



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Llum de Banda Estreta en lesions premalignes i malignes de cap i coll

Utilitat i reproductibilitat de la tècnica

Anna Nogués Sabaté

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Llum de Banda Estreta en lesions premalignes i malignes de cap i coll

Utilitat i reproductibilitat de la tècnica

Tesi presentada per

Anna Nogués Sabaté

Per obtenir el títol de doctor per la Universitat de Barcelona en el
programa de Doctorat: Medicina i Recerca Translacional

Dirigida per

Dra. Isabel Vilaseca González

Barcelona, 2019

Agraïments

En primer lloc gràcies Isabel. La meva tutora i directora, la dona que pot amb tot. El meu referent a nivell professional i també personal. Gràcies per haver-me iniciat en la recerca i gràcies per totes les vegades en les que el teu sentit comú ha ordenat i ha posat comes a les meves idees. Sense tu aquesta tesi no existiria. Espero poder seguir aprenent de tu durant molts anys.

A la resta d'adjunts del servei d'Otorrinolaringologia del Clínic, moltes gràcies. He après de tots i cadascú de vosaltres.

Als pacients que són el motor del nostre dia a dia i la raó per la qual ens esforcem a millorar.

Als amics, la família que esculls, les meves nenes de la facultat i les de Sitges, als companys de residència i de resistència, especialment a la Paula i l'Alfonso, gràcies a tots per haver-me aplanat el camí.

Papa i mama, gràcies per haver-me donat els valors necessaris per ser qui sóc, gràcies per fer-me la vida tan fàcil, gràcies per ensenyar-me que la il·lusió mou el món i gràcies per haver format una família unida que s'estima incondicionalment. Quatre membres la formem, junts envers marea i vent. Tan de bo pugui arribar a fer una família una milionèsima part igual que la nostra.

Geri, perquè tenir-te de germà és el millor regal que la vida m'ha donat. Perquè et sento molt a prop tot i que els quilòmetres ens separin. Per tot els nostres secrets, per la nostra complicitat i per existir. T'admiro i sempre et protegiré.

No em puc oblidar de l'avi Ricard i la iaia Antonyica, gràcies a la vida per haver pogut tenir-vos a prop. Gràcies també a l'àvia Victòria i l'avi Joan, els meus àngels de la guarda, espero que des d'allà on sigueu estigueu orgullosos de mi.

I finalment gràcies Martí, el meu "*alter ego*". Gràcies per estar de guàrdia 24h, per cuidar-me, per mimar-me i per fer que la vida tingui sentit. Per haver-me acompanyat durant els anys de facultat, l'estudi del MIR, la residència i ara ja com especialista. La medicina és preciosa però sacrificada i tu sempre has confiat en mi, m'has animat a seguir endavant i m'has aixecat quan queia. Gràcies per ensenyar-me que la vida s'ha de celebrar. Espero poder estar junts fins l'eternitat perquè només tu pots decidir què fer amb el temps que se t'ha concedit. Jo he decidit passar-lo al teu costat.

*"I en acabat, que cadascú es vesteixi
com bonament li plagui, i via fora!,
que tot està per fer i tot és possible"*

Miquel Martí i Pol.

Índex

Llistat de publicacions	15
Abreviatures	19
<u>1. Introducció</u>	21
Capítol 1: Característiques dels tumors de cap i coll	23
1.1 <u>Característiques generals</u>	24
1.2 <u>Característiques del càncer. Neoangiogènesi</u>	25
1.2.1 Neoangiogènesi	26
1.2.2 Anormalitat dels vasos sanguinis tumorals	27
Capítol 2: Diagnòstic de lesions de via aerodigestiva superior	29
2.1 <u>Evolució en l'avaluació de lesions de la via aerodigestiva superior</u>	30
2.2 <u>Tècniques d'endoscòpia biològica</u>	31
2.2.1 Tinció amb blau de toluïdina	32
2.2.2 Cromoendoscòpia	33
2.2.3 Quimioluminescència	33
2.2.4 Endoscòpia de contacte	34
2.2.5 Autofluorescència	34

2.2.6 Microendoscòpia	35
2.2.7 Tomografia de coherència òptica	35
Capítol 3: Llum de Banda Estreta	37
3.1 <u>Característiques òptiques dels teixits</u>	38
3.2 <u>Història de la Llum de Banda Estreta</u>	40
3.3 <u>Aplicació de la Llum de Banda Estreta en cap i coll</u>	42
3.4 <u>Patrons vasculars de la Llum de Banda Estreta en cap i coll</u>	44
3.5 <u>Aplicació de la Llum de Banda Estreta en altres àrees</u>	46
Capítol 4: Validació d'una prova diagnòstica	49
<u>2. Hipòtesi i objectius</u>	55
Hipòtesi general	57
Hipòtesi específica	57
Objectius generals	58
Objectius específics	58
<u>3. Treball experimental</u>	61
Primer estudi	63
Segon estudi	75
Tercer estudi	87
Resum dels estudis	95

<u>4. Discussió</u>	101
4.1 Precisió diagnòstica	103
4.2 Comparabilitat dels estudis	104
4.2.1 Tipus de lesions incloses	104
4.2.2 Avaluació a consulta vs avaluació a quiròfan	105
4.2.3 Classificació de les lesions	105
4.2.4 Sublocalitzacions analitzades	105
4.3 Validació i estandardització dels patrons de Ni i Takano	106
4.4 Falsos negatius i falsos positius	107
4.4.1 Papil·lomatosi	108
4.4.2 Radioteràpia prèvia	109
4.4.3 Tuberculosi	112
4.4.4 Altres infeccions	112
4.4.5 Amiloïdosi	114
4.4.6 Tumors neuroendocrins	115
4.4.7 Sarcomes	116
4.4.8 Limfomes	116
4.4.9 Carcinoma escatós submucós	117
4.5 Consistència	118
4.5.1 Concordança intraobservador	119
4.5.2 Concordança interobservador	119
4.6 Probabilitat de desenvolupar carcinoma escatós de cap i coll segons resultat amb la Llum de Banda Estreta	120
4.7 Futur com a tècnica de cribratge	122

4.8 Limitacions de la Llum de Banda Estreta	123
4.9 Limitacions dels estudis	125
4.10 Punts forts dels estudis	126
<u>5. Conclusions</u>	129
<u>6. Bibliografia</u>	133

Llistat de publicacions

Primer estudi:

Vilaseca I, Valls-Mateus M, **Nogués A**, Lehrer E, López-Chacón M, Avilés-Jurado FX, Blanch JL, Bernal-Sprekelsen M.

Usefulness of office examination with narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma and follow-up of premalignant lesions. Head Neck. 2017 Sep;39(9):1854-1863.

Doi: 10.1002/hed.24849

Segon estudi:

Valls-Mateus M, **Nogués-Sabaté A**, Blanch JL, Bernal-Sprekelsen M, Avilés-Jurado FX, Vilaseca I.

Narrow band imaging for head and neck malignancies: Lessons learned from mistakes. Head Neck. 2018 Jun;40(6):1164-1173.

Doi: 10.1002/hed.25088

Tercer estudi:

Nogués-Sabaté A, Aviles-Jurado FX, Ruiz-Sevilla L, Lehrer E, Santamaría-Gadea A, Valls-Mateus M, Vilaseca I.

Intra and interobserver agreement of narrow band imaging for the detection of head and neck tumors. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2018 Sep;275(9):2349-2354.

Doi: 10.1007/s00405-018-5063-8

Abreviatures

ADN: àcid desoxiribonucleic

BCPI: bucle capil·lar papil·lar intraepitelial

CEEC: carcinoma escatós de cap i coll

CMSP: cèl·lules mononuclears en sang perifèrica

κ: kappa

λ: longitud d'ona

LB: llum blanca

LBE: llum de banda estreta

NBI: narrow band imaging

Nm: nanòmetres

ORL: otorrinolaringologia

QMT: quimioteràpia

QRT: quimio-radioteràpia

RDT: radioteràpia

TCO: tomografia de coherència òptica

TSP-1: trombospondina-1

VAS: via aerodigestiva superior

VEGF: factor de creixement de l'endoteli vascular

VPH: virus papil·loma humà

VVB: vermella-verda-blava

1. Introducció

Capítol 1:

Característiques dels tumors de Cap i Coll

Capítol 1: Característiques dels tumors de Cap i Coll

1.1 Característiques generals

El carcinoma escatós de cap i coll (CECC) és el tipus histològic més comú en les neoplàsies de cap i coll. Es diagnostica a més de mig milió de pacients anualment i a quasi cent mil persones a la Unió Europea, suposa el 5% del total de tumors i és el sisè tumor maligne amb major incidència a nivell mundial¹. A Europa, el més freqüent és el càncer de laringe seguit d'orofaringe, cavitat oral i nasofaringe. A Espanya, la incidència estimada el 2012 va ser de 33 casos/100000 habitants/any amb una mortalitat de 11,7 casos/100000 habitants/any². Als Estats Units el "National Cancer Institute" publica que la supervivència global als 5 anys és del 65%. Quan es diagnostica en estadis precoços la supervivència als 5 anys és del 84%³.

Pel que fa a la distribució, es presenta a partir de la sisena dècada de la vida i afecta a més homes que dones. El 60% dels pacients amb CECC es diagnostiquen en un estadi avançat, fet que empitjora el pronòstic⁴.

El tractament de tumors avançats implica l'ús de cirurgies molt agressives amb alt impacte en la qualitat de vida dels pacients. Si bé el desenvolupament de protocols de preservació d'òrgan amb quimio-radioteràpia (QRT) han permès reduir l'agressivitat quirúrgica, la taxa de supervivència en tumors en estadi avançat es manté al voltant del 50%. Aquestes són xifres similars a les de fa 30 anys^{2,5-7}.

Els factors de risc clàssics en el desenvolupament del càncer de cap i coll són l'abús de l'alcohol i del tabac. En els últims anys el Virus del Papil·loma Humà (VPH) ha guanyat importància com factor oncogènic⁸, especialment a l'orofaringe, i de fet, en la nova classificació del vuitè TNM la presència de VPH pot fer variar l'estadi en aquesta localització^{9,10}.

El tractament d'elecció dels CECC dependrà de la localització i de l'estadi en el que es diagnostica. Clàssicament s'han realitzat cirurgies, radioteràpia (RDT) i quimioteràpia (QMT) de manera aïllada o combinada per tractar aquests tumors. En els últims anys

s'està treballant en l'àmbit de la medicina personalitzada i s'avança en el camp de la immunoteràpia i en la creació de molècules específiques per tal d'oferir tractaments individualitzats¹¹.

1.2 Característiques del càncer. Neoangiogènesi

A l'any 2000 Hanahan et al. van descriure les sis característiques o capacitats biològiques adquirides del càncer i ho van anomenar les "Característiques del càncer", "Cancer Hallmarks" en anglès¹² (Figura 1). Aquestes característiques descriuen el desenvolupament dels tumors en múltiples passos com el manteniment de la senyalització proliferativa, l'evitació dels factors supressors de creixement i la resistència a la mort cel·lular, permetent així, la immortalitat replicativa. Una altra característica és la inducció de l'angiogènesi i l'activació de la capacitat d'invasió i de metàstasi.

Avui en dia, aquests sis principis segueixen vigents però a les sis característiques descrites se n'han afegit de noves: la capacitat de reprogramar el metabolisme energètic, la capacitat d'evadir la immunitat, la inestabilitat genòmica, i finalment, la promoció d'un estat proinflamatori que crea un microambient tumoral per part de cèl·lules "benignes", i aparentment sanes, que contribueix al creixement tumoral¹³.

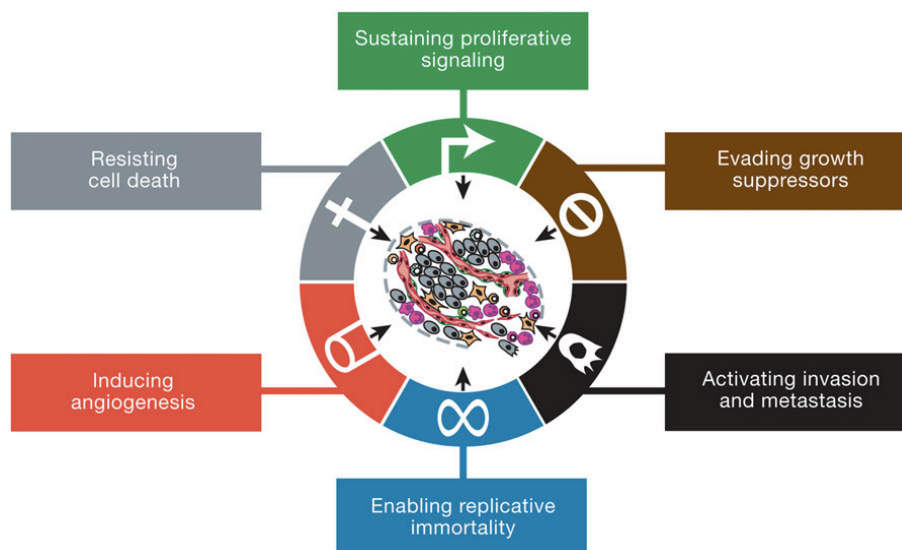


Figura 1: Característiques del càncer¹²

1.2.1 Neoangiogènesi

De la mateixa manera que els teixits normals, els tumors necessiten aportació de nutrients i oxigen i evacuació de desfets metabòlics i de diòxid de carboni. La neovascularització associada al tumor realitza aquesta funció aportadora i evacuadora. La vasculogènesi és un procés que té lloc únicament durant l'embriogènesi permetent el desenvolupament de nous vasos a partir de cèl·lules mare. Quan es finalitza el creixement fetal aquesta capacitat de neovascularització queda quiescent i únicament es posa de nou en marxa, i de manera puntual, en forma d'angiogènesi, que és la creació de nous vasos a partir de vasos ja existents¹⁴. En condicions normals, l'angiogènesi es produeix durant la curació de ferides o, per exemple, durant el cicle menstrual femení.

Les cèl·lules endotelials tenen una de les vides cel·lulars més llargues de tot el cos humà. En condicions normals només 1 de cada 10000 cèl·lules endotelials es troba en divisió cel·lular, és a dir un 0,0001% del total¹⁵.

No obstant, durant el desenvolupament tumoral la capacitat de generar nous vasos queda activada de forma permanent, ja que la velocitat de creixement és tan alta que augmenta tant la necessitat d'aportació com la d'evacuació¹⁶.

El procés d'angiogènesi es regeix tant per factors inhibidors com inductors^{17,18}. Els reguladors solen ser proteïnes de senyalització, el factor inductor més conegut és el factor de creixement de l'endoteli vascular (VEGF), per altra banda, la Trombospondina-1 (TSP-1) és un dels factor antiangiogènics més coneguts^{13,19}.

El procés de neoangiogènesi s'inicia en les lesions premalignes¹⁶ i es fa més evident en lesions malignes. El creixement ràpid de les cèl·lules tumorals ocasiona que en certes àrees es generi hipòxia i, conseqüentment, necrosi tumoral. Aquesta necrosi és capaç d'augmentar la secreció de VEGF i per tant, l'angiogènesi²⁰.

1.2.2 Anormalitat dels vasos sanguinis tumorals

La vascularització normal es disposa de manera regular i uniforme als teixits i a la mucosa segueix una distribució paral·lela a la superfície. En canvi, en els tumors la distribució és caòtica i forma llaços entortolligats i desorganitzats. No només la distribució és caòtica, sinó que també ho és la seva estructura que pot variar fins i tot en diferents àrees d'un mateix tumor^{21,22}. Els vasos tumorals solen ser més fràgils ja que els manquen els perícits. Els perícits són cèl·lules contràctils que envolten l'endoteli capil·lar, el seu defecte ocasiona hiperpermeabilitat i consegüentment, edema local i coagulació extravascular de plasma que, finalment, serveix com a matriu provisional de migració cel·lular i estimula l'angiogènesi²³. En molts casos té lloc un mimetisme vasculogènic en el que les pròpies cèl·lules tumorals supleixen la funció de les cèl·lules endotelials i formen canals vasculars²⁴.

Per altra banda, els vasos, a més de presentar una angioarquitectura caòtica, també tenen nombroses derivacions arteriovenoses on el flux canvia de direcció²⁵. Aquestes anomalies arquitectòniques, amb vasos tortuosos, amb ramificacions irregulars i de major mida que els seus homònims de teixit sa, fan que el flux sigui inestable i amb major resistència. Resultat de tot això, els tumors no capten bé els nutrients ni l'oxigen, i això es demostra amb una major concentració d'oxigen en sang venosa tumoral²².

L'alta activitat glucolítica de les cèl·lules tumorals combinada amb la dificultat per eliminar els metabòlits i el diòxid de carboni genera un microambient àcid que condueix a la formació de zones d'insuficiència metabòlica, isquèmia i fins i tot, necrosi. Conseqüentment, es produeixen factors proangiogènics que promouen la neoangiogènesi²⁶.

Per tot el que s'ha dit fins ara, el patró vascular és una característica de les lesions malignes, i també premalignes, que podria ser d'utilitat en el diagnòstic precoç, en el seguiment i en el pronòstic.

Capítol 2:

Diagnòstic de lesions tumorals de via
aerodigestiva superior

Capítol 2: Diagnòstic de lesions tumorals de via aerodigestiva superior

Per augmentar la supervivència dels nostres pacients amb tumors malignes és important millorar les eines de detecció precoç. L'endoscòpia seguida de la biòpsia i l'estudi anatomopatològic és l'estàndard d'or i la primera prova a realitzar en el diagnòstic precoç i seguiment de carcinomes de la via aerodigestiva superior (VAS)²⁷. Les proves d'imatge, que són de gran ajuda en l'estudi d'extensió, no són capaces de detectar lesions incipients o premalignes.

L'exploració endoscòpica amb llum blanca convencional (LB) té limitacions pel que fa a la resolució i al contrast, i això pot conduir a infradiagnosticar lesions canceroses superficials o premalignes.

2.1 Evolució en l'avaluació de lesions de la via aerodigestiva superior

Tradicionalment la inspecció de les lesions de cap i coll ha suposat un repte pels professionals ja que l'examen de la VAS es realitzava de manera indirecta amb l'ús de mirallets. No obstant, en determinats pacients aquesta exploració és difícil, insatisfactòria i fins i tot impossible. Tot i comptar amb la col·laboració del pacient i una anatomia favorable, la cara laríngia de l'epiglotis suposa un lloc d'assentament de carcinomes ocults ja que la seva superfície no es pot explorar correctament de manera indirecta amb mirallet.²⁸

Scalco et al.²⁹ van introduir la microlaringoscòpia i Jako i Kleinsasser la van desenvolupar com a abordatge diagnòstic i terapèutic del càncer de laringe^{30,31}. La unió d'un microscopi quirúrgic i un laringoscopi amb una obertura ampla va ser un dels grans avenços de la Otorrinolaringologia del segle passat. Oferia la possibilitat de, sota anestèsia general, poder començar a inspeccionar la laringe bimanualment, palpant la consistència de les lesions. També permetia estudiar el ventricle laringi distraient les

bandes o l'avaluació de la subglotis separant les cordes vocals. A més, la magnificació que aportava l'ús del microscopi permetia una inspecció més detallada de les lesions.

Posteriorment, l'aparició de telelaringoscopis o endoscopis rígids va permetre, sota anestèsia local, l'estudi complet de la laringe i dels sinus piriformes d'aquells pacients que no es podien explorar correctament amb laringoscòpia indirecta.

La implantació de la fibroendoscòpia o endoscòpia flexible pel nas va millorar l'estudi de les lesions subglòtiques i també en aquells casos en els que l'epiglòtis presenta una posició doblegada sobre si mateixa que entorpeix l'exploració del pla glòtic.

Amb el desenvolupament tecnològic s'ha aconseguit millorar la qualitat de l'estudi de la VAS, ja que els nous endoscopis incorporen càmeres de vídeo d'alta definició, sistema de gravació i un monitor de televisió³². A partir de la videoendoscòpia es poden obtenir imatges d'alta qualitat i a més registrar-les de cara a futures visualitzacions. No obstant, el correcte seria parlar de fibrovideoendoscòpia ja que la videoendoscòpia com a tal consisteix en la incorporació de xips, o càmeres endoscòpiques en miniatura, a l'extrem distal de l'endoscopi que recullen les imatges, sense fibres òptiques ni lents.

Finalment, un altre dels avenços en els sistemes d'exploració ha estat l'endoscòpia de magnificació. La capacitat de magnificar les imatges endoscòpiques en temps real permet visualitzar detalls que no som capaços de detectar amb l'endoscòpia convencional. Les imatges poden ampliar-se de 1,5X a 150X i els endoscopis més moderns permeten magnificar sense perdre resolució. Això es deu a l'augment en la densitat de píxels que permet discriminar punts que es troben a escassos microns de diàmetre³³. Aquesta és una tècnica que ha tingut particular interès a nivell gastrointestinal.

2.2 Tècniques d'endoscòpia biològica

L'ús cada cop més freqüent de l'endoscòpia, i els avenços en qualitat d'imatge, han fet que en els últims anys aquesta s'hagi convertit en l'estàndard d'or del diagnòstic de lesions mucoses. L'interès en el seu paper en el diagnòstic precoç de lesions malignes

i premalignes ha augmentat no només a nivell de l'Otorrinolaringologia, també en especialitats com Digestologia, Pneumologia o Urologia.

Hi ha hagut nombrosos intents de millorar la precisió diagnòstica mitjançant l'ús d'endoscòpia biològica, és a dir, aquella que posa de manifest determinades propietats biològiques dels teixits com per exemple, l'ús de llum invisible com la fluorescència³⁴, els infrarojos³⁵ o la imatge de banda estreta³⁶ entre altres. A continuació s'exposen mètodes d'endoscòpia biològica que s'han desenvolupat per millorar el diagnòstic de les lesions de la VAS. Pel que fa a la tècnica de llum de banda estreta (LBE) en el proper capítol s'explica de manera detallada.

2.2.1 Tinció amb blau de toluïdina

Tot i que aquesta tècnica no s'ha posat en marxa recentment, no obstant, val la pena parlar-ne ja que va ser la primera modificació de l'endoscòpia en el camp de l'Otorrinolaringologia. Es va començar a fer servir a finals dels anys 60^{37,38}. Durant la microcirurgia, amb el baló del tub endotraqueal correctament inflat i havent eliminat l'excés de secrecions amb àcid acètic al 1%, es tenyia la laringe amb blau de toluïdina al 1%. Havent passat uns 30 segons s'eliminava l'excés de tinció irrigant de nou amb àcid acètic³⁹. El blau de toluïdina s'adhereix als grups fosfat dels àcids nucleics, les àrees de teixit amb alta taxa de replicació cel·lular contenen major concentració d'aquests grups fosfat. Les àrees d'inflamació, de regeneració, d'atípia o de carcinoma in situ queden tenyides de color fosc mentre que, les àrees de queratosi i l'epiteli normal no es tenyeixen. Al penetrar 3 o 4 cèl·lules en profunditat, només és útil per l'estudi les capes superficials de l'epiteli³⁹. Aquest tipus de tinció pot aportar també informació sobre els marges de resecció quirúrgics^{40,41} i a la vegada, seleccionar àrees de major rendiment a l'hora de realitzar una biòpsia⁴². Com a factor limitant, hi ha els falsos positius que es produeixen en àrees amb teixit de granulació o úlceres en fase de cicatrització, en àrees amb restes de mucositat i en àrees amb presència de cèl·lules caliciformes productores de moc com en la supraglotis, ja que s'uneix també

als mucopolisacàrids. Un altre desavantatge és que augmenta considerablement el temps d'exploració i que, per avaluar lesions faringolaríngies requereix que el pacient estigui sota anestèsia general.

