

Aus der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Martin Canis

Anwendungsmöglichkeiten optischer Untersuchungsmethoden bei Erkrankungen im Hals-Nasen-Ohrenbereich



Habilitationsschrift
vorgelegt von
Dr. med. Anna Sophie Englhard
2024

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung
2. Fragestellungen
 - 2.1. Anwendung optischer Untersuchungsmethoden bei Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes
 - 2.1.1. Optische Kohärenztomographie (OCT)
 - 2.1.2. Konfokale Laserendomikroskopie (CLE)
 - 2.1.3. Narrow Band Imaging (NBI)
 - 2.2. Anwendung optischer Untersuchungsmethoden bei Erkrankungen von Nase und Nasennebenhöhlen
 - 2.2.1. Storz Professional Image Enhancement System (SPIES)
 - 2.2.2. Optische Kohärenztomographie (OCT)
3. Zusammenfassung und Ausblick
4. Literatur
5. Danksagung
6. Schriftenverzeichnis
 - 6.1. Übersicht
 - 6.2. Sonderdrucke der Originalarbeiten

1. Einleitung

Bildgebende Verfahren haben in den letzten Jahrzehnten in der Medizin zunehmend an Bedeutung gewonnen. In der Diagnostik und Therapieplanung sowohl von gut- als auch von bösartigen Erkrankungen sind Sonographie, Computer- und Magnetresonanztomographie unverzichtbar geworden. Aufgrund ihrer eingeschränkten Auflösung erlauben diese Methoden aber meist erst die Darstellung von fortgeschrittenen Veränderungen. Prämaligne Läsionen, die im Schleimhautniveau entstehen, können häufig nicht entdeckt werden. Daher werden zunehmend neuartige, optische Diagnoseverfahren zur Früherkennung von Tumoren erprobt. Diese Methoden erlauben eine unmittelbare und hochauflösende Untersuchung der Gewebearchitektur (Betz, 2016; Jerjes, 2011). So könnten sie eine minimalinvasive und kostengünstige Diagnostik von suspekten Läsionen in Echtzeit ermöglichen (Green, 2016; Upile, 2007). In der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde (HNO) wurden optische Techniken zunächst hauptsächlich zur Untersuchung von Dysplasien oder fortgeschrittenen Tumoren der Mundhöhle, des Pharynx und des Larynx eingesetzt (Betz, 2013), blieben aber nicht ausschließlich auf dieses Anwendungsgebiet beschränkt. Mittlerweile wurden sie bei unterschiedlichsten Hals-Nasen-Ohren-Erkrankungen erprobt. So eignen sich optische Methoden auch zur Untersuchung von inflammatorischen Krankheiten (Wong, 2018). Über die Abbildung von Lumenänderungen des Atemwegs (Jing, 2012) oder der Darstellung der dynamischen Bewegung der Stimmlippen (Sharma, 2021; Unger, 2015) ist mit Hilfe optischer Techniken auch eine zuverlässige Funktionsdiagnostik möglich.

Die vorliegende, kumulative Arbeit befasst sich mit dem Einsatz verschiedener optischer Untersuchungsmethoden bei Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes sowie bei Erkrankungen der Nase und Nasennebenhöhlen.

2. Fragestellungen

2.1. Optische Untersuchungsmethoden bei Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes

Krebs ist weltweit eine der führenden Todesursachen. Kopf-Hals-Karzinome zählen dabei zu den häufigsten malignen Neoplasien (Sung, 2021). Die Prognose dieser Karzinome ist schlecht: auch nach einer optimalen Therapie entwickeln viele Patienten lokale Rezidive oder Zweitkarzinome (Noronha, 2018). Eine frühe Diagnose und Behandlung der Kopf-Hals-Malignome und vor allem ihrer frühinvasiven Formen kann die Prognose deutlich verbessern. Die Fünf-Jahres-Überlebensraten fallen von einem lokal begrenzten Tumorgeschehen hin zu Neoplasien mit regionaler Lymphknoten- oder Fernmetastasierung steil ab (Magnez, 2021). Daher ist es besonders wichtig, auch prä maligne Läsionen zu erkennen und frühzeitig zu therapieren.

Ein Großteil der Kopf-Hals-Karzinome entwickelt sich aus dysplastischen Läsionen, die mit klassischen Diagnoseverfahren wie Inspektion, Endoskopie und bildgebenden Methoden zum Teil nur schwer zu erkennen sind. Auch frühinvasive Karzinome können als Ulkus, Erosion oder als nur leicht aufgeraute Schleimhaut erscheinen und fälschlicherweise für entzündliche Prozesse gehalten werden oder gar nicht auffallen. Optische Diagnoseverfahren können hier hilfreich sein, da sie eine hochauflösende Untersuchung der Gewebearchitektur ermöglichen und so eine unmittelbare Diagnostik von suspekten Läsionen erlauben (Jerjes, 2011). Sie können die Sensitivität und Spezifität der normalen Weißlichtendoskopie erhöhen und dadurch die Anzahl von unnötigen Biopsien verringern (Hughes, 2010). Jede Biopsie birgt ein gewisses Risiko der Infektion oder Blutung. Außerdem kann es durch die Gewebeentnahme zu einem Funktionsverlust (zum Beispiel im Bereich der Stimmlippen zu einer dauerhaften Heiserkeit) kommen. Der Therapiebeginn von bösartigen Veränderungen könnte in Zukunft durch eine präzise „in-vivo Diagnostik“ mittels optischer Untersuchungstechniken zudem beschleunigt werden.

Grundsätzlich lassen sich horizontale und vertikale optische Untersuchungsmethoden unterscheiden. Mit horizontalen Techniken, wie dem Narrow Band Imaging (NBI) oder der kontrastverstärkten Endoskopie des Storz Professional Image Enhancement Systems (SPIES), können größere Schleimhautoberflächen mit hoher Sensitivität untersucht und Veränderungen aufgezeigt werden. Sie eignen sich daher vor allem als Screeningmethode. Vertikale Verfahren dagegen, wie die konfokale Laserendomikroskopie (CLE) oder die optische Kohärenztomographie (OCT), ermöglichen eine Einschätzung der Tiefenausdehnung und so eine genauere Beurteilung von auffälligen Schleimhautbereichen.

Der obere Aerodigestivtrakt ist prinzipiell für den Einsatz dieser Verfahren gut geeignet, da die Schleimhaut in diesem Bereich – im Gegensatz zur äußeren Haut mit ihrer stark streuenden Keratinschicht – günstige optische Eigenschaften aufweist. Außerdem sind diese Regionen im Vergleich zu anderen Gebieten wie dem Gastrointestinal- oder Tracheobronchialtrakt relativ gut zugänglich. Trotzdem gibt es im Unterschied zu anderen medizinischen Fachbereichen bisher wenig Evidenz zum Einsatz von optischen Methoden zur Krebsfrüherkennung im oberen Aerodigestivtrakt im Vergleich zur Routinediagnostik.

Originalarbeit:

Betz CS, Kraft M, Arens C, Schuster M, Pfeffer C, Rühm A, Stepp H, **Englhard A**, Volgger V. Optical diagnostic methods for early tumour diagnosis in the upper aerodigestive tract: Quo vadis? HNO. 2016

2.1.1. Optische Kohärenztomographie bei Tumoren des oberen Aerodigestivtrakts

Die optische Kohärenztomographie (OCT) ist eine nicht-invasive optische Untersuchungstechnik, die Nahinfrarotlicht benutzt, um vertikale Schnittbilder herzustellen und so eine Beurteilung der horizontalen Gewebeschichtung zu ermöglichen. Sie wird häufig mit dem Ultraschall verglichen, da beide Techniken auf dem Prinzip der Messung von Laufzeitunterschieden von applizierter und detektierter Welle beruhen. Während beim Ultraschall eine Schallwelle genutzt wird, arbeitet die OCT mit einer elektromagnetischen Welle. Beide Verfahren zeigen ähnliche Bilder; die OCT verfügt allerdings über eine deutlich höhere Auflösung von 2 bis 15 μm – im Vergleich liegt diese beim Ultraschall bei 0,15 bis 0,8 mm. Die OCT-Wellenlänge bedingt die optische Eindringtiefe, da die Welle jedoch das Gewebe auf dem Hin- und Rückweg transmittieren muss, ist die Detektions- also die Sichttiefe für die OCT nur halb so groß wie die optische Eindringtiefe. Aufgrund der Gewebestreuung im oberen Atemweg ist die Detektionstiefe auf maximal 2 mm beschränkt. Das ist für die Bildgebung von (prä)malignen Läsionen, welche nahe der Basalmembran in einer Tiefe von etwa 150 bis 600 μm entstehen, gerade ausreichend (Arens, 2007; Volgger, 2013).

Die OCT wird standardmäßig in der Augenheilkunde zur Darstellung der Retina benutzt. Auch die Anwendung in der Kardiologie, Urologie und Gynäkologie ist beschrieben (Gallwas, 2011; Karl, 2010; Zhou, 2010). Der Einsatz der OCT in der HNO ist weitgehend auf klinische Studien beschränkt. Sie wurde bereits bei unterschiedlichsten Indikationen, wie der Diagnostik von Schilddrüsenpathologien (Sommerer, 2015; Yang, 2019), der Einschätzung des Schweregrades von oralen Mukosiden

(Calantog, 2013) oder zur dreidimensionalen Rekonstruktion des Atemwegs (Jing, 2012; Volgger, 2015) verwendet. Ihr Hauptanwendungsgebiet stellt jedoch die Untersuchung von Dysplasien und Tumoren der oberen Atemwege dar (Betz, 2013). Maligne Schleimhautveränderungen können mit der OCT durch den Nachweis einer gestörten horizontalen Gewebeschichtung, einer erhöhten epithelialen Dicke und – im Falle einer Invasivität – an einer durchbrochenen Basalmembran erkannt werden (Burns, 2011; Just, 2009; Kraft, 2008; Wong, 2005).

Der Larynx ist mit seiner stabilen Struktur und seinem relativ dünnen Epithel besonders gut für eine Untersuchung mit der OCT geeignet und zählt daher zu den am häufigsten untersuchten Bereichen des oberen Aerodigestivtrakts. In den meisten Studien wurden die OCT-Sonden während der Mikrolaryngoskopie direkt auf die Pathologien gesetzt (Armstrong, 2006; Kraft, 2007; Wong, 2005). Diese Vorgehensweise hat jedoch den Nachteil, dass durch die Komprimierung des Gewebes Artefakte auftreten können. Außerdem ist es nicht einfach, die OCT-Sonde und die für Biopsien benötigten Mikroinstrumente gleichzeitig zu benutzen. Eine kontaktlose OCT-Untersuchung durch starre oder flexible transnasale Endoskope wurde bereits vor Jahren beschrieben (Sepehr, 2008; Yu, 2009). Allerdings stellt hier der variable Abstand zwischen Endoskop und Stimmlippenebene eine Schwierigkeit in der Anwendung dar; zudem treten teilweise Bewegungsartefakte auf. Eine mögliche Lösung für diese Probleme könnte die Integration der OCT in ein Operationsmikroskop sein. Vielversprechende Ergebnisse für eine Untersuchung des Larynx mit dieser Methode wurden beschrieben (Just, 2009; Just, 2010; Vokes, 2008).

Bei der Beurteilung der OCT zur Untersuchung von Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes konzentrierten wir uns auf folgende Fragestellungen:

- Ist es hilfreich, eine Mikrolaryngoskopie mit einer im Operationsmikroskop integrierten OCT durchzuführen?
- Ermöglicht das OCT-Mikroskop eine Differenzierung von benignen und malignen Tumoren des Larynx?
- Können auch prä-maligne Läsionen richtig eingeschätzt werden?

In einer prospektiven Studie untersuchten wir 33 Patienten mit verschiedenen laryngealen Pathologien mit Hilfe eines in einem Mikroskop integrierten OCT-Systems. Für die Mikrolaryngoskopie benutzten wir ein herkömmliches Operationsmikroskop (HS Hi-R 1000G Haag-Streit Surgical GmbH; Wedel, Deutschland) mit einer integrierten OCT-Kamera (iOCT, Opto-Medical Technologies GmbH; Lübeck, Deutschland). Die intraoperativ anhand der OCT-Bilder gestellte Diagnose wurde anschließend mit den histopathologischen Befunden der Raumforderungen verglichen. In unserer Studie erwies sich

die Untersuchung mit dem OCT-Mikroskop trotz einer variablen Bildqualität und einer eingeschränkten Eindringtiefe als hilfreich für die Differenzierung von Pathologien des Larynx. Vorteilhaft war die simultane Darstellung von Mikroskop- und OCT-Bild auf einem Bildschirm (siehe Abbildung 1 und 2).

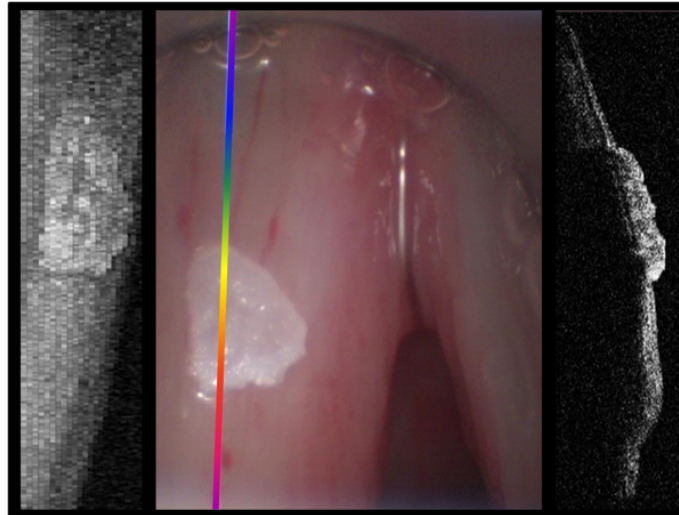


Abbildung 1: Untersuchung eines Patienten mit einer Leukoplakie der Stimmlippe: In der Mitte findet sich das mikroskopische Bild des Larynx und rechts die entsprechende OCT-Untersuchung des Areals (markiert mit der bunten „Scanlinie“ im mikroskopischen Bild). Im OCT lässt sich unterhalb der Leukoplakie die intakte Basalmembran erkennen. Außerdem findet sich eine zusätzliche, inhomogene, helle Schicht über dem Epithel (Hyperkeratose). Rechts sieht man die OCT-3-D-Aufnahme der linken Stimmlippe. Die histologische Untersuchung zeigte eine Hyperkeratose (aus Lasers in Surgery and Medicine, Englhard et al., 2017).

Durch die Anwendung des im Mikroskop integrierten OCT-Systems hatte der Operateur die Möglichkeit, während der Untersuchung chirurgische Instrumente zu verwenden, was bei der Verwendung von sondenbasierten OCT-Systemen nur eingeschränkt möglich ist. Die Handhabung des OCT-Mikroskops erwies sich in unserer Studie für HNO-Chirurgen mit ausreichender Erfahrung als durchführbar, wobei für eine gute Bildqualität eine exakte Ausrichtung und eine gute Visualisierung des zu untersuchenden Gebietes (idealerweise mit einem großen Laryngoskop) entscheidend waren. Bei fünf Patienten konnte durch eine schlechte Einstellbarkeit des Larynx keine OCT-Untersuchung erfolgen. Die verbleibenden 28 Datensätze lieferten Schnittbilder der oberen Gewebeschichten bis zu einer Tiefe von maximal 1,2 mm und durchschnittlich 0,6 mm.

Durch den Vergleich mit der Histologie zeigte sich, dass mit Hilfe des OCT-Mikroskops 94% der gutartigen Raumforderungen und 80% der invasiven Karzinome während der Mikrolaryngoskopie

korrekt identifiziert wurden. Allerdings wurden nur 20% der prämaligen Läsionen richtig eingeschätzt. Die Untersuchung mit der OCT scheint den Schweregrad dieser Befunde zu überbewerten: die meisten Dysplasien und Carcinomata in situ wurden fälschlicherweise für invasive Karzinome gehalten. Auch andere Studien beschreiben Schwierigkeiten bei der korrekten Identifikation von Dysplasien mit der OCT (Armstrong, 2006; Kraft, 2008; Volgger, 2013). So können hyperkeratotische Läsionen die Reflexion von Licht an der Oberfläche erhöhen und dadurch eine Beurteilung der tieferen Epithelschichten erschweren. Stark hyperplastische Befunde können durch die Dicke des Befundes die Eindringtiefe der OCT überschreiten, sodass die Basalmembran nicht dargestellt werden kann und so der Eindruck entsteht, dass diese nicht mehr erhalten sei. Auch Ulzera, bei welchen per se eine Läsion der Basalmembran besteht, können fälschlicherweise als maligne interpretiert werden.

