaa tällöin mahdollistaa suunnitellun näytemäärän. Mikäli endobronkiaalinen kasvain on nekroottinen tai epiteelin verhoama, neulalla päästään usein nekroosi- ja epiteelikerroksen ohi vitaalin kasvaimen puolelle ja saadaan edustava näyte. Primaaribronkoskopian yhteydessä kannattaa yleensä yhdistää useampi näytteenottomenetelmä, jolloin diagnostinen osuvuus paranee.

Rintakehän seinämän läpi otettavat näytteet. Kaikuohjatun ohut- tai karkeaneulanäytteen edellytys on riittävän laaja kontaktipinta kasvaimen ja rintakehän seinän välillä. TT-ohjattu biopsia suunnitellaan tapauskohtaisesti, ja pistoreitti valitaan niin, että vältetään läpäisemästä lohkorajoja, emfyseemabullia ja suuria verisuonia. Kvantamisohjattu keuhkobiopsia on vasta-aiheinen, jos potilas ei ole riittävän yhteistyökykyinen, hänellä on hyytymishäiriö, kontrolloimaton yskä, akuutti tai hoitamaton sydämen vajaatoiminta tai kohonnut keuhkovaltimopaine. Keuhkojen toimintakyvyn tulee olla riittävä, jotta potilas kestäisi mahdollisen ilmarinnan. Toisen keuhkon poisto on pääsääntöisesti este jäljellä olevan keuhkon kuvantamisohjatuille biopsialle. Tavallimmat komplikaatiot ovat ilmairinta ja verenvuoto. Ilmaembolia, veririnta ja syöpäsolujen leviäminen pistokanavaan ovat sen sijaan hyvin harvinaisia.

Myös rintakehän seinämän läpi otettavissa näytteissä karkeaneulanäyte on ohutneulanäytettä suositeltavampi. Eurooppalainen suositus on ottaa samasta kohteesta vähintään kaksi karkeaneulanäytettä 18–20 G:n neulalla. Mikäli näytteenoton turvallisuus voidaan varmistaa, suositellaan otettavaksi 3–6 karkeaneulanäytettä (16).



KUVA 2. Keski-ikäisellä keuhkofibroosia sairastavalla potilaalla todettiin suureneva kasvain oikeassa alalohkossa (A). Kasvaimesta otettiin TT-ohjatusti karkeaneulabiopsia ja ohutneulabiopsia (B). Lopullinen diagnoosi oli pienisoluisen keuhkokarsinoma.

Etäpesäkkeistä otettavat näytteet. Imusolmukelevinneisyyttä selvitetään ottamalla suurentuneista tai PET-positiivisista imusolmukkeista ohutneulanäytteet keuhkoputken tai ruokatorven kautta keuhkoputkien kaikutähystys- tai kaikuendoskopiaohjatusti tai kudoksenäytteet välikarsinan tähytyksessä (19) (KUVA 1).

Näytteiden soveltuvuus diagnostiikkaan

Tavanomainen suomalainen käytäntö laittaa pienet kudoksenäytteet ja solunäytteet kiinnitysliuokseen jo näytteenotto paikassa on näytteen säilymisen kannalta hyvä. Suositeltu kudoksenäytteen kiinnittämisaika on 6–48 ja mielellään enintään 72 tuntia, sillä sekä liian lyhyt että liian pitkä kiinnittäminen johtaa DNA:n laadun heikkenemiseen (3, 16, 20, 21). DNA:n hajoamisen vaaran vuoksi tulisi välttää pienten kudoksenäytteiden säilyttämistä kiinnitysliuoksessa useita päiviä. Molekyylibiologisia tutkimuksia vaativien kudoksen- ja solunäytteiden yleistyessä monialaista yhteistyötä on usein tarpeen lisätä hoitoketjuja tarkistaen.

Nykyisillä menetelmillä formaliiniin kiinnitetty ja parafiiniin valettu kudoksenäyte mahdollistaa lähes kaikkien tarvittavien tutkimusten tekemisen ja materiaalin arkistoinnin. Bronkoskopiassa otetuista harjasolunäytteistä, ohutneulanäytteistä ja pleuranesteestä tehdyistä solunäytteistä voidaan usein tehdä parafiiniin valettuja kudoksenäytteitä eli niin kutsuttuja

solublokkeja, jotka myös soveltuvat useimpiin tarvittaviin tutkimuksiin (3, 16). Suomessa ei toistaiseksi ole rutiinikäytössä menetelmiä, jotka mahdollistaisivat solunäytteistä tehtyjen sytosentrifugi- tai sivelyvalmisteiden käytön molekyylibiologisiin tutkimuksiin. Teoriassa menetelmät olisivat mahdollisia, mutta ne ovat teknisesti vaativia ja hitaita ja soveltuisivat huonosti rutiinimaiseen laboratoriotyöhön. Tuorekudoksen jäädyttäminen jo toimenpiteyksissä takaisi edustavimman näyttemateriaalin, mutta tätä menetelmää käytetään sen työläyden ja tavanomaisesta poikkeavan välineistön vuoksi lähinnä tutkimustyössä.