2.2.2 Cromoendoscòpia

La cromoendoscòpia tampoc s'ha desenvolupat recentment, però val la pena mencionar-la ja que és l'estàndard d'or de comparació de molts resultats d'altres tècniques que estudien lesions de mucosa digestiva. Permet observar amb precisió els patrons estructurals de la mucosa i consisteix^{43,44} en la tinció de la mucosa fent servir un colorant biocompatible com la solució de Lugol o el blau de metilè. Els colorants s'acumulen a les criptes de les glàndules de la mucosa permetent detectar patrons glandulars anòmals, no obstant, no ressalta el patró vascular i té l'inconvenient de la dificultat per aconseguir un recobriment complert i uniforme de la mucosa. S'han descrit lesions mucoses secundaries al Lugol i allarga la durada del procediment⁴⁵.

2.2.3 Quimioluminiscència

La quimioluminiscència és la llum que es produeix en una reacció química d'un compost altament energètic. Aquesta tècnica s'ha incorporat en lesions de mucosa de cavitat oral provinent de Ginecologia on la fan servir per la detecció precoç del càncer uterí i vaginal. Primer s'ha de glopejar àcid acètic a l'1% i posteriorment, i de manera separada, àcid acetilsalicílic i peròxid d'hidrogen. Això produeix una reacció química de llum blava-blanca que dura uns 10 minuts. Els teixits sans absorbeixen la llum i en la resta la llum es reflexa (degut a la major relació nucli/citoplasma) i adquireixen un color blanc. Permet detectar lesions sincròniques. És una tècnica segura, no invasiva i relativament ràpida però no permet seleccionar en quines àrees es podrà treure major rendiment diagnòstic en una biòpsia i el preu dels kits comercialitzats per dur a terme la tècnica són cars³⁹.

2.2.4 Endoscòpia de contacte

L'endoscòpia de contacte és una altra tècnica de diagnòstic de lesions de cavitat oral i faringe que es va descriure per mucosa uterina el 1979 per Hamou⁴⁶. Cap als anys noranta Andrea et al.⁴⁷ van descriure el seu ús a Otorrinolaringologia. Es basa en l'ús d'un endoscopi rígid en contacte directe amb lesions sospitoses de la mucosa. Permet obtenir imatges molt ampliades que mostren l'arquitectura cel·lular de teixits prèviament tenyits amb blau de metilè. Com a avantatges aporta un resultat in vivo d'estructures citològiques sense necessitat de biòpsia, es poden estudiar àrees més amples que amb anatomia patològica i en cas que es requereixi l'estudi anatomopatològic permet realitzar biòpsies dirigides. El blau de metilè s'uneix als àcids nucleics fent que els nuclis cel·lulars es teneixin de blau i els nuclis de cèl·lules tumorals degut a l'alta activitat mitòtica es veuen més foscos⁴⁸. No obstant, tot i aquests avantatges, l'ús d'aquesta tècnica a la pràctica clínica és limitat. Només permet l'estudi de les tres primeres capes de l'epiteli i per tant no informa de l'estat de la membrana basal⁴⁹. Més enllà de la cavitat oral, la seva realització sense anestèsia general és difícil degut a la mala tolerància i a que la presència de moviment o de secrecions, per escasses que siguin, impedeix la correcta valoració⁵⁰. A més, la tècnica i la interpretació dels resultats és difícil. Tots aquest inconvenients fan que no sigui de gran utilitat en la pràctica diària.

2.2.5 Autofluorescència

Aquesta tècnica es basa en la fluorescència espontània dels teixits quan són il·luminats amb llum blava, aquesta fluorescència pot ser avaluada de manera subjectiva i qualitativa o quantificar-se amb espectroscopis. L'autofluorescència canvia segons l'estructura tridimensional dels teixits i segons el seu metabolisme⁵¹. Els teixits normals tenen una fluorescència verda mentre que els teixits anòmals tenen una fluorescència vermella⁵². Harries et al.⁵³ van publicar el primer estudi sobre fluorescència i càncer de laringe. Les lesions inflamatòries donen lloc a falsos positius i

en canvi la hiperqueratosis falsos negatius. És una tècnica útil a l'hora de delimitar marges quirúrgics⁵⁴. Succo et al.⁵⁵ també van demostrar que l'autofluorescència directa intraoperatòria ajuda a identificar marges superficials positius i que això té una implicació favorable en el control local i la supervivència en relació a la malaltia als tres anys. Per altra banda, Crosetti et al.⁵⁶ van analitzar l'autofluorescència indirecta a la consulta i van determinar que tenia una sensibilitat del 89,9%, una especificitat del 41,4%, un valor predictiu positiu del 78,8% i un valor predictiu negatiu del 62,9%.

2.2.6 Microendoscòpia

Consisteix en la incorporació d'un microendoscopi a un càmera que es pot utilitzar a diferents augments, permetent així un estudi microscòpic dels teixits i dels marges. No obstant, té l'inconvenient que penetra un màxim de 50 micròmetres, que la queratinització pot generar artefactes i que la interpretació dels resultats és difícil⁵⁷.

2.2.7 Tomografia de coherència òptica

La tomografia de coherència òptica (TCO) és una tècnica de diagnòstic òptic anàleg a l'ecografia. Fa servir llum infraroja i registra el reflex de la llum que es produeix per sota la mucosa i així obté una imatge de l'arquitectura tissular⁵⁸. Proporciona una resolució micromètrica i una profunditat mil·limètrica⁵⁹. El camp on s'ha desenvolupat de manera més ampla és en l'estudi oftalmològic de la retina⁶⁰.

A nivell ORL es troba en un estat semi-experimental i de fet, en el sentit estricte no s'hauria de considerar una tècnica endoscòpica com a tal. La TCO permet detectar canvis estructurals de les capes epitelials, subepitelials i de la membrana basal i canvis de queratinització, però no permet distingir entre lesions ni identificar l'atípia en sí⁶¹.

Capítol 3:

Llum de Banda Estreta

Capítol 3: Llum de Banda Estreta

Com ja s'ha comentat en el capítol anterior la LBE és una de les tècniques d'endoscòpia biològica desenvolupades recentment. En aquest capítol s'expliquen detalladament les bases físiques del seu funcionament, en què consisteix la tècnica i l'aplicació en altres àrees més enllà de la Otorrinolaringologia.

3.1 Característiques òptiques dels teixits

La llum té la propietat de comportar-se amb la dualitat ona-partícula, la llum com una ona disposa de longituds d'ona. La longitud d'ona (λ) de la llum es mesura en nanòmetres (nm) i és la distància mínima que hi ha entre dos punts en el mateix estat del cicle ondulatori, per exemple entre els pics de cada ona. A efectes pràctics cada longitud d'ona correspon a un color. L'ull humà és capaç de veure les longituds d'ona de 400 a 700nm, per sota trobem la radiació ultraviolada, els raigs X i els raigs Gamma, per sobre trobem la llum infraroja, les microones i les ones de ràdio. L'ample de banda és una altra de les característiques físiques mesurables en la llum i indica el valor de l'amplada d'oscil·lació respecte el punt d'origen. L'amplitud determina la quantitat d'energia que conté una ona i a mesura que s'allunyen del punt mig es debiliten.

Les característiques òptiques dels teixits varien segons si parlem de mostres de teixit *ex vivo* comparat amb teixit humà *in vivo*⁶². Aquestes propietats físiques també varien entre espècies, per exemple, l'atenuació de la llum en la pròstata canina és dues vegades superior a la humana⁶³. Aquestes diferències han fet necessària la creació de bases de dades que estudiïn el comportament de la llum en diferents àrees del cos humà i també en diferents situacions, fent que les característiques òptiques variïn segons si parlem de superfície, teixit intersticial o mucosa de cavitats⁶⁴.

Per entendre les propietats òptiques dels teixits s'han de tenir en compte altres conceptes com l'absorció i la dispersió (Figura 2).

Pel que fa a la dispersió, s'ha vist que les diferents longituds d'ona tenen diferent comportament segons els diferents teixits biològics⁶⁵. En un medi tèrbol hi té lloc la dispersió de la llum ja que aquesta xoca contra les partícules i l'energia lumínica rebota tridimensionalment i a la vegada xoca amb altres partícules. Quan això té lloc, parlem de dispersió múltiple de la llum. En aquests casos la llum es propaga de manera difusa i no es produeix un feix de llum lineal. Als teixits humans les partícules que fan que la llum reboti són les pròpies proteïnes complexes, els orgànuls intracel·lulars o altres estructures cel·lulars. De manera que té lloc el fenomen de la dispersió múltiple que fa que la llum es propagui pels teixits de manera difusa, que part de la llum reboti i que només certes longituds d'ona penetrin en profunditat.

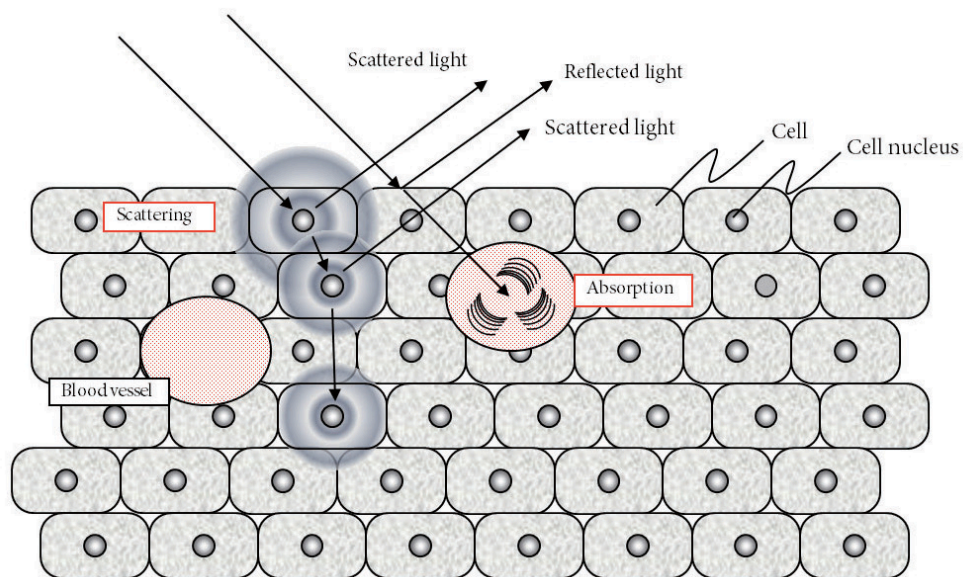


Figura 2. Absorció i dispersió de la llum⁶⁶.

La longitud d'ona determinarà el grau de penetració de la llum als teixits. Les longituds d'ona llargues, com la llum vermella, tendeixen a profunditzar més al teixit. Les longituds d'ona curtes, com la llum blava, tenen menys capacitat de penetració.

Pel que fa a l'absorció, part de la llum és absorbida per la sang, de fet, l'hemoglobina absorbeix la llum blava i la verda. L'hemoglobina és un tipus de cromòfor, és a dir l'agrupació atòmica insaturada d'una molècula (*cromogen*) que absorbeix radiació visible o ultraviolada, això fa que el color de la mucosa vingui donat principalment per l'hemoglobina⁶⁴.

A nivell clínic Sambongi et al.⁶⁷ van realitzar un estudi on s'utilitzava l'espectroscòpia endoscòpica i es va comprovar que l'hemoglobina era el principal absorbent de llum dintre de l'espectre de la mucosa colònica i que hi havia diferències en l'espectre de reflectància entre mucosa sana i tumoral.

3.2 Història de la Llum de Banda Estreta

La LBE com a tal es va començar a gestar el 1999 al Japó per Gono et al.³⁶, en la línia de millorar la detecció precoç del càncer van proposar un nou mètode d'il·luminació endoscòpica, la imatge de banda estreta o LBE, coneguda en anglès com "narrow band imaging" o NBI. La LBE és una tecnologia que fa servir filtres òptics en la il·luminació seqüencial vermella-verda-blava (VVB), redueix l'ample de banda i selecciona només 415 i 540 nm, les dues longituds d'ona que absorbeix l'hemoglobina (Figura 3). Degut a l'alta dispersió i absorció la llum blava de 415 nm permet contrastar la xarxa capil·lar superficial, ja que penetra uns 0.17 mm, i la llum verda de 540 nm destaca els vasos superepitelials, ja que penetra 0,24 mm⁶⁸.

Per arribar a aquesta combinació de longituds d'ona Gono et al.⁶⁹ van realitzar les primeres observacions clíniques amb mucosa de la cara ventral de la llengua (Figura 4) per determinar, tant amb banda estreta com amb banda ample, quines eren les longituds d'ona capaces de ressaltar els capil·lars superficials i els vasos submucosos. Van veure llavors que la llengua humana té una estructura vascular que varia segons la profunditat i que la banda estreta permetia veure una imatge on quedava reflectida aquesta sensació de profunditat pel diferent color que adquirien un cop es filtrava la llum.

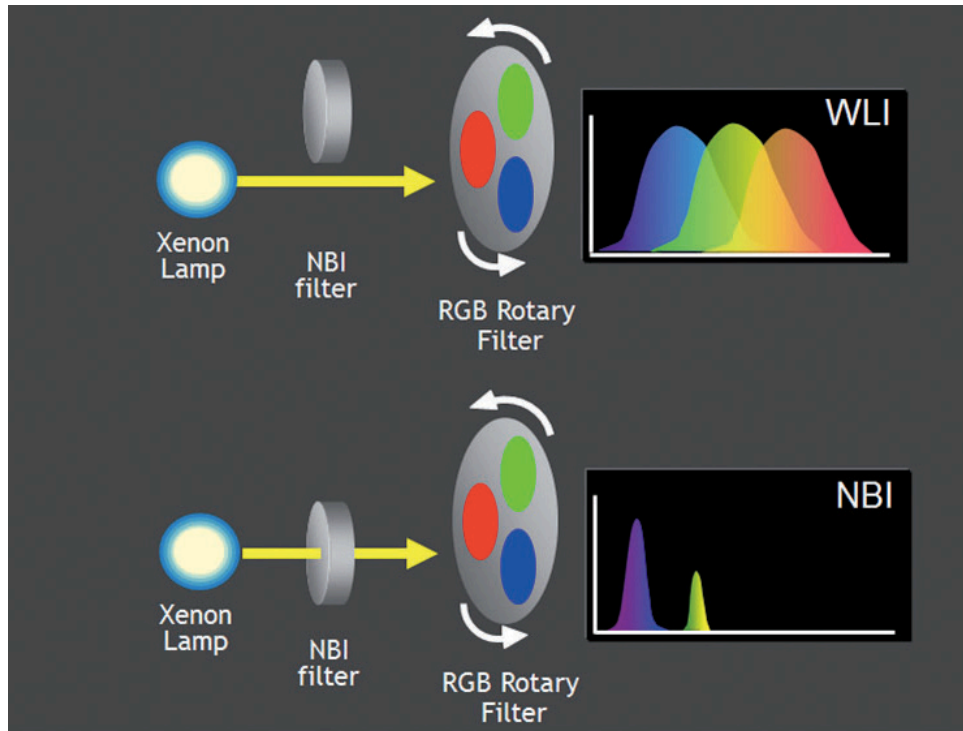


Figura 3. Configuració del sistema de LBE⁶⁶

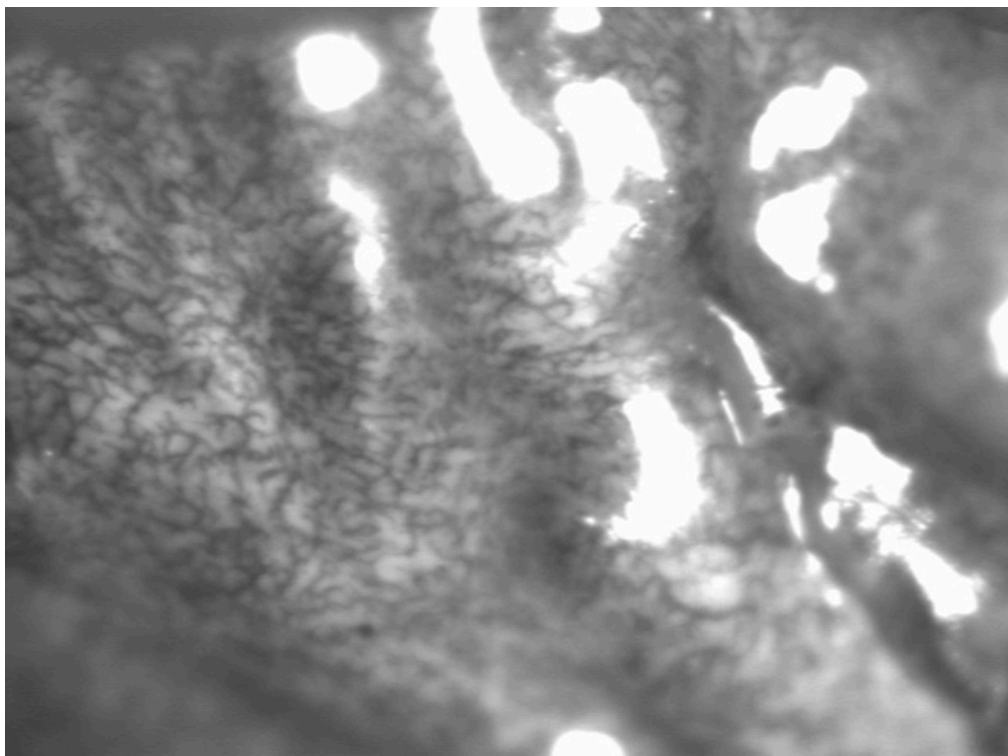


Figura 4. Primera imatge endoscòpica de teixit viu (mucosa ventral de llengua humana) amb LBE⁶⁶

El primer estudi clínic el van realitzar Sano et al.⁷⁰ i utilitzant un prototip de LBE es va poder comprovar que es tractava d'una tecnologia molt prometedora. Es tractava d'un estudi basat en l'avaluació de 132 lesions de les quals 73 eren colorectals, 39 gàstriques i 20 esofàgiques. El 2005 es van comercialitzar els primers equips d'endoscòpia amb pantalles d'alta definició i LBE.

No va ser fins el 2006 que Watanabe et al.⁷¹, amb l'ajuda d'Olympus (Olympus Medical Systems Corp., Tokyo, Japó) van publicar el primer article sobre LBE on examinaven, a la consulta i amb anestèsia local, l'orofaringe i la hipofaringe de 217 pacients amb càncer d'esòfag veient que podria aportar un benefici respecte la LB. El 2008 també Watanabe et al.⁷² van publicar un estudi on examinaven la cavitat oral, la faringe i la laringe de 667 pacients afectes de carcinoma esofàgic, de cara a la detecció precoç de possibles tumors sincrònics de cap i coll i també van concloure que el fet d'afegir la LBE suposava una millora en el diagnòstic.

El 2009 es va publicar un estudi on s'estudiaven lesions laríngies ja existents per determinar si presentaven característiques suggestives de malignitat prèvia a la realització d'una biòpsia⁷³.

3.3 Aplicació de la Llum de Banda Estreta en tumors de cap i coll

Com ja s'ha dit, la llum blava (centrada a 415nm) correspon al pic d'absorció de l'hemoglobina, aquesta llum penetra la mucosa superficial i ressalta el llit capil·lar superficial de color marró⁷⁴. Això permet la visualització detallada del patró de bucle capil·lar papil·lar intraepitelial (BCPI) o "intraepithelial papillary capillary loop" o IPCL en anglès. La llum verda (centrada a 540nm) passa a través de la capa submucosa i ressalta en verd els vasos amb més diàmetre de la part profunda de la mucosa i de la capa submucosa⁷⁵. Per tant, l'endoscòpia LBE produeix una llum blava i verda que penetra menys al teixit i que per tant, aporta major resolució de les estructures superficials facilitant una inspecció fàcil i sense colorants del llit vascular superficial de la mucosa.

Basant-nos per una banda en que durant la carcinogènesi hi ha neoangiogènesi, que la neoangiogènesi és un requisit pel desenvolupament del CECC, i per altra banda que la LBE és capaç d'augmentar el contrast de la imatge mitjançant un ressalt específic de la microvasculatura intraepitelial, s'ha vist que la LBE pot ser útil en el diagnòstic precoç i en el seguiment de lesions superficials de cap i coll que podrien passar per alt amb LB⁷⁶.

Quan es combina amb LB, la LBE té una alta sensibilitat i alt valor predictiu negatiu en el diagnòstic de lesions sospitoses de cap i coll^{77,78}, i per tant, és poc probable que passi per alt una lesió mucosa de cap i coll. També té un paper important en l'exclusió de malaltia, en l'estudi de tumors de primari desconegut i en la identificació correcta dels casos negatius^{79,80}.

Per altra banda, la LBE pot ser útil a l'hora de dirigir les biòpsies d'àrees sospitoses⁸¹ i en el pronòstic de degeneració de lesions premalignes cròniques sense necessitat de biòpsia⁸². La LBE també té un paper important pel que fa als marges de resecció quirúrgic i la possibilitat de minimitzar la taxa de marges positius⁸³⁻⁸⁵ que pot arribar a ser del 20% en cirurgia robòtica⁸⁶. Això és especialment important ja que un dels avantatges i a la vegada handicaps de la cirurgia transoral, ja sigui làser, amb ultrasò o robòtica, és precisament la preservació de la funcionalitat i els marges de resecció estrets⁸⁷⁻⁸⁸.

Un altre aspecte a destacar en relació a l'aplicació de la LBE en lesions de cap i coll és el context en el qual es fa servir. Hi ha centres on l'utilitzen principalment a quiròfan per delimitar marges, dirigir biòpsies o també de cara a l'estudi de possibles lesions sincròniques⁷². Això aporta dos grans avantatges, el primer és que sota anestèsia general no es necessita la col·laboració del pacient per estar quiet i això facilita l'estudi detallat de les lesions. El segon avantatge de fer-ho a quiròfan també està lligat a l'anestèsia general i és que et permet aspirar secrecions i netejar el camp a estudiar. L'anestèsia general en sí és un desavantatge ja que se sotmet al pacient a un estrès físic i, ni estalvia la realització de biòpsies, ni és útil pel seguiment⁸⁹.