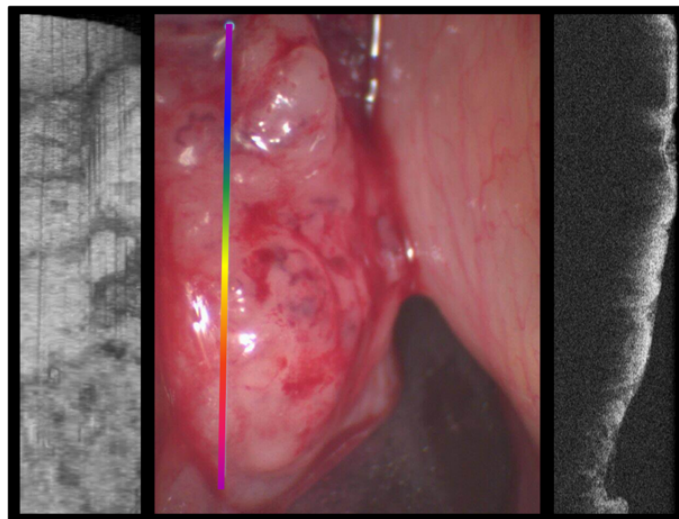


Abbildung 2: Untersuchung eines Patienten mit einer großen Raumforderung der linken Stimmlippe. In der Mitte findet sich das mikroskopische Bild des Larynx. Links zeigt sich die OCT-3-D-Aufnahme. Rechts sieht man die entsprechende OCT-Aufnahme des untersuchten Gebiets: die epitheliale Dicke ist erhöht, die horizontale Schichtung gestört und die Basalmembran nicht zu sehen. Das Areal wirkt zudem hyperkeratotisch. Die histologische Untersuchung zeigte ein G2-Plattenepithelkarzinom (aus Lasers in Surgery and Medicine, Englhard et al., 2017).

In unserer Studie fand sich im Vergleich zu den sondenbasierten OCT-Systemen teilweise eine eingeschränkte Bildqualität der OCT-Aufnahmen. Durch den direkten Kontakt der Sonde mit dem Gewebe steht für die Bildverarbeitung eine höhere Intensität des remittierten Lichts zur Verfügung, was zu einer geringeren Bildaufnahmezeit und einer besseren und stabileren Bildqualität führt (Vokes, 2008). Insgesamt erwies sich die im Operationsmikroskop integrierte OCT in unserer Studie als ein nützliches und vielversprechendes Hilfsmittel in der Diagnostik von laryngealen Pathologien, welches aber natürlich Biopsien als Goldstandard nicht ersetzen kann. Weitere Studien mit größeren

Patientenzahlen sind nötig, um den Nutzen für den klinischen Alltag einzuschätzen. Es ist anzunehmen, dass zukünftig die OCT nicht nur bei der Differenzierung von Pathologien des oberen Atemwegs, sondern auch bei der Bestimmung von Tumorgrenzen und der Führung von Biopsieentnahmen in weitläufigen Läsionen eingesetzt werden könnte. So könnte die Anzahl der erforderlichen Biopsien – und damit das Risiko für die Patienten und die Kosten für die Untersuchung – reduziert werden.

Zusammenfassend konnten die oben genannten Fragestellungen folgendermaßen beantwortet werden:

- Eine Mikrolaryngoskopie mit einer im Operationsmikroskop integrierten OCT ist für die Untersuchung von Pathologien des Larynx hilfreich.
- 94% der gutartigen Raumforderungen und 80% der invasiven Karzinome konnten während der Mikrolaryngoskopie korrekt identifiziert werden.
- Nur 20% der prämaligen Läsionen konnten intraoperativ mittels der OCT richtig eingeschätzt werden.

Originalarbeiten:

Volgger V, Arens C, Kraft M, **Englhard AS**, Betz CS. Optical coherence tomography for early diagnosis of epithelial dysplasia and microinvasive carcinoma of the upper aerodigestive tract. HNO. 2016

Englhard AS, Betz T, Volgger V, Lankenau E, Ledderose GJ, Stepp H, Homann C, Betz CS. Intraoperative assessment of laryngeal pathologies with optical coherence tomography integrated into a surgical microscope. Lasers in Surgery and Medicine. 2017

2.1.2. Konfokale Laserendomikroskopie bei Tumoren des oberen Aerodigestivtrakts

Wie in der oben beschriebenen Studie bereits ausgeführt, ist die Identifikation von prämaligen Läsionen mit der OCT schwierig, da diese durch die Zunahme der Dicke des Epithels ohne Durchbruch der Basalmembran charakterisiert werden. Im klinischen Alltag ist es jedoch überaus wichtig, gutartige Hyperplasien von prämaligen Läsionen abzugrenzen, weil diese unterschiedlich behandelt werden müssen. Hier wäre eine Methode, die eine zelluläre Auflösung bietet, wünschenswert.

Eine solche optische Untersuchungstechnik ist die konfokale Laserendomikroskopie (CLE), die eine zelluläre Analyse des Gewebes in vivo und in Echtzeit während einer Endoskopie ermöglicht (Goetz, 2011). Diese nicht-invasive Methode beruht auf Fluoreszenz, daher benötigt die CLE – anders als die OCT – ein Fluorophor, um einen ausreichenden Kontrast für die Bildgebung zu erzeugen. Für die intravenöse Verwendung ist nur Fluorescein Isothiocynat (FITC) zugelassen. Es färbt die Blutgefäße und den interstitiellen Raum für bis zu 30 Minuten an, allerdings nimmt die Bildqualität bereits nach acht Minuten deutlich ab (Becker, 2008). Die CLE liefert Schnittbilder parallel zur Oberfläche aus einer Gewebetiefe von etwa 250 µm mit einer axialen und lateralen Auflösung von bis zu 3 µm (Dittberner, 2016).

Die CLE wird in der Gastroenterologie seit Jahren routinemäßig eingesetzt (Pilonis, 2022; Su, 2013). Auch die Anwendung in der Pulmologie (Goorsenberg, 2020), Urologie (Zhang, 2022) und Gynäkologie (Degueldre, 2016) ist gut beschrieben. In der HNO wird die CLE bisher nicht in großem Umfang verwendet; es gibt vielversprechende Berichte über ihren Einsatz im Rahmen von Studien zur Diagnostik von Tumoren des oberen Aerodigestivtrakts. So scheint sie sich zur Differenzierung verschiedener Schleimhautläsionen (Goncalves, 2017; Haxel, 2010; Just, 2013; Nathan, 2014; Pogorzelski, 2012; Shinohara, 2020; Sievert, 2022; Thong, 2012) und zum Aufzeigen von Tumorgrenzen (Sievert, 2021) zu eignen.

Bei der Beurteilung der CLE zur Untersuchung von Tumoren des oberen Aerodigestivtrakts ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Ist mit Hilfe der CLE eine Differenzierung von Hyperplasien und prämaligen Dysplasien möglich?
- Ist eine Kombination der CLE mit der OCT zur Diagnostik von Läsionen des oberen Atemwegs sinnvoll?
- Hat die CLE in Kombination mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern das Potential, maligne Raumforderungen von gesunder Schleimhaut abzugrenzen?
- Ist eine Darstellung unterschiedlicher Gewebeschichten mit Hilfe verschiedener CLE-Sonden möglich?

Die Differenzierung von Hyperplasien und prämaligen Dysplasien ist im klinischen Alltag von großer Bedeutung. So müssen einfache Hyperplasien häufig nicht weiter behandelt werden, wohingegen mäßig bis hochgradige Dysplasien reseziert werden sollten, da sich aus ihnen invasive Karzinome entwickeln können. Eine zuverlässige Unterscheidung dieser Läsionen ist mit der OCT nicht möglich,

wenngleich über die Messung der Epitheldicke, welche vom Normalgewebe bis hin zu Karzinomen stetig zunimmt, der Schweregrad einer Dysplasie vermutet werden kann (Arens, 2007; Volgger, 2013). Daher wäre eine Kombination der OCT mit einer optischen Methode, die über eine zelluläre Auflösung verfügt, hier hilfreich. Wir untersuchten in einer prospektiven Studie die gemeinsame Anwendung von OCT und CLE zur Beurteilung von Pathologien des oberen Atemwegs. In einem ersten Schritt wurden Leuko- und Erythroplakien des Larynx mit der OCT (Niris 1300e Tissue Imaging System; Imalux Corporation, Cleveland, OH, USA) beurteilt. Läsionen, die sich in der OCT wie normale Schleimhaut oder invasive Karzinome darstellten, wurden ausgeschlossen. Die Befunde, welche in der OCT eine normale Schichtung, aber eine erhöhte Epitheldicke aufwiesen, wurden anschließend mit der CLE (probe-based (pCLE) "Cellvizio" system, Mauna Kea Technologies, Paris, Frankreich) nach intravenöser Gabe von FITC beurteilt. Insgesamt wurden 30 auffällige Befunde des Larynx während der Mikrolaryngoskopie mit der Kombination von beiden optischen Methoden untersucht. Intraoperativ wurde so eine Diagnose gestellt, welche anschließend mit der Histopathologie der Befunde verglichen wurde (siehe Abbildung 3). Bei dem Vergleich der Gewebebewertungen zeigte sich, dass mittels CLE hochgradige Dysplasien in 10 von 10 Fällen (100%) richtig erkannt wurden. Allerdings wurden viele Hyperplasien in ihrer Schwere überschätzt: in 7 von 15 Fällen (46,7%) wurden sie irrtümlich für Dysplasien gehalten. Die Sensitivität des CLE-Verfahrens betrug 100%, die Spezifität lediglich 40%.

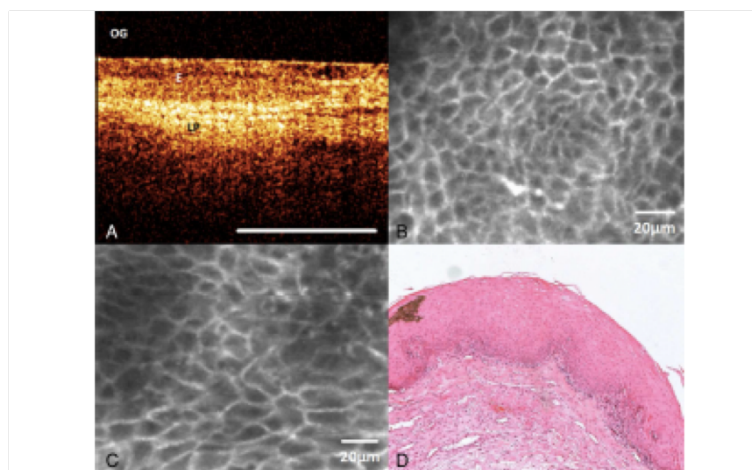


Abbildung 3: Untersuchung einer Läsion der Stimmlippe. (A) Das OCT-Bild zeigt eine erhaltene horizontale Schichtung, aber eine erhöhte epitheliale Dicke (OG: optische Lücke, E: Epithel, LP: Basalmembran). (B) pCLE-Untersuchung der gesunden Gegenseite mit gleichmäßig angeordneten, kleinen Zellen. (C) Das pCLE-Bild der Stimmlippenpathologie zeigt ebenfalls gleichmäßig angeordnete, kleine Zellen, ergibt also keinen Hinweis auf Malignität. (D) Die histopathologische Untersuchung der entsprechenden Gewebebiopsie der Stimmlippenläsion ergab eine epitheliale Hyperplasie (aus Head and Neck, Volgger et al., 2016).

Zum Zeitpunkt unserer Studie gab es nur wenig Erfahrung mit dem Einsatz der CLE zur Diagnostik von Tumoren im oberen Aerodigestivtrakt; einige Publikationen anderer Autoren beschreiben ähnliche Ergebnisse (Abbaci, 2014; Haxel, 2010; Nathan, 2014; Pogorzelski, 2012; Thong, 2012). Die Kombination von OCT und CLE scheint eine gute Methode für die Beurteilung von Pathologien des Larynx zu sein, da sich beide Methoden ergänzen. Die OCT erwies sich besonders hilfreich in der Differenzierung zwischen invasiven und nicht-invasiven Läsionen, wohingegen die Unterscheidung zwischen Hyperplasien und Dysplasien durch die CLE erleichtert wurde. Selbst bei einer geringen Spezifität sind die Ergebnisse vielversprechend, da es aktuell keine anderweitige nicht-invasive Methode gibt, die eine derartige Differenzierung ermöglicht. Für eine Anwendung im klinischen Alltag müssten allerdings noch einige methodische Probleme geklärt werden. Bei manchen Fragestellungen wäre es wünschenswert, Untersuchungen bei wachen Patienten durchführen zu können, auch um ihnen das Risiko einer Narkose zu ersparen. Das ist mit den verwendeten Systemen nicht machbar, so dass die Anwendungsmöglichkeiten begrenzt sind. Mittlerweile gibt es Berichte über eine OCT-Bildgebung an wachen Patienten während der Phonation, die eine simultane Darstellung der Dynamik der Stimmlippschwingung und der Gewebeschichtung erlauben könnte (Sharma, 2021). Neue Untersuchungen berichten zudem von vielversprechenden Ergebnissen zur Darstellung der Anatomie des Atemwegs auf einer zellulären Ebene mittels einer mikroskopischen OCT (mOCT) (Kohlfaerber, 2022).

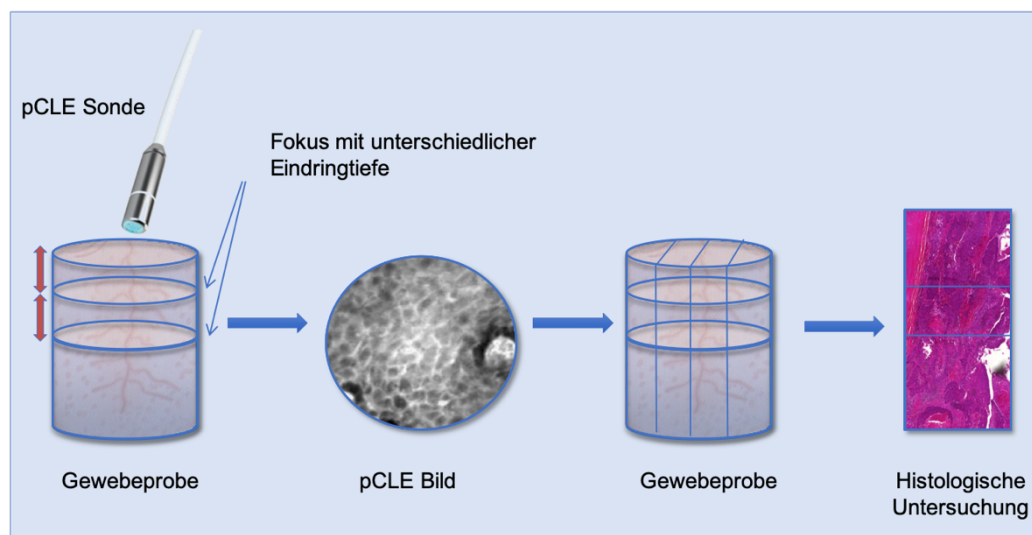


Abbildung 4: Orientierung der CLE-Bilder und der histologischen Schnitte. Die CLE-Untersuchung zeigt Bilder parallel zur Gewebeoberfläche, während die histopathologischen Schnitte vertikal zur Oberfläche orientiert sind. Die ungewohnte Ausrichtung erschwert die Interpretation der CLE-Bilder.

Die Interpretation der CLE-Bilder scheint selbst für erfahrene Pathologen schwierig zu sein, da die Schnitte parallel zur Gewebeoberfläche orientiert sind (siehe Abbildung 4). Daher ist ein längerer Lernprozess bei der Anwendung der CLE nötig.

Nachteilig ist zudem, dass für die CLE nur FITC als intravenöses Kontrastmittel zugelassen ist. Dieses färbt keine intrazellulären Strukturen an. Daher stehen gängige Kriterien wie die Relation der Größen von Zellkern und Zelle für die Beurteilung der Bilder nicht zur Verfügung. Außerdem besitzt FITC keine Spezifität für Tumorgewebe; deswegen kann gesunde Schleimhaut von malignem Gewebe nur anhand der Zellform und -größe unterschieden werden (Dittberner, 2016). Eine Möglichkeit, die Einschränkungen der unspezifischen Anfärbung durch FITC zu überwinden, ist die Verwendung von fluoreszenzmarkierten Antikörpern gegen tumorspezifische Antigene. So könnte die Unterscheidung von normaler und neoplastisch veränderter Schleimhaut vereinfacht werden. In einer weiteren prospektiven Studie untersuchten wir, ob die CLE eine Antikörper-basierte Darstellung von malignen Zellen erlaubt. Dazu wurden Antikörper gegen den Epidermal Growth Factor Receptor (EGF-R) und gegen das epitheliale Zelladhäsionsmolekül (EpCAM) benutzt. Beide Tumorantigene werden bei verschiedenen Karzinomen, so auch bei Plattenepithelkarzinomen des oberen Atemwegs, überexprimiert (Grandis, 1993; Imrich, 2012). Außerdem dienen sie als prognostische Marker und sind therapeutische Zielmoleküle (Baeuerle, 2007; Bonner, 2006). In der vorliegenden Studie wurden Gewebeproben aus Plattenepithelkarzinomen des Pharynx und Larynx sowie aus gesunder Schleimhaut (n=20) ex vivo mit FITC-markierten Antikörpern gegen EGF-R und EpCAM inkubiert und mit der CLE (probe-based (pCLE) "Cellvizio" system, Mauna Kea Technologies, Paris, Frankreich) untersucht. Anschließend wurden Gefrierschnitte aus den Präparaten gewonnen und immunhistochemische Färbungen für EGF-R und EpCAM angefertigt. Die Schnitte wurden dann mit einem optischen Mikroskop und mit einem konfokalen Laser-Scanning-Mikroskop untersucht und mit den korrespondierenden CLE-Bildern verglichen.