Patologian laboratorion sujuva toiminta on tärkeää

Patologian laboratorion rooli näytteen optimaalisessa käsittelyssä on keskeinen. Jos potilaasta on useampia karkeaneulabiopsioita, ne käynnistetään omille kaseteilleen. Yksittäiset isot karkeaneulanäytteet voidaan käynnistää halkaistuna kahdelle kasetille, ja solunäytteistä tehdään mahdollisuuksien mukaan solublockki. Optimaalisessa tilanteessa osa materiaalista voidaan käyttää syövän luokitteluun ja osa säästää molekyylibiologisiin tutkimuksiin. Patologian laboratoriossa kaikki potilaan keuhkosyöpänäytteet kannattaisi keskittää samalle patologiille, joka saa kokonaiskuvan käytössä olevan materiaalin laadusta ja päättää näyttemateriaalin tehokkaasta käytöstä.

Ydinasiat

- ▶ Kudos- ja solunäytteitä tarvitaan sekä keuhkosyövän diagnostiikkaan että levinneisyyden arviointiin.
- ▶ Levinneisyyden ja näytteenottoaikan valinta perustuu kuvantamiseen.
- ▶ Näytteenoton tavoitteena on histologinen näyte mahdollisimman vähän kajoavaa menetelmää käyttäen.
- ▶ Uusien lääkehoitojen vuoksi voidaan tarvita molekyylibiologisia tutkimuksia, mikä edellyttää edustavia näytteitä ja suunnitelmallista näytemateriaalin käsittelyä.
- ▶ Keuhkosyövän diagnostiikka ja hoito on hyvää tiedonkulkua edellyttävää monialaista toimintaa.

Usein tilanne on sellainen, että niukasta materiaalista kuten yksittäisestä bronkoskopiassa otetusta kudospäätteestä joudutaan tekemään sekä perusdiagnostiikka että molekyylibiologiset analyysit (Lappi-Blanco ym. tässä numerossa). Tällöin tutkimukset on tehtävä suunnitellusti välttämättä turhaa materiaaliin kajoamista, joten kaikki immunohistokemiallisiin ja molekyylibiologisiin tutkimuksiin tarvittavat leikkeet pyritään tekemään yhdellä kertaa. Jos kliinisen kuvan ja kuvantamisen perusteella on todennäköistä, että kyseessä on keuhkon primaarikasvain, etäpesäkkeen mahdollisuutta kartoittavia immunohistokemiallisia lisävärjäksiä ei kannata tehdä. Keuhkojen adenokarsinoomalle ominainen TTF-1 (thyroid transcription factor) ja levyepiteelikarsinoomalle ominainen p63 tai p40 yleensä riittävät erotusdiagnostiikkaan (1).

Molekyylibiologisia tutkimuksia varten patologin tulee ilmoittaa tutkittavan materiaalin sisältämän kasvainsolukon määrä. Tarvittavan kasvainsolukon määrä riippuu käytetystä menetelmästä ja syöpäsolukon mutatoituneen alleelin kopiaulukumäärästä. Väärän negatiivisen löydöksen välttämiseksi syöpäsolukon osuuden kudospäätteen kokonaissoluisuudesta tu-

lisi yleensä olla vähintään 25 %, mutta herkkiä menetelmiä kuten uuden polven sekvensointia (NGS) käytettäessä 10 %:n osuus voi olla riittävä (3). Syöpäsolukon suhteellista osuutta voidaan lisätä käsin tehtävällä makrodissektiolla, jota varten patologi valitsee kudusblokista eniten kasvainsoluja sisältävän alueen välttämättä nekrooseja ja limaa sisältäviä alueita. Sytologisista näytteistä tehdyn solublokin käytettävyyden ratkaisee kasvainsolujen kokonaismäärä.