Altres grups utilitzen la LBE a la consulta, el gran avantatge que proporciona és la capacitat de decidir si cal fer una biòpsia, i en cas que calgui, quina àrea ens pot aportar més rendiment. També és de gran utilitat en el seguiment de laringitis cròniques o de pacients oncològics per detectar de manera precoç una recidiva⁹⁰. En contrapartida, no es podrà realitzar el diagnòstic i seguiment a la consulta si el pacient no tolera el procediment amb anestèsia local o si hi ha abundant retenció de secrecions.

3.4 Patrons vasculars de la Llum de Banda Estreta en tumors de cap i coll

L'avaluació de lesions benignes i malignes de cap i coll recau bàsicament en el patró de BCPI de la superfície de la mucosa. Durant els primers anys la utilització de la LBE en cap i coll no estava estandarditzada i tampoc hi havia cap classificació que correlacionés la morfologia dels vasos amb la histologia. En l'exploració amb LB els BCPI de l'epiteli són difícils de reconèixer però sota llum LBE es poden visualitzar clarament.

Takano et al.⁹¹ van descriure el 2010 els canvis en la morfologia de la vascularització de la mucosa en carcinomes de la cavitat oral. La nova classificació es basava en la classificació de Inoue et al.^{92,93} per lesions esofàgiques. El tipus I és el patró de mucosa normal que es presenta com dos braços aixecats movent-se junts o patró en cometa. El tipus II els BCIP estan dilatats. El tipus III els BCIP estan elongats, quan s'allarguen molt es veuen com línies enredades i en general també estan dilatats. El tipus IV es caracteritza per vasos grans i destrucció dels BCIP terminals per la progressió de la carcinogènesi que primer dilata i elonga els vasos fins finalment destruir-los (Figura 5).

Pel que fa a la seva relació amb la histologia, el tipus I es considera negatiu, el tipus II displàsia lleu, el III displàsia moderada o severa i el tipus IV positiu per malignitat.

El 2011 Ni et al.⁹⁴ van proposar una classificació de les lesions laríngies segons el seu patró de BCIP, això ha servit a l'hora d'unificar criteris i ha millorat la precisió diagnòstica de la LBE⁹⁵.

Segons Ni et al.⁹⁴ en el patró vascular tipus I els capil·lars són de petit diàmetre, oblics, arborescents, paral·lels a la superfície de la mucosa i no s'observen els BCIP. El tipus II s'observen com capil·lars també paral·lels a la superfície però de diàmetre major i tampoc s'observen BCIP. En el tipus III s'observen plaques de leucoplàsia que en funció del gruix permetran veure els vasos oblics i arborescents o quedaran amagats. En el tipus IV s'observen el BCIP amb una distribució regular com petit puntejat marró fosc i dispers. Els vasos oblics i arborescents deixen de veure's.

Els canvis del patró tipus V es divideixen en Va, Vb i Vc. En el Va hi ha una dilatació dels BCIP que augmenten de densitat, semblen sòlids amb àrees buides, marrons i de forma diversa. En el tipus Vb el BCIP com a tal està destruït i presenta forma serpentejant, de cuc, de capgròs o de branca. Els microvasos estan dilatats i elongats. En el tipus Vc la superfície està recoberta de teixit necròtic, hi ha pocs BCIP que es presenten com taques marronoses de densitat desigual que es distribueixen de forma irregular per la superfície de la lesió (Figura 6).

Aquesta classificació es fa servir també per avaluar altres àrees amb mucosa fina tot i que a nivell de base de llengua i amígdales la riquesa de teixit limfoide a vegades impedeix l'exposició dels capil·lars superficials⁹⁶⁻⁹⁹.

Un cop descrits els patrons vasculars, Ni va relacionar-los amb els resultats obtinguts de les biòpsies veient que el patró I corresponia a la mucosa normal. El tipus II i III solien ser lesions no malignes. El tipus IV displàsia moderada i severa i finalment, el tipus V carcinoma⁹⁴.

De totes maneres, cap d'aquestes classificacions no ha estat acceptada o validada internacionalment.

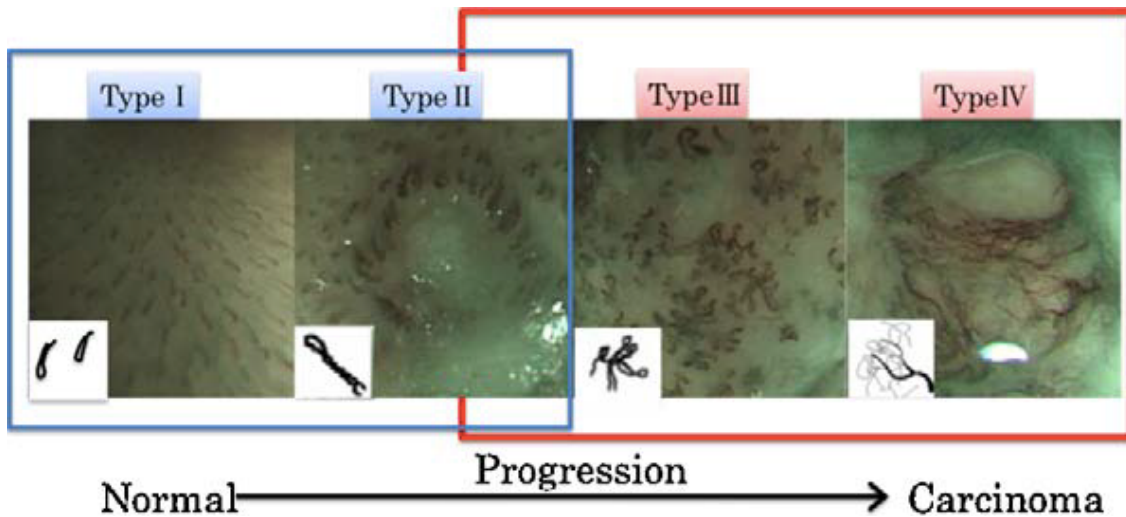


Figura 5. Patró vascular de cavitat oral proposat per Takano et al.⁹¹

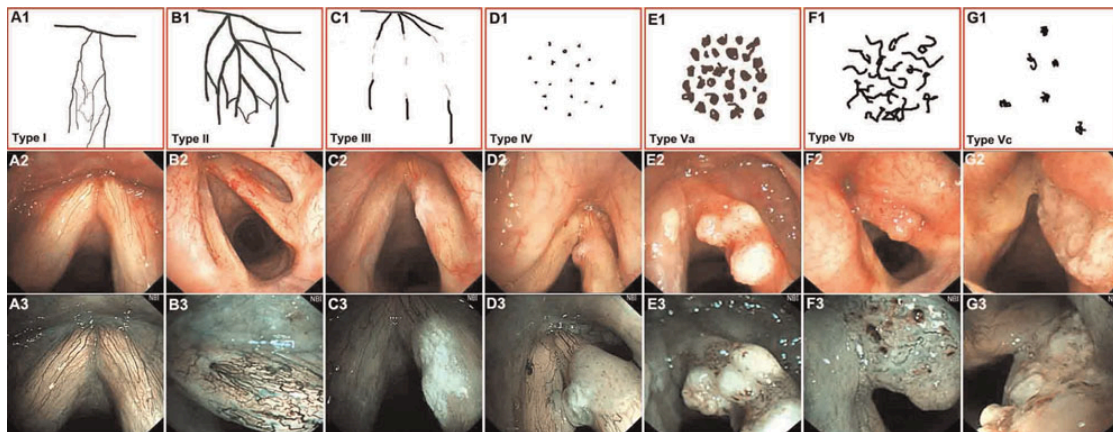


Figura 6. Patró vascular per lesions laríngies proposat per Ni et al.⁹⁴

3.5 Aplicació de la Llum de Banda Estreta en altres àrees

Aquesta tècnica d'imatge ha demostrat la seva eficàcia en detectar lesions displàsiques i neoplàsiques del tracte gastrointestinal, el tracte urogenital i a l'arbre bronquial.

A Àsia ha tingut lloc tant el desenvolupament tècnic com la majoria d'estudis. L'alt índex de neoplàsies gastrointestinals en països com Japó ha estimulat la recerca de tècniques de diagnòstic precoç en aquest àmbit. De fet, el LBE es va pensar inicialment com a tècnica diagnòstica de lesions malignes i premalignes colòniques i esofagòstriques. Els primers estudis tant de lesions esofàgiques com de lesions

colòniques es van publicar el 2004¹⁰⁰ i van demostrar que la LBE millorava la visualització de la vascularització. Més endavant altres estudis han demostrat que la LBE millorava la precisió diagnòstica respecte la LB i també respecte la cromografia^{101,102}.

La LBE també s'utilitza a urologia durant les cistoscòpies pel diagnòstic i seguiment de lesions de bufeta. El primer article es va publicar el 2007 per Bryan et al.¹⁰³ i des de llavors s'ha demostrat que l'addició de LBE a la LB aporta major sensibilitat en el diagnòstic precoç de carcinomes urotelials de bufeta que no envaeixen la musculatura¹⁰⁴.

A nivell toràcic el 2003 es va publicar el primer article que feia referència a l'ús de la LBE durant les broncoscòpies, no obstant no és una tècnica que hagi tingut molt impacte en aquest camp ja que són pocs els articles que s'han publicat a la literatura.

Capítol 4:

Validació d'una prova diagnòstica

Capítol 4: Validació d'una prova diagnòstica

A l'hora d'avaluar les característiques d'una prova diagnòstica s'ha de tenir en compte que ens ha de permetre arribar a un diagnòstic de manera acurada amb el mínim nombre de falsos negatius i falsos positius i que ha de ser fiable¹⁰⁶.

Per comprovar les característiques d'un nou test s'haurien de fer, en primer lloc, estudis de validació. Aquests estudis avaluen les qualitats del test pel que fa a validesa o exactitud, reproductibilitat i concordança.

La validesa és el grau en el qual una mesura representa el valor real. En els estudis de validació d'una prova els resultats es relacionen amb els obtinguts amb l'estàndard d'or, en el cas del LBE es relacionarien amb els obtinguts amb la biòpsia.

Els test també han de ser reproduïbles, és a dir, fiables i precisos, han de permetre obtenir el mateix resultat quan la mesura es repeteix sota les mateixes condicions, i han de ser concordants, és a dir, que permetin obtenir els mateixos resultats quan la mesura es repeteix en diferents condicions, per exemple entre dos observadors diferents¹⁰⁷.

Per estudiar la validesa o exactitud d'una prova s'ha d'analitzar tant la validesa interna com externa. Quan es parla de validesa interna es fa referència a la capacitat del test d'obtenir resultats exactes en la població d'estudi, sense dependre de la prevalença de la malaltia. Parlem llavors de sensibilitat i falsos negatius i d'especificitat i falsos positius. Quan parlem de validesa externa ens referim a la capacitat de generalitzar els resultats de la mostra a nivell poblacional, fa referència al valor predictiu positiu i al valor predictiu negatiu. Cal que un test tingui validesa interna per tenir validesa externa¹⁰⁸.

Per realitzar l'anàlisi de la concordança es fa servir el paràmetre estadístic que va descriure Cohen¹⁰⁹. En l'estadístic kappa (κ) el màxim és 1 quan la concordança és perfecta, 0 indica que no hi ha gens de concordança. Per avaluar el grau de

concordança els valors de κ s'interpreten d'acord amb Landis i Koch¹¹⁰. Ells defineixen $\kappa = 0$ com no concordança, $\kappa = 0,01-0,20$ com concordança lleu, $\kappa = 0,21-0,40$ com concordança justa, $\kappa = 0,41-0,60$ com concordança moderada, $\kappa = 0,61-0,80$ com concordança substancial, $\kappa = 0,81-0,99$ com concordança quasi perfecta i finalment $\kappa = 1$ com concordança perfecta.

Quan es tracta de variables qualitatives dicotòmiques es fa servir l'estadístic kappa de Cohen simple, per exemple quan s'ha d'indicar si hi ha o no tumor. Quan la variable qualitativa no és dicotòmica es fa servir l'estadística kappa ponderat, per exemple quan s'ha de determinar si és una lesió benigna, premaligna o maligna. Finalment, quan es tracta de variables quantitatives es fa servir el coeficient de correlació interclasse¹¹¹⁻¹¹³.

Un altre valor a tenir en compte quan es valida un tècnica és el rendiment diagnòstic que s'obté amb les corbes ROC i que ens permet en el cas d'una variable quantitativa continua definir quin és el punt de tall òptim per definir que una prova és positiva o negativa. L'àrea sota la corba ROC representa el grau de validesa global del test, a major àrea sota la corba, millor test¹¹⁴.

La gran majoria d'estudis publicats estan orientats a validar la precisió de la LBE, busquen corroborar si la combinació de la LB amb la LBE ens permet diagnosticar més precoçment, estalviar cirurgies i biòpsies, detectar recidives i, fins i tot, delimitar millor el marge quirúrgic. No obstant s'ha de tenir en compte que el diagnòstic endoscòpic amb LBE és explorador depenent i pot variar entre persones experimentades i persones novells o fins i tot amb un mateix. Per això, al tractar-se d'una tècnica subjectiva, cal validar també la variabilitat intra i interindividual tant en especialistes familiaritzats amb aquesta tècnica com en personal sense experiència prèvia en LBE.

En altres àrees hi ha estudis que ja han avaluat la reproductibilitat de la LBE¹¹⁵⁻¹¹⁷. En canvi, a nivell de cap o coll només hi ha un estudi que avaluï la consistència de la tècnica¹¹⁸.

Tenint en compte aquestes conceptes descrits, i el fet que fins ara no s'ha realitzat cap estudi que analitzi la LBE per lesions de cap i coll en global, en aquesta tesi doctoral s'intenta validar la tècnica de l'exploració endoscòpica de lesions de cap i coll amb LBE, tant pel que fa a la precisió diagnòstica com a la reproductibilitat. També s'analitzen els falsos positius i els falsos negatius.

2. Hipòtesi i objectius

Hipòtesi general

La tècnica endoscòpica LBE és una tècnica fiable que millora la capacitat diagnòstica i de seguiment de lesions malignes i premalignes de cap i coll.

Hipòtesi específiques

- La LBE és una eina diagnòstica que es pot fer servir a la consulta per millorar la precisió en el diagnòstic i seguiment de lesions malignes i premalignes.
- Un anàlisi acurat dels falsos negatius i dels falsos positius permet millorar l'ús de la prova.
- La LBE és una tècnica fiable i reproduïble tant en examinadors experimentats com en no experimentats.

Objectius principals

- Determinar el valor de la LBE en el diagnòstic i seguiment de lesions malignes i premalignes de cap i coll.
- Avaluar la consistència de la tècnica LBE mitjançant l'estudi de la concordança inter i intraobservador en la valoració de lesions de cap i coll.

Objectius secundaris

- Analitzar les característiques dels falsos negatius i dels falsos positius.
- Estudiar la corba d'aprenentatge de la tècnica.
- Analitzar el valor de la LBE com a factor pronòstic de degeneració maligne de lesions premalignes.

3. Treballs experimentals

Primer estudi:

Estudi de la utilitat de la llum de banda estreta en el diagnòstic i seguiment de lesions malignes i premalignes de cap i coll

Vilaseca I, Valls-Mateus M, **Nogués A**, Lehrer E, López-Chacón M, Avilés-Jurado FX, Blanch JL, Bernal-Sprekelsen M. *Usefulness of office examination with narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma and follow-up of premalignant lesions. Head Neck. 2017 Sep;39(9):1854-1863. Doi: 10.1002/hed.24849*


Received: 16 November 2016 | Revised: 12 February 2017 | Accepted: 25 April 2017

DOI: 10.1002/hed.24849

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

Usefulness of office examination with narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma and follow-up of premalignant lesions

Isabel Vilaseca, MD^{1,2,3}  | Meritxell Valls-Mateus, MD¹ | Anna Nogués, MD¹ |
 Eduardo Lehrer, MD⁴ | Mauricio López-Chacón, MD¹ |
 Francesc Xavier Avilés-Jurado, MD⁵ | José Luis Blanch, MD^{1,2} |
 Manuel Bernal-Sprekelsen, MD^{1,3}

¹Otorhinolaryngology Department, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

²ENT Surgical Oncology Section, Hospital Clinic, Barcelona, Spain

³University of Barcelona, Faculty of Medicine, Barcelona, Spain

⁴Otorhinolaryngology Department, Hospital del Esperit Sant, Santa Coloma de Gramanet, Spain

⁵Otorhinolaryngology Department, Hospital Joan XXIII, IISPV, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain

Correspondence

Isabel Vilaseca, Otorhinolaryngology Department, Hospital Clinic, Barcelona, Spain, c/Villarroeí, 170, 08036, Barcelona, Spain.,
 Email: ivila@clinic.ub.es

Funding information

This study was supported in part by ISCIII, PI15/02047.

Abstract

Background: The purpose of this study was to evaluate the value of narrow band imaging (NBI) examination in the office for the diagnosis and follow-up of upper airway premalignant and malignant lesions.

Methods: Four hundred eighty lesions were evaluated with white light endoscopy (WLE) and NBI before a biopsy/excision. Additionally, 151 premalignant lesions were followed up without proven biopsy. Carcinoma-free survival was calculated. The learning curve was analyzed.

Results: Overall, the accuracy improved from 74.1% with WLE to 88.9% with NBI, being relevant in all anatomic subsites. The accuracy of NBI increased significantly with increasing experience (area under the curve [AUC] >0.9). After a follow-up of 25 months, 14 of 151 lesions (9.3%) converted into carcinoma. The 4-year carcinoma-free survival rate was 86.4%. The 4-year carcinoma-free survival rate differed significantly between lesions classified as benign/mild dysplasia versus those presenting as moderate/severe dysplasia (88.9% vs 73.5%; $P = .018$).

Conclusion: The NBI provided a greater accuracy than WLE and showed promising usefulness for the follow-up of premalignant lesions.

KEYWORDS

narrow band imaging, head and neck cancer, endoscopy, premalignant lesions, dysplasia, chronic laryngitis, squamous cell carcinoma

1 | INTRODUCTION

Narrow band imaging (NBI) is an optic technique that improves the diagnostic sensitivity of head and neck carcinomas by using narrow band width filters. In the NBI mode, 2 bands of light in the blue and green spectrum at 415 and 540 nm are selected. Blue light (centered at 415 nm) corresponds to the peak absorption spectrum of hemoglobin, highlighting the capillary bed, and allowing for detailed

observation of the intrapapillary capillary loop pattern.^{1–3} The vascular pattern in the superficial mucosa appears as brown areas. Thicker blood vessels in the submucosa are enhanced by green light (centered at 540 nm), and appear cyan under endoscopic view.⁴

During the process of carcinogenesis, early angiogenesis occurs, changing the architecture of microvessels. An NBI may be helpful in depicting superficial vessels and identifying angiogenic patterns that could indicate the presence of a

neoproliferative process. It has been described that it can be used to differentiate these lesions from normal mucosa.⁵⁻⁷ Areas with carcinoma are characterized by well-demarcated brownish areas with scattered spots, whereas inflammatory lesions have ill-demarcated borders.^{8,9} Thus, NBI may act as a “biologic endoscopy” as it has been designed to detect vascular changes, such as the caliber, tortuosity, and degree of dilation of intrapapillary capillary loops.^{5,7}

The NBI is increasingly being used in otolaryngology as a convenient screening method for detection of upper airway lesions, but also for the follow-up of patients after treatment for head and neck tumors, when early detection of possible recurrence is crucial. During examination, NBI may be a helpful tool for targeting biopsies, determining the tumor spread, or to obtain superficially safe resection margins.¹⁰ Moreover, the use of magnifying high-definition television (HDTV) endoscopy in combination with NBI dramatically improves the sensitivity and specificity of endoscopic examination.¹⁰

Most of the studies with NBI report higher sensitivity and negative predictive values compared to white light endoscopy (WLE) suggesting that NBI is of great value for initial cancer diagnosis. However, in a recent review evaluating the usefulness of NBI in head and neck squamous cell carcinoma (SCC), a meta-analysis could not be performed for most of the data groups because of the high heterogeneity between selected studies. According to the authors, differences in examination protocols, classification of the lesions as a true-positive, or differences in study samples were too relevant to adequately calculate accuracy.¹¹ Moreover, in most studies, no information about the long-term follow-up of the patients had been included.

In some of the studies selected for the review, the angiogenic pattern was evaluated in the operating room with the patient under general anesthesia. In such scenario, collaboration of the patient is never an issue, secretions can be completely cleaned, and upper airway examination can be performed with different endoscopes and extended as far as needed. On the contrary, when the examination is performed in the office, difficulties secondary to gag reflex, poor collaboration of the patient or presence of secretions are to be expected and may perhaps reduce the value of NBI.

The purpose of our study was to evaluate the value of WLE plus NBI examination as a diagnostic tool to be used in the office and to compare it with the use of WLE alone. Additionally, the importance of a learning curve of the NBI technique was also evaluated.

2 | MATERIALS AND METHODS

The present study was approved by the local ethics committee. It was conducted in the ear, nose, and throat (ENT)-

endoscopy area of a tertiary referral center. Patients are referred to that area by another otolaryngologist and usually present lesions suggestive of chronic laryngitis, oral ulcers, or suspected upper aerodigestive tract neoplasms. After careful examination of the patient, a decision is made in terms of office-based biopsy/excision, schedule of a surgical procedure while the patient is under general anesthesia, and discharge or close follow-up of the lesion. Patients with known benign lesions, such as laryngeal polyps, cysts, Reinke's edema, or vocal nodules, are not evaluated in the ENT-endoscopy area, and treatment is planned according to our standard protocols.

2.1 | Patients

All consecutive patients evaluated in the ENT-endoscopic area from June 2009 to September 2016 with lesions of the oral cavity, oropharynx, rhinopharynx, larynx, and hypopharynx were initially included in the study. After the examination, those patients who could not be adequately evaluated because of poor collaboration, severe gag reflex, presence of secretions, or superficial bleeding were excluded. For the final analysis, patients presenting submucosal lesions or malignancies different from SCC were also excluded.

2.2 | Endoscopic evaluation

Patients were examined while in the sitting position. Topical anesthesia with xylometazoline spray 10% was used to prevent gag reflex and nausea. Patients were examined first with WLE followed by NBI. The examination of the upper airway was carried out with a flexible fiberoendoscope (Olympus ENF-VQ; Olympus Medical Systems, Tokyo, Japan) and the light source processor Olympus Evis EXERA II optical system with CLV-180 (Olympus Medical Systems) by an ENT with more than 10 years' experience in head and neck cancer. Both WLE and NBI examinations were recorded and revised afterward with a senior staff member. The lesions were classified according to previously reported vascular patterns (see below).^{8,12} An SPSS database was created for the present study.

In those cases in which a biopsy was needed or a small lesion had to be removed in the office, it was performed at the same visit. Nasal cottonoids soaked with lidocaine and epinephrine were applied. Then, local lidocaine was administered into the larynx through the working channel of a fiberoendoscope. Tissue samples were obtained with small biopsy forceps (Olympus FB-21C-1; Olympus Medical Systems) introduced either through the working channel or transorally with a curved forceps under endoscopic view. Histologic samples were sent immediately to the pathology department where an experienced head and neck pathologist evaluated

the samples. Pathologists were blinded to the nasal endoscopy (WLE/NBI) results.