Durch die topische Applikation der Biomarker war eine spezifische Färbung von Tumorzellen möglich. Die CLE war schnell und einfach durchführbar. Nach der Inkubation der Gewebeproben mit den Antikörpern konnte bei der CLE-Untersuchung Fluoreszenz um runde Strukturen nachgewiesen werden, die in Form und Größe Zellen entsprechen könnten (siehe Abbildung 5). Im Tumorgewebe fielen eine irreguläre zelluläre Architektur sowie eine variable Zellgröße auf. Die Abgrenzung von gesunder zu maligne veränderter Schleimhaut war anhand dieser Kriterien schwierig, da auch das gesunde Gewebe teilweise eine unregelmäßige Anordnung der Zellen aufwies. Im Vergleich zum Tumorgewebe zeigte die gesunde Schleimhaut keine (EpCAM) oder eine reduzierte (EGF-R) Fluoreszenz. Daher scheint bei dieser Methode die Beurteilung der Intensität der Fluoreszenz ein besser geeigneter Parameter zur Unterscheidung von benignem und malignem Gewebe als die Bewertung der Zellarchitektur zu sein. Zum Zeitpunkt unserer Studie gab es keine Berichte über den

Nutzen der CLE zusammen mit Antikörpern gegen EpCAM. Eine Darstellung von anatomischen Strukturen durch die Applikation von Antikörpern gegen EGF-R und VEGF (vascular endothelial growth factor) wurde in der Gastroenterologie bereits beschrieben (Foersch, 2010; Goetz, 2010; Liu, 2013). Ähnlich wie in unserer Studie erfolgte die Differenzierung von gesunder und bösartig veränderter Schleimhaut anhand der Intensität der Fluoreszenz in der CLE-Untersuchung.

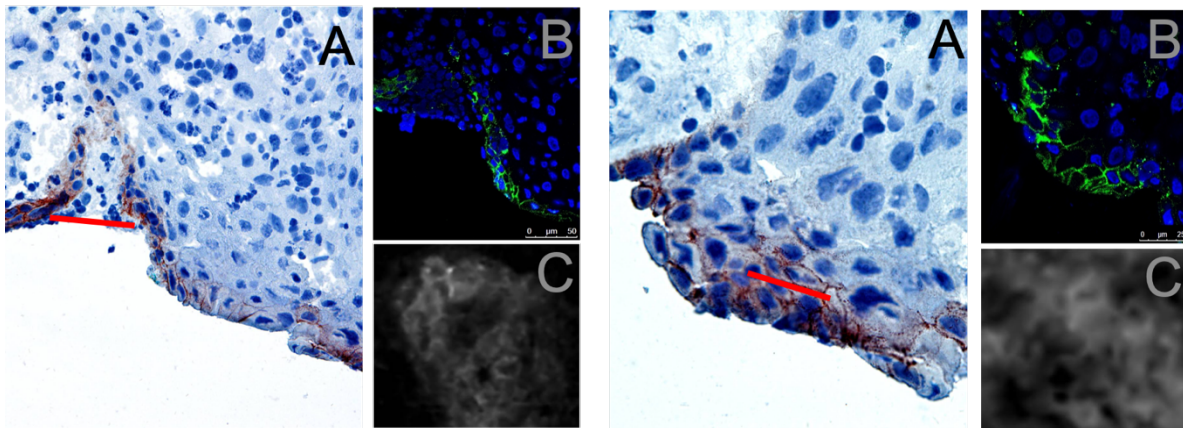


Abbildung 5: Untersuchung eines Hypopharynxkarzinom G3 p16 – mit pCLE-Sonden mit unterschiedlicher Eindringtiefe, Färbung mit EpCAM Antikörper. (A) Histologischer Schnitt, (B) entsprechende Untersuchung mit dem konfokalen Laser Scanning Mikroskop, (C) pCLE Bild, (–) ungefähre Eindringtiefe der pCLE Sonde (abgewandelt aus Journal of Biophotonics, Englhard et al., 2017).

Durch die Verwendung unterschiedlicher CLE-Sonden mit wechselnder Fokustiefe war in unserer Arbeit eine Bildgebung von verschiedenen Schichten bis zu einer Detektionstiefe von 70 μm möglich (siehe Abbildung 6). Diese Detektionstiefe war für unser Studiendesign ausreichend, stellt jedoch eine bedeutende Einschränkung der Anwendungsmöglichkeiten der Methode dar. Auch wenn das Fluoreszenzmuster eine klare Unterscheidung zwischen Tumoren und gesunder Schleimhaut zulassen würde, kann durch die eingeschränkte CLE-Detektionstiefe eine eventuelle Invasion tieferer Gewebeschichten durch die CLE nicht dargestellt werden. Eine mögliche Lösung für dieses Problem wäre eine direkte Anwendung der CLE in der Resektionshöhle nach makroskopischer Tumorentfernung (Abbaci, 2015; Sievert, 2021). So könnten mittels CLE residuale maligne Zellen aufgespürt und so der Resektionsstatus, das chirurgische Ergebnis und somit die Prognose der Patienten verbessert werden. Eine weitere neuere Untersuchung bestätigt das Potential der CLE in Verbindung mit EGF-R-Antikörpern zur Resektionsrandkontrolle (Watermann, 2019).

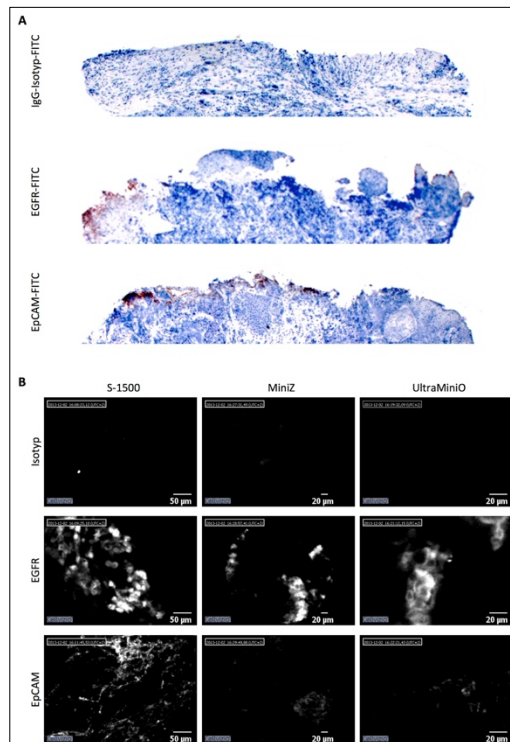


Abbildung 6: pCLE-basierte Darstellung eines EGF-R- und EpCAM-positiven Plattenepithelkarzinoms. (A) Die Proben des Plattenepithelkarzinoms wurden ex-vivo mit Isotype-Kontrolle, EGF-R- oder EpCAM-Antikörper inkubiert. (B) Anschließende Untersuchung der Gewebeproben mit verschiedenen pCLE-Sonden mit unterschiedlicher Detektionstiefe (aus Journal of Biophotonics, Englhard et al. 2017).

Zusammenfassend konnten die oben genannten Fragestellungen folgendermaßen beantwortet werden:

- Die CLE ist für die Differenzierung von Hyperplasien und prämaligen Dysplasien hilfreich: mittels CLE wurden hochgradige Dysplasien in 10 von 10 Fällen (100%) richtig erkannt. Allerdings wurden viele Hyperplasien in ihrer Schwere überschätzt: in 7 von 15 Fällen (46,7%) wurden sie irrtümlich für Dysplasien gehalten.
- Die Kombination von OCT und CLE scheint eine gute Methode für die Beurteilung von Pathologien des Larynx zu sein, da sich beide Methoden ergänzen. Die OCT erwies sich besonders hilfreich in der Differenzierung zwischen invasiven und nicht-invasiven Läsionen, wohingegen die Unterscheidung zwischen Hyperplasien und Dysplasien durch die CLE erleichtert wurde. Selbst bei einer geringen Spezifität sind die Ergebnisse vielversprechend, da es aktuell keine andere nicht-invasive Methode gibt, die eine derartige Differenzierung ermöglicht.

- Die CLE in Kombination mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern zeigte im Tumorgewebe Fluoreszenz um runde Strukturen, die Zellen entsprechen können. Bei der Untersuchung von gesunder Schleimhaut fand sich keine oder eine reduzierte Fluoreszenz. Die Abgrenzung von gesunder zu maligne veränderter Schleimhaut war anhand der Bewertung von Zellarchitektur und -größe schwierig, da auch das gesunde Gewebe teilweise eine unregelmäßige Anordnung der Zellen aufwies. Daher könnte bei dieser Methode die Beurteilung der Intensität der Fluoreszenz ein besser geeigneter Parameter zur Unterscheidung von benignem und malignem Gewebe als die Bewertung der Zellarchitektur zu sein.
- Durch die Verwendung unterschiedlicher CLE-Sonden mit wechselnder Fokustiefe war eine Bildgebung von verschiedenen Schichten bis zu einer Detektionstiefe von 70 µm möglich.

Originalarbeiten:

Volgger V, Girschick S, Ihrler S, **Englhard AS**, Stepp H, Betz CS. Evaluation of confocal laser endomicroscopy as an aid to differentiate primary flat lesions of the larynx: A prospective clinical study. Head and Neck. 2016

Englhard AS, Palaras A, Volgger V, Stepp H, Mack B, Libl D, Gires O, Betz CS. Confocal laser endomicroscopy in head and neck malignancies using FITC-labeled EpCAM- and EGF-R-antibodies in cell lines and tumor biopsies. Journal of Biophotonics. 2017

2.1.3. Narrow Band Imaging bei Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes

Dysplasien und Karzinome des oberen Atemwegsbereichs zeigen neben epithelialen Auffälligkeiten auch typische Gefäßveränderungen. Durch die Proliferation von bestehenden Gefäßen entsteht eine charakteristische Neoangiogenese. So kommt es zu einem Umbau des oberflächlichen Kapillarnetzes und der subepithelialen Gefäße. Mit steigendem Grad der Dysplasie entwickeln sich immer größere Veränderungen der Gefäßarchitektur (Sharma, 2005). Diese können mit Hilfe von optischen Methoden wie dem Narrow Band Imaging (NBI) dargestellt werden (Puxeddu, 2015).

Das NBI ist ein bildgebendes Verfahren für die endoskopische Diagnostik, welches das Licht auf zwei schmale Wellenlängenbänder im blauen und grünen Anregungsbereich reduziert (Arens, 2016). Bei diesen Wellenlängen wird das Licht vom Hämoglobin absorbiert, so dass die Blutgefäße sehr dunkel und kontrastiert erscheinen. So können (sub)epitheliale Gefäßveränderungen, die für die

Transformation von normalem zu entartetem Gewebe typisch sind, dargestellt werden. Das NBI kann daher sowohl für die Differenzierung von Schleimhautveränderungen als auch für die Bestimmung ihrer Ausdehnung eingesetzt werden. Da die Methode nicht nur mit starren, sondern auch mit flexiblen Endoskopen verwendet werden kann, eignet sie sich auch für die ambulante Untersuchung von wachen Patienten.

Das NBI besitzt ein großes Potential zur Früherkennung von HNO-Tumoren und deren Vorstufen (Bertino, 2015; Piazza, 2010; Stanikova, 2017). Bei malignen Veränderungen der Schleimhaut entstehen sogenannte „thick dark spots“, dunkle Flecken aus intraepithelialen Kapillarschlingen. Zudem scheinen mittels NBI auch postoperative oder postradiogene Veränderungen zuverlässig von Rezidiven unterschieden werden zu können (Piazza, 2010; Piazza, 2011). 2011 beschrieben Ni et al. ein Klassifikationssystem für Pathologien des Larynx, in welchem Typ I-V Läsionen unterschieden werden (Ni, 2011). Die Typen I-IV entsprechen hier gutartigen Veränderungen und der Typ V (der wiederum in die Typen Va bis Vc unterteilt werden kann) hochgradigen Dysplasien (Va) oder Karzinomen (Vb und Vc). Typ V-Läsionen werden durch das Vorhandensein von intraepithelialen Kapillarschlingen charakterisiert. Mittlerweile gibt es ein weiteres Klassifikationssystem der europäischen laryngologischen Gesellschaft, welches horizontale (hinweisend auf benigne Veränderungen) und vertikale (malignitätsverdächtige) Gefäßalterationen unterscheidet (Arens, 2016). Eine weitere Differenzierung der malignitätsverdächtigen Läsionen ist mit Hilfe des NBIs allerdings schwierig, so dass oft keine Aussage über eine mögliche Invasivität getroffen werden kann.

Bei der Beurteilung der NBI-Methode zur Untersuchung von Tumoren des oberen Aerodigestivtraktes konzentrierten wir uns auf folgende Fragestellungen:

- Können mit Hilfe des NBIs benigne, dysplastische und maligne Raumforderungen differenziert werden?
- Ist eine Kombination des NBIs mit anderen Methoden, wie zum Beispiel der Hochgeschwindigkeits-Videoglottographie (HGV), sinnvoll?
- Können so malignitätsverdächtige Läsionen weiter differenziert werden?
- Verbessern sich die Spezifität und Sensitivität der Methoden durch eine Kombination?
- Sind die Methoden auch bei wachen Patienten anwendbar?

Zur Klärung dieser Fragestellung evaluierten wir die Kombination aus NBI und einer funktionellen Methode, der Hochgeschwindigkeits-Videoglottographie (HGV), zur Beurteilung glottischer Läsionen. Die endoskopische HGV kann – so wie das NBI – bei wachen Patienten verwendet werden und erlaubt über eine Analyse der Schwingungsfähigkeit der Stimmlippen eine Differenzierung verschiedener

Pathologien (Unger, 2015). Vor allem eignet sich die Methode zur Unterscheidung von dysplastischen Läsionen und invasiven Karzinomen (Unger, 2016) und scheint daher eine gute Ergänzung zum NBI darzustellen.

In einer prospektiven Studie untersuchten wir 41 Raumforderungen des Larynx mit der Kombination aus NBI und HGV an wachen Patienten (siehe Abbildung 7). Bei 28 dieser Raumforderungen handelte es sich um sogenannte primäre Läsionen, also Auffälligkeiten bei Patienten ohne Vorgeschichte einer laryngealen Pathologie. Anschließend wurde die vermutete Diagnose mit dem histopathologischen Befund aus entsprechenden Gewebebiopsien verglichen. Das NBI-System (Evis Exera II System, Olympus Optical Co., Ltd, Tokyo, Japan) wurde mit einem flexiblen Nasolaryngoskop und das HGV-System (HRES Endocam 5562 High-Speed Video System and Laryngoscope, Richard Wolf GmbH, Tuttlingen) mit einem starren 70° Laryngoskop benutzt. Die Kombination der beiden Verfahren erwies sich bei den primären Pathologien als hilfreich für die Differenzierung von gutartigen, prämaligen und malignen Veränderungen und übertraf die Vorhersagegenauigkeit der einzelnen Methoden (Sensitivität und Spezifität für HGV und NBI in Kombination 100% und 85,7%). Für das NBI alleine lagen Sensitivität und Spezifität bei 100% und 81%, wohingegen sie bei der HGV 100% und 84,2% betragen.