Uusintabiopsian tarve ja nestebiopsia

Keuhkokarsinooman ilmentämissä mutaatioissa voi tapahtua muutoksia taudin edetessä ja hoitojen aikana, minkä vuoksi uusintabiopsiaan ja mutaatiostatuksen arviointiin uudelleen voidaan joutua tilanteissa, joissa lääkähoidon vaikutus lakkaa tai syöpä uusiutuu tai metastasoi. Mutaatiostatuksen muuttumisen taustalla on usein hoidolle vastustuskykyisen syöpäsolukloonin rikastuminen tai vaihtoehtoisen signaalireitin aktivoituminen (22, 23, 24) ja mahdollisesti myös primaarikasvaimen heterogeenisuus (25). Kyseessä voi olla myös uusi primaarikasvain tai keuhkosyövän histologisen tyyppin muuttuminen, jolloin tavallisimmin on kyseessä adenokarsinooman muuttuminen pienisoluiseksi karsinoomaksi (22). Ei ole selkeää näyttöä siitä, tulisiko uusintabiopsia ottaa edenneessä taudissa uudestaan primaarikasvaimesta vai etäpesäkkeestä, mutta näissä tilanteissa etäpesäke voi olla hyvä näytteenottokohde, joskin kohteen saavutettavuus voi ratkaista näytteenottoaikan.

Uusi EGFR (epidermaalisen kasvutekijän reseptori 1) -mutaatioanalyysi voidaan kudospäätteen asemesta tehdä myös niin sanotusta nestebiopsiasta, joka on jo Suomessakin käytössä joissakin yksiköissä. Nestebiopsialla analysoidaan kasvainsoluista verenkiertoon vapautunutta DNA:ta, joka sisältää syöväälle ominaisia mutaatioita. Nestebiopsia mahdollistaa luotettavasti hoitovasteen, hoitoresistenssin ja mahdollisen jäännöstaudin arvioinnin, mutta sen käyttö kliinisen mutaatiostatuksen primaariagnostiikassa vaatii vielä lisätutkimuksia (25).

Lopuksi

Keuhkosyövän hoito edellyttää huolellista levinneisyyden kartoitusta, täsmällistä diagnostiikkaa ja yhä useammin myös molekyylibiologisia tutkimuksia. Uudet analyysimenetelmät edellyttävät korkealaatuisia ja riittäviä näytteitä, minkä vuoksi sekä näytteenottoon että näytteen jokaiseen käsittelyvaiheeseen on kiinnitettävä aiempaa suurempaa huomiota. Monialainen arviointi käytettävistä tutkimusmenetelmistä ja niiden tuloksista hoitosuunnitelmaa tehtäessä parantaa sekä diagnostiikkaa että kohdentaa paremmin hoitoja kullekin yksilöllisesti parhaiten

sopiviksi. Toimivat hoitoketjut, toimenpiteitä tekevien lääkäreiden ja muun henkilökunnan jatkuva lisäkoulutus, patologian laboratorion suunnitelmallinen toiminta ja patologin ohjaama näytteen käsittely ovat avainasemassa potilaiden hoitomahdollisuuksia kartoitettaessa. ■

* * *

Kiitämme ylilääkäri, dosentti Petri Koivusta ja erikoislääkäri Jukka Tikantoa välikarsinan tähytystä koskevista kommentteista.

ELISA LAPPI-BLANCO, LT, patologian erikoislääkäri
OYS Patologia

JUKKA RANDELL, LT, keuhkosairauksien ja allergologian erikoislääkäri
KYS, medisiininen keskus, keuhkosairauksien klinikka

AIRI JARTTI, dosentti, radiologian erikoislääkäri
LAURI AHVENJÄRVI, LT, radiologian erikoislääkäri
OYS Kuvantaminen

MAIJA HALME, dosentti, osastonylilääkäri
HYKS, Sydän- ja Keuhkokeskus, Keuhkosairauksien klinikka

SIDONNAISUUDET

Elisa Lappi-Blanco: Luontopalkkio (Eli Lilly Finland), koulutus/kongressikuluja yrityksen tuella (Eli Lilly Finland, Pfizer)

Jukka Randell: Asiantuntijapalkkio (Duodecim, LKS), luontopalkkio (GSK, Olympus Finland)

Airi Jartti: Asiantuntijapalkkio (Roche, Boehringer Ingelheim Finland), luontopalkkio (Roche, Boehringer Ingelheim Finland)

Lauri Ahvenjärvi: Ei ilmoitusta sidonnaisuuksista

Maija Halme: Ei sidonnaisuuksia

SUMMARY

Good specimens for the diagnosis and assessment of extent of lung cancer

In the diagnosis of lung cancer, tissue and cytologic specimens are needed for confirmation of the diagnosis, elucidation of the histologic type of lung cancer, determination of the extent of the cancer, and increasingly also for the molecular biological investigations required for the planning of drug therapy. The site and method of specimen collection are chosen multidisciplinary on the basis of imaging studies, taking the clinical picture and patient safety into consideration. High-quality and quantitatively representative specimens are required for molecular biological analyses, and assessment of the response to drug therapy or modifying the treatment may require a new sample, which can be a tissue or cytologic specimen or a liquid biopsy.