2.3 | Classification of the lesions

Lesions evaluated under WLE were classified as benign, uncertain, or clearly malignant, according to the subjective impression of the examiner. Under NBI, pharyngeal and laryngeal lesions were categorized following the Ni et al¹² classification in 3 groups: (1) nonmalignant (pattern types I, II, and III); (2) suggestive of moderate-severe dysplasia (pattern type IV); or (3) suggestive of malignancy (pattern types Va, Vb, and Vc). For the oral cavity lesions, we used the vascular patterns reported by Takano et al⁸ in which normal intrapapillary capillary loop are seen as a comet-like shape that become larger and irregular as carcinogenesis progresses. Type I pattern was considered negative, type II was considered mild dysplasia, type III was evaluated as moderate-severe dysplasia, and type IV was considered positive for malignancy.⁸

For all those lesions in which a biopsy/excision was not required or those in which the pathology was reported negative or dysplastic but the lesion persisted, a follow-up of the patient was established and the percentage of patients who developed a carcinoma was calculated.

2.4 | Statistical analysis

For all the lesions that were excised/biopsied, the sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and accuracy were calculated for both WLE and NBI. We considered the lesions positive for malignancy as those displaying NBI patterns of moderate and severe dysplasia as well as carcinomas and carcinoma in situ. Under white light, we considered the lesions positive as those lesions classified as uncertain/suspicious or suggestive of malignancy. Positive and negative likelihood ratios were also calculated.

Kaplan-Meier curves were performed to calculate the rate of carcinoma-free survival for those lesions that were not biopsied and a close watchful follow-up was established instead. Differences between groups according to initial vascular patterns or to previous radiotherapy (RT) were established with the log-rank test.

We also evaluated the importance of the learning curve with WLE and NBI by dividing the sample into 2 consecutive groups according to the examiner's experience. Group 1 comprised the first half of patients evaluated, whereas group 2 comprised the second half of patients examined. Accuracy was assessed for both groups under WLE and NBI. The area under the curve (AUC) was also calculated to test the performance of the measures.

A *P* value of < .05 was considered statistically significant, whereas *P* values < .01 were considered as highly significant.

3 | RESULTS

From June 2009 to September 2016, 551 consecutive patients with upper aerodigestive premalignant or suspicious lesions were evaluated in our endoscopy and biopsy facility. Twenty-five patients (4.7%) were excluded because of poor visualization of the lesion (bleeding or intense gag reflex). From the remaining 526 patients, we also excluded 21 cases that did not correspond to SCC after pathology evaluation (lymphoma, inflammatory sarcoma, and neuroendocrine carcinoma). The final sample comprised 505 patients, 375 men, and 130 women, with a mean age of 61.1 ± 13.3 years (range 15-96 years). Sixty-four patients presented more than one suspicious subsite to be examined. The final number of lesions evaluated with WLE and NBI was 587 (Figure 1).

In 480 lesions, a biopsy/excision was performed either in the office or in the operating theater. In the pathology assessment, 231 lesions (39.4%) were confirmed to be carcinoma, 28 (4.8%) were moderate-severe dysplasia, 13 (2.2%) were mild dysplasia, and 208 (35.4%) were benign. The sensitivity, specificity, PPV, and NPV of WLE and NBI, respectively, are shown in Table 1.

In general, WLE and NBI presented a similar sensitivity to detect premalignant or malignant lesions of the upper aerodigestive tract. However, the specificity, NPV, and PPV were increased with the NBI examination. Overall, the accuracy was improved from 74.1% with WLE to 88.9% with NBI, being the improvement relevant in all subsites (see Figure 2). The positive likelihood ratios for NBI and WLE were 6.89 (confidence interval [CI] 4.80-9.69) and 2.42 (CI 2.04-2.88), respectively, whereas the negative likelihood ratios were 0.11 (CI 0.08-0.16) and 0.13 (CI 0.08-0.2), respectively.

In 107 lesions, no biopsy was performed, and the patients were closely followed up. Additionally, 44 biopsied lesions persisted in form of diffuse chronic leukoplakia and were also followed with NBI. After a mean follow-up of 25.2 ± 18.4 months, 14 of 151 lesions (9.3%) converted into carcinoma. The 4-year carcinoma-free survival rate was 86.4%. The 4-year carcinoma-free survival rate differed significantly between those lesions classified as benign or mild dysplasia under NBI versus those presenting as moderate or severe dysplasia vascular patterns (88.9% vs 73.5%; *P* = .018; see Figure 3). The carcinoma-free survival rate also differed significantly between those patients who had received previous RT compared to those who had not (46.5% vs 90.3%; *P* < .001; see Figure 4).

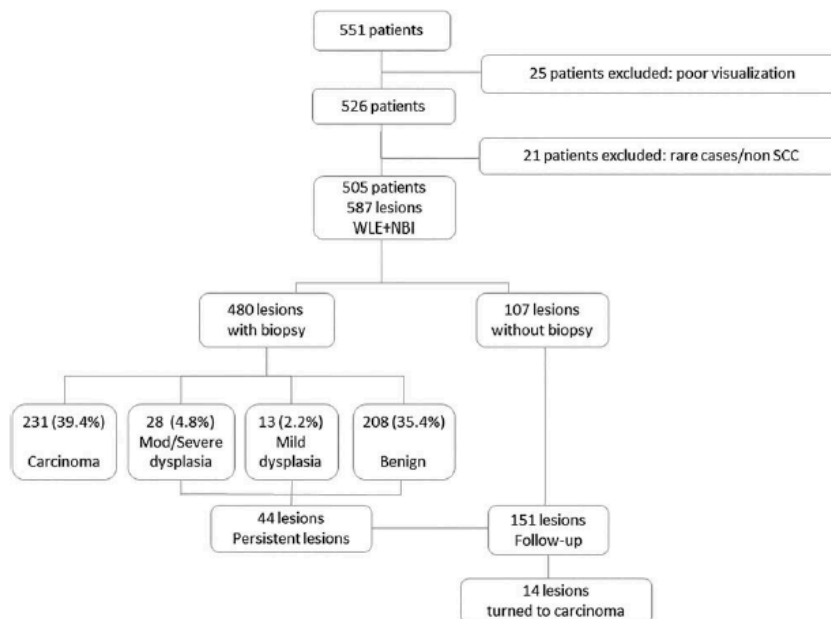


FIGURE 1 Algorithm of patients evaluated

TABLE 1 Sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of white light endoscopy and narrow band imaging

	Sensitivity % (95% CI)	Specificity % (95% CI)	PPV % (95% CI)	NPV % (95% CI)
Global (n = 480)				
WLE	92 (89-96)	62 (56-68)	74 (69-79)	87 (82-92)
NBI	90 (87-94)	87 (82-91)	89 (85-93)	88 (84-93)
Larynx (n = 205)				
WLE	90 (85-95)	49 (38-59)	71 (64-78)	78 (67-89)
NBI	90 (85-95)	78 (69-87)	85 (79-91)	85 (77-93)
Hypopharynx (n = 47)				
WLE	95 (88-102)	86 (60-112)	97 (92-102)	75 (45-105)
NBI	98 (93-102)	86 (60-112)	98 (93-102)	86 (60-112)
Oral cavity (n = 83)				
WLE	89 (79-99)	67 (54-81)	69 (56-82)	89 (78-99)
NBI	81 (68-94)	91 (83-99)	88 (77-99)	86 (76-96)
Oropharynx (n = 106)				
WLE	98 (94-102)	69 (57-81)	75 (64-85)	97 (92-102)
NBI	96 (91-101)	93 (86-100)	92 (85-100)	96 (91-101)
Rhinopharynx (n = 39)				
WLE	92 (76-107)	74 (58-91)	61 (39-84)	95 (86-104)
NBI	75 (51-100)	96 (89-103)	90 (71-109)	90 (79-101)

Abbreviations: CI, confidence interval; NBI, narrow band imaging; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value; WLE, white light endoscopy. The NBI vascular patterns suggestive of negative/mild dysplasia were considered negative, whereas NBI vascular patterns suggestive of moderate-severe dysplasia or carcinoma were considered positive.

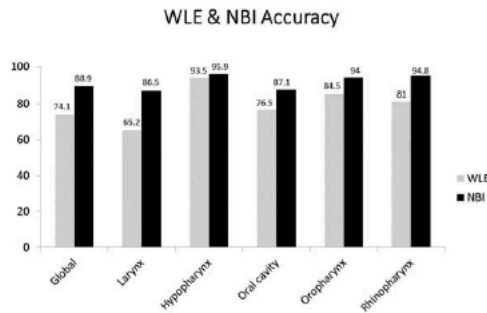


FIGURE 2 Accuracy of white light endoscopy (WLE) and narrow band imaging (NBI) according to different subsites of the aerodigestive tract

From the 14 cases that became malignant during the follow-up period, 7 were carcinomas in situ or emerging infiltrating carcinomas at the time of diagnosis and could be easily resected transorally. Two patients previously treated with transoral laser microsurgery presented with submucosal relapses, 2 more cases corresponded to adult recurrent papillomatosis that degenerated with time, and, finally, 2 cases that had initially been diagnosed as radionecrotic ulcers, presented an extensive local recurrence a few months later. Overall, 12 of 14 patients (all except those with relapses that occurred after chemoradiation) could be treated with curative intent after the diagnosis. Lesions with negative follow-up were mainly represented by leukoplakias, chronic laryngitis, granulomas, and laryngeal crusting (see Figure 5).

Regarding the learning curve, the accuracy of WLE in groups 1 and 2 was 74.4% and 73.8%, respectively. In contrast, the accuracy of NBI increased in the group with longer

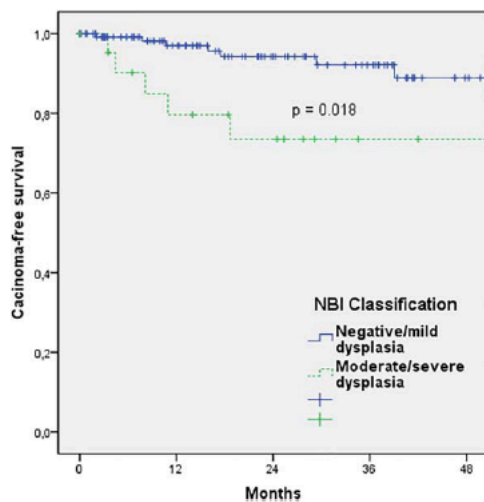


FIGURE 3 Carcinoma-free survival rate according to narrow band imaging (NBI) classification at initial evaluation. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

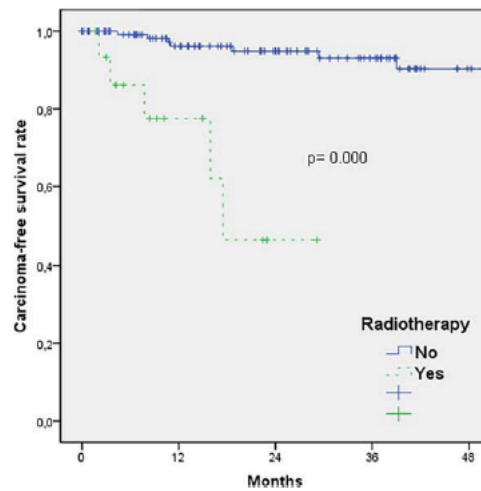


FIGURE 4 Carcinoma-free survival according to previous radiotherapy treatment. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

learning curve (85.7% vs 92.2%, respectively). The AUC for the 4 measures is shown in Table 2. Under WLE, the AUC was >0.7 in both groups, whereas under NBI it was >0.8 in the initial group and >0.9 in the group assessed with more expertise.

To evaluate if there was a learning curve plateau, we subdivided the sample in groups of 100 patients according to the examiner's experience. The results showed that after approximately 200 cases, a plateau in accuracy was obtained for NBI (see Figure 6).

4 | DISCUSSION

The results of our study show that office-based examination with NBI presents better accuracy than WLE to evaluate premalignant and malignant lesions of the head and neck. According to our results, a lesion with a positive NBI is 6.89 times more likely to develop an SCC than those with a negative NBI, whereas under WLE this chance is only 2.43. Our results are in agreement with previous reports in the literature that have described higher sensitivity and specificity of NBI compared to WLE for the identification of primary tumors. In our setting, accuracy with NBI was 10% higher than with WLE.

Although examination with NBI improved our outcomes, our results were not as good as in other studies that found NBI accuracy up to 97%.¹³ The discrepancy may be related to differences in protocols and methodology. In our study, only patients previously evaluated by an ENT presenting with suspicious lesions of the upper airways were included. Moreover, all patients were evaluated at the office, with the patient under local anesthesia, whereas, in most series, the

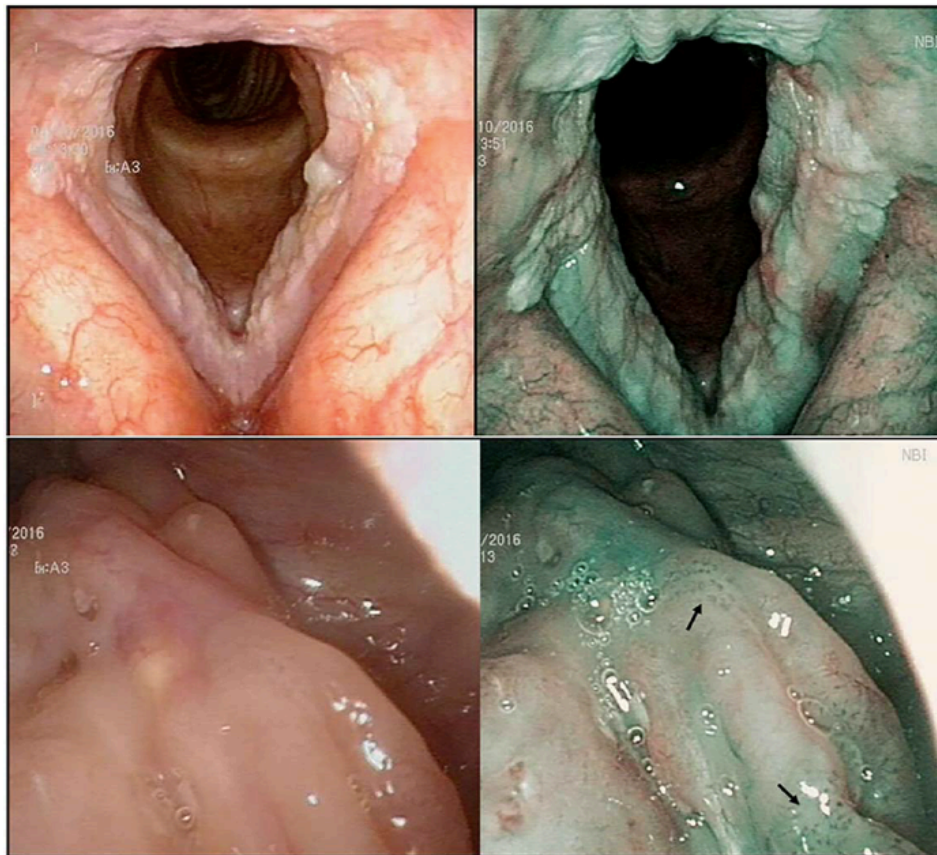


FIGURE 5 Images of a chronic laryngitis (superior) and squamous cell carcinoma of the tongue base (inferior) under white light endoscopy (WLE; left) and narrow band imaging (NBI; right). The superior images correspond to an uncertain laryngeal lesion under white light, which is classified as mild dysplasia (Ni type III) under NBI. The inferior images show a negative examination of the tongue base under white light that presents a positive vascular pattern under NBI (black arrows). [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

NBI pattern had been assessed in the operating room, with the patient under general anesthesia and with the use of rigid endoscopes that allow the evaluation of the lesions in close proximity.

Ni et al¹² and Piazza et al¹⁴ evaluated the value of NBI and WLE with a similar study design to ours, but only in

suspicious lesions of the larynx. Their results in sensitivity, specificity, and accuracy were similar to ours. On the contrary, Kraft et al¹³ included 205 patients scheduled for micro-laryngoscopy and studied the lesions with both NBI and WLE, including also a considerable number of benign

TABLE 2 Evaluation of the learning curve for white light endoscopy and narrow band imaging

	Sensitivity (%)	Specificity (%)	AUC [95% CI]
WLE group 1	88 (82-94)	64 (57-72)	0.76 [0.706-0.818]
WLE group 2	90 (90-98)	55 (47-63)	0.74 [0.685-0.801]
NBI group 1	84 (77-90)	87 (82-92)	0.85 [0.807-0.902]
NBI group 2	92 (88-97)	92 (88-96)	0.92 [0.886-0.957]

Abbreviations: AUC, area under the curve; CI, confidence interval; NBI, narrow band imaging; WLE, white light endoscopy.

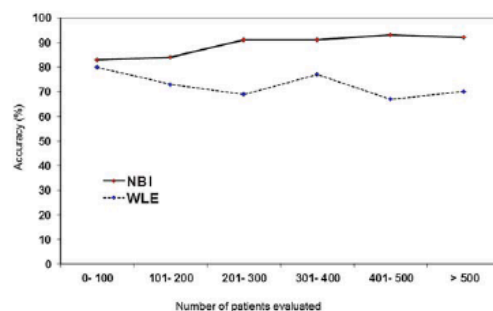


FIGURE 6 Accuracy of narrow band imaging (NBI) and white light endoscopy (WLE) according to the examiner's experience. [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

lesions. Their results showed excellent sensitivity (97% vs 79%), specificity (96% vs 95%), and accuracy (97% vs 90%), and the authors suggested that NBI was also useful for benign lesions. In other series, NBI has also been used in all types of laryngeal lesions, including well-known benign lesions, such as polyps, cysts, and edemas, being the percentage of positive or uncertain lesions lower than in our sample.¹⁵

Apart of the type of the lesions, there are other aspects that make studies difficult to compare. For instance, no classification of the vascular patterns of neoplastic and nonneoplastic lesions has been accepted so far internationally. Thus, even if the reported values of sensitivity and specificity are very high, they are based on nonstandardized evaluations and, therefore, are not comparable.¹⁶ In addition, depending on the study, the different levels of dysplasia are classified as "positive" or "negative" and there is a lack of consistency as to what constitutes NBI positive results.¹¹

The vascular patterns of classifications used in our study were published in 2010 and 2011, and have not yet been fully validated until recently. Bertino et al¹⁶ studied 248 patients with pharyngolaryngeal lesions and classified them according to NBI findings in the 5 grades, as proposed by Ni et al.¹² Sensitivity, specificity, accuracy, PPV, and NPV were 97.4%, 84.6%, 92.7%, 91.6%, and 95.1%, respectively. Ninety-eight percent of histologically malignant lesions corresponded to endoscopic pattern type V, whereas 84.8% of the nonneoplastic lesions corresponded to a type I to IV pattern. The authors defended that this correspondence between nonneoplastic lesions/endoscopic patterns I to IV and neoplastic lesions/endoscopic pattern type V confirmed the validity of the Ni classification.¹⁶

Piazza et al¹⁷ also reported that NBI obtained its best diagnostic accuracy when coupled with an HDTV and camera. During intraoperative evaluation with HDTV-NBI, the rate of diagnosis significantly improved from 20.8% (without HDTV) to 42.7%. The same study reported the role (value) of NBI in the postoperative surveillance for early detection of recurrences and metachronous tumors, with an overall gain of 9.2% when compared to standard WLE. Zabrodsky et al¹⁸ studied the results of transnasal endoscopy with NBI in the outpatient office for the follow-up of 66 patients with laryngeal or hypopharyngeal carcinomas primarily treated with RT or chemoradiotherapy. Seventeen patients (25.7%) presented a tumor relapse. They compared the sensitivity (88% vs 100%), specificity (92% vs 92%), PPV (76% vs 79%), NPV (96% vs 100%), and accuracy (91% vs 94%) of the outpatient NBI endoscopy with intraoperative WLE plus NBI magnifying endoscopy. It became clear that magnifying endoscopy combined with HDTV adds a significant value to the examination; but, unfortunately, the equipment is rarely available in the outpatient facility.

A recent review pointed out the excellent NPVs of NBI, providing good evidence that patients with a negative screen with WLE and NBI had a very high probability of not having head and neck cancers.¹¹ According to the authors, this could be of great interest in clinical practice supporting a noninterventional, watchful waiting policy in patients with a nonsuspicious examination, avoiding unnecessary biopsies or even surgeries.

In the daily practice, it is not ethically feasible to perform biopsies in patients with nonsuspicious NBI examination, a diagnostic step that is crucial to establish the specificity of the technique. Watanabe et al¹⁹ was the first to establish a clinical protocol for calculating the specificity of NBI. In their series, all patients judged as "nonsuspicious" who did not develop SCC during a mean follow-up of 13 months were considered as true-negatives even though they did not receive any histological confirmation.

We followed the same concept in our study, but extended the follow-up to a larger period of time in order to evaluate the associate risk of carcinoma conversion over time. Thus, we were able to estimate the rate of carcinoma-free survival at 4 years in a cohort of patients who were just watchfully followed up without biopsy, according to the initial NBI pattern. The results obtained in our sample indicated that there was a remarkable risk of degeneration over time, especially in the group of patients presenting with a pattern of moderate dysplasia or in those with ulcerative lesions that had received previous (chemo)radiotherapy. This estimated risk was of 11.1% for lesions with vascular pattern suggestive of negative/mild dysplasia and 26.5% for lesions with vascular pattern suggestive of moderate/severe dysplasia, which represents approximately the same risk classically established according to pathology criteria of mild dysplasia and moderate-severe dysplasia.²⁰ From this point of view, NBI seems to replace the prognosis of chronic untreated premalignant lesions without the need of a proven biopsy.

An exhaustive analysis of the cases that converted to carcinoma indicated that there are critical situations in which the usefulness of NBI is less evident. Patients with previously treated malignant lesions at risk of a submucosal relapse are impossible to be fully evaluated with NBI, as NBI gives information of the superficial features only. In addition, previous treatments with chemoradiotherapy may present vascular patterns difficult to interpret and to distinguish from inflammation, and no reference patterns have been described for this subgroup so far. In the case of adult papillomatosis, the patterns are so similar to malignancies that examination findings are confusing for the otolaryngologist. On the contrary, changes in superficial dysplastic lesions can be easily monitored. The finding of changes in color, vascular pattern, or regularity of the mucosa may be easily identified during office-based endoscopic NBI

examinations providing, in most patients, an early diagnosis that will allow a minimally invasive treatment without jeopardizing the patient's function and survival.

The supposed ideal subsites for NBI examination are those with a thin mucosa, such as the larynx and hypopharynx. The simplicity of applying this technique by just pressing a button has led to its extended use also in oropharyngeal and oral cavity lesions with similar diagnostic results. A review on the utility of the NBI in detection of oral cavity and oropharyngeal cancers⁴ showed that even with the difficulties secondary to a thicker epithelium,^{21,22} NBI was safe, fast, and well-tolerated.²³ The main limiting factor was the learning curve within the first 6 months of using the NBI system.