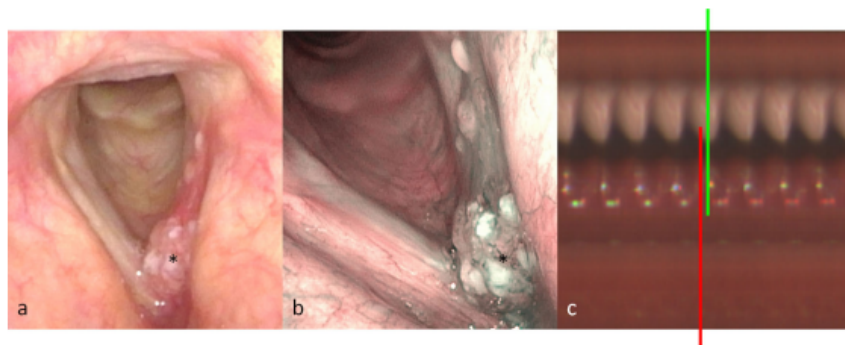


Abbildung 7: Weißlicht- (a), NBI-Bild (b) und Kymogramm (c) eines Patienten mit einem mikroinvasiven Karzinom der linken Stimmlippe. Im NBI (b) zeigen sich irreguläre Gefäßschlingen (Ni Typ Vb). Die HGV (c) zeigt, dass die betroffene Stimmlippe die Mittellinie vor der Gegenseite erreicht (aus Lasers in Surgery and Medicine, Volgger et al., 2017)

Sekundäre Läsionen waren sowohl mittels HGV als auch mit dem NBI schwieriger zu beurteilen. Gründe hierfür könnten die nach einer Operation bestehende Narbenbildung sein, die sowohl zu Veränderung des Schwingungsverhaltens als auch der Vaskularisation führen können. Betrachtet man primäre und sekundäre Läsionen zusammen, erzielte die HGV alleine eine bessere Spezifität als die Kombination der Verfahren bei gleichbleibend hoher Sensitivität. Das NBI zeigte vor allem für die Detektion von frühmalignen Pathologien vielversprechende Ergebnisse mit hoher Sensitivität und negativem

prädiktivem Wert, ähnlich zu Beobachtungen anderer Autoren (Kraft, 2016; Piazza, 2011). Die Spezifität in der Differenzierung zwischen benignen, prämaligen und invasiven Läsionen lag für das NBI bei 79,4% und war damit etwas geringer als die ausgezeichnete Sensitivität. Gründe dafür könnten sein, dass alle Typ V-Läsionen als invasives Karzinom gewertet wurden. Möglicherweise könnte es sinnvoll sein, diese Pathologien in Zukunft mit Hilfe der HGV weiter in solche mit – im Vergleich zur gesunden Gegenseite – langsamerer bzw. simultaner oder schnellerer bzw. fehlender Stimmlippenschwingung in der HGV in hochgradige Dysplasien oder invasive Karzinome zu unterteilen. Das NBI hat zudem das Potential, mehr pathologische Befunde zu erkennen als die reine Weißlichtendoskopie sowie Tumorgrenzen besser aufzuzeigen. Daher wird es mittlerweile auch in den Leitlinien als mögliche ergänzende Methode in der Tumornachsorge von Ösophagus- und Larynxkarzinomen empfohlen (Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft), 2018, 2019)

Zusammenfassend zeigte sich in unserer Studie, dass sich NBI und HGV gut ergänzen. Beide Methoden erwiesen sich als hilfreich bei der Diagnostik von glottischen Pathologien. Hierbei könnte das NBI als Screening-Verfahren eingesetzt werden, um Hochrisikoläsionen zu erkennen. Auch eine computergestützte Analyse von NBI-Aufnahmen zur objektiven Beurteilung von Pathologien ist in Zukunft denkbar (Mascharak, 2018). Die HGV könnte dann eine weitere Unterscheidung dieser Hochrisikoläsionen in Dysplasien und invasive Karzinome erleichtern. Ein großer Vorteil beider Methoden ist, dass sie an wachen Patienten angewendet werden können.

Die oben genannten Fragestellungen konnten folgendermaßen beantwortet werden:

- Das NBI zeigt für die Detektion von frühmaligen Pathologien vielversprechende Ergebnisse mit hoher Sensitivität.
- Die HGV kann eine weitere Unterscheidung dieser Hochrisikoläsionen in Dysplasien und invasive Karzinome erleichtern
- Das NBI und die HGV scheinen sich gut zu ergänzen. Die Kombination der beiden Verfahren erwies sich bei den primären Pathologien als hilfreich für die Differenzierung von gutartigen, prämaligen und malignen Veränderungen und übertraf die Vorhersagegenauigkeit der einzelnen Methoden.
- Von Vorteil ist, dass beide optischen Verfahren an wachen Patienten angewendet werden können.

Originalarbeit:

Volgger V, Felicio A, Lohscheller J, **Englhard AS**, Al-Muzaini H, Betz CS, Schuster M. Evaluation of the combined use of narrow band imaging and high-speed imaging to discriminate laryngeal lesions. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2017

2.2. Anwendung von optischen Untersuchungsmethoden bei Erkrankungen von Nase und Nasennebenhöhlen

2.2.1. „Storz Professional Image Enhancement System“ (SPIES) bei Erkrankungen der Nase und der Nasennebenhöhlen

Die Mehrzahl der Patienten mit bösartigen Tumoren der Nasennebenhöhlen stellt sich erst in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium vor (Turner, 2012). Die anatomische Nähe zu Schädelbasis, Hirn, Augenhöhle und Auge, Arteria carotis interna und Sinus cavernosus macht bei ausgedehnten Prozessen die vollständige Resektion im Gesunden schwierig. Außerdem sind größere Sicherheitsabstände oder eine en-bloc Resektion aus technischen Gründen oft nicht möglich, was das Risiko einer unvollständigen Tumorentfernung erhöht. Aufgrund des dreidimensionalen Wachstums kann es zudem sogar intraoperativ schwierig sein, die Grenzen von nasalen Pathologien zu erkennen (Llorente, 2014). Diese Tatsachen und die häufigen lokalen Rezidive führen zu einer meist sehr schlechten Prognose (Bossi, 2016). Eine frühzeitige Diagnose und Behandlung dieser Tumoren und ihrer Vorläuferformen könnte die Lebenserwartung der betroffenen Patienten deutlich verbessern. Eine Untersuchungsmethode, die eine Beurteilung der oberflächlichen Ausdehnung sinonasaler Tumoren während der Endoskopie erlaubt, wäre daher sehr hilfreich.

Eine solche Methode könnte das „Storz Professional Image Enhancement System“ (SPIES) sein. Das SPIES ist eine digitale Nachbearbeitungstechnik, die eine spektrale Trennung des aufgezeichneten Breitspektrumlichts ermöglicht. Diese Separation entsteht anhand von Algorithmen innerhalb des Systems, so dass die Bildakquise mit normalem Weißlicht erfolgen kann. Das SPIES verstärkt die Darstellung der Schleimhautoberfläche und der subepithelialen Gefäße und liefert zusätzlich zum Weißlichtbild verschiedene spektrale Modi, die den Bildkontrast, die Schärfe und die Helligkeit optimieren sollen. Ähnlich wie beim NBI liegt der Fokus dieser optischen Methode auf der Abbildung der oberflächlichen Gefäßveränderungen durch die Neoangiogenese (Puxeddu, 2015). Beide Techniken erzielen vergleichbare Ergebnisse bei der Erkennung von Gefäßmustern (Eckel, 2021; Puxeddu, 2015; Stanikova, 2018). Die intraoperative Anwendung des SPIES ist einfach, da es mit den starren Standard-Endoskopen verwendet werden kann.

Das SPIES wird in der Urologie zum Beispiel bei der Untersuchung von Blasenkarzinomen verwendet (Mari, 2018; Schubert, 2017). Auch ein Einsatz des Systems in der Gynäkologie (Calzolari, 2017) und der Allgemeinchirurgie (Pamudurthy, 2020) ist beschrieben. Bisher gibt es wenig Erfahrungen im HNO-Bereich, aber einige Berichte beschreiben vielversprechende Ergebnisse bei der Untersuchung von

Raumforderungen des Larynx oder des Pharynx mit Hilfe des SPIES (Abdullah, 2020; Carta, 2016; Stanikova, 2018). Zum Zeitpunkt unserer Untersuchung gab es keine Berichte über den Einsatz dieser optischen Methode bei Erkrankungen der Nase und Nasennebenhöhlen.

In der Beurteilung des SPIES bei Erkrankungen der Nase und Nasennebenhöhlen ergaben sich folgende Fragestellungen:

- Können mit dem SPIES nasale Pathologien dargestellt werden?
- Kann das SPIES gesunde Schleimhaut von benignen oder malignen Tumoren abgrenzen?
- Kann mit Hilfe dieser Technik die Vaskularisation verschiedener Raumforderungen eingeschätzt werden?
- Erleichtert es die intraoperative Differenzierung verschiedener nasaler Pathologien?
- Ist die Methode hilfreich bei der Beurteilung ihrer Ausdehnung?

In einer prospektiven Studie beschrieben wir erstmals den Einsatz des SPIES zur Beurteilung nasaler Pathologien.

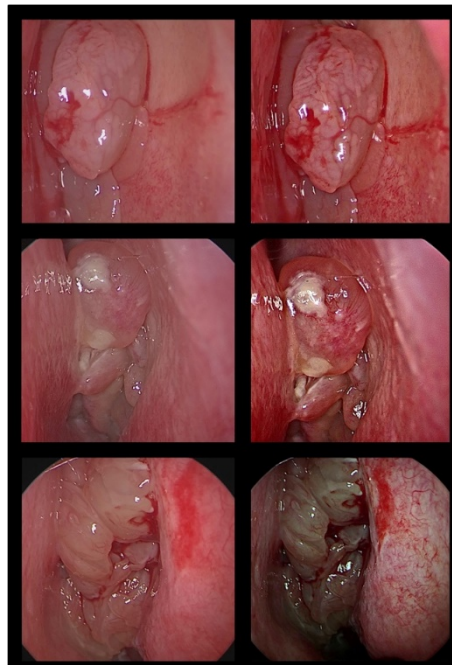


Abbildung 8: Endoskopische Bilder verschiedener Pathologien der Nase und der Nasennebenhöhlen: Die Aufnahmen erfolgten mit einer 2D-HD-Kamera mit Weißlicht alleine (links) oder mit Weißlicht und SPIES (rechts). Erste Reihe: Antrochoanalpolyp. Zweite Reihe: chronische Rhinosinusitis mit Nasenpolypen (Polyposis nasi). Dritte Reihe: invertiertes Papillom (aus American Journal of Otolaryngology, Englhard et al., 2022)

37 Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen der Nase oder der Nasennebenhöhlen unterzogen sich einer endoskopischen Nasennebenhöhlenoperation mit einer 2D-HD-Kamera mit Weißlicht und SPIES (KARL STORZ GmbH & Co., Tuttlingen, Germany). Die Benutzung des SPIES war einfach und verlängerte die Operation nicht. Die Beurteilung von Schleimhautbefunden war leichter als mit der reinen Weißlichtendoskopie (siehe Abbildung 8). Ähnliche Ergebnisse gibt es für laryngeale und pharyngeale Tumoren: hier verbessert die Anwendung des SPIES die Sensitivität und Spezifität der endoskopischen Untersuchung (Abdullah, 2020; Eckel, 2021; Stanikova, 2018). Außerdem erleichterte die Methode in unserer Studie die Differenzierung von verschiedenen nasalen Raumforderungen, die Beurteilung ihrer Ausdehnung sowie die Abgrenzung von gesunder und veränderter Schleimhaut (siehe Abbildung 9).

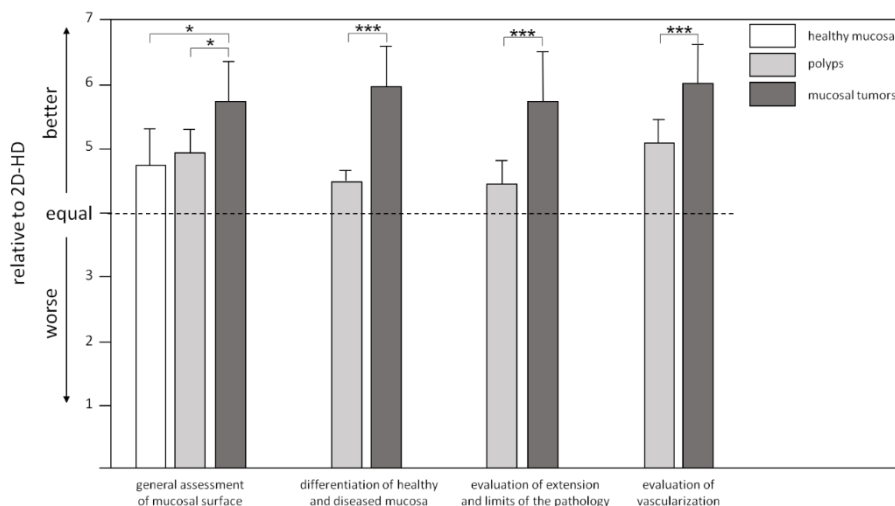


Abbildung 9: Vergleich der während der endoskopischen Nasennebenhöhlenoperationen aufgenommenen Bilder mittels einer 2D-HD-Kamera mit Weißlicht alleine und mit Weißlicht + SPIES. Jedem Parameter wurde ein Wert auf einer Skala von 1 bis 7 gegeben, wobei 4 keinen Unterschied zwischen SPIES und den Vergleichsbedingungen bedeutete. Es werden jeweils die Durchschnittswerte bei der Beurteilung von gesunder Schleimhaut, Polyposis nasi und nasalen Schleimhauttumoren angegeben. Es findet sich eine verbesserte Beurteilbarkeit der Tumorausdehnung und -grenzen sowie der Vaskularisierung vor allem bei Schleimhauttumoren. * $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis und post-hoc Dunn's Test), ** $p < 0,001$ (Mann-Whitney-Test) (aus American Journal of Otolaryngology, Englund et al., 2022).

Besonders hilfreich schien das System bei hoch vaskularisierten Neubildungen, wie Hämangiomen oder Schleimhautmelanomen (siehe Abbildung 10).

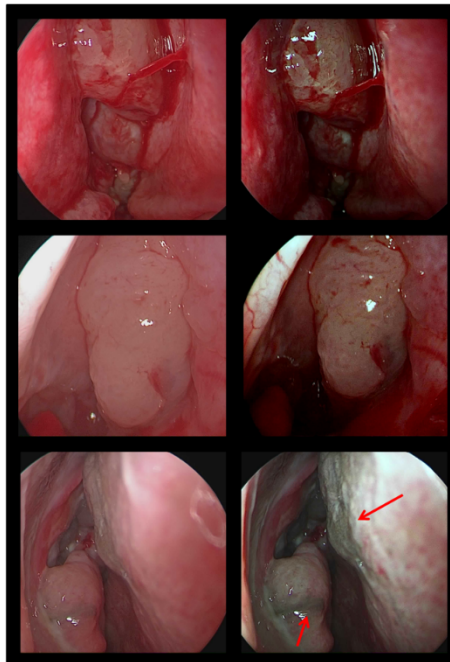


Abbildung 10: Endoskopische Bilder verschiedener Pathologien der Nase und der Nasennebenhöhlen: Die Aufnahmen erfolgten mit einer 2D-HD-Kamera mit Weißlicht alleine (links) oder mit Weißlicht und SPIES (rechts). Erste Reihe: Hämangiom. Zweite Reihe: Adenokarzinom. Dritte Reihe: multilokuläres Schleimhautmelanom. In der Untersuchung mit SPIES findet sich insgesamt ein verstärkter Kontrast und eine verbesserte Beurteilbarkeit der Vaskularisierung, Ausdehnung und der Grenzen der verschiedenen Raumforderungen. Besonders hervorzuheben ist, dass mit Hilfe des SPIES im Weißlicht kaum sichtbare Melanomanteile an der mittleren Nasenmuschel und auf dem Nasenseptum (Pfeile) gut erkannt werden können (aus American Journal of Otolaryngology, Englhard et al., 2022).

Ein direkter Vergleich mit den Ergebnissen anderer Publikationen war nicht möglich, da es zum Zeitpunkt unserer Studie keine anderen Untersuchungen zur Anwendung des SPIES bei Erkrankungen der Nase und Nasennebenhöhlen gab. Allerdings ist für das NBI, das für die Erkennung von Gefäßmustern vergleichbare Ergebnisse wie das SPIES liefert, ebenfalls die sichere Identifizierung und Abgrenzung von nasalen Tumoren beschrieben (Bruno, 2021; Fan, 2021; Petersen, 2017; Torretta, 2013). Daher wird von manchen Autoren ein genereller Einsatz des NBIs bei allen endoskopischen Untersuchungen der nasalen Schleimhaut, vor allem aber während großer Tumoroperationen, empfohlen (Petersen, & Kjaergaard, 2017; Torretta, 2013).

Mit der oben beschriebenen Untersuchung konnten wir zeigen, dass das SPIES sich für die Evaluation von Erkrankungen der Nase und der Nasennebenhöhlen eignet. Mittlerweile gibt es weitere Studien zur Anwendung des SPIES in der Nase (Li, 2021; Zainea, 2022). So erwies sich die Technik als hilfreich bei der Diagnose und Therapie von invertierten Papillomen (Li, 2021) und der Mukormykose (Zainea,

2022). Wir glauben, dass verbesserte bildgebende Verfahren mit implementierter spezifischer Kontrastverstärkung wie das SPIES in Zukunft eine nützliche Methode zur intraoperativen Beurteilung nasaler Pathologien und ihrer Ausdehnung sein können und so die Rate an vollständigen Tumorresektionen verbessert werden kann.