KIRJALLISUUTTA

1. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, Marx A, Nicholson AG, toim. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. 4. painos. Lyon: IARC, WHO 2015.
2. Schaefer-Prokop C, Prokop M. New imaging techniques in the treatment guidelines for lung cancer. *Eur Respir J Suppl* 2002;35:71s–83s.
3. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, ym. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol* 2013;8:823–59.
4. Rami-Porta R, Ball D, Crowley J, ym. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the T descriptors in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007;2:593–602.
5. Rusch VW, Crowley J, Giroux DJ, ym. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the N descriptors in the forthcoming seventh edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007;2:603–12.
6. Postmus PE, Brambilla E, Chansky K, ym. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for revision of the M descriptors in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of lung cancer. *J Thorac Oncol* 2007;2:686–93.
7. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, ym. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol* 2007;2:706–14.
8. Goldstraw P, toim. Staging manual in thoracic oncology. Denver: International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) 2009.
9. Rusch VW, Asamura H, Watanabe H, ym. The IASLC lung cancer staging project: a proposal for a new international lymph node map in the forthcoming seventh edition of the TNM classification for lung cancer. *J Thorac Oncol* 2009;4:568–77.
10. Silvestri GA, Gonzalez AV, Jantz MA, ym. Methods for staging non-small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2013;143(5 Suppl):e2115–50S.
11. Lv YL, Yuan DM, Wang K, ym. Diagnostic performance of integrated positron emission tomography/computed tomography for mediastinal lymph node staging in non-small cell lung cancer: a bivariate systematic review and meta-analysis. *J Thorac Oncol* 2011;6:1350–8.
12. Terán MD, Brock MV. Staging lymph node metastases from lung cancer in the mediastinum. *J Thorac Dis* 2014;6:230–6.
13. Li J, Xu W, Kong F, Sun X, Zuo X. Meta-analysis: accuracy of 18FDG PET-CT for distant metastasis staging in lung cancer patients. *Surg Oncol* 2013;22:151–5.
14. Schneider F, Smith MA, Lane MC, ym. Adequacy of core needle biopsy specimens and fine-needle aspirates for molecular testing of lung adenocarcinomas. *Am J Clin Pathol* 2015; 143:193–200.
15. Roemen GM, zur Hausen A, Speel EJ. Adequate tissue for adequate diagnosis: what do we really need? Kirjassa: Dingemans AM, Reck M, Westeel V, toim. ERS monograph: lung cancer. Lausanne: European Respiratory Society 2015, s. 119–36.
16. Dietel M, Bubendorf L, Dingemans AM, ym. Diagnostic procedures for non-small-cell lung cancer (NSCLC): recommendations of the European Expert Group. *Thorax* 2016;71:177–84.
17. Du Rand IA, Barber PV, Goldring J, ym. British Thoracic Society guideline for advanced diagnostic and therapeutic flexible bronchoscopy in adults. *Thorax* 2011;66(Suppl 3):iii1–21.
18. Hetzel J, Eberhardt R, Herth FJ, ym. Cryobiopsy increases the diagnostic yield of endobronchial biopsy: a multicentre trial. *Eur Respir J* 2012;39:685–90.
19. Rouhos A, Katajisto M, Halme M. Keuhkoptkien kaikutähystys – milloin tarpeen? *Duodecim* 2013;129:1701–6.
20. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, ym. American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2007;131:18–43.
21. Spencer DH, Sehn JK, Abel HJ, Watson MA, Pfeifer JD, Duncavage EJ. Comparison of clinical targeted next-generation sequence data from formalin-fixed and fresh-frozen tissue specimens. *J Mol Diagn* 2013;15:623–33.
22. Yu HA, Riely GJ, Lovly CM. Therapeutic strategies utilized in the setting of acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Clin Cancer Res* 2014; 20:5898–907.
23. Esfahani K, Agulnik JS, Cohen V. A systemic review of resistance mechanisms and ongoing clinical trials in ALK-rearranged non-small cell lung cancer. *Front Oncol* 2014;4:174.
24. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, ym. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 2012;366:883–92.
25. Isomursu A, Kononen J, Kuopio T. Verenkierron solunulkoinen DNA syövän merkkiaineena. *Duodecim* 2015;131:424–32.