There is building evidence suggesting the beneficial use of NBI over WLE alone for detecting mucosal lesions in the oral cavity and oropharynx. Piazza et al²⁴ have recently published a prospective study about the diagnostic utility of NBI as an "optical biopsy" tool for oral cavity and oropharyngeal leukoplakia and erythroplakia. They showed that NBI significantly reduced the rates of false-positive results and false-negative results in the diagnosis of oral cavity and oropharyngeal SCC compared with conventional oral examination and WLE.²⁴ Our findings do confirm this. By contrast, Li et al²² considered that NBI is not an optimal tool to examine oral or oropharyngeal mucosa. In our sample, the specificity was clearly improved with NBI and the accuracy also was increased over 10% in the oral cavity, oropharynx, and rhinopharynx when compared to WLE. This reflects that thicker epitheliums and keratinization do not hamper the penetration of blue and green wavelengths and, thus, intrapapillary capillary loop patterns remains clearly visible.²⁴ Moreover, many times the lesions appear as an ulcer in the oral cavity, and the margins can clearly be assessed.

Although NBI has proved to be an excellent diagnostic tool, we also encountered some drawbacks. Bleeding during endoscope insertion or after the first biopsy may affect the assessment of intrapapillary capillary loop features because hemoglobin absorbs blue light, and then NBI displays blood in black color hiding the mucosal vascular pattern. Besides, in order to get a good view of the mucosa, the endoscope has to be very close to the lesion, which can easily trigger the gag reflex. Overall, office evaluation with NBI in our sample could not be performed in <5% of the patients.

There are also some scenarios in which NBI can be less useful and further investigation is needed. This is the case for some submucosal tumors, lymphomas, or other carcinoma subtypes, such as neuroendocrine tumors, in which, according to our experience, atypical vascular patterns are not seen on a regular basis. A profound knowledge of these limitations of the technique is important because, in these cases, a biopsy is mandatory and should not be avoided.

A relevant issue for most authors is the learning curve of NBI technique. This increases the number of false-positive results, with subsequently unnecessary biopsies. According to Piazza et al,²⁴ this seems to be mainly related to acute inflammation and chronic post-RT changes. Piazza et al²⁵ reported that among 58 positive NBI findings, they found 8 false-positive results (13.7%), 70% of which had been diagnosed in the first 3 months of their learning curve.

To evaluate the importance of the learning curve, we analyzed the outcomes of a group of patients evaluated in the first period of the study (in which the classifications were poorly extended) and compared it with the patients evaluated in the second period of the study. We found that with increasing experience we were able to improve NBI accuracy in 7%, being the AUC of NBI for the second group of patients was over 0.9, which represents an excellent diagnostic accuracy.²⁶ We also could find that after approximately 200 patients a plateau in improvement was established (Figure 6). However, we have to consider that the present study started in an early period of the implementation of the technique, with almost no guidelines to interpret the images. The subsequent publication of different patterns in the larynx and in the oral cavity helped to standardize the findings, facilitating the classification of the lesions. It is our opinion that following these standards, the learning curve might be shorter for new users.

Among the limitations of our study are the retrospective analysis of the data, which may be somewhat biased and may reflect in part the increasing experience of the examiner. Nevertheless, the variables were prospectively collected from the beginning and updated weekly in our database. Another limitation is the fact that NBI examination was performed systematically after WLE, thus reflecting the findings of WLE + NBI and not just NBI alone. Although a randomized examination would have been desirable to compare both systems, in clinical practice it is common to initially use WLE and after an exhaustive evaluation to combine both WLE and NBI in different strategies to focus specifically on different subsites of the upper aerodigestive tract.

One more limitation could be the way of how dysplastic lesions were graded. Currently, the 2005 World Health Organization, Squamous Intraepithelial Neoplasia, and the Ljubljana Classification of Squamous Intraepithelial Lesions systems are the classifications most widely used and are considered the most relevant. In our center, the World Health Organization classification is used. A recent study has reported that the biggest interobserver discrepancy with that classification is usually between moderate and severe dysplasia,²⁷ which of course is a limitation for all the studies dealing with dysplastic lesions. However, we feel that, in our case, this limitation was small. On one side, the samples were evaluated by an experienced head and neck pathologist,

and on the other side, which is more important, both conditions (moderate and severe dysplasia) were included in the same group, reducing the possibility of error.

One of the strengths of the study is the large number of lesions evaluated, which, to the best of our knowledge, is one of the largest in the literature, together with the inclusion of different subsites of the upper aerodigestive tract. Additionally, the endoscopic evaluation was always performed by the same examiner (author I.V.), and the pathologist was blinded to the endoscopic findings. Moreover, the evaluation was performed at the office with the patient under local anesthesia, which is the area where a supposed screening or follow-up of the patients should be performed, and only little less than 5% of the examinations were considered inadequate.

To our knowledge, this is also the first study that estimates the risk of malignant transformation of suspicious lesions over time according to NBI patterns in patients who were not submitted to surgery or to an office-based biopsy. There seems to be a parallelism in prognosis between the vascular patterns and the risk of carcinomatous transformation according to classical histological data.²⁰ From this point of view, our findings should allow a more precise counseling of the patient in terms of risks and benefits of performing repeated surgeries for those chronic lesions with mild-moderate dysplasia.

5 | CONCLUSION

An NBI examination is useful to improve clinicians' ability for rapid detection of neoplastic and preneoplastic lesions in the office for different subsites of the upper airways. The high NPV certifies NBI to be an excellent tool for the follow-up in certain cases of premalignant lesions with mild dysplasia, thus avoiding unnecessary biopsies or surgeries. An increased learning curve is necessary in order to reduce the number of false-positive results and false-negative results.

REFERENCES

- [1] Gono K, Obi T, Yamaguchi M, et al. Appearance of enhanced tissue features in narrow-band endoscopic imaging. *J Biomed Opt.* 2004;9(3):568–577.
- [2] Yoshida T, Inoue H, Usui S, Satodate H, Fukami N, Kudo SE. Narrow-band imaging system with magnifying endoscopy for superficial esophageal lesions. *Gastrointest Endosc.* 2004;59(2):288–295.
- [3] Watanabe A, Taniguchi M, Tsujie H, Hosokawa M, Fujita M, Sasaki S. The value of narrow band imaging for early detection of laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266(7):1017–1023.
- [4] Vu AN, Farah CS. Efficacy of narrow band imaging for detection and surveillance of potentially malignant and malignant lesions in the oral cavity and oropharynx: a systematic review. *Oral Oncol.* 2014;50(5):413–420.
- [5] Fujii S, Yamazaki M, Muto M, Ochiai A. Microvascular irregularities are associated with composition of squamous epithelial lesions and correlate with subepithelial invasion of superficial-type pharyngeal squamous cell carcinoma. *Histopathology.* 2010;56(4):510–522.
- [6] Muto M, Katada C, Sano Y, Yoshida S. Narrow band imaging: a new diagnostic approach to visualize angiogenesis in superficial neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3(7 Suppl 1):S16–S20.
- [7] Inoue H, Kumagai Y, Yoshida T, Kawano T, Endo M, Iwai T. High-magnification endoscopic diagnosis of the superficial esophageal cancer. *Digest Endosc.* 2000;12(s1):32–35.
- [8] Takano JH, Yakushiji T, Kamiyama I, et al. Detecting early oral cancer: narrowband imaging system observation of the oral mucosa microvasculature. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010;39(3):208–213.
- [9] Tan NC, Herd MK, Brennan PA, Puxeddu R. The role of narrow band imaging in early detection of head and neck cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2012;50(2):132–136.
- [10] Piazza C, Del Bon F, Peretti G, Nicolai P. Narrow band imaging in endoscopic evaluation of the larynx. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012;20(6):472–476.
- [11] Cosway B, Drinnan M, Paleri V. Narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review. *Head Neck.* 2016;38 Suppl 1:E2358–E2567.
- [12] Ni XG, He S, Xu ZG, et al. Endoscopic diagnosis of laryngeal cancer and precancerous lesions by narrow band imaging. *J Laryngol Otol.* 2011;125(3):288–296.
- [13] Kraft M, Fostiropoulos K, Gürtler N, Arnoux A, Davaris N, Arens C. Value of narrow band imaging in the early diagnosis of laryngeal cancer. *Head Neck.* 2016;38(1):15–20.
- [14] Piazza C, Cocco D, De Benedetto L, Del Bon F, Nicolai P, Peretti G. Narrow band imaging and high definition television in the assessment of laryngeal cancer: a prospective study on 279 patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2010;267(3):409–414.
- [15] Qi X, Yu D, Zhao X, et al. Clinical experiences of NBI laryngoscope in diagnosis of laryngeal lesions. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(10):3305–3312.
- [16] Bertino G, Cacciola S, Fernandes WB Jr, et al. 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.* 2015;37(2):215–222.
- [17] Piazza C, Cocco D, Del Bon F, Mangili S, Nicolai P, Peretti G. Narrow band imaging and high definition television in the endoscopic evaluation of upper aero-digestive tract cancer. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2011;31(2):70–75.
- [18] Zabrodsky M, Lukes P, Lukesova E, Boucek J, Plzak J. The role of narrow band imaging in the detection of recurrent laryngeal and hypopharyngeal cancer after curative radiotherapy. *Biomed Res Int.* 2014;2014:175398.
- [19] Watanabe A, Taniguchi M, Tsujie H, Hosokawa M, Fujita M, Sasaki S. The value of narrow band imaging endoscope for early head and neck cancers. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;138(4):446–451.
- [20] Gale N, Michaels L, Luzar B, et al. Current review on squamous intraepithelial lesions of the larynx. *Histopathology.* 2009;54(6):639–656.

- [21] Yang SW, Lee YS, Chang LC, Hwang CC, Luo CM, Chen TA. Use of endoscopy with narrow-band imaging system in evaluating oral leukoplakia. *Head Neck*. 2012;34(7):1015–1022.
- [22] Lin YC, Wang WH, Lee KF, Tsai WC, Weng HH. Value of narrow band imaging endoscopy in early mucosal head and neck cancer. *Head Neck*. 2012;34(11):1574–1579.
- [23] Yang SW, Lee YS, Chang LC, Hwang CC, Chen TA. Use of endoscopy with narrow-band imaging system in detecting squamous cell carcinoma in oral chronic non-healing ulcers. *Clin Oral Investig*. 2014;18(3):949–959.
- [24] Piazza C, Del Bon F, Paderno A, et al. The diagnostic value of narrow band imaging in different oral and oropharyngeal subsites. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(10):3347–3353.
- [25] Piazza C, Cocco D, De Benedetto L, Bon FD, Nicolai P, Peretti G. Role of narrow-band imaging and high-definition television in the surveillance of head and neck squamous cell cancer after chemo- and/or radiotherapy. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2010; 267(9):1423–1428.
- [26] Obuchowski NA, Lieber ML, Wians FH Jr. ROC curves in clinical chemistry: uses, misuses, and possible solutions. *Clin Chem*. 2004;50(7):1118–1125.
- [27] Fleskens SA, Bergshoeff VE, Voogd AC, et al. Interobserver variability of laryngeal mucosal premalignant lesions: a histopathological evaluation. *Mod Pathol*. 2011;24(7):892–898.

How to cite this article: Vilaseca I, Valls-Mateus M, Nogués A, et al. Usefulness of office examination with narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma and follow-up of premalignant lesions. *Head & Neck*. 2017;00:1–10. <https://doi.org/10.1002/hed.24849>

Segon estudi:

Anàlisi dels falsos negatius i els falsos positius de la tècnica





Valls-Mateus M, **Nogués-Sabaté A**, Blanch JL, Bernal-Sprekelsen M, Avilés-Jurado FX, Vilaseca I. *Narrow band imaging for head and neck malignancies: Lessons learned from mistakes. Head Neck. 2018 Jun;40(6):1164-1173. Doi: 10.1002/hed.25*

Received: 27 April 2017 | Revised: 17 September 2017 | Accepted: 20 December 2017
 DOI: 10.1002/hed.25088

ORIGINAL ARTICLE

WILEY

Narrow band imaging for head and neck malignancies: Lessons learned from mistakes

Meritxell Valls-Mateus MD^{1,2}  | Anna Nogués-Sabaté MD¹  |
 Jose Luis Blanch MD, PhD^{1,2} | Manuel Bernal-Sprekelsen MD, PhD^{1,3} |
 Francesc Xavier Avilés-Jurado MD, PhD⁴  | Isabel Vilaseca MD, PhD^{1,2,3} 

¹Department of Otolaryngology, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

²Ear, Nose, and Throat Surgical Oncology Section, Hospital Clínic, Barcelona, Spain

³Faculty of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Spain

⁴Otorhinolaryngology Department, Hospital Joan XXIII, IISPV, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona, Spain

Correspondence

Isabel Vilaseca, Otolaryngology Department, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036, Barcelona, Spain.
 Email: ivila@clinic.ub.es

Funding information

This study was supported in part by Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), PI15/02047.

Abstract

Background: The accuracy of white light endoscopy in combination with narrow band imaging (WLE + NBI) for diagnosis of squamous cell carcinoma (SCC) does not reach 100%. We evaluated the characteristics of the false-negative and false-positive cases.

Methods: Five hundred thirty lesions of the upper airways were evaluated. The WLE was followed by NBI examination before performing a biopsy.

Results: The false-negative lesions (7.36%) were represented by submucosal and non-SCC tumors. Among the 25 non-SCC tumors, 72% did not show any suspicious vascular pattern under NBI. The false-positive lesions (6.04%) were mainly represented by postradiotherapy mucosal changes, ulcers, and infections. Regarding papillomas, NBI accuracy reached 95.32%, although cases with dysplasia were difficult to distinguish from SCC.

Conclusion: The WLE + NBI improved diagnostic accuracy, but not all lesions were ideally evaluated with current defined patterns. An accurate anamnesis is mandatory, because, in some cases, it may be more relevant than the NBI pattern.

KEYWORDS

chronic laryngitis, false negative, false positive, head and neck squamous cell carcinoma, narrow band imaging

1 | INTRODUCTION

Angiogenesis is a normal phenomenon during embryonic development, growth of the organism, and in the healing of wounds. It is also a fundamental process in the malignant transformation of tumor growth.¹ During the process of carcinogenesis, the blood vessels undergo considerable changes and the microvascular network becomes dilated, distorted, or replaced by major tumor angiogenesis.^{2,3} In fact, angiogenesis is considered a predictor of prognosis in many human malignancies, with a significant correlation between the number and density of blood vessels and metastatic states,

tumor size, and histology.⁴ Moreover, identification of the factors that mediate angiogenesis allows us to understand this pathological process opening new horizons toward the diagnosis and treatment of this disease.

Narrow band imaging (NBI) is an optic technique that provides enhanced contrast of vessels in the mucosa and submucosa allowing the depiction of tumor neoangiogenesis. In NBI mode, 2 bands of light in the blue and green spectrum at 415 and 540 nm are selected. The blue light (centered at 415 nm) corresponds to the peak absorption spectrum of hemoglobin, highlighting the capillary bed, and allowing for detailed observation of the intrapapillary capillary loop

pattern. The intrapapillary capillary loops located in the superficial mucosa appear brown, whereas the submucosal vessels appear green.

Narrow Band Imaging has improved the diagnostic assessment of conventional white light endoscopy (WLE) for head and neck squamous cell carcinoma (SCC) and some authors have emphasized its interest to delimitate the resection margins during surgical treatment.^{5–9} However, there are scenarios in which angiogenesis may be present without representing any malignancy and, in some tumors, neoangiogenic vascular pattern may be reduced or absent, thus creating confusion to the explorer.

In a previous study, we evaluated the usefulness of NBI office examination for the diagnosis and follow-up of premalignant and malignant lesions.¹⁰ Although NBI significantly improved the specificity of the examination, accuracy was still far from 100%. In fact, a certain number of false-positive and false-negative cases were detected. Moreover, in the mentioned study, all lesions that did not correspond to SCC were excluded from the analysis, which probably meant that we were evaluating NBI in a favorable scenario. In clinical practice, however, other types of malignancies different from SCC may be present in the head and neck area, and even if they do not present an abnormal vascular pattern, an early diagnosis is mandatory.

The purpose of the present study was to perform a critical review of those cases that showed discrepancy between clinical suspicion, endoscopic NBI examination, and final pathology report. We also intended to describe the characteristics of the lesions and to review the current literature.

2 | PATIENTS AND METHODS

The present study was approved by the local ethics committee and was conducted in the ear, nose, and throat (ENT)-endoscopy unit of a tertiary referral center. In that area, patients referred from other otolaryngologists with lesions suggestive of chronic laryngitis, oral ulcers, or suspected head and neck neoplasms are systematically examined under WLE and NBI, in accord with previous published protocol.¹⁰ Depending on the type of the lesion, the ENT examination and the finding on the NBI examination, either an office-based biopsy or a surgical procedure under general anesthesia is performed.

All consecutive patients evaluated in the ENT-endoscopy unit from June 2009 to November 2016 with lesions of the oral cavity, oropharynx, rhinopharynx, larynx, and hypopharynx with proven biopsy were included. During the examination, we tried to get close to the mucosa (about 1 cm) in a perpendicular direction. In the presence of blood or thick mucus in the examined area, we tried to aspirate or asked the patient to drink some water. When the secretions could not be removed and the NBI pattern was not reliable, the patients were excluded from the study.¹⁰ Both WLE and NBI

TABLE 1 Demographic data of the patients evaluated in the present analysis

	Global No. of patients (%)	Non-SCC tumors No. of patients (%)
Age, years, mean \pm SD	61.9 \pm 13.5	62.2 \pm 16.1
Women	142 (26.8)	9 (36)
Previous RT	80 (15.1)	0 (0)
Localization		
Oral cavity	91 (17.1)	3 (12)
Oropharynx	128 (23.9)	9 (36)
Hypopharynx	51 (9.6)	2 (8)
Larynx	217 (40.9)	4 (16)
Rhinopharynx	44 (8.3)	7 (28)
Total number of lesions	530	25

Abbreviations: RT, radiotherapy; SCC, squamous cell carcinoma.

examinations were video recorded and afterward reviewed and classified by a senior staff member (I.V.). Experienced head and neck pathologists blind to the nasal endoscopy results evaluated the samples. Dysplastic lesions were graded according to the 2005 World Health Organization (WHO) classification.¹¹

For the present study, we analyzed all the lesions that presented discrepancy among clinical suspicion, NBI examination, and the final pathology report.

Data were collected prospectively and were included in a specific SPSS database created for the present study.

2.1 | Classification of the lesions with narrow band imaging

Pharyngeal and laryngeal lesions evaluated under NBI were categorized following the Ni et al¹² classification in 3 groups: (1) nonmalignant (pattern types I, II, and III); (2) suggestive of moderate to severe dysplasia (pattern type IV); or (3) suggestive of malignancy (pattern types Va, Vb, and Vc). For the oral cavity lesions, we used the vascular patterns reported by Takano et al,¹³ in which normal intrapapillary capillary loops are seen as a comet-like shape that become larger and irregular as the carcinogenesis progresses. The type I pattern was considered negative, type II was considered mild dysplasia, type III was evaluated as moderate to severe dysplasia, and type IV was considered positive for malignancy.

Papillomas were defined as such when multiple papillae with a vessel along a central axis of each papilla were observed.

We considered positive for malignancy those lesions with NBI patterns of moderate and severe dysplasia as well as carcinomas and carcinoma in situ.

TABLE 2 Diagnostic values of white light endoscopy and narrow band imaging for the global sample, the scenario of lesions of squamous cell carcinomas, and the scenario of malignancies different from squamous cell carcinomas

	Global (n = 530)		SCC (n = 505)		Non-SCC tumors (n = 25)	
	WLE	NBI	WLE	NBI	WLE	NBI
Sensitivity (%)	91.06	86.6	92.96	90.74	66.67	33.33
Specificity (%)	63.60	86.61	63.83	86.38	50	100
PPV (%)	75.28	88.73	74.7	88.45	87.5	100
NPV (%)	85.39	84.15	88.76	89.04	22.22	22.22
Accuracy (%)	78.68	86.6	79.4	88.71	64	44

Abbreviations: NBI, narrow band imaging; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value; SCC, squamous cell carcinoma; WLE, white light endoscopy.

2.2 | Statistical analysis

Calculation of sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and accuracy was made for the whole group, the group of SCC tumors, and for the group of non-SCC tumors, which were essentially malignant tumors different from SCC (lymphoma, neuroendocrine carcinoma, and sarcoma), and some other type of benign tumors (1 amyloidosis, 1 myoepithelioma, 1 Cowden syndrome, and 1 paraganglioma).

3 | RESULTS

Our initial sample comprised 533 patients with 638 lesions, from which we excluded 108 cases without histologic examination of the lesion. The number of patients included in the

present analysis was 497, representing 530 different lesions. Mean age, sex distribution, previous radiotherapy, and localization of the lesions are described in Table 1. Sensitivity, specificity, PPV, NPV, and accuracy with WLE and NBI for the whole group, the SCC group, and for the subgroup of non-SCC tumors are described in Table 2.

We had 39 cases (7.36%) of false-negative lesions (negative or mild dysplasia pattern, according to the NBI classification) and 32 cases (6.04%) of false-positive lesions (positive or severe dysplasia patterns).

3.1 | Analysis of false-negative cases

Among 39 false-negative lesions, we found 7 mild dysplasias that resulted to be moderate or severe dysplasias in the pathology report (17.9%), 1 case of degenerated papilloma (2.6%), and 17 cases of SCC (43.6%). The clinical presentation of the SCCs corresponded to: submucosal tumors (n = 8); chronic laryngitis with mild dysplasia pattern (n = 4); necrotic lesions (n = 2); one verrucous lesion (n = 1); 1 case of undifferentiated nasopharyngeal carcinoma (n = 1); and a polyp growing in the anterior commissure (n = 1). The other 14 false-negative cases (35.9%) represented non-SCC neoplasms: 13 cases of lymphoma arising in different ENT locations (rhinopharynx, oropharynx, larynx, and hypopharynx) and 1 case of Kaposi sarcoma (Figures 1–5).