Zusammenfassend konnten die oben genannten Fragestellungen folgendermaßen beantwortet werden:

- Die Beurteilung der nasalen Schleimhaut war durch die Anwendung des SPIES leichter als mit der reinen Weißlichtendoskopie.
- Die Methode erleichterte die intraoperative Differenzierung verschiedener nasaler Pathologien, die Beurteilung ihrer Ausdehnung sowie die Abgrenzung von gesunder und veränderter Schleimhaut.
- Es fand sich eine verbesserte Beurteilbarkeit der Vaskularisierung. Besonders hilfreich schien das System daher bei hoch vaskularisierten Neubildungen, wie Hämangiomen oder Schleimhautmelanomen.

Originalarbeit:

Englhard AS, Ledderose C, Volgger V, Ledderose GJ. Evaluation of an image enhancement system for the assessment of nasal and paranasal sinus diseases. American Journal of Otolaryngology. 2022

2.2.2. Optische Kohärenztomographie bei Erkrankungen der Nase

In der Hals-Nasen-Ohrenheilkunde wurde die OCT bisher hauptsächlich zur Untersuchung der Gewebestruktur von Dysplasien oder fortgeschrittenen Tumoren der oberen Atemwege eingesetzt (Betz, 2013). Eine Variante der konventionellen OCT, die long-range-OCT (LR-OCT) kann jedoch auch als optischer Abstandsmesser verwendet werden und so die Anatomie von Hohlorganen darstellen (Armstrong, 2003). Die LR-OCT kann strukturelle Bilder sowie dreidimensionale Modelle des oberen Atemwegs erstellen und Lumenveränderungen zuverlässig abbilden (Jing, 2012; Lazarow, 2015; Volgger, 2015).

Eine Nasenatmungsbehinderung wird häufig durch einen Kollaps der inneren Nasenklappe verursacht (Murakami, 2004; Rhee, 2010). Bisher gibt es keinen Goldstandard für die Beurteilung einer

eventuellen Dysfunktion der Nasenklappe, da die bisher vorgeschlagenen Techniken entweder subjektiv, schlecht reproduzierbar oder sehr aufwändig sind (Ishii, 2013). Daher wird die Diagnose normalerweise anhand der Anamnese des Patienten und der körperlichen Untersuchung gestellt, wobei auch eine Endoskopie der Nase hilfreich sein kann. Aufgrund der Häufigkeit dieser Erkrankung wäre jedoch eine objektive und zuverlässige Diagnosemethode von großem Vorteil. Da die OCT – wie oben beschrieben – die Anatomie von Hohlorganen darstellen kann, scheint sie hervorragend geeignet, den Winkel und den Querschnitt der inneren Nasenklappe zu bestimmen.

In der Beurteilung der OCT bei Erkrankungen der inneren Nasenklappe bearbeiteten wir folgende Fragestellungen:

- Ist mit Hilfe der OCT eine Darstellung der inneren Nasenklappe möglich?
- Können Winkel und Querschnitt der Nasenklappe mittels OCT zuverlässig gemessen werden?
- Können auch Größenveränderungen abgebildet werden?
- Führt die Applikation eines abschwellenden Nasensprays zu einer durch die OCT darstellbaren Vergrößerung des Winkels oder des Querschnitts des Nasenklappenbereichs?
- Ab welcher Reduktion des Winkels oder des Querschnittes kommt es zu einer subjektiven Nasenatmungsbehinderung?
- Können auch Veränderungen der Nasenklappe bei forcierter Inspiration durch die OCT dargestellt werden?

In zwei prospektiven Studien beschrieben wir erstmalig den Einsatz der LR-OCT zur Darstellung der inneren Nasenklappe. Dazu untersuchten wir 32 nasale Atemwege von 16 gesunden Individuen und bestimmten so den Winkel und die Querschnittsfläche der Nasenklappe. Dafür wurde eine OCT-Sonde mit Hilfe eines Spekulum bis in den Nasopharynx vorgeschoben (siehe Abbildung 11). Von dort wurde die Sonde entlang des Nasenbodens zurückgezogen. Die Bildakquisition begann im Nasopharynx und endete außerhalb des Naseneingangs.

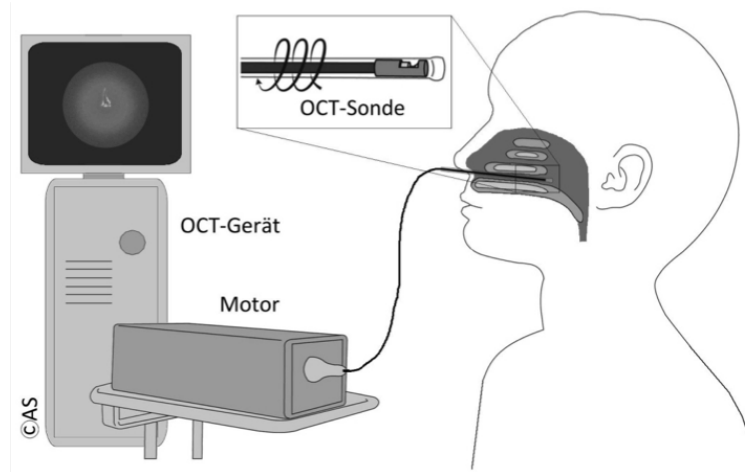


Abbildung 11: Versuchsaufbau der OCT-Messung der inneren Nasenklappe (abgewandelt aus Laryngoscope, Englhard et al., 2016)

Anschließend wurden die Bilder analysiert und der Nasenklappenbereich anhand des anterioren Endes der unteren Nasenmuschel und des Septums identifiziert (siehe Abbildung 12). In der ersten Studie wurden die OCT-Bilder der Nasenklappe mit entsprechenden Aufnahmen eines flexiblen Endoskops verglichen. Die OCT-Untersuchung war schnell und einfach durchführbar und wurde auch ohne lokale Betäubung gut toleriert. Die Werte des Winkels und der Querschnittsfläche der Nasenklappe waren reproduzierbar und korrelierten gut mit Ergebnissen aus anderen Studien (Bloom, 2012; Poetker, 2004; Shaida, 2000).

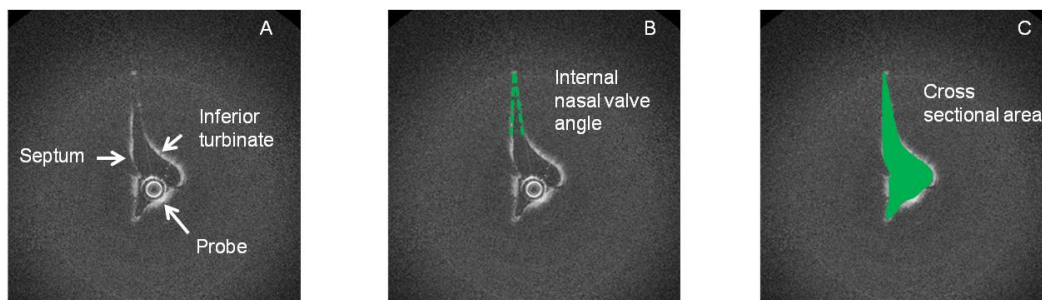


Abbildung 12: OCT-Aufnahme einer linken Nasenklappe. (A) Die Nasenklappe wurde anhand des anterioren Endes der unteren Nasenmuschel identifiziert. (B) Der Winkel der Nasenklappe wurde zwischen dem Septum und der lateralen Nasenwand gemessen. (C) Die Querschnittsfläche wurde bestimmt (aus Laryngoscope, Englhard et al., 2016)

Die Untersuchung mit der flexiblen Endoskopie ergab ähnliche Nasenklappenwinkel wie die OCT, allerdings war sie deutlich weniger gut reproduzierbar (siehe Abbildung 13). Die nasale Endoskopie ist neben der körperlichen Untersuchung die einzige weithin anerkannte Methode zur Diagnose von

Erkrankungen der Nasenklappe (Ishii, & Rhee, 2013). Sie wird jedoch als subjektiv und wenig präzise beschrieben (Rhee, 2010). Dagegen scheint die OCT ein verlässliches Instrument zur Darstellung der inneren Nasenklappe zu sein.

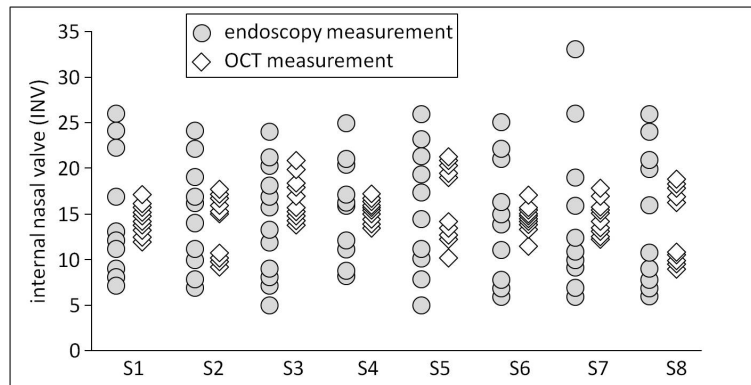


Abbildung 13: Endoskopische und OCT-gestützte Bestimmung des Winkels (in °) von acht Nasenklappen. Die Präzision der Messmethode wurde mit Hilfe des Variationskoeffizienten für $n = 5$ wiederholte Messungen für jede Nasenseite von $n = 16$ Individuen bestimmt. Es fand sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Methoden bezüglich des durchschnittlichen Werts des Nasenklappenwinkels ($p = 5,778$, paired t-Test), aber ein statistisch signifikanter Unterschied der Testpräzision ($p < 0,001$, paired t-Test) (aus Laryngoscope, Englhard et al., 2016).

In der zweiten Studie konnten Größenveränderungen im Nasenklappenbereich durch die OCT zuverlässig dargestellt werden: ähnlich wie in anderen Berichten (Grymer, 1995; Roithmann, 1995; Shaida, & Kenyon, 2000) fanden sich nach Applikation eines abschwellenden Nasensprays eine Zunahme sowohl des Winkels als auch der Querschnittsfläche der Nasenklappe (siehe Abbildung 13 und 14).

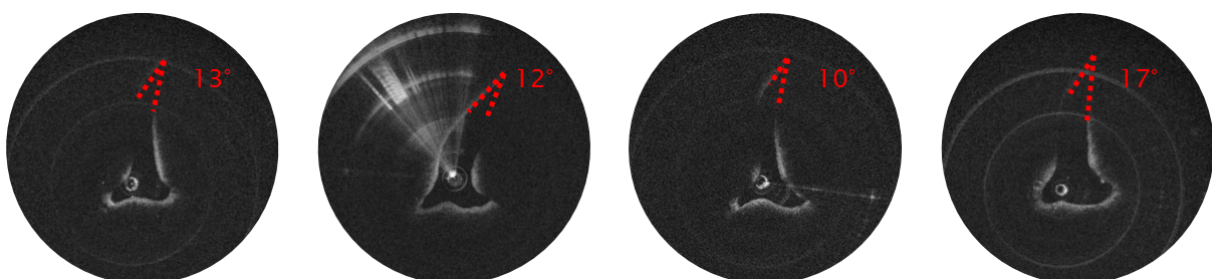


Abbildung 13: OCT-Aufnahmen einer rechten Nasenklappe: links: im Normalzustand, Mitte links: bei forcierter Inspiration, Mitte rechts: während externem Druck über der Nasenklappe, rechts: nach Applikation von abschwellenden Nasenspray (aus Laryngoscope, Englhard et al., 2018)

Eine Reduktion des Nasenklappenwinkels um $4,2^\circ$ korrelierte mit dem subjektiven Beginn einer Nasenatmungsbehinderung. Auch die Querschnittsfläche der Nasenklappe war zu diesem Zeitpunkt signifikant verkleinert. Vergleichbare Ergebnisse zeigten andere Studien mit Hilfe der akustischen Rhinomanometrie (Grymer, 1995; Roithmann, 1995) oder Computertomographie (Bloom, 2012; Moche, 2013).

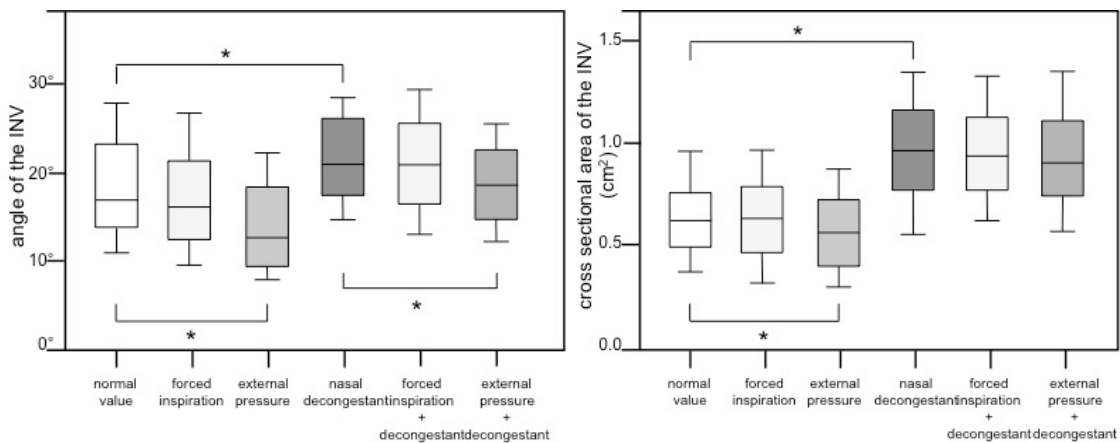


Abbildung 14: Mit der OCT bestimmter Winkel (links) und Querschnittsfläche (rechts) der Nasenklappe. Jeweils im Normalzustand, bei forcierter Inspiration, während externem Druck über der Nasenklappe sowie nach Applikation von abschwellendem Nasenspray, bei forcierter Inspiration nach Applikation von abschwellendem Nasenspray und während externem Druck über der Nasenklappe nach Applikation von abschwellendem Nasenspray (von links nach rechts). *: $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem Dunn Test) (aus Laryngoscope, Englhard et al., 2018).

Nachteilig ist, dass das in unserer Untersuchung benutzte OCT-System eine Spezialkonstruktion und daher vergleichsweise teuer ist. Da der nasale Atemweg relativ eng ist, kann kein momentan kommerziell erhältliches System benutzt werden. Das stellt eine bedeutsame Einschränkung für die Anwendung dieser Methode dar. Daher wären für einen breiteren, klinischen Einsatz zunächst kommerziell erhältliche und für den HNO-Trakt zugelassene Geräte nötig. Solche Sonden-basierten radialen OCT-Systeme gibt es beispielsweise bereits für die Darstellung der Koronararterien. Auch eine Anwendung der radialen OCT in der Urologie ist beschrieben (Bader, 2013).

Mit den oben beschriebenen Untersuchungen konnten wir zum ersten Mal zeigen, dass die OCT sich gut für die Darstellung der Nasenklappe und die Aufzeichnung dynamischer Veränderungen in diesem Bereich eignet. Mittlerweile gibt es weitere Studien zur Anwendung der OCT an der Nasenklappe (Balakrishnan, 2020; Hakimi, 2021; Waters, 2021). So konnten mit dieser Technik beispielsweise Veränderungen vor und nach Operationen wie Septum- oder Rhinoplastiken abgebildet werden

(Balakrishnan, 2020; Waters, 2021). In Zukunft könnte die OCT eine hilfreiche Methode sein, um Nasenklappenwinkel und -querschnitt objektiv und verlässlich darzustellen.

Zusammenfassend konnten die oben genannten Fragestellungen folgendermaßen beantwortet werden:

- Die LR-OCT eignet sich gut für die Darstellung der Nasenklappe.
- Die mittels OCT gemessenen Werte des Winkels und der Querschnittsfläche der Nasenklappe waren reproduzierbar und korrelierten gut mit Ergebnissen aus anderen Studien.
- Größenveränderungen können durch die OCT zuverlässig dargestellt werden.
- Nach Applikation eines abschwellenden Nasensprays fand sich eine durch die OCT darstellbare Zunahme sowohl des Winkels als auch der Querschnittsfläche der Nasenklappe.
- Eine Reduktion des Nasenklappenwinkels um $4,2^\circ$ korrelierte mit dem subjektiven Beginn einer Nasenatmungsbehinderung. Auch die Querschnittsfläche der Nasenklappe war zu diesem Zeitpunkt signifikant verkleinert.
- Bei forcierter Inspiration kam es zu keiner signifikanten Änderung des Nasenklappenwinkels oder der Querschnittsfläche.

Originalarbeiten:

Englhard AS, Wiedmann M, Ledderose GJ, Lemieux B, Badran A, Chen Z, Betz CS, Wong BJ. Imaging of the internal nasal valve using long-range fourier domain optical coherence tomography. Laryngoscope. 2016

Englhard AS, Widmann M, Ledderose GJ, Lemieux B, Badran A, Jing JC, Chen Z, Volgger V, Wong BJ. In vivo imaging of the internal nasal valve during different conditions using optical coherence tomography. Laryngoscope. 2018

3. Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende, kumulative Habilitationsarbeit befasst sich mit ausgewählten Anwendungsmöglichkeiten verschiedener optischer Diagnosemethoden. Sie beruht auf einer Reihe von klinischen und experimentellen Untersuchungen, in denen zahlreiche Fragestellungen bearbeitet wurden. Neben vielen weiteren Ergebnissen ergaben sich folgende wesentliche Erkenntnisse:

In der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde werden optische Techniken bisher hauptsächlich zur Tumorfrühdagnostik im Bereich der Mundhöhle, des Pharynx und des Larynx eingesetzt. Hier sollen sie eine hochauflösende Untersuchung der Gewebearchitektur ermöglichen und so eine unmittelbare Diagnostik von suspekten Läsionen erlauben. Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass verschiedene Methoden diesem Ziel der „optischen Biopsie“ – also der zellulären Analyse des Gewebes in vivo und in Echtzeit – nahekommen. So können mit Hilfe der in einem Operationsmikroskop integrierten optischen Kohärenztomographie (OCT) invasive und nicht-invasive Läsionen zuverlässig unterschieden werden. Die konfokale Laserendomikroskopie (CLE) erweist sich dagegen bei der Differenzierung von dysplastischen Veränderungen als hilfreich. In Kombination mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern hat sie das Potential, die Resektionsränder von Tumoren besser darzustellen. Durch den Einsatz des Narrow Band Imagings (NBI) können Hochrisikoläsionen gut erkannt werden. Die Hochgeschwindigkeits-Videoglottographie (HGV) kann im Bereich des Larynx eine weitere Unterscheidung in hochgradige Dysplasien und invasive Karzinome erleichtern. Allerdings können Biopsien als Goldstandard bisher nicht ersetzt werden. Optische Untersuchungsmethoden könnten in Zukunft aber eine gezieltere Probenentnahme ermöglichen und so die Anzahl der benötigten Biopsien verringern. Einschränkend sind unter anderem die reduzierte Detektionstiefe und begrenzte Auflösung der einzelnen Methoden. Ein möglicher Lösungsansatz zur Überwindung dieser Limitationen der einzelnen Techniken stellt eine Kombination von mehreren optischen Untersuchungsverfahren dar. Für die intraoperative Beurteilung von suspekten Läsionen scheint eine kombinierte Untersuchung mit OCT und CLE besonders hilfreich zu sein. Vielversprechend für die Differenzierung von laryngealen Pathologien bei wachen Patienten wirkt die Kombination von NBI und HGV. Allerdings sind bei allen Techniken weitere Studien nötig, um den Nutzen für den klinischen Alltag einzuschätzen. Es ist anzunehmen, dass optische Methoden zukünftig nicht nur bei der Differenzierung von Pathologien des oberen Atemwegs, sondern auch bei der Bestimmung von Tumorgrenzen und der Führung von Biopsieentnahmen in weitläufigen Läsionen hilfreich sein könnten. Als Vision könnte durch die Nutzung von Methoden mit künstlicher Intelligenz (KI) eine Überlagerung der bildgebenden Information auf den Operationssitus als „virtual reality“ möglich werden.

Eine weniger bekannte Anwendungsmöglichkeit optischer Verfahren stellt die Diagnostik von Erkrankungen von Nase und Nasennebenhöhlen dar. Bildverbesserungssysteme wie das Storz Professional Image Enhancement System (SPIES) könnten in Zukunft eine nützliche Methode zur intraoperativen Beurteilung nasaler Pathologien und ihrer Ausdehnung darstellen und so die Rate an vollständigen Tumorresektionen verbessern. Besonders hilfreich scheint die Anwendung dieser Technik bei hoch vaskularisierten Neubildungen, wie Hämangiomen oder Schleimhautmelanomen, zu sein. Eine Variante der konventionellen, sondenbasierten OCT, die LR-OCT, kann als optischer Abstandsmesser verwendet werden und so die Anatomie von Hohlorganen darstellen. Sie eignet sich gut für die Visualisierung der Nasenklappe und die Aufzeichnung dynamischer Veränderungen in diesem Bereich.

Natürlich sind viele weitere Einsatzgebiete im HNO-Bereich denkbar. So konnten im Rahmen einer weiteren Studie unserer Arbeitsgruppe optische Untersuchungstechniken auch zur Beurteilung der Perfusion im HNO-Bereich eingesetzt werden. Das Hyperspectral Imaging (HSI) liefert Informationen zur Oxygenierung und zum Hämoglobingehalt im Gewebe. Es könnte daher bei Patienten mit Lappentransplantaten die präoperative Beurteilung erleichtern und postoperativ frühzeitig Perfusionsstörungen aufzeigen.

Im klinischen Alltag wird die Anwendbarkeit einiger optischer Methoden durch die hohen Kosten der Systeme und die teilweise noch fehlende Zulassung im HNO-Bereich erschwert. Außerdem sind manche Techniken anfällig für Artefakte, welche die Bildqualität deutlich verschlechtern und die Auswertung erschweren können. Bildverarbeitungssysteme könnten bei der Erkennung und Eliminierung dieser Artefakte hilfreich sein und so die Zuverlässigkeit der Methoden erhöhen. Eine Weiterentwicklung der bestehenden Techniken ist daher unumgänglich. Hierfür ist weiterhin eine gute Zusammenarbeit von Wissenschaftlern, Industrie und Ärzten nötig.

Originalarbeit:

Linek M, Felicio-Briegel A, Freymüller C, Rühm A, **Englhard AS**, Sroka R, Volgger V. Evaluation of hyperspectral imaging to quantify perfusion changes during the modified Allen test. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2022

4. Literatur

- Abbaci, M., Breuskin, I., Casiraghi, O., De Leeuw, F., Ferchiou, M., Temam, S., & Laplace-Builhe, C. (2014). Confocal laser endomicroscopy for non-invasive head and neck cancer imaging: a comprehensive review. *Oral Oncol*, 50(8), 711-716. doi:10.1016/j.oraloncology.2014.05.002
- Abbaci, M., Casiraghi, O., Temam, S., Ferchiou, M., Bosq, J., Dartigues, P., De Leeuw, F., Breuskin, I., & Laplace-Builhe, C. (2015). Red and far-red fluorescent dyes for the characterization of head and neck cancer at the cellular level. *J Oral Pathol Med*, 44(10), 831-841. doi:10.1111/jop.12316
- Abdullah, B., Rasid, N. S. A., Lazim, N. M., Volgger, V., Betz, C. S., Mohammad, Z. W., & Hassan, N. (2020). Ni endoscopic classification for Storz Professional Image Enhancement System (SPIES) endoscopy in the detection of upper aerodigestive tract (UADT) tumours. *Sci Rep*, 10(1), 6941. doi:10.1038/s41598-020-64011-6
- Arens, C., Betz, C., Kraft, M., & Voigt-Zimmermann, S. (2016). [Narrow band imaging for early diagnosis of epithelial dysplasias and microinvasive tumors in the upper aerodigestive tract]. *HNO*, 64(1), 19-26. doi:10.1007/s00106-015-0108-4
- Arens, C., Glanz, H., Wonckhaus, J., Hersemeyer, K., & Kraft, M. (2007). Histologic assessment of epithelial thickness in early laryngeal cancer or precursor lesions and its impact on endoscopic imaging. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 264(6), 645-649. doi:10.1007/s00405-007-0246-8
- Arens, C., Piazza, C., Andrea, M., Dikkers, F. G., Tjon Pian Gi, R. E., Voigt-Zimmermann, S., & Peretti, G. (2016). Proposal for a descriptive guideline of vascular changes in lesions of the vocal folds by the committee on endoscopic laryngeal imaging of the European Laryngological Society. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 273(5), 1207-1214. doi:10.1007/s00405-015-3851-y
- Armstrong, J., Leigh, M., Walton, I., Zvyagin, A., Alexandrov, S., Schwer, S., Sampson, D., Hillman, D., & Eastwood, P. (2003). In vivo size and shape measurement of the human upper airway using endoscopic longrange optical coherence tomography. *Opt Express*, 11(15), 1817-1826. doi:10.1364/oe.11.001817
- Armstrong, W. B., Ridgway, J. M., Vokes, D. E., Guo, S., Perez, J., Jackson, R. P., Gu, M., Su, J., Crumley, R. L., Shibuya, T. Y., Mahmood, U., Chen, Z., & Wong, B. J. (2006). Optical coherence tomography of laryngeal cancer. *Laryngoscope*, 116(7), 1107-1113. doi:10.1097/01.mlg.0000217539.27432.5a
- Bader, M. J., Zilinberg, K., Weidlich, P., Waidelich, R., Puls, M., Gratzke, C., Stief, C. G., Stepp, H., & Sroka, R. (2013). Encrustation of urologic double pigtail catheters-an ex vivo optical coherence tomography (OCT) study. *Lasers Med Sci*, 28(3), 919-924. doi:10.1007/s10103-012-1177-1

Bauerle, P. A., & Gires, O. (2007). EpCAM (CD326) finding its role in cancer. *Br J Cancer*, 96(3), 417-423. doi:10.1038/sj.bjc.6603494

Balakrishnan, S., Bu, R., Waters, C., Brandon, B., Kimbell, J., Stepp, W., Shockley, W., Clark, M., & Oldenburg, A. (2020). Utility of endoscopic anatomical optical coherence tomography in functional rhinoplasty. *J Biomed Opt*, 25(1), 1-11. doi:10.1117/1.JBO.25.1.016001

Becker, V., von Delius, S., Bajbouj, M., Karagianni, A., Schmid, R. M., & Meining, A. (2008). Intravenous application of fluorescein for confocal laser scanning microscopy: evaluation of contrast dynamics and image quality with increasing injection-to-imaging time. *Gastrointest Endosc*, 68(2), 319-323. doi:10.1016/j.gie.2008.01.033

Bertino, G., Cacciola, S., Fernandes, W. B., Jr., Fernandes, C. M., Occhini, A., Tinelli, C., & Benazzo, M. (2015). Effectiveness of narrow band imaging in the detection of premalignant and malignant lesions of the larynx: validation of a new endoscopic clinical classification. *Head Neck*, 37(2), 215-222. doi:10.1002/hed.23582

Betz, C. S., Kraft, M., Arens, C., Schuster, M., Pfeffer, C., Ruhm, A., Stepp, H., Enghard, A., & Volgger, V. (2016). [Optical diagnostic methods for early tumour diagnosis in the upper aerodigestive tract: Quo vadis?]. *HNO*, 64(1), 41-48. doi:10.1007/s00106-015-0104-8

Betz, C. S., Volgger, V., Silverman, S. M., Rubinstein, M., Kraft, M., Arens, C., & Wong, B. J. F. (2013). Clinical optical coherence tomography in head and neck oncology: overview and outlook. *Head and Neck Oncol.*, 5(3):35.

Bloom, J. D., Sridharan, S., Hagiwara, M., Babb, J. S., White, W. M., & Constantinides, M. (2012). Reformatted computed tomography to assess the internal nasal valve and association with physical examination. *Arch Facial Plast Surg*, 14(5), 331-335. doi:10.1001/archfacial.2012.50

Bonner, J. A., Harari, P. M., Giralt, J., Azarnia, N., Shin, D. M., Cohen, R. B., Jones, C. U., Sur, R., Raben, D., Jassem, J., Ove, R., Kies, M. S., Baselga, J., Youssoufian, H., Amellal, N., Rowinsky, E. K., & Ang, K. K. (2006). Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med*, 354(6), 567-578. doi:10.1056/NEJMoa053422

Bossi, P., Farina, D., Gatta, G., Lombardi, D., Nicolai, P., & Orlandi, E. (2016). Paranasal sinus cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*, 98, 45-61. doi:10.1016/j.critrevonc.2015.09.009

Bruno, C., Fiori, G. M., Locatello, L. G., Cannavici, A., Gallo, O., & Maggiore, G. (2021). The role of Narrow Band Imaging (NBI) in the diagnosis of sinonasal diseases. *Rhinology*, 59(1), 40-48. doi:10.4193/Rhin20.032

- Burns, J. A., Kim, K. H., deBoer, J. F., Anderson, R. R., & Zeitels, S. M. (2011). Polarization-sensitive optical coherence tomography imaging of benign and malignant laryngeal lesions: an in vivo study. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 145(1), 91-99. doi:10.1177/0194599811403078
- Calantog, A., Hallajian, L., Nabelsi, T., Mansour, S., Le, A., Epstein, J., & Wilder-Smith, P. (2013). A prospective study to assess in vivo optical coherence tomography imaging for early detection of chemotherapy-induced oral mucositis. *Lasers Surg Med*, 45(1), 22-27. doi:10.1002/lsm.22111
- Calzolari, S., Cozzolino, M., Castellacci, E., Dubini, V., Farruggia, A., & Sisti, G. (2017). Hysteroscopic Management of Uterine Arteriovenous Malformation. *JSLs*, 21(2). doi:10.4293/JSLs.2016.00109
- Carta, F., Sionis, S., Cocco, D., Gerosa, C., Ferreli, C., & Puxeddu, R. (2016). Enhanced contact endoscopy for the assessment of the neoangiogenetic changes in precancerous and cancerous lesions of the oral cavity and oropharynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 273(7), 1895-1903. doi:10.1007/s00405-015-3698-2
- Degueldre, M., Vandromme, J., de Wind, A., & Feoli, F. (2016). Real-time in-vivo microscopic imaging of the cervix using confocal laser endomicroscopy: preliminary observations and feasibility study. *Eur J Cancer Prev*, 25(4), 335-343. doi:10.1097/CEJ.000000000000188
- Dittberner, A., Rodner, E., Ortmann, W., Stadler, J., Schmidt, C., Petersen, I., Stallmach, A., Denzler, J., & Guntinas-Lichius, O. (2016). Automated analysis of confocal laser endomicroscopy images to detect head and neck cancer. *Head Neck*, 38 Suppl 1, E1419-1426. doi:10.1002/hed.24253
- Eckel, H. E., Simo, R., Quer, M., Odell, E., Paleri, V., Klussmann, J. P., Remacle, M., Sjogren, E., & Piazza, C. (2021). European Laryngological Society position paper on laryngeal dysplasia Part II: diagnosis, treatment, and follow-up. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 278(6), 1723-1732. doi:10.1007/s00405-020-06406-9
- Fan, D., Hou, J., Zhang, T., & Ye, Y. (2021). Evaluation of narrow band imaging for diagnosis of unilateral nasal lesions. *Clin Otolaryngol*, 46(2), 388-394. doi:10.1111/coa.13688
- Foersch, S., Kiesslich, R., Waldner, M. J., Delaney, P., Galle, P. R., Neurath, M. F., & Goetz, M. (2010). Molecular imaging of VEGF in gastrointestinal cancer in vivo using confocal laser endomicroscopy. *Gut*, 59(8), 1046-1055. doi:10.1136/gut.2009.202986
- Gallwas, J. K., Turk, L., Stepp, H., Mueller, S., Ochsenkuehn, R., Friese, K., & Dannecker, C. (2011). Optical coherence tomography for the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Lasers Surg Med*, 43(3), 206-212. doi:10.1002/lsm.21030
- Goetz, M., Watson, A., & Kiesslich, R. (2011). Confocal laser endomicroscopy in gastrointestinal diseases. *J Biophotonics*, 4(7-8), 498-508. doi:10.1002/jbio.201100022