3.2 | Analysis of false-positive cases

We found 32 false-positive cases (6.04%) in our sample. Eight lesions had initially been classified as carcinoma and 24 as moderate/severe dysplasia under NBI but were found to be negative or mild dysplasia at pathological examination. Seven of these lesions were located in irradiated areas. Overall, the majority of false-positive results accounted for infections or inflammation processes. The false-positive results clinically presented as chronic laryngitis and leukoplakias

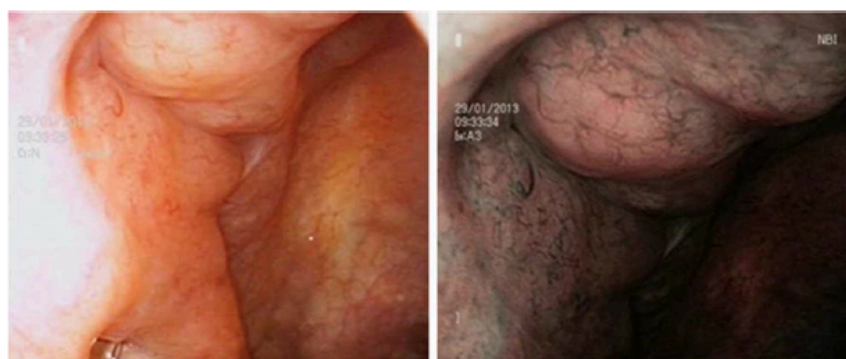


FIGURE 1 Follicular lymphoma of the nasopharynx. The biopsy of the mild bulging in the right nasopharynx (torus tubarius) of this patient revealed the presence of a follicular lymphoma. Note the normal distribution of the vessels in the mucosa and submucosa without any suspicious vascular pattern. NBI, narrow band imaging [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

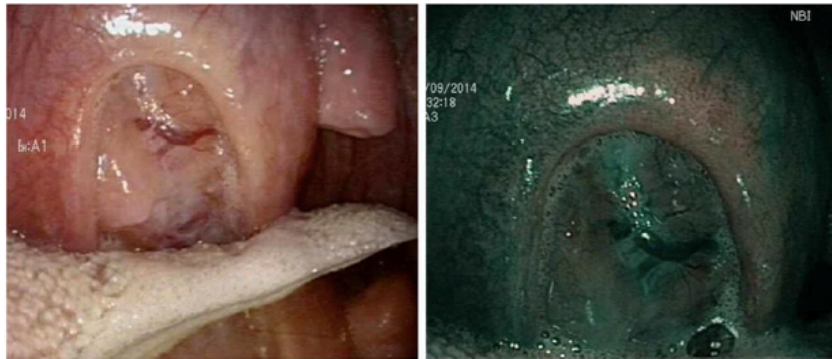


FIGURE 2 Mantle cell lymphoma of the right tonsil. Under white light endoscopy and narrow band imaging, a clear ulceration of the tonsil can be seen, and the thickened margins do not show a pathologic pattern [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

($n = 20$; 62.5%), inflammatory granulations ($n = 3$; 9.4%), papilloma ($n = 1$; 3.1%), ulcers ($n = 6$; 18.7%), and 2 cases of atypical neoformations ($n = 2$; 6.2%) that turned out to be laryngeal tuberculosis.

3.3 | Characteristics of non-squamous cell carcinoma tumors

Among the 17 lymphomas of our series, 13 (76.5%) were mainly classified as “negative” with NBI examination, as most of this type of tumors do not exhibit any typical vascular pattern on the surface, only some enlarged and dilated vessels (Figures 1–4). Thus, in order to diagnose a lymphoproliferative process, the clinical history still remains the most important piece of information, along with the physical examination, which usually reveals a smooth swelling in a lymphoid area.

With regard to neuroendocrine carcinomas, in 1 case, the mucosal pattern was strictly normal (type I) in 1 area showing dilated irregular vessels in another region (see Figure 5), whereas in the second case, necrosis with a type Vc pattern

was observed. Two cases of Kaposi sarcoma found in patients who were human immunodeficiency virus-positive presented as an angiomatous mass growing in the gums ($n = 1$) and as an enlarged tonsil with increased superficial vascularization ($n = 1$).

3.4 | Infections mimicking positive narrow band imaging patterns

Several cases of infections simulated dysplastic or carcinoma patterns under NBI examination. Four patients presented fungal infections that revealed a pattern very similar to moderate dysplasia (see Figure 6). Two patients had laryngeal tuberculosis with multiple necrotic lesions mimicking Ni type Vc (see Figure 7). One patient presented a suspicious NBI pattern concurrent with an epiglottitis that resolved several weeks after, the biopsies taken proved to be negative. In the oropharynx, 1 patient presented a positive NBI pattern in one tonsil together with large homolateral lymph nodes that self-resolved in 2 weeks. Another 2 cases presented a syphilitic ulcer in the oropharynx, in which the border of the ulcer had

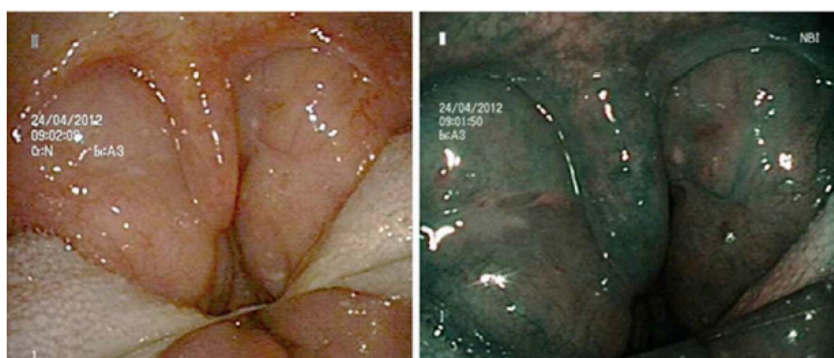


FIGURE 3 Bilateral tonsillar enlargement in a patient with chronic lymphocytic leukemia (CLL). The biopsy confirmed infiltration of tonsillar tissue by CLL cells. The mucosal surface of the tonsils displayed normally both with white light endoscopy and narrow band imaging [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]



FIGURE 4 Mantle cell lymphoma of the right arytenoid. Mild enlargement of superficial vessels can be seen under white light endoscopy and narrow band imaging (asterisk) [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

increased vascularization (see Figure 8). In addition, we also had 2 cases of actinomycosis (rhinopharynx and oral cavity).

3.5 | Papillomas

Papillomatous lesions presented intrapapillary capillary loop changes very similar to those visible in SCC. Papillary structures with a central-axis, multicentricity, and the homogeneity of the pattern helped to distinguish between SCC and papilloma, although this is not always easy at the office. We had 41 lesions in our database with 39 cases correctly diagnosed, 1 false-positive case, and 1 false-negative case (accuracy of 95.32%). The false-positive case is shown in Figure 9.

4 | DISCUSSION

Up to date, only few studies have specifically addressed the issue of false-negative and false-positive cases of NBI in the head and neck area. According to our results, false-negative cases are mainly due to submucosal tumors, non-SCC malignancies, necrotic lesions, and, less commonly, secondary postradiation and inflammatory mucosal changes. False-positive cases are related also to radiotherapy mucosal changes, leukoplakias, infections, and ulcers.

Piazza et al¹⁴ studied 128 patients with oral and oropharyngeal leukoplakias and erythroplakias. False-positive rates were 32% at naked eye examination without magnification,

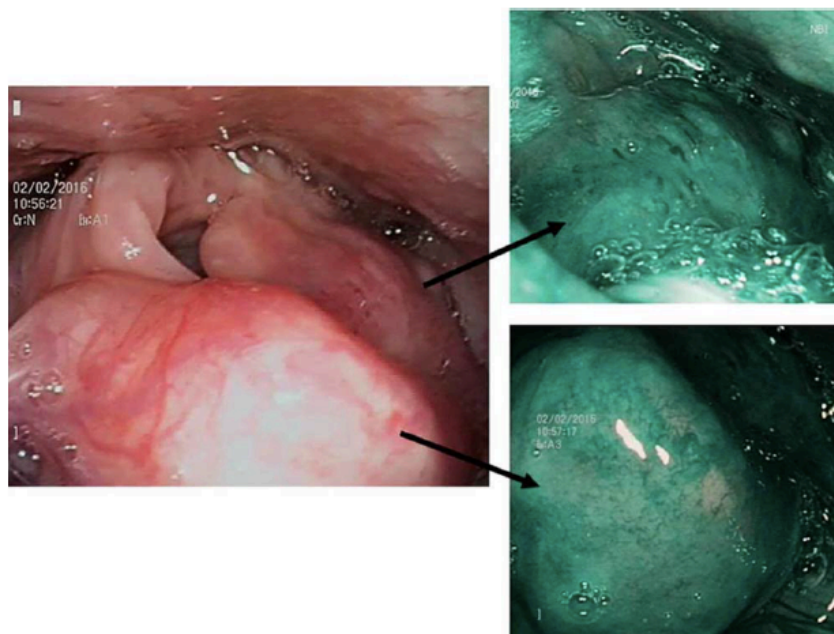


FIGURE 5 High grade, large cell neuroendocrine laryngeal carcinoma: no clear pattern can be seen in this case without mucosal ulceration. In the bulgy epiglottis, we can observe with detail the normal pattern under narrow band imaging, whereas in the aryepiglottic fold some dilated vessels are observed [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

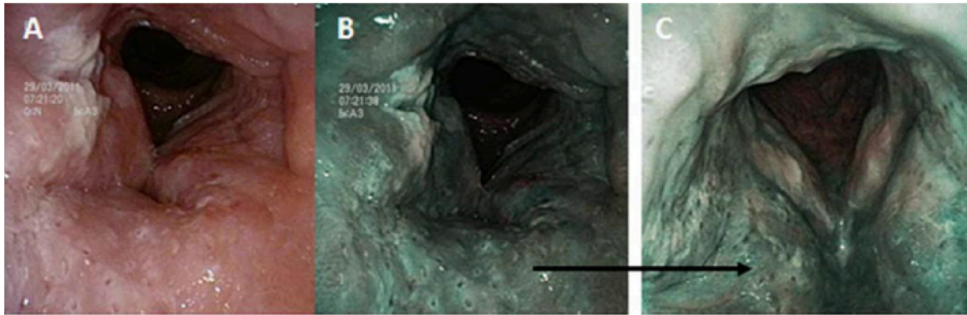


FIGURE 6 A, B, Fungal infection of the larynx. C, Moderate/severe dysplasia. Note the similarity of the narrow band imaging pattern in both lesions (arrow) [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

27% at WLE, and 15% at NBI. The false-negative rates were 49%, 22%, and 11%, respectively. The NBI diagnostic performance was higher than conventional examinations ($P < .001$) and to WLE ($P = .004$). The authors did not report any differences in the diagnostic value of NBI according to subsites. Bertino et al¹⁵ reported a 35.5% rate of false-positive lesions, although it must be noted that they considered suspicious for malignancy every leukoplasia/erythroplasia, exophytic of ulcerated lesion, which also led to a very

low specificity (3.3%). Half of the false-positive cases in this study were papillomatous lesions.

Individual case reports have also proven that NBI is not an infallible tool. Tsuji et al¹⁶ reported a case of pharyngeal cancer that was not detected during endoscopy with NBI. The lesion was not small (>2 cm) and was finally detected with Lugol staining. This false-negative case was attributed to the low vascularity of the lesion, as demonstrated on histopathology.

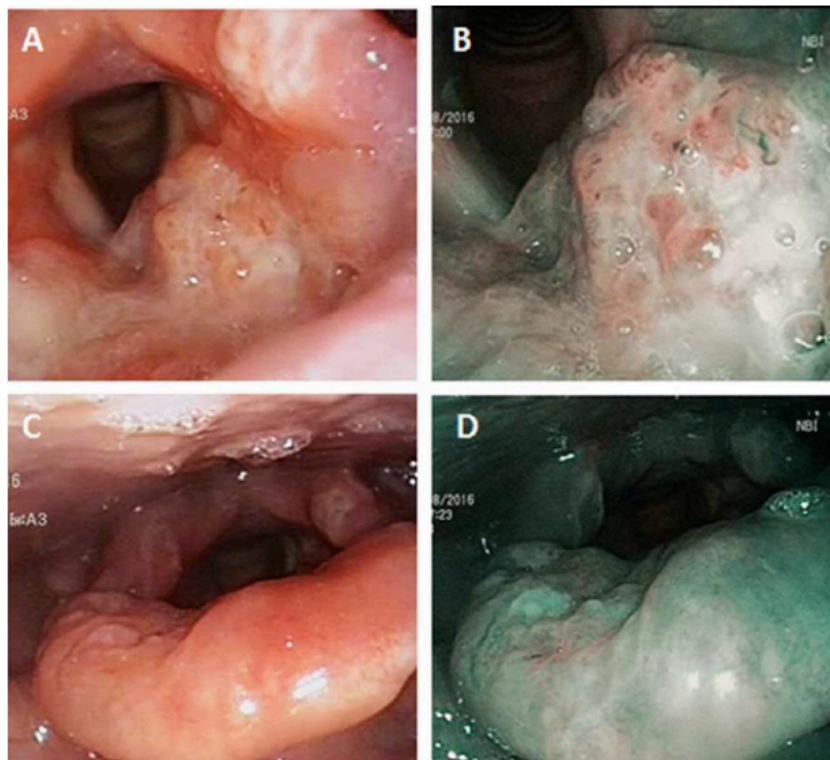


FIGURE 7 Laryngeal irregular and multiple lesions with necrotic (type Vc) pattern, which may suggest the presence of a laryngeal carcinoma (A-D). However, the large extension and multifocality of the lesions along with the medical history of the patient should raise the suspicion of tuberculosis [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

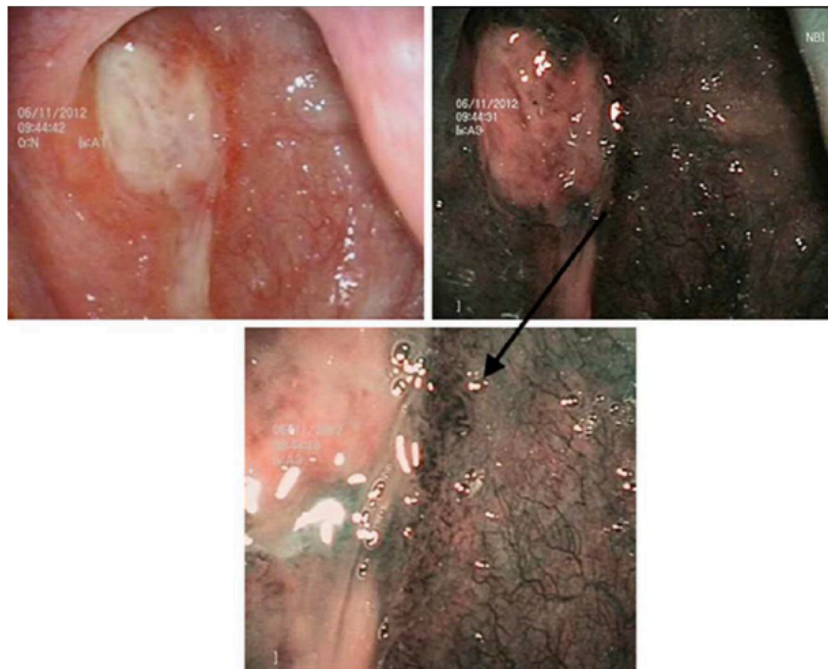


FIGURE 8 Syphilitic ulcer in the oropharynx. Under white light endoscopy, an ulcerative lesion with hyperemic edges can be seen. The narrow band imaging enhances the left border of the lesion, where irregular vessels can be observed under higher magnification (arrow) [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

Overall, NBI combined with WLE is an optical tool that significantly reduces false-positive and false-negative rates in the diagnosis of head and neck lesions compared to WLE alone, but there are scenarios in which NBI is not so useful. These cases of malignancies are different from SCC for which there is a surprising scarcity of published reports.

Yamasaki et al¹⁷ described the NBI pattern of neuroendocrine carcinoma of the colon as disrupted irregular microvessels and absence of a surface pattern in the depressed area. Laryngeal neuroendocrine carcinoma is a rare malignancy, accounting for <1% of all laryngeal neoplasms,¹⁸ and, so far, no NBI findings have been published. One of our cases presented as an ulcerated mass with irregular margins, and the second as a smooth bulging in the epiglottis and aryepiglottic fold without any suspicious vascular pattern on the mucosal surface (see Figure 5). Therefore, we cannot define a standard pattern and, probably, NBI does not add any diagnostic value to this kind of tumor.

Regarding sarcomas, which are very rare neoplasms in the otorhinolaryngologic region, we have not found any previous description with NBI. Nonaka et al¹⁹ published a case of interdigitating dendritic cell sarcoma in the duodenum. The lesions were elevated and the NBI revealed a dense distribution of whitish and swollen villi without the typical intrapapillary capillary loop features of the SCC. Our 2 cases of Kaposi sarcomas showed one soft elevated vascular lesion

and an increased tonsil with vascularization but no relevant intraepithelial papillary capillary loop patterns.

As for lymphoproliferative disorders, there are numerous reports on gastrointestinal lymphomas and their examination under NBI. Two reports of colorectal lymphomas describe that magnifying endoscopy with NBI helped to reveal coiled and elongated microvasculature on the surface of the lesion, a feature that is never seen in lymphoid hyperplasia. Consequently, the authors claim NBI as a potentially useful diagnostic tool for distinguishing between normal lymphoid hyperplasia and malignant lymphoma.^{20,21} Ono et al²² used NBI magnification to study gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas and reported irregular microsurface structures, including dilated and destroyed pits and microvessels that were abnormal in size and formation. However, irregular mucosal patterns and microvascular abnormalities are also identified in gastric carcinomas, making it difficult to differentiate between lymphoma and carcinoma, especially the undifferentiated carcinoma type.²³

To the best of our knowledge, no article has focused on the description of the NBI patterns in head and neck lymphomas. Contrary to the previously mentioned gastrointestinal lymphoma reports, our current study shows that the vast majority of lymphomas in the ENT area do not show specific vascular features that might be better identified by NBI. Most cases presented as a mass with a smooth surface

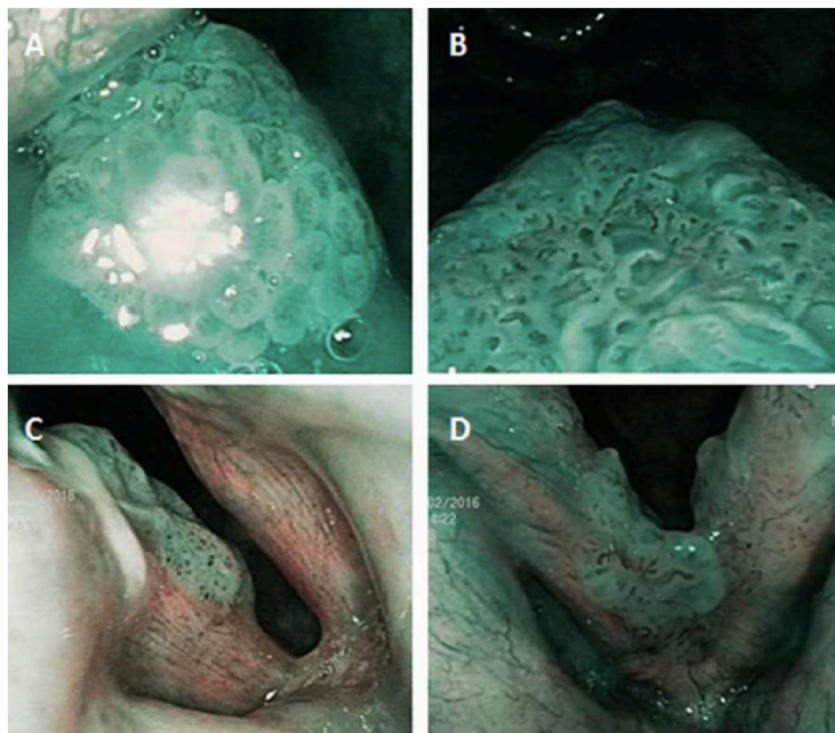


FIGURE 9 Different papillomatous lesions are shown. A, Typical bunch-of-grapes shape (regular multiple papillae) of a tongue base papilloma. B, Giant papilloma of the posterior surface of the palate. Note the irregular shapes and calibers of the vessels, here, with irregular papillae with its central vessel. The inferior pictures show difficult diagnostic cases. C, Exophytic lesion in the right vocal cord with an irregular intrapapillary capillary loop pattern suggestive of moderate dysplasia. The pathology revealed papilloma with mild dysplasia. D, Irregular exophytic lesions with type V pattern and branching feeding vessels in both vocal cords [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

without ulceration and without visible intrapapillary capillary loops. For that reason, when the clinical history and the aspect of the lesion under WLE are suspicious of lymphoma, a biopsy is always necessary independently of the NBI vascular pattern.

One common lesion that generates diagnostic difficulties with NBI is the papilloma. The first report on NBI usefulness for the detection of recurrent respiratory papillomatosis was described by Tjon Pian Gi et al,²⁴ who reported a high sensitivity (97%) but a very low specificity (28%). Papillomatous lesions present intrapapillary capillary loop changes very similar to those visible in cancers. Bolontrade et al²⁵ performed a very detailed study on mice about the angiogenesis in the different stages of papillomas and in their progression to carcinoma. They found that the density of blood vessels reaches its maximum point at early stages of papilloma formation. Another relevant finding was the presence of large blood vessels in advanced papillomas and carcinomas. Consequently, they concluded that blood vessel density could not be used as a predictor of malignant progression in papilloma lesions.

Bertino et al¹⁵ described the papillomatous pattern as one with significantly dilated vessels, of high density, with

brownish speckled spots, and of various shapes, very similar to the capillary vascularization described in Ni type Va. Because of its tricky appearance under NBI, they considered this pattern as suspicious of malignancy, obtaining a high percentage of false-positive results. Lukes et al²⁶ published an interesting article that focused on the differences in NBI intraoperative patterns between laryngeal SCC and papillomatosis. The sensitivity and specificity in their study were 100% and 82% for SCC and 94% and 100% for papillomatosis. They reported that, in addition to a close observation of changes in the shape of intrapapillary capillary loops, it is crucial to focus on the epithelial surface and to observe the papillary structures with central-axis capillaries and a more or less regular arrangement. According to the authors, the surface of the papillomas is smooth, whereas in SCC it tends to be rough and can show hyperkeratosis. However, all these details are difficult to see during an office examination with the patient under local anesthesia. For this reason, characteristics, such as the shape and the presence of multiple lesions, are taken as the criteria used for a more accurate diagnosis.²⁶

Ochsner and Klein²⁷ published a retrospective report on NBI usefulness in the outpatient setting in order to detect

laryngeal papillomatosis. They took still shots of the same diseased region of the larynx of 10 awake patients, one under white light, and one under NBI. The 10 pairs of pictures were then sent to multiple fellowship-trained laryngologists. Raters concluded that NBI improved visualization of the lesion 90.0% of the time and showed areas of diseased tissue unappreciated by halogen light in 46.7% of the cases. However, survey respondents believed that 16.7% of the time it was more difficult to visualize areas of diseased tissue with NBI.

In our experience, papillomas usually have a recognizable and very characteristic pattern that allows high levels of accuracy (95.23% with NBI and 82.92% with WLE), especially according to the clinical data. Nevertheless, papillomatous lesions can also experience dysplastic changes that are very difficult to detect and to distinguish from Ni type V pattern. In this scenario, an office-based biopsy of the lesion may be recommended before planning definitive treatment.

Regarding laryngeal tuberculosis, only 1 Japanese report²⁸ describes its NBI pattern. There is also 1 case of gastric tuberculosis in which magnifying NBI showed spiral-shaped, dilated small vessels or microvessels with an amorphous surface.²⁹ We had 1 case of laryngeal tuberculosis that we believed to be a laryngeal papillomatosis because of the multiplicity of the lesions under WLE. However, with NBI, a type Vc pattern was evident (see Figure 7). A second patient presented with several laryngeal ulcers.

One of the drawbacks of the study is the reduced number of patients for a determinate diagnosis, which makes it difficult to define specific NBI patterns for pathologies different from SCC. Although it may be seen as a limitation, this is due to the low prevalence of non-SCC in the head and neck area but also to the high diagnostic accuracy with NBI examination. In fact, we had to examine 530 consecutive cases to find 39 false-negative cases.


Another limitation of the study could be the way the dysplastic lesions were graded. Different publications have alerted about the interobserver variability of laryngeal mucosal premalignant lesions.³⁰ Currently, the classifications most widely used are the 2005 WHO, the Squamous Intraepithelial Neoplasia, and the Ljubljana Classification, with no clear tendency in favor of any one these. In our center, the WHO classification is used by the pathologists. A recent study reported that the biggest discrepancy with that classification is usually between moderate and severe dysplasia.³⁰ From this point of view, the limitation is reduced in our study, because both conditions, moderate and severe dysplasia, were included in the same NBI group, thus decreasing the risk of error due to intra-rating and inter-rating grading.

One more limitation could be variability in the assessment of NBI between physicians. In a recent study, Zwakenberg et al³¹ evaluated interobserver and intraobserver agreements while making diagnostic decisions using rigid endoscopy of the upper aerodigestive tract with WLE compared to

WLE + NBI. The authors concluded that the addition of NBI to WLE led to improvement of both interobserver and intraobserver agreements, independently of the level of experience of the observers.³¹ In spite of these promising results, further studies are needed to confirm that there are interobserver and intraobserver agreements with the patients examined with flexible endoscopy while under local anesthesia.

In conclusion, WLE followed by NBI is an excellent technique to improve the diagnostic precision of head and neck SCC, but its specificity does not reach 100%. Overall, the best accuracy of WLE followed by NBI is obtained for severe dysplasia and superficial SCC. False-negative results are mainly represented by submucosal and non-SCC tumors, and false-positive results by postradiotherapy mucosal changes, ulcers, and infections. In those scenarios, an accurate clinical history is mandatory, because for a reduced number of cases it may be more relevant than the NBI vascular pattern.

ORCID

Francesc Xavier Avilés-Jurado MD PhD  <http://orcid.org/0000-0001-5560-8097>

Isabel Vilaseca MD, PhD  <http://orcid.org/0000-0003-4399-5522>

Meritxell Valls-Mateus MD  <http://orcid.org/0000-0001-9459-0176>

Anna Nogués-Sabaté MD  <http://orcid.org/0000-0002-0834-9245>

REFERENCES

- [1] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*. 1996;86:353-364.
- [2] Kumagai Y, Toi M, Inoue H. Dynamism of tumour vasculature in the early phase of cancer progression: outcomes from oesophageal cancer research. *Lancet Oncol*. 2002;3:604-610.
- [3] Wen YH, Zhu XL, Lei WB, Zeng YH, Sun YQ, Wen WP. Narrow-band imaging: a novel screening tool for early nasopharyngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012;138:183-188.
- [4] Lantieri LA, Martín-García N, Wechsler J, Mitrofanoff M, Raulo Y, Baruch JP. Vascular endothelial growth factor expression in expanded tissue: a possible mechanism of angiogenesis in tissue expansion. *Plast Reconstr Surg*. 1998;101:392-398.
- [5] Cosway B, Drinnan M, Paleri V. Narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review. *Head Neck*. 2016;38 Suppl 1:E2358-E2367.
- [6] Muto M, Minashi K, Yano T, et al. Early detection of superficial squamous cell carcinoma in the head and neck region and esophagus by narrow band imaging: a multicenter randomized controlled trial. *J Clin Oncol*. 2010;28:1566-1572.
- [7] Ni XG, Wang GQ. The role of narrow band imaging in head and neck cancers. *Curr Oncol Rep*. 2016;18:10.
- [8] Plaat BEC, Zwakenberg MA, van Zwol JG, et al. Narrow-band imaging in transoral laser surgery for early glottic cancer in relation to clinical outcome. *Head Neck*. 2017;39:1343-1348.

- [9] Tirelli G, Piovesana M, Gatto A, Torelli L, Di Lenarda R, Boscolo Nata F. NBI utility in the pre-operative and intra-operative assessment of oral cavity and oropharyngeal carcinoma. *Am J Otolaryngol*. 2017;38:65-71.
- [10] Vilaseca I, Valls-Mateus M, Nogués A, et al. Usefulness of office examination with narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma and follow-up of pre-malignant lesions. *Head Neck*. 2017;39:1854-1863.
- [11] Gale N, Pilch BZ, Sidransky D, et al. Tumours of the hypopharynx, larynx and trachea (epithelial precursor lesions). Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. eds. In: *World Health Organization Classification of Tumours: pathology and genetics of head and neck tumours*. Lyon, France, International Agency for Research on Cancer (IARC) Press, 2005:140-143.
- [12] Ni XG, He S, Xu ZG, et al. Endoscopic diagnosis of laryngeal cancer and precancerous lesions by narrow band imaging. *J Laryngol Otol*. 2011;125:288-296.
- [13] Takano JH, Yakushiji T, Kamiyama I, et al. Detecting early oral cancer: narrowband imaging system observation of the oral mucosa microvasculature. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2010;39:208-213.
- [14] Piazza C, Del Bon F, Pademo A, et al. The diagnostic value of narrow band imaging in different oral and oropharyngeal subsites. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273:3347-3353.
- [15] Bertino G, Cacciola S, Fernandes WB Jr, et al. 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*. 2015;37:215-222.
- [16] Tsuji K, Doyama H, Nakanishi H, et al. Case of pharyngeal cancer not detected during preoperative transoral endoscopy with narrow band imaging. *Clin J Gastroenterol*. 2015;8:68-72.
- [17] Yamasaki Y, Uedo N, Ishihara R, Tomita Y. Endoscopic mucosal resection of early stage colon neuroendocrine carcinoma. *BMJ Case Rep*. 2015.
- [18] Ferlito A, Silver CE, Bradford CR, Rinaldo A. Neuroendocrine neoplasms of the larynx: an overview. *Head Neck*. 2009;31:1634-1646.
- [19] Nonaka K, Honda Y, Gushima R, et al. Narrow-band imaging of interdigitating dendritic cell sarcoma originating in the duodenum. *Endoscopy*. 2011;43 Suppl 1 UCTN:E113-E114.
- [20] Kuroha M, Endo K, Sato Y, et al. Magnifying endoscopy findings in follicular lymphoma of the rectum using narrow band imaging. *Endoscopy*. 2011;43 Suppl 2 UCTN:E346-E347.
- [21] Norimura D, Isomoto H. Colorectal involvement of follicular lymphoma -- findings with narrow band imaging and magnifying endoscopy. *Endoscopy*. 2013;45 Suppl 2 UCTN:E296-E297.
- [22] Ono S, Kato M, Takagi K, et al. Long-term treatment of localized gastric marginal zone B-cell mucosa associated lymphoid tissue lymphoma including incidence of metachronous gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25:804-809.
- [23] Ohnita K, Isomoto H, Shikuwa S, et al. Magnifying chromoendoscopic findings of early gastric cancer and gastric adenoma. *Dig Dis Sci*. 2011;56:2715-2722.
- [24] Tjon Pian Gi RE, Halmos GB, van Hemel BM, et al. Narrow band imaging is a new technique in visualization of recurrent respiratory papillomatosis. *Laryngoscope*. 2012;122:1826-1830.
- [25] Bolontrade MF, Stern MC, Binder RL, Zenklusen JC, Gimenez-Conti IB, Conti CJ. Angiogenesis is an early event in the development of chemically induced skin tumors. *Carcinogenesis*. 1998;19:2107-2113.
- [26] Lukes P, Zabrodsky M, Lukesova E, et al. The role of NBI HDTV magnifying endoscopy in the prehistologic diagnosis of laryngeal papillomatosis and spinocellular cancer. *Biomed Res Int*. 2014;2014:285486.
- [27] Ochsner MC, Klein AM. The utility of narrow band imaging in the treatment of laryngeal papillomatosis in awake patients. *J Voice*. 2015;29:349-351.
- [28] Honda M, Omori T, Kawakubo H, et al. A case of laryngeal tuberculosis observed with high-magnification endoscopy. *Gastrointest Endosc*. 2010;72:1528-1532.
- [29] Yaita H, Nakamura S, Kurahara K, et al. Gastric tuberculosis resembling depressed type, early gastric cancer. *Endoscopy*. 2014;46 Suppl 1 UCTN:E669-E670.
- [30] Fleskens SA, Bergshoeff VE, Voogd AC, et al. Interobserver variability of laryngeal mucosal premalignant lesions: a histopathological evaluation. *Mod Pathol*. 2011;24:892-898.
- [31] Zwakenberg MA, Dikkers FG, Wedman J, Halmos GB, van der Laan BF, Plaat BE. Narrow band imaging improves observer reliability in evaluation of upper aerodigestive tract lesions. *Laryngoscope*. 2016;126:2276-2281.

How to cite this article: Valls-Mateus M, Nogués-Sabaté A, Blanch JL, Bernal-Sprekelsen M, Avilés-Jurado FX, Vilaseca I. Narrow band imaging for head and neck malignancies: Lessons learned from mistakes. *Head & Neck*. 2018;00:1–10. <https://doi.org/10.1002/hed.25088>

Tercer estudi:

Estudi de la consistència de la tècnica mitjançant determinació de la variabilitat intra i interpersonal.

Nogués-Sabaté A, Aviles-Jurado FX, Ruiz-Sevilla L, Lehrer E, Santamaría-Gadea A, Valls-Mateus M, Vilaseca I. *Intra and interobserver agreement of narrow band imaging for the detection of head and neck tumors. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2018 Sep;275(9):2349-2354. Doi: 10.1007/s00405-018-5063-8*



Intra and interobserver agreement of narrow band imaging for the detection of head and neck tumors

Anna Nogués-Sabaté^{1,2} · Francesc Xavier Aviles-Jurado^{1,2,3,4} · Laura Rulz-Sevilla⁴ · Eduardo Lehrer^{1,4} · Alfonso Santamaría-Gadea¹ · Meritxell Valls-Mateus⁵ · Isabel Vilaseca^{1,2,3,4}

Received: 7 April 2018 / Accepted: 9 July 2018
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2018

Abstract

Background Narrow band imaging (NBI) in combination with white light endoscopy (WLE) has improved the accuracy for the diagnosis and follow-up of head and neck carcinomas by identifying changes in the vascular patterns of the mucosa. However, NBI evaluation is explorer-dependent and may be influenced by the learning curve. The aim of this study is to assess the intra and interobserver agreement of NBI and WLE at the office, under local anaesthesia, by either experienced or non-experienced observers.

Methods Eighty-seven images of head and neck lesions were routinely collected under WLE and NBI. A group of three experienced otolaryngologists and three medical students assessed the images after a brief training. No additional patient information was provided. The same protocol was repeated after three weeks. Intra and interobserver agreement were calculated with the kappa index.

Results NBI intraobserver agreement was substantial ($\kappa=0.62$) and better than with WLE alone, which was moderate ($\kappa=0.57$) in both groups. Interobserver agreement was moderate with WLE ($\kappa=0.58$) and substantial with NBI ($\kappa=0.63$). Both groups improved intraobserver and interobserver agreement with the implementation of NBI.

Conclusions Intra and interobserver agreement with NBI for the evaluation of head and neck lesions are substantial, and improve the results of WLE alone in both, professionals and trainees.

Keywords Narrow band imaging · Interobserver agreement · Intraobserver agreement · Consistency · Kappa · Head and neck cancer

Introduction

Head and Neck Squamous cell carcinoma (HNSCC) represents the most common histologic type of malignant head and neck tumors. Despite the advances in diagnostic methods, most of the patients with HNSCC are diagnosed at an advanced stage of disease, when prognosis is poor [1, 2]. Early detection of HNSCC would be desirable to improve the overall survival and prognosis [3].

Upper airway examination using conventional white light endoscopy (WLE) is the primary method for the diagnosis of upper aerodigestive tract carcinomas. However, conventional WLE has limitations in both resolution and contrast, which may lead to misdiagnosis of superficial mucosal cancer and precancerous lesions [2]. In the last years, narrow band imaging (NBI), a novel method of endoscopic imaging, has emerged as a potential tool to improve the diagnosis of head and neck tumors. NBI consists of a modification of the

✉ Isabel Vilaseca
ivila@clinic.ub.es

¹ Department of Otorhinolaryngology, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Catalunya, Spain

² Head Neck Clínic, Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca (AGAUR), 2017 SGR 1581, Barcelona, Catalunya, Spain

³ Ear, Nose and Throat Surgical Oncology Section, Hospital Clínic, Barcelona, Catalunya, Spain

⁴ Faculty of Medicine, University of Barcelona, Barcelona, Catalunya, Spain

⁵ Department of Otolaryngology, Hospital Comarcal d'Inca, Inca, Illes Balears, Spain

standard white light spectrum by optical filters. Under NBI examination, two spectral regions of light are selected. Blue light, which is centred at 415 nm, corresponds to the peak absorption spectrum of haemoglobin, penetrates the superficial mucosa and highlights the superficial capillary bed as brown in colour. Green light, which is centred at 540 nm, passes through the submucosal layer and identifies prominent vessels in the deeper mucosa and submucosa as green in colour [4, 5].

The combination of NBI with WLE has demonstrated higher sensitivity and negative predictive values than WLE alone for the diagnosis of carcinomas [5–7]. It allows an easy inspection of neo-angiogenesis in abnormal mucosa [4], being capable to detect superficial mucosal lesions that can be missed by conventional WLE [8]. The assessment of benign and malignant lesions in the head and neck area relies on the intraepithelial papillary capillary loop (IPCL) pattern of the mucosal surface. Ni et al. [9] proposed a classification based on the IPCL patterns, which may further improve the diagnostic accuracy of NBI. Ni et al. classification [9] is commonly used for the evaluation of thin and unkeratinized mucosa, like larynx or hypopharynx. NBI can also be helpful in targeting biopsies to suspicious areas, or in identifying resection margins during oncologic surgery [4, 10].

In a previous study, we evaluated the usefulness of NBI as an office examination method for the diagnosis and follow-up of premalignant and malignant lesions of the upper aerodigestive tract [1]. However, NBI is an explorer-dependent technique and its interpretation may be influenced by the learning curve or by the image quality, especially if the examination is not performed in the operating room under general anaesthesia [1]. Evaluation of consistency of the test is relevant for general practice.

The purpose of this study was to assess the intra and interobserver agreement of NBI as a diagnostic tool to be used at the office under local anaesthesia, by either experienced or non-experienced observers.

Materials and methods

Patients

The images and data analysed in this study were collected from consecutive office examinations performed between April 2017 and October 2017 at the ear, nose, and throat (ENT)-endoscopy area in a tertiary referral centre. The lesions were located in areas of unkeratinised mucosae, such as larynx, hypopharynx and soft palate, and were recorded both with WLE and NBI. Patient clinical data, photo documentation, and histopathological reports were collected from the electronic patient history records. The local ethics committee approved the present study.

Endoscopic examination and image recruitment

Endoscopies were performed according to our standard protocol. Patients were examined in the sitting position. Topical anaesthesia with xylometazoline spray 10% was used to prevent gag reflex and nausea. The examination of the upper airway was carried out with a flexible fiber endoscope (Olympus ENF-VQ; Olympus Medical Systems, Tokyo, Japan) and the light source processor Olympus Evis EXERA II optical system with CVL-180 (Olympus Medical Systems) by an ENT staff member with more than 10 years experience in head and neck cancer (IV). Patients were examined and recorded first with WLE followed by NBI. The lesions were classified according to Ni et al., who originally described the vascular patterns [9]. In those cases in which a biopsy was needed or a small lesion had to be removed in the office it was performed at the same visit.

A junior staff member experienced in NBI endoscopy was the responsible for selecting WLE and NBI images (AN). This member did not participate in the posterior evaluation protocol.

Observers

For the present study, three experienced staff members, and three medical students who had no previous experience with head and neck carcinomas were selected. They will be referred to as “professionals” and “trainees”, respectively. A brief training to all participants was performed, providing a general explanation of the principle of NBI and the Ni et al. [9] classification. All the observers received the same training at the same time. No additional patient information that might have affected their assessments was provided.

During the test, images of the lesions were displayed every 15 s, one WLE image and one NBI image for each lesion. Then, they were asked to classify the WLE image in three groups: (1) benign; (2) dysplasia; or (3) malignant; according to the subjective impression of the examiner. Afterwards, they were asked to classify the NBI vascular patterns in three groups: (1) benign (pattern types I, II and III); (2) suggestive of moderate-severe dysplasia (pattern type IV); or (3) malignant (pattern types Va, Vb, and Vc) [9]. This procedure was repeated for each of the 87 lesions showed. Three weeks later, under the same conditions and training, re-evaluation of the same initial recorded lesions was performed.

Statistical analysis

The agreement was determined using the weighted statistic, as described by Cohen [11]. The maximum statistic is 1.00 when

agreement is perfect, and zero indicates no agreement. We assessed the weighted statistic for the strength of agreement using guidelines by Landis and Koch [12]. They define $\kappa=0$ as no agreement, $\kappa=0.01-0.02$ as slight agreement; $\kappa=0.21-0.40$ as fair agreement; $\kappa=0.41-0.60$ as moderate agreement; $\kappa=0.61-0.80$ as substantial agreement; $\kappa=0.81-0.99$ as almost perfect agreement; and $\kappa=1.00$ as perfect agreement. Interobserver agreement was assessed with the multirater κ statistic. For determining intraobserver agreement quadratic kappa values were calculated. Linear and quadratic weights were given to the values. Linear weighting is used when the distance between categories follows a linear distribution. Quadratic weighting is used when an objective weight is unavailable for the different categories [13].

All statistical analyses were performed using commercially available software (SPSS Statistics version 23.0; IBM). A specific program (Macro! KAPPA for SPSS Statistics) was used to calculate the statistics [14].

Results

Location of the lesions evaluated in the study included the larynx (80.5%), followed by oropharynx (16.1%), and hypopharynx (3.4%).

Intraobserver agreement

Results of intraobserver agreement for WLE and NBI are shown in Table 1. The mean kappa value for intraobserver agreement with WLE was moderate, with a $\kappa=0.56$ (professionals 0.60; trainees 0.53). The mean kappa value for intraobserver agreement with NBI was substantial, with a $\kappa=0.61$ (professionals 0.66; trainees 0.55). NBI improved intraobserver agreement in all observers except in two, who maintained almost the same agreement.

Interobserver agreement

Results of interobserver agreement for WLE and NBI are shown in Table 2. Overall interobserver agreement was moderate using WLE ($\kappa=0.57$) and substantial with the addition of NBI ($\kappa=0.62$). Professionals achieved substantial agreement in both, WLE ($\kappa=0.63$) and NBI ($\kappa=0.69$), but with better results with NBI. Trainees achieved moderate agreement in both, WLE ($\kappa=0.48$) and NBI ($\kappa=0.55$), although the agreement was higher with the addition of NBI.

Discussion

NBI is currently widely used in many medical subspecialties, and its use in head and neck pathology is rapidly gaining interest. Its potential to improve sensitivity and specificity

Table 1 Intraobserver agreement

	Observed agreement (%)	κ value	Confidence interval (95%)	Agreement (*)	P value
Professional 1					
WLE	83.33	0.50	0.32–0.67	Moderate	<0.001
NBI	88.79	0.66	0.51–0.80	Substantial	<0.001
Professional 2					
WLE	86.49	0.61	0.47–0.77	Substantial	<0.001
NBI	87.36	0.62	0.49–0.76	Moderate	<0.001
Professional 3					
WLE	91.95	0.76	0.63–0.89	Substantial	<0.001
NBI	91.95	0.75	0.60–0.89	Substantial	<0.001
Trainee 1					
WLE	81.61	0.35	0.17–0.53	Fair	<0.001
NBI	81.90	0.48	0.31–0.64	Moderate	<0.001
Trainee 2					
WLE	87.64	0.48	0.32–0.65	Moderate	<0.001
NBI	84.77	0.47	0.31–0.63	Moderate	<0.001
Trainee 3					
WLE	89.94	0.62	0.47–0.78	Substantial	<0.001
NBI	90.52	0.69	0.58–0.80	Substantial	<0.001

NBI narrow band imaging, WLE white light endoscopy

*Calculated according to Landis and Koch definition [12]

Table 2 Interobserver agreement

	Observed agreement (%)	κ value	Confidence interval (95%)	Agreement (*)	P value
Global professionals					
WLE	87.26	0.63	0.54 to 0.72	Substantial	<0.001
NBI	89.37	0.69	0.61 to 0.77	Substantial	<0.001
Global trainees					
WLE	86.40	0.48	0.39 to 0.58	Moderate	<0.001
NBI	86.08	0.55	0.46 to 0.64	Moderate	<0.001
Overall					
WLE	86.83	0.57	0.50 to 0.64	Moderate	<0.001
NBI	87.55	0.62	0.56 to 0.68	Substantial	<0.001

NBI narrow band imaging, WLE white light endoscopy

*Calculated according to Landis and Koch definition [12]

has been demonstrated in the assessment of patients with early head and neck cancer [15]. NBI can be easily applied at the office during a conventional flexible nasal endoscopy without additional morbidity for the patients. Nevertheless, as expressed by different authors, NBI requires a learning curve and depends on a subjective interpretation [1, 16]. Moreover, to evaluate the consistency of a diagnostic test it is important to determine the reliability of the test by

assessing test–retest agreement and also by assessing the agreement between different observers [17, 18]. From this point of view, our results show that NBI improves inter and intraobserver reliability of WLE during upper airway examination with flexible nasal endoscopy in the office.

To the best of our knowledge, only Zwakenberg et al. had specifically assessed the intra and interobserver agreement of NBI in head and neck lesions [19]. Our findings are in agreement with their results: a better inter and intraobserver agreement was achieved with the addition of NBI to WLE. In their study, the images were taken in the best possible scenario, which was in the operating room under general anaesthesia and with rigid endoscopes, allowing an evaluation of lesions in close proximity. The authors also included experienced and non-experienced groups. However, they classified the lesions into two groups instead of three: benign and malignant.

In the present study, most of the patients were referred by an ENT to our endoscopy outpatient area to assess uncertain lesions of the upper aerodigestive tract. Contrary to Zwakenberg et al., we classified lesions into three different groups: benign, uncertain and malignant, and patients were examined with flexible endoscopes under local anaesthesia. In this scenario, difficulties due to gag reflex, poor collaboration or presence of secretions, may influence the acquisition of quality images and may perhaps reduce the value of NBI.