- Goetz, M., Ziebart, A., Foersch, S., Vieth, M., Waldner, M. J., Delaney, P., Galle, P. R., Neurath, M. F., & Kiesslich, R. (2010). In vivo molecular imaging of colorectal cancer with confocal endomicroscopy by targeting epidermal growth factor receptor. *Gastroenterology*, 138(2), 435-446. doi:10.1053/j.gastro.2009.10.032
- Goncalves, M., Iro, H., Dittberner, A., Agaimy, A., & Bohr, C. (2017). Value of confocal laser endomicroscopy in the diagnosis of vocal cord lesions. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 21(18), 3990-3997. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29028105>
- Goorsenberg, A., Kalverda, K. A., Annema, J., & Bonta, P. (2020). Advances in Optical Coherence Tomography and Confocal Laser Endomicroscopy in Pulmonary Diseases. *Respiration*, 99(3), 190-205. doi:10.1159/000503261
- Grandis, J. R., & Twardy, D. J. (1993). TGF-alpha and EGFR in head and neck cancer. *J Cell Biochem Suppl*, 17F, 188-191. doi:10.1002/jcb.240531027
- Green, B., Tsiroyannis, C., & Brennan, P. A. (2016). Optical diagnostic systems for assessing head and neck lesions. *Oral Dis*, 22(3), 180-184. doi:10.1111/odi.12398
- Grymer, L. F. (1995). Reduction rhinoplasty and nasal patency: change in the cross-sectional area of the nose evaluated by acoustic rhinometry. *Laryngoscope*, 105(4 Pt 1), 429-431. doi:10.1288/00005537-199504000-00017
- Hakimi, A. A., Sharma, G. K., Ngo, T., Heidari, A. E., Badger, C. D., Tripathi, P. B., Hong, E. M., Chen, Z., & Wong, B. J. F. (2021). Coupling Pressure Sensing with Optical Coherence Tomography to Evaluate the Internal Nasal Valve. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 130(2), 167-172. doi:10.1177/0003489420944199
- Haxel, B. R., Goetz, M., Kiesslich, R., & Gosepath, J. (2010). Confocal endomicroscopy: a novel application for imaging of oral and oropharyngeal mucosa in human. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 267(3), 443-448. doi:10.1007/s00405-009-1035-3
- Hughes, O. R., Stone, N., Kraft, M., Arens, C., & Birchall, M. A. (2010). Optical and molecular techniques to identify tumor margins within the larynx. *Head Neck*, 32(11), 1544-1553. doi:10.1002/hed.21321
- Imrich, S., Hachmeister, M., & Gires, O. (2012). EpCAM and its potential role in tumor-initiating cells. *Cell Adh Migr*, 6(1), 30-38. doi:10.4161/cam.18953
- Ishii, L. E., & Rhee, J. S. (2013). Are diagnostic tests useful for nasal valve compromise? *Laryngoscope*, 123(1), 7-8. doi:10.1002/lary.23484
- Jerjes, W. K., Upile, T., Wong, B. J., Betz, C. S., Sterenborg, H. J., Witjes, M. J., Berg, K., van Veen, R., Biel, M. A., El-Naggar, A. K., Mosse, C. A., Olivo, M., Richards-Kortum, R., Robinson, D. J., Rosen, J., Yodh, A. G., Kendall, C., Ilgner, J. F., Amelink, A., Bagnato, V., Barr, H., Bolotine, L., Bigio, I., Chen, Z.,

Choo-Smith, L. P., D'Cruz, A. K., Gillenwater, A., Leunig, A., MacRobert, A. J., McKenzie, G., Sandison, A., Soo, K. C., Stepp, H., Stone, N., Svanberg, K., Tan, I. B., Wilson, B. C., Wolfsen, H., & Hopper, C. (2011). The future of medical diagnostics: review paper. *Head Neck Oncol*, 3, 38. doi:10.1186/1758-3284-3-38

Jing, J., Zhang, J., Loy, A. C., Wong, B. J., & Chen, Z. (2012). High-speed upper-airway imaging using full-range optical coherence tomography. *J Biomed Opt*, 17(11), 110507. doi:10.1117/1.jbo.17.11.110507

Just, T., Lankenau, E., Huttmann, G., & Pau, H. W. (2009). Intra-operative application of optical coherence tomography with an operating microscope. *J Laryngol Otol*, 123(9), 1027-1030. doi:10.1017/S0022215109004770

Just, T., Lankenau, E., Prall, F., Huttmann, G., Pau, H. W., & Sommer, K. (2010). Optical coherence tomography allows for the reliable identification of laryngeal epithelial dysplasia and for precise biopsy: a clinicopathological study of 61 patients undergoing microlaryngoscopy. *Laryngoscope*, 120(10), 1964-1970. doi:10.1002/lary.21057

Just, T., & Pau, H. W. (2013). Intra-operative application of confocal endomicroscopy using a rigid endoscope. *J Laryngol Otol*, 127(6), 599-604. doi:10.1017/S0022215113000765

Karl, A., Stepp, H., Willmann, E., Buchner, A., Hocaoglu, Y., Stief, C., & Tritschler, S. (2010). Optical coherence tomography for bladder cancer -- ready as a surrogate for optical biopsy? Results of a prospective mono-centre study. *Eur J Med Res*, 15(3), 131-134. doi:10.1186/2047-783x-15-3-131

Kohlfaerber, T., Pieper, M., Munter, M., Holzhausen, C., Ahrens, M., Idel, C., Bruchhage, K. L., Leichtle, A., Konig, P., Huttmann, G., & Schulz-Hildebrandt, H. (2022). Dynamic microscopic optical coherence tomography to visualize the morphological and functional micro-anatomy of the airways. *Biomed Opt Express*, 13(6), 3211-3223. doi:10.1364/BOE.456104

Kraft, M., Fostiropoulos, K., Gurtler, N., Arnoux, A., Davaris, N., & Arens, C. (2016). Value of narrow band imaging in the early diagnosis of laryngeal cancer. *Head Neck*, 38(1), 15-20. doi:10.1002/hed.23838

Kraft, M., Glanz, H., von Gerlach, S., Wisweh, H., Lubatschowski, H., & Arens, C. (2008). Clinical value of optical coherence tomography in laryngology. *Head Neck*, 30(12), 1628-1635. doi:10.1002/hed.20914

Kraft, M., Luerssen, K., Lubatschowski, H., Glanz, H., & Arens, C. (2007). Technique of optical coherence tomography of the larynx during microlaryngoscopy. *Laryngoscope*, 117(5), 950-952. doi:10.1097/MLG.0b013e318038166d

- Lazarow, F. B., Ahuja, G. S., Chin Loy, A., Su, E., Nguyen, T. D., Sharma, G. K., Wang, A., Jing, J., Chen, Z., & Wong, B. J. (2015). Intraoperative long range optical coherence tomography as a novel method of imaging the pediatric upper airway before and after adenotonsillectomy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 79(1), 63-70. doi:10.1016/j.ijporl.2014.11.009
- Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft), D. K., AWMF:. (2018). S3-Leitlinie Diagnostik und Therapie der Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome des Ösophagus. AWMF Registernummer: 021/023OL.
- Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft), D. K., AWMF:. (2019). S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Larynxkarzinoms. AWMF-Registernummer: 017/076OL.
- Li, M., Huang, Z., Wang, Y., Sun, Y., Li, C., Qu, J., Cui, S., Huang, Q., & Zhou, B. (2021). Storz Professional Image Enhancement System (SPIES) endoscopy in the detection of sinonasal inverted papilloma: a pilot study. *Acta Otolaryngol*, 141(5), 513-518. doi:10.1080/00016489.2021.1890819
- Liu, J., Zuo, X., Li, C., Yu, T., Gu, X., Zhou, C., Li, Z., Goetz, M., Kiesslich, R., & Li, Y. (2013). In vivo molecular imaging of epidermal growth factor receptor in patients with colorectal neoplasia using confocal laser endomicroscopy. *Cancer Lett*, 330(2), 200-207. doi:10.1016/j.canlet.2012.11.044
- Llorente, J. L., Lopez, F., Suarez, C., & Hermsen, M. A. (2014). Sinonasal carcinoma: clinical, pathological, genetic and therapeutic advances. *Nat Rev Clin Oncol*, 11(8), 460-472. doi:10.1038/nrclinonc.2014.97
- Magnes, T., Wagner, S., Kiem, D., Weiss, L., Rinnerthaler, G., Greil, R., & Melchardt, T. (2021). Prognostic and Predictive Factors in Advanced Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci*, 22(9). doi:10.3390/ijms22094981
- Mari, A., Abufaraj, M., Gust, K. M., & Shariat, S. F. (2018). Novel endoscopic visualization techniques for bladder cancer detection: a review of the contemporary literature. *Curr Opin Urol*, 28(2), 214-218. doi:10.1097/MOU.0000000000000459
- Mascharak, S., Baird, B. J., & Holsinger, F. C. (2018). Detecting oropharyngeal carcinoma using multispectral, narrow-band imaging and machine learning. *Laryngoscope*, 128(11), 2514-2520. doi:10.1002/lary.27159
- Moche, J. A., Cohen, J. C., & Pearlman, S. J. (2013). Axial computed tomography evaluation of the internal nasal valve correlates with clinical valve narrowing and patient complaint. *Int Forum Allergy Rhinol*, 3(7), 592-597. doi:10.1002/alr.21128
- Murakami, C. (2004). Nasal valve collapse. *Ear Nose Throat J*, 83(3), 163-164. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15086009>

- Nathan, C. A., Kaskas, N. M., Ma, X., Chaudhery, S., Lian, T., Moore-Medlin, T., Shi, R., & Mehta, V. (2014). Confocal Laser Endomicroscopy in the Detection of Head and Neck Precancerous Lesions. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 151(1), 73-80. doi:10.1177/0194599814528660
- Ni, X. G., He, S., Xu, Z. G., Gao, L., Lu, N., Yuan, Z., Lai, S. Q., Zhang, Y. M., Yi, J. L., Wang, X. L., Zhang, L., Li, X. Y., & Wang, G. Q. (2011). Endoscopic diagnosis of laryngeal cancer and precancerous lesions by narrow band imaging. *J Laryngol Otol*, 125(3), 288-296. doi:10.1017/S0022215110002033
- Noronha, V., Joshi, A., Patil, V. M., Agarwal, J., Ghosh-Laskar, S., Budrukkar, A., Murthy, V., Gupta, T., D'Cruz, A. K., Banavali, S., Pai, P. S., Chaturvedi, P., Chaukar, D., Pande, N., Chandrasekharan, A., Talreja, V., Vallathol, D. H., Mathrudev, V., Manjrekar, A., Maske, K., Bhelekar, A. S., Nawale, K., Kannan, S., Gota, V., Bhattacharjee, A., Kane, S., Juvekar, S. L., & Prabhash, K. (2018). Once-a-Week Versus Once-Every-3-Weeks Cisplatin Chemoradiation for Locally Advanced Head and Neck Cancer: A Phase III Randomized Noninferiority Trial. *J Clin Oncol*, 36(11), 1064-1072. doi:10.1200/JCO.2017.74.9457
- Pamudurthy, V., Lodhia, N., & Konda, V. J. A. (2020). Advances in endoscopy for colorectal polyp detection and classification. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*, 33(1), 28-35. doi:10.1080/08998280.2019.1686327
- Petersen, K. B., & Kjaergaard, T. (2017). Role of narrow band imaging in the diagnostics of sinonasal pathology. *BMJ Case Rep*, 2017. doi:10.1136/bcr-2016-218175
- Piazza, C., Cocco, D., De Benedetto, L., Del Bon, F., Nicolai, P., & Peretti, G. (2010). Narrow band imaging and high definition television in the assessment of laryngeal cancer: a prospective study on 279 patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 267(3), 409-414. doi:10.1007/s00405-009-1121-6
- Piazza, C., Cocco, D., Del Bon, F., Mangili, S., Nicolai, P., & Peretti, G. (2011). Narrow band imaging and high definition television in the endoscopic evaluation of upper aero-digestive tract cancer. *Acta Otorhinolaryngol Ital*, 31(2), 70-75. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22065027>
- Pilonis, N. D., Januszewicz, W., & di Pietro, M. (2022). Confocal laser endomicroscopy in gastro-intestinal endoscopy: technical aspects and clinical applications. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 7, 7. doi:10.21037/tgh.2020.04.02
- Poetker, D. M., Rhee, J. S., Mocan, B. O., & Michel, M. A. (2004). Computed tomography technique for evaluation of the nasal valve. *Arch Facial Plast Surg*, 6(4), 240-243. doi:10.1001/archfaci.6.4.240
- Pogorzelski, B., Hanenkamp, U., Goetz, M., Kiesslich, R., & Gosepath, J. (2012). Systematic intraoperative application of confocal endomicroscopy for early detection and resection of squamous cell carcinoma of the head and neck: a preliminary report. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 138(4), 404-411. doi:10.1001/archoto.2012.213

Puxeddu, R., Sionis, S., Gerosa, C., & Carta, F. (2015). Enhanced contact endoscopy for the detection of neoangiogenesis in tumors of the larynx and hypopharynx. *Laryngoscope*, 125(7), 1600-1606. doi:10.1002/lary.25124

Rhee, J. S., Weaver, E. M., Park, S. S., Baker, S. R., Hilger, P. A., Kriet, J. D., Murakami, C., Senior, B. A., Rosenfeld, R. M., & DiVittorio, D. (2010). Clinical consensus statement: Diagnosis and management of nasal valve compromise. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 143(1), 48-59. doi:10.1016/j.otohns.2010.04.019

Roithmann, R., Cole, P., Chapnik, J., Shpirer, I., Hoffstein, V., & Zamel, N. (1995). Acoustic rhinometry in the evaluation of nasal obstruction. *Laryngoscope*, 105(3 Pt 1), 275-281. doi:10.1288/00005537-199503000-00010

Schubert, T., Rausch, S., Fahmy, O., Gakis, G., & Stenzl, A. (2017). Optical improvements in the diagnosis of bladder cancer: implications for clinical practice. *Ther Adv Urol*, 9(11), 251-260. doi:10.1177/1756287217720401

Sepehr, A., Armstrong, W. B., Guo, S., Su, J., Perez, J., Chen, Z., & Wong, B. J. (2008). Optical coherence tomography of the larynx in the awake patient. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 138(4), 425-429. doi:10.1016/j.otohns.2007.12.005

Shaida, A. M., & Kenyon, G. S. (2000). The nasal valves: changes in anatomy and physiology in normal subjects. *Rhinology*, 38(1), 7-12. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10780041>

Sharma, G. K., Chen, L. Y., Chou, L., Badger, C., Hong, E., Rangarajan, S., Chang, T. H., Armstrong, W. B., Verma, S. P., Chen, Z., Ramalingam, R., & Wong, B. J. (2021). Surface kinematic and depth-resolved analysis of human vocal folds in vivo during phonation using optical coherence tomography. *J Biomed Opt*, 26(8). doi:10.1117/1.JBO.26.8.086005

Sharma, S., Sharma, M. C., & Sarkar, C. (2005). Morphology of angiogenesis in human cancer: a conceptual overview, histoprognostic perspective and significance of neoangiogenesis. *Histopathology*, 46(5), 481-489. doi:10.1111/j.1365-2559.2005.02142.x

Shinohara, S., Funabiki, K., Kikuchi, M., Takebayashi, S., Hamaguchi, K., Hara, S., Yamashita, D., Imai, Y., & Mizoguchi, A. (2020). Real-time imaging of head and neck squamous cell carcinomas using confocal micro-endoscopy and applicable dye: A preliminary study. *Auris Nasus Larynx*, 47(4), 668-675. doi:10.1016/j.anl.2020.02.001

Sievert, M., Mantsopoulos, K., Mueller, S. K., Rupp, R., Eckstein, M., Stelzle, F., Oetter, N., Maier, A., Aubreville, M., Iro, H., & Goncalves, M. (2022). Validation of a classification and scoring system for the diagnosis of laryngeal and pharyngeal squamous cell carcinomas by confocal laser endomicroscopy. *Braz J Otorhinolaryngol*, 88 Suppl 4(Suppl 4), S26-S32. doi:10.1016/j.bjorl.2021.06.002

Sievert, M., Stelzle, F., Aubreville, M., Mueller, S. K., Eckstein, M., Oetter, N., Maier, A., Mantsopoulos, K., Iro, H., & Goncalves, M. (2021). Intraoperative free margins assessment of oropharyngeal squamous cell carcinoma with confocal laser endomicroscopy: a pilot study. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 278(11), 4433-4439. doi:10.1007/s00405-021-06659-y

Sommerey, S., Al Arabi, N., Ladurner, R., Chiapponi, C., Stepp, H., Hallfeldt, K. K., & Gallwas, J. K. (2015). Intraoperative optical coherence tomography imaging to identify parathyroid glands. *Surg Endosc*, 29(9), 2698-2704. doi:10.1007/s00464-014-3992-x

Stanikova, L., Satankova, J., Kucova, H., Walderova, R., Zelenik, K., & Kominek, P. (2017). The role of narrow-band imaging (NBI) endoscopy in optical biopsy of vocal cord leukoplakia. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 274(1), 355-359. doi:10.1007/s00405-016-4244-6

Stanikova, L., Walderova, R., Jancatova, D., Formanek, M., Zelenik, K., & Kominek, P. (2018). Comparison of narrow band imaging and the Storz Professional Image Enhancement System for detection of laryngeal and hypopharyngeal pathologies. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 275(7), 1819-1825. doi:10.1007/s00405-018-4987-3

Su, P., Liu, Y., Lin, S., Xiao, K., Chen, P., An, S., He, J., & Bai, Y. (2013). Efficacy of confocal laser endomicroscopy for discriminating colorectal neoplasms from non-neoplasms: a systematic review and meta-analysis. *Colorectal Dis*, 15(1), e1-12. doi:10.1111/codi.12033

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, 71(3), 209-249. doi:10.3322/caac.21660

Thong, P. S., Tandjung, S. S., Movania, M. M., Chiew, W. M., Olivo, M., Bhuvanewari, R., Seah, H. S., Lin, F., Qian, K., & Soo, K. C. (2012). Toward real-time virtual biopsy of oral lesions using confocal laser endomicroscopy interfaced with embedded computing. *J Biomed Opt*, 17(5), 056009. doi:10.1117/1.JBO.17.5.056009