Reliability of NBI has also been assessed in other areas. Yoo et al. [20], for instance, estimated the intra and interobserver agreement of endoscopists in gastric neoplasms. Alvarez et al. assessed the NBI intra and interobserver reliability for the evaluation of Barrett's esophagus [21], and Lee et al. [22] assessed intra and interobserver consistency for grading esophagitis using NBI.

Intraobserver agreement

The addition of NBI to WLE improved intraobserver agreement in three of the participants of our study, whereas in three of them (professional 2, professional 3 and trainee 2) κ values remained practically the same. These results are in accordance with Zwakenberg et al. [19], who obtained better results in all observers, both in experienced and non-experienced participants. In their study, they included surgeons with more than 10 years of experience in the field of laryngology or head and neck oncology ($n=4$); residents in otorhinolaryngology with 3–5 years of training ($n=4$); and medical doctors involved in otorhinolaryngology research, but with minimal clinical experience ($n=4$). In contrast, we evaluated a group of experienced otolaryngologists ($n=3$) and a group of medical students ($n=3$), who had no experience in using NBI and very limited experience in evaluating endoscopic lesions of the head and neck.

Although intraobserver agreement with NBI was good and improved as compared to WLE alone, there were substantial differences in kappa values between observers. These findings have also been reported by other authors [19, 21] and could be explained due to differences in participant's experience, but also due to the various classifications used to categorize the lesions. It is important consider that intraobserver agreement only tells us something about consistency, but not about how well the diagnosis is done.

Lee et al. [22] assessed intraobserver consistency for grading esophagitis using NBI, and their results after the addition NBI to WLE showed a significant improvement in intraobserver agreement in 3 out of 7 experienced endoscopists. These results are in accordance with ours, as they only obtained better results in some of the participants, whereas the outcomes were similar in the rest.

Yoo et al. [20] estimated the intra and interobserver agreement of endoscopists in gastric neoplasm assessment. They used the Yao vessel plus surface (VS) classification system for the gastric mucosal surface and a magnifying endoscopy with NBI. Their results showed a mean κ value for intraobserver agreement of 0.69 (experts, 0.74; trainees, 0.64), which indicated substantial agreement, although the κ value for individual intraobserver variability varied from 0.51 to 0.90. Once more, this study also showed a wide variation in intraobserver agreement. Our results showed a mean κ value with NBI of 0.61 (moderate agreement, at the limit of substantial agreement), obtaining a mean κ value of 0.66 for professionals and of 0.55 for trainees. Therefore, in both studies, a better intraobserver agreement in professionals was observed with the addition of NBI than in trainees.

Interobserver agreement

In the present study, the addition of NBI to WLE improved overall interobserver agreements from moderate to substantial agreement. Among professionals, agreement remained substantial and in trainees remained moderate, although with better κ values with the addition of NBI in both groups. The fact that professionals achieved higher agreement than trainees has been pointed out in other studies, suggesting that experience improves overall agreement and outcome. Zwakenberg et al. also found an increase of interobserver agreement from $\kappa=0.34$ to $\kappa=0.40$ with the addition of NBI in the head and neck area. Agreement between experienced observers increased from fair, using WLE alone, to moderate agreement with the addition of NBI, whether in the group of less experienced observers, agreement remained fair, both with WLE and NBI [19]. Our results are in agreement with theirs.

Alvarez et al. [21] evaluated patients with Barrett's esophagus using NBI and achieved similar interobserver agreement, with κ values of 0.42–0.44. Later on, Lee et al.

[22] showed that after the addition of NBI, interobserver agreement was more reliable than with conventional WLE alone, obtaining an improved overall κ value of 0.63 versus 0.45. Our results are consistent with both studies, as the addition of NBI resulted in a better overall κ value, from 0.57 (moderate agreement) with WLE to 0.62 (substantial agreement) after addition of NBI. Yoo et al. [20] published a mean κ value for interobserver agreement of 0.42 (experts, 0.49; trainees, 0.40), indicating moderate agreement for the diagnosis of gastric neoplasms. The mean κ value for interobserver agreement slightly decreased in the second test, without retraining. Thus, they concluded that agreement was directly related to training, and its reduction could be related to ignorance of NBI technique. Interestingly, in their study, agreements were not satisfactory even in the expert group, and they concluded that the differences were related to the low acquaintance with NBI.

With regard to our study limitations, one of them is that WLE images and NBI images were shown at the same time and it is questionable if NBI images could have influenced observer's responses about WLE image. Moreover, images included different upper airway subsites, and perhaps consistency of the test could be influenced by the various locations. Another limitation could be the fact that diagnosis decision was taken from still images, while in real practice full video recordings and more patient data is available for the examiner.

On the other hand, one of the strengths of the study is that it evaluates the reliability of a test performed at the office, with awake patients under local anaesthesia. We believe this is the real scenario where a majority of clinical decisions are taken in terms of initial diagnosis, the needs to schedule a surgery or not and also for the follow-up.

Conclusions

Intra and interobserver agreement with NBI for the evaluation of head and neck lesions are substantial and improve the results of WLE alone in both, professionals and trainees. This suggests that NBI improves the consistency of endoscopic evaluation of the head and neck lesions. Further studies are needed to confirm these preliminary results.

Funding This study was supported in part by ISCIII; P115/02047.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest All authors declare that they have no conflicts of interest.

Ethical approval The study was performed following the ethical standards of the institution, with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent As the study was performed by reviewing existing medical records without any additional inquiry or intervention, it was exempted from approval by the institutional review board according to national regulations.

References

- Vilaseca I, Valls-Mateus M, Nogués A, Lehrer E, López-Chacón M, Avilés-Jurado FX, Blanch JL, Bernal-Sprekelsen M (2017) Usefulness of office examination with narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma and follow-up of premalignant lesions. *Head Neck* 39:1854–1863. <https://doi.org/10.1002/hed.24849>
- Ni X-G, Wang G-Q (2016) The role of narrow band imaging in head and neck cancers. *Curr Oncol Rep* 18:10. <https://doi.org/10.1007/s11912-015-0498-1>
- Simo R, Bradley P, Chevalier D, Dikkers F, Eckel H, Matar N, Peretti G, Piazza C, Remacle M, Quer M (2014) European laryngological society: ELS recommendations for the follow-up of patients treated for laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 271:2469–2479. <https://doi.org/10.1007/s00405-014-2966-x>
- Piazza C, Cocco D, De Benedetto L, Bon FD, Nicolai P, Peretti G (2010) Role of narrow-band imaging and high-definition television in the surveillance of head and neck squamous cell cancer after chemo- and/or radiotherapy. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 267:1423–1428. <https://doi.org/10.1007/s00405-010-1236-9>
- Cosway B, Drinnan M, Paleri V (2016) Narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma: a systematic review. *Head Neck* 38(1):E2358–E2367. <https://doi.org/10.1002/hed.24300>
- Irjala H, Matar N, Remacle M, Georges L (2011) Pharyngo-laryngeal examination with the narrow band imaging technology: early experience. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 268:801–806. <https://doi.org/10.1007/s00405-011-1516-z>
- Piazza C, Del Bon F, Paderno A, Grazioli P, Perotti P, Barbieri D, Majorana A, Bardellini E, Peretti G, Nicolai P (2016) The diagnostic value of narrow band imaging in different oral and oropharyngeal subsites. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 273:3347–3353. <https://doi.org/10.1007/s00405-016-3925-5>
- Filauro M, Paderno A, Perotti P, Marchi F, Garofolo S, Peretti G, Piazza C (2018) Role of narrow-band imaging in detection of head and neck unknown primary squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. <https://doi.org/10.1002/lary.27098>
- Ni X-G, He S, Xu Z-G, Gao L, Lu N, Yuan Z, Lai SQ, Zhang YM, Yi JL, Wang XL, Zhang L, Li XY, Wang GQ (2011) Endoscopic diagnosis of laryngeal cancer and precancerous lesions by narrow band imaging. *J Laryngol Otol* 125:288–296. <https://doi.org/10.1017/S0022215110002033>
- Arens C, Betz C, Kraft M, Voigt-Zimmermann S (2017) Narrow band imaging for early diagnosis of epithelial dysplasia and microinvasive tumors in the upper aero digestive tract. *HNO* 65(1):5–12. <https://doi.org/10.1007/s00106-016-0284-x>
- Cohen J (1968) Weighted: nominal scale agreement with provision for scaled disagreement or partial credit. *Psychol Bull* 70:213–220
- Landis JR, Koch GG (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33:159–174
- Doménech JM (2011) Fundamentos de diseño y estadística: medida del cambio: análisis de diseños con medidas intrasujeto [in Spanish], 12th edn. Signo, Barcelona
- Doménech JM (2000) GraneroR. Macro! KAPPA for SPSS Statistics: Weighted k [computer program]. Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra

15. Irjala H, Matar N, Remacle M, Georges L (2011) Pharyngo-laryngeal examination with the narrow band imaging technology: early experience. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 268:801–806. <https://doi.org/10.1007/s00405-011-1516-z>
16. Tirelli G, Piovesana M, Bonini P, Gatto A, Azzarello G, Boscolo Nata F (2017) Follow-up of oral and oropharyngeal cancer using narrow-band imaging and high-definition television with rigid endoscope to obtain an early diagnosis of second primary tumors: a prospective study. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 274:2529–2536. <https://doi.org/10.1007/s00405-017-4515-x>
17. Gilchrist JM (2009) Weighted 2×2 kappa coefficients: recommended indices of diagnostic accuracy for evidence-based practice. *J Clin Epidemiol* 62:1045–1053. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2008.11.012>
18. Chmura Kraemer H, Periyakoil VS, Noda A (2002) Kappa coefficients in medical research. *Stat Med* 21:2109–2129
19. Zwakenberg MA, Dikkers FG, Wedman J, Halmos GB, van der Laan BF, Plaat BE (2016) Narrow band imaging improves observer reliability in evaluation of upper aero digestive tract lesions. *Laryngoscope* 126:2276–2281. <https://doi.org/10.1002/lary.26008>
20. Yoo CH, Park MI, Park SJ, Moon W, Kim HH, Song JY, Kim DH (2014) Observer variability in gastric neoplasm assessment using the vessel plus surface classification for magnifying endoscopy with narrow band imaging. *Clin Endosc* 47:74–78. <https://doi.org/10.5946/ce.2014.47.1.74>
21. Alvarez Herrero L, Curvers WL, Bansal A, Bansal A, Wani S, Kara M, Schenk E, Schoon EJ, Lynch CR, Rastogi A, Pondugula K, Weusten B, Sharma P, Bergman JJ (2009) Zooming in on Barrett oesophagus using narrow-band imaging: an international observer agreement study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 21:1068–1075. <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e3283271e87>
22. Lee YC, Lin JT, Chiu HM, Liao WC, Chen CC, Tu CH, Tai CM, Chiang TH, Chiu YH, Wu MS, Wang HP (2007) Intraobserver and interobserver consistency for grading esophagitis with narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc*. 66:230–236. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2006.10.056>

Resum dels estudis

Primer estudi: Utilitat de l'exploració amb llum de banda estreta a la consulta pel diagnòstic del carcinoma escatós de cap i coll i pel seguiment de lesions premalignes

Introducció: L'objectiu d'aquest estudi era avaluar el valor de la LBE a la consulta pel diagnòstic i seguiment de lesions malignes i premalignes de cap i coll.

Materials i mètodes: Avaluació de quatre-centes vuitanta lesions amb endoscòpia amb LB i LBE previ a realitzar biòpsia/exèresi de la lesió. Per altra banda es va realitzar seguiment de cent cinquanta-una lesions sense biòpsia. Es va calcular la supervivència lliure de malaltia. Es va analitzar la corba d'aprenentatge.

Resultats: La precisió diagnòstica global va millorar de 74.1% amb LB a 88.9% amb LBE. Aquesta millora era rellevant en totes les sublocalitzacions. La precisió del LBE augmentava de manera significativa amb l'experiència (àrea sota la corba de >0.9). Després d'un seguiment de 25 mesos, 14 de 151 lesions (9,3%) van progressar a carcinoma. La taxa de supervivència lliure de carcinoma eren significativament diferents entre les lesions considerades benignes/displàsia lleu versus aquelles que es presentaven com displàsia moderada/severa (88,9% vs 73.5%; $P = 0,018$).

Conclusió: La LBE va proporcionar una millor precisió que la LB i mostrava gran utilitat en el seguiment de lesions premalignes.

Segon estudi: Llum de Banda Estreta per lesions malignes de cap i coll: Lliçons apreses dels errors

Introducció: La precisió de l'exploració endoscòpica amb LB en combinació amb LBE en el diagnòstic del carcinoma escatós de cap i coll no arriba al 100%. L'objectiu d'aquest estudi era avaluar les característiques dels casos falsos negatius i falsos positius.

Materials i mètodes: Es van avaluar cinc-cents trenta lesions de la VAS amb LB seguit de LBE. Posteriorment es va realitzar una biòpsia.

Resultats: Els falsos negatius (7,36%) estaven representats per carcinomes escatosos submucosos i tumors no escatosos. Entre les 25 lesions no escatoses el 72% no mostrava cap patró vascular sospitós amb LBE. Els falsos positius (6,04%) eren sobretot canvis mucosos post RDT, úlceres i infeccions. Pel que fa als papil·lomes la precisió diagnòstica arribava als 95,32%, tot i que aquells casos amb displàsia eren difícils de distingir del CECC.

Conclusió: La LBE associada a la LB millora la precisió diagnòstica però no totes les lesions es poden avaluar amb els patrons definits fins ara. Una anamnesi precisa és obligatòria, perquè, en alguns casos, pot ser més rellevant que el patró LBE.

Tercer estudi: Concordança intra i interobservador de la llum de banda estreta per la detecció de neoplàsies de cap i coll

Introducció: La LBE en combinació amb la LB ha millorat la precisió en el diagnòstic i seguiment de carcinomes de cap i coll mitjançant la identificació de canvis en el patró vascular de la mucosa. No obstant, l'exploració amb LBE és explorador depenent i pot veure's influenciada per la corba d'aprenentatge. L'objectiu d'aquest estudi és avaluar la concordança inter i intraobservador de la LBE i la LB a la consulta sota anestèsia local. Tant per observadors experimentats com no experimentats.

Materials i mètodes: Es van recollir vuitanta-set imatges de lesions de cap i coll amb LB i LBE. Un grup de 3 otorrinolaringòlegs experimentats i un de 3 estudiants de medicina van avaluar les imatges després d'una breu formació. No se'ls va proporcionar informació addicional dels pacients. A les tres setmanes es va repetir el mateix protocol. Es va calcular la concordança inter i intraobservador amb l'índex kappa.

Resultats: La concordança intraobservador amb LBE era substancial ($\kappa = 0,62$), millor que amb LB sola que era moderada ($\kappa = 0,57$) en ambdós grups. La concordança interobservador era moderada amb LB ($\kappa = 0,58$) i substancial amb LBE ($\kappa = 0,63$). Ambdós grups van millorar la concordança intraobservador i interobservador amb la implementació de la LBE.

Conclusió: La concordança intra i interobservador de la LBE per l'avaluació de lesions de cap i coll és substancial i millora els resultats de la LB aïllada tant en professionals com en estudiants.

4. Discussió

Els resultats destacats del nostre estudi demostren que l'exploració a la consulta amb LBE és: 1) una tècnica que millora la precisió diagnòstica de la LB en el diagnòstic i seguiment de lesions premalignes i malignes de cap i coll, 2) una tècnica consistent i reproduïble, 3) una tècnica subjectiva que requereix d'una corba d'aprenentatge, 4) que hi ha lesions que tot i presentar patró vascular suggestiu de malignitat no són malignes, i a la vegada, lesions sense alteracions en el patró vascular que presenten canvis histològics característics de lesions malignes.

Les tècniques d'exploració endoscòpiques van aparèixer el segle passat i en qüestió de pocs anys han evolucionat de manera destacada. La incorporació de la LBE als endoscopis de cap i coll ha suposat un augment de la sensibilitat i especificitat en la identificació de tumors primaris en comparació amb la LB⁷⁷.

Pel que fa a l'estudi dels errors, a la literatura no hi ha massa estudis que s'enfoquin en l'estudi dels falsos negatius i dels falsos positius i la majoria de casos publicats es deuen a casos aïllats.

En relació a la reproductibilitat de la tècnica amb LBE en lesions de cap i coll únicament hi ha un estudi a la literatura que avaluï aquest aspecte¹¹⁸ tot i que a nivell metodològic hi ha aspectes que fan que ambdós estudis tot i ser similars no siguin del tot comparables.

4.1 Precisió diagnòstica

En el primer estudi d'aquest treball hem vist que la precisió amb LBE era de 88,9%, més d'un 10% superior a la obtinguda amb LB que era del 74,1%. Pel que fa a altres estudis publicats a la literatura, hi ha coincidència en afirmar que la LBE millora la precisió diagnòstica, tot i que hi ha divergències pel que fa al grau de precisió. Hi ha articles on es publiquen precisions diagnòstiques amb LBE de fins el 97%⁷⁸.

Piazza et al.³² van acoblar al sistema de LBE a una càmera d'alta definició. El fet d'acoblar ambdós sistemes feia que la precisió diagnòstica intraoperatòria augmentés

més d'un 20%. En el mateix estudi van analitzar el valor afegit d'utilitzar LBE en la vigilància postoperatòria per la detecció precoç de tumors metacrònics i de les recurrències, van veure que suposava un guany global del 9,2% en comparació amb la LB tradicional.

Zabrodsky et al.⁹⁰ van estudiar els resultats del seguiment amb LBE a la consulta de 66 pacients amb tumors laringis o hipofaringis tractats amb RDT o QRT. En 17 pacients (25,7%) es va diagnosticar una recurrència tumoral. Van comparar els resultats amb LBE a la consulta respecte LBE amb endoscòpia de magnificació. La sensibilitat era del 88% vs 100%, l'especificitat de 92% en les dues situacions. El valor predictiu positiu era del 76% vs 79%. El valor predictiu negatiu era del 96% ve 100% i la precisió del 92% en ambdós casos. És evident que les càmeres d'alta definició juntament amb l'endoscòpia de magnificació aporta un valor extra a l'exploració. No obstant, rarament es disposa d'aquest equipament a consultes.

4.2 Comparabilitat dels estudis

El fet que l'ús de LBE no s'hagi estandarditzat fa que els resultats dels estudis realitzats no siguin del tot comparables ni generalitzables. En tots els estudis revisats la incorporació de LBE suposa un millora respecte la LB, no obstant a l'hora d'analitzar els resultats val la pena fixar-se en els següents aspectes metodològics.

4.2.1 Tipus de lesions incloses

En els tres estudis que componen aquest treball, només s'han inclòs pacients amb lesions sospitoses i prèviament avaluats per un otorrinolaringòleg. En altres estudis, la LBE s'ha utilitzat en tot tipus de lesions, també en lesions benignes com pòlips, quists i edemes fent que el percentatge de lesions dubtoses o positives sigui menor. Piazza et al.⁷⁹ va avaluar el valor de la LBE en lesions sospitoses de laringe amb resultats pel que fa a sensibilitat, especificitat i precisió diagnòstica similars als nostres.

4.2.2 Avaluació a consulta vs avaluació a quiròfan

En els nostres estudis els pacients s'han avaluat a consulta amb anestèsia local i fibroendoscopi flexibles, en canvi, en la majoria de series el patró vascular s'ha estudiat a quiròfan amb el pacient sota anestèsia general i amb l'ús d'endoscopis rígids que permeten una avaluació de les lesions amb més proximitat. Kraft et al.⁷⁸ va incloure 205 pacients programats per microlaringoscòpia i va avaluar les lesions, moltes d'elles benignes, amb LBE i amb LB obtenint una sensibilitat (97% vs 79%), especificitat (96% vs 95%) i precisió (97% vs 90%) excel·lents. És d'esperar que la precisió diagnòstica millora quan les condicions de l'exploració també ho fan i quan el nombre de lesions que generen dubte són menors.

4.2.3 Classificació de les lesions

En funció de l'estudi analitzat les lesions es classifiquen en dos grups, positives o negatives o en tres grups, negatiu, displàsia o positiu. Això suposa una falta de coherència i la significació d'un resultat positiu variarà segons l'estudi⁸⁷. En els nostres treballs hem subclassificat les lesions en tres grups permetent així una major diferenciació entre els grups. La majoria de lesions benignes són clarament negatives i la majoria de lesions malignes són clarament positives, en general el dubte ve generat per aquelles lesions intermèdies, diferenciar entre negatiu i displàsia lleu o entre displàsia severa i positiu.

4.2.4 Sublocalitzacions analitzades

Val la pena recordar que Gono et al.⁶⁹ van descriure la tècnica fent servir la mucosa de la cara ventral de la llengua per demostrar que eren capaços de visualitzar millor el patró capil·lar en comparació amb la LB i que el primer estudi clínic es va realitzar en mucosa digestiva del colon. Per tant, la LBE és una tècnica pensada en els seus inicis per l'estudi de lesions de mucosa digestiva, és a dir, mucosa fina i no queratinitzada. Conseqüentment, les sublocalitzacions ideals per l'examinació amb LBE són la laringe

i la hipofaringe. Per aquest motiu, en l'estudi de reproductibilitat, atenent l'explicació pretest només s'inclouïa la classificació proposada per Ni et al.⁹⁴, es va optar per eliminar les lesions de cavitat oral i orofaringe que inicialment s'havien seleccionat.

Per altra banda, és cert que la facilitat amb la que la llum convencional passa a LBE ha permès el seu ús extensiu a mucosa de cavitat oral i orofaringe obtenint uns resultats diagnòstics similars tot i el major gruix de l'epiteli⁷⁴ i ha demostrat que, en aquestes sublocalitzacions, es tracta d'una tècnica ràpida, segura i ben tolerada⁹⁶⁻⁹⁸.

Piazza et al.¹¹⁹ van publicar un estudi prospectiu on analitzaven el paper de la LBE com una eina de "biòpsia òptica" per leucoplàsies i eritroplàsies de cavitat oral i orofaringe. Ells mostraven que la LBE reduïa significativament la taxa de falsos positius i falsos negatius en el diagnòstic de carcinoma escatós en comparació amb la LB. Els nostres resultats també van en aquesta línia i l'especificitat i la precisió milloren clarament quan s'afegeix LBE.

Aquests resultats fan pensar que el gruix de l'epiteli i la queratinització no és igual a diferents subàrees de la cavitat oral, ni sempre impedeix la penetració de la llum blava i verda per visualitzar el BCPI. A més, molts cops les lesions de la cavitat oral es manifesten com úlceres i la LBE pot ser d'ajuda a l'hora d'estudiar els marges¹¹⁹.

4.3 Validació i estandardització dels patrons de Ni i Takano

La dificultat a l'hora de comparar estudis s'agreuja si tenim en compte que, a dia d'avui, no hi ha cap classificació dels patrons vasculars en lesions neoplàsiques i no neoplàsiques que estigui internacionalment acceptat. Per