Torretta, S., Gaffuri, M., Cantarella, G., & Pignataro, L. (2013). Narrow-band imaging in the diagnosis of vascular nasal lesions. *Am J Otolaryngol*, 34(1), 75-78. doi:10.1016/j.amjoto.2012.08.011

Turner, J. H., & Reh, D. D. (2012). Incidence and survival in patients with sinonasal cancer: a historical analysis of population-based data. *Head Neck*, 34(6), 877-885. doi:10.1002/hed.21830

Unger, J., Lohscheller, J., Reiter, M., Eder, K., Betz, C. S., & Schuster, M. (2015). A noninvasive procedure for early-stage discrimination of malignant and precancerous vocal fold lesions based on laryngeal dynamics analysis. *Cancer Res*, 75(1), 31-39. doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-1458

- Unger, J., Schuster, M., Hecker, D. J., Schick, B., & Lohscheller, J. (2016). A generalized procedure for analyzing sustained and dynamic vocal fold vibrations from laryngeal high-speed videos using phonovibrograms. *Artif Intell Med*, 66, 15-28. doi:10.1016/j.artmed.2015.10.002
- Upile, T., Jerjes, W., Betz, C. S., El Maaytah, M., Wright, A., & Hopper, C. (2007). Optical diagnostic techniques in the head and neck. *Dent Update*, 34(7), 410-412, 415-416, 419-420 passim. doi:10.12968/denu.2007.34.7.410
- Vokes, D. E., Jackson, R., Guo, S., Perez, J. A., Su, J., Ridgway, J. M., Armstrong, W. B., Chen, Z., & Wong, B. J. (2008). Optical coherence tomography-enhanced microlaryngoscopy: preliminary report of a noncontact optical coherence tomography system integrated with a surgical microscope. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 117(7), 538-547. doi:10.1177/000348940811700713
- Volgger, V., Sharma, G. K., Jing, J. C., Peaks, Y. S., Loy, A. C., Lazarow, F., Wang, A., Qu, Y., Su, E., Chen, Z., Ahuja, G. S., & Wong, B. J. (2015). Long-range Fourier domain optical coherence tomography of the pediatric subglottis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 79(2), 119-126. doi:10.1016/j.ijporl.2014.11.019
- Volgger, V., Stepp, H., Ihrler, S., Kraft, M., Leunig, A., Patel, P. M., Susarla, M., Jackson, K., & Betz, C. S. (2013). Evaluation of optical coherence tomography to discriminate lesions of the upper aerodigestive tract. *Head Neck*, 35(11), 1558-1566. doi:10.1002/hed.23189
- Watermann, A., Gieringer, R., Bauer, A. M., Kurch, S., Kiesslich, R., Tremel, W., Gosepath, J., & Brieger, J. (2019). Fluorescein- and EGFR-Antibody Conjugated Silica Nanoparticles for Enhancement of Real-time Tumor Border Definition Using Confocal Laser Endomicroscopy in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Nanomaterials (Basel)*, 9(10). doi:10.3390/nano9101378
- Waters, C. M., Stepp, W. H., Conduff, J., Balakrishnan, S., Bu, R., Oldenburg, A. L., Kimbell, J. S., Shockley, W. W., & Clark, J. M. (2021). Anatomic Optical Coherence Tomography (aOCT) for Evaluation of the Internal Nasal Valve. *Laryngoscope*. doi:10.1002/lary.29979
- Wong, B. J., Jackson, R. P., Guo, S., Ridgway, J. M., Mahmood, U., Su, J., Shibuya, T. Y., Crumley, R. L., Gu, M., Armstrong, W. B., & Chen, Z. (2005). In vivo optical coherence tomography of the human larynx: normative and benign pathology in 82 patients. *Laryngoscope*, 115(11), 1904-1911. doi:10.1097/01.MLG.0000181465.17744.BE
- Wong, E., Hamizan, A. W., Alvarado, R., Orgain, C. A., Kalish, L., Sacks, R., & Harvey, R. J. (2018). Utility of narrow band imaging in the diagnosis of middle turbinate head edema. *Am J Otolaryngol*, 39(5), 570-574. doi:10.1016/j.amjoto.2018.06.019
- Yang, N., Boudoux, C., De Montigny, E., Maniakas, A., Gologan, O., Madore, W. J., Khullar, S., Guertin, L., Christopoulos, A., Bissada, E., & Ayad, T. (2019). Rapid head and neck tissue identification in thyroid

and parathyroid surgery using optical coherence tomography. *Head Neck*, 41(12), 4171-4180. doi:10.1002/hed.25972

Yu, L., Liu, G., Rubinstein, M., Saidi, A., Wong, B. J., & Chen, Z. (2009). Office-based dynamic imaging of vocal cords in awake patients with swept-source optical coherence tomography. *J Biomed Opt*, 14(6), 064020. doi:10.1117/1.3268442

Zainea, V., Ionita, I. G., Pituru, S., Pietrosanu, C., Rusescu, A., Stefanescu, C. D., Gherghiceanu, F., Anghelina, F., Palade, D., & Hainarosie, R. (2022). Endoscopic assessment of sinonasal mucormycosis with SPIES: The 'battlefield' sign. *Exp Ther Med*, 23(1), 77. doi:10.3892/etm.2021.11000

Zhang, H., & Ye, X. (2022). The development and clinical application of microscopic endoscopy for in vivo optical biopsies: Endocytoscopy and confocal laser endomicroscopy. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 38, 102826. doi:10.1016/j.pdpdt.2022.102826

Zhou, C., Cohen, D. W., Wang, Y., Lee, H. C., Mondelblatt, A. E., Tsai, T. H., Aguirre, A. D., Fujimoto, J. G., & Connolly, J. L. (2010). Integrated optical coherence tomography and microscopy for ex vivo multiscale evaluation of human breast tissues. *Cancer Res*, 70(24), 10071-10079. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-2968

5. Danksagung

Viele Menschen haben mich auf dem Weg zur Habilitation begleitet. Ihnen allen möchte ich herzlich danken.

Mit großem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. med. Martin Canis, der als Klinikdirektor die Geschäftsführung des Fachmentors übernommen und mich in der Fertigstellung der Habilitation stets unterstützt hat, verbunden.

Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Dr. med. Alexander Berghaus, unter dessen Klinikleitung ein großer Teil der Forschungsprojekte entstanden ist. Ihm verdanke ich eine hervorragende klinische Ausbildung und Freiraum für die Arbeit an wissenschaftlichen Projekten.

Ebenfalls sehr danke ich meinem Fachmentor Herrn Prof. Dr. rer. biol. hum. Ronald Sroka für seine Zeit und Mühe, die hilfreichen Anregungen, die wissenschaftliche Unterstützung und die physikalischen Erläuterungen. Auch Prof. Dr. med. Christoph Reichel, meinem anderen Fachmentor, gebührt großer Dank für die Unterstützung und die gute klinische Zusammenarbeit.

Größter Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Christian Betz, Direktor der Klinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf, der mich mit seiner Begeisterung für optische Diagnoseverfahren angesteckt hat. Durch seine Ideen, seine konstruktive Kritik und die Zeit, die er der Wissenschaft gewidmet hat, sind große Teile dieser Arbeit entstanden.

Für die schöne, freundliche und konstruktive Zusammenarbeit bei gemeinsamen Forschungsprojekten möchte ich mich sehr bei meiner Kollegin und Freundin Frau PD Dr. med. Veronika Volgger bedanken. Sie hat viel zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Besonderer Dank gilt auch Herrn PD Dr. med. Georg Ledderose, der mich nicht nur bei meinen wissenschaftlichen Projekten stets unterstützt hat, sondern mir auch klinisch viel beigebracht hat. Zudem danke ich natürlich allen Kolleginnen und Kollegen der HNO-Klinik für die gute Zusammenarbeit sowie den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der HNO-Forschung, vor allem Herrn Prof. Dr. rer. nat. Olivier Gires, für die wissenschaftliche Unterstützung.

Insbesondere danke ich von Herzen meinen Eltern, meinem Mann und meinen Kindern für ihr Verständnis, ihre Geduld und ihre Unterstützung auf allen Ebenen – ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

6. Schriftenverzeichnis

6.1. Übersicht

Die für die kumulative Habilitationsleitung relevanten Publikationen sind fettgedruckt.

Originalarbeiten als Erstautorin

1. Englhard AS, Ledderose GJ. Anatomical findings in patients with chronic rhinosinusitis without nasal polyps requiring revision surgery. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology. 2023 (2022: IF 2,2)
2. **Englhard AS, Ledderose C, Volgger V, Ledderose GJ. Evaluation of an image enhancement system for the assessment of nasal and paranasal sinus diseases. American Journal of Otolaryngology. 2022 (IF 2,5)**
3. Englhard AS, Holzer M, Eder K, Gellrich D, Gröger M. How reliable is anamnestic data in predicting the clinical relevance of house dust mite sensitization? European Archives of Otorhinolaryngology. 2022 (IF 2,9)
4. Englhard AS, Volgger V, Leunig A, Messmer CS, Ledderose GJ. Spontaneous nasal cerebrospinal fluid leaks: management of 24 patients over 11 years. European Archives of Otorhinolaryngology. 2018 (IF 1,7)
5. **Englhard AS, Widmann M, Ledderose GJ, Lemieux B, Badran A, Jing JC, Chen Z, Volgger V, Wong BJ. In vivo imaging of the internal nasal valve during different conditions using optical coherence tomography. Laryngoscope. 2018 (IF 2,3)**
6. **Englhard AS, Betz T, Volgger V, Lankenau E, Ledderose GJ, Stepp H, Homann C, Betz CS. Intraoperative assessment of laryngeal pathologies with optical coherence tomography integrated into a surgical microscope. Lasers in surgery and medicine. 2017 (IF 2,8)**
7. **Englhard AS, Palaras A, Volgger V, Stepp H, Mack B, Libl D, Gires O, Betz CS. Confocal laser endomicroscopy in head and neck malignancies using FITC-labeled EpCAM- and EGF-R-antibodies in cell lines and tumor biopsies. Journal of Biophotonics. 2017 (IF 3,8)**
8. **Englhard AS, Wiedmann M, Ledderose GJ, Lemieux B, Badran A, Chen Z, Betz CS, Wong BJ. Imaging of the internal nasal valve using long-range fourier domain optical coherence tomography. Laryngoscope. 2016 (IF 2,5)**

Originalarbeiten als Koautorin

1. Högerle C, Eder K, Englhard A, Simon F, Grüniger I, Mylnski R, Hempel JM, Müller J. Cochlear electrode tip fold-over: our experience with long and flexible electrode. *Otology and Neurotology*. 2022 (IF 2,1)
2. **Linek M, Felicio-Briegel A, Freymüller C, Rühm A, Englhard AS, Sroka R, Volgger V. Evaluation of hyperspectral imaging to quantify perfusion changes during the modified Allen test. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2022 (IF 2,9)**
3. Gellrich D, Eder K, Englhard AS, Gröger M. Trends in aeroallergen sensitization in Germany – An analysis of 2919 serological data sets of a university ENT department. *Acta Oto-Laryngologica*. 2020 (IF 1,5)
4. **Volgger V, Felicio A, Lohscheller J, Englhard AS, Al-Muzaini H, Betz CS, Schuster M. Evaluation of the combined use of narrow band imaging and high-speed imaging to discriminate laryngeal lesions. *Lasers in surgery and medicine*. 2017 (IF 2,8)**
5. Ledderose GJ, Stelter K, Betz CS, Englhard AS, Ledderose C, Leunig A. Cerebrospinal fluid leaks during endoscopic sinus surgery in thirty-two patients. *Clinical Otolaryngology*. 2017 (IF 2,7)
6. **Volgger V, Girschick S, Ihrler S, Englhard AS, Stepp H, Betz CS. Evaluation of confocal laser endomicroscopy as an aid to differentiate primary flat lesions of the larynx: A prospective clinical study. *Head and Neck* 2016 (IF 3,4)**
7. Ledderose GJ, Reu S, Englhard AS, Krause E. Endonasal resection of early stage squamous cell carcinoma of the nasal vestibule. *European Archives of Otorhinolaryngology* 2013 (IF 1,6)
8. Lison S, Dietrich W, Braun S, Boehm J, Schuster T, Englhard A, Perchuc A, Spannagl M, Busley R. Enhanced thrombin generation after cardiopulmonary bypass surgery. *Anesthesia and Analgesia*. 2011 (IF 3,3)

Kasuistiken

1. Ledderose GJ, Englhard AS. Isolated Nasal Tip Metastasis from Esophageal Squamous Cell Carcinoma: Case Report and Literature Review. *Case Reports in Otolaryngology*. 2015 (IF 0,6)

Übersichtsartikel

1. Betz CS, Kraft M, Arens C, Schuster M, Pfeffer C, Rühm A, Stepp H, Englhard A, Volgger V. Optical diagnostic methods for early tumour diagnosis in the upper aerodigestive tract: Quo vadis? HNO. 2016 (IF 0,7)
2. Volgger V, Arens C, Kraft M, Englhard AS, Betz CS. Optical coherence tomography for early diagnosis of epithelial dysplasia and microinvasive carcinoma of the upper aerodigestive tract. HNO. 2016 (IF 0,7)

Lehrbuch- und Buchkapitel

1. Christian Stephan Betz, Anna Englhard, Veronika Volgger, Andreas Leunig. Fluorescence Imaging (Auto and Induced). Biomedical Optics in Otorhinolaryngology – Head and Neck. Verlag: Springer, 2016
2. Veronika Volgger, Anna Englhard, Christian Stephan Betz. Confocal Microscopy and Micro-Endoscopy of the Larynx. Biomedical Optics in Otorhinolaryngology – Head and Neck. Verlag: Springer, 2016

Sonstige (nicht gelistete) Veröffentlichungen:

1. Englhard A, Girschick S, Mack B, Volgger V, Gires O, Conderman C, Stepp H, Betz CS. Probe-based confocal laser endomicroscopy in head and neck malignancies: early preclinical experience. Head and Neck Optical Diagnostics. 2013

6.2. Sonderdrucke

Aus Gründen des Copyrights kann kein Abdruck der Publikationen an dieser Stelle erfolgen. Die Veröffentlichungen sind aber über die folgenden Links zugänglich.

1. Englhard AS, Ledderose C, Volgger V, Ledderose GJ. Evaluation of an image enhancement system for the assessment of nasal and paranasal sinus diseases. American Journal of Otolaryngology. 2022: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34933164/>

2. Englhard AS, Widmann M, Ledderose GJ, Lemieux B, Badran A, Jing JC, Chen Z, Volgger V, Wong BJ. In vivo imaging of the internal nasal valve during different conditions using optical coherence tomography. Laryngoscope. 2018: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29044537/>
3. Englhard AS, Betz T, Volgger V, Lankenau E, Ledderose GJ, Stepp H, Homann C, Betz CS. Intraoperative assessment of laryngeal pathologies with optical coherence tomography integrated into a surgical microscope. Lasers in surgery and medicine. 2017: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28231390/>
4. Englhard AS, Palaras A, Volgger V, Stepp H, Mack B, Libl D, Gires O, Betz CS. Confocal laser endomicroscopy in head and neck malignancies using FITC-labeled EpCAM- and EGF-R-antibodies in cell lines and tumor biopsies. Journal of Biophotonics. 2017: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28106950/>
5. Englhard AS, Wiedmann M, Ledderose GJ, Lemieux B, Badran A, Chen Z, Betz CS, Wong BJ. Imaging of the internal nasal valve using long-range fourier domain optical coherence tomography. Laryngoscope. 2016: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26599137/>
6. Linek M, Felicio-Briegel A, Freymüller C, Rühm A, Englhard AS, Sroka R, Volgger V. Evaluation of hyperspectral imaging to quantify perfusion changes during the modified Allen test. Lasers in Surgery and Medicine. 2022: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34541694/>
7. Volgger V, Felicio A, Lohscheller J, Englhard AS, Al-Muzaini H, Betz CS, Schuster M. Evaluation of the combined use of narrow band imaging and high-speed imaging to discriminate laryngeal lesions. Lasers in surgery and medicine. 2017: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28231400/>
8. Volgger V, Girschick S, Ihrler S, Englhard AS, Stepp H, Betz CS. Evaluation of confocal laser endomicroscopy as an aid to differentiate primary flat lesions of the larynx: A prospective clinical study. Head and Neck 2016: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26614354/>
9. Betz CS, Kraft M, Arens C, Schuster M, Pfeffer C, Rühm A, Stepp H, Englhard A, Volgger V. Optical diagnostic methods for early tumour diagnosis in the upper aerodigestive tract: Quo vadis? HNO. 2016: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26666558/>
10. Volgger V, Arens C, Kraft M, Englhard AS, Betz CS. Optical coherence tomography for early diagnosis of epithelial dysplasia and microinvasive carcinoma of the upper aerodigestive tract. HNO. 2016: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26666557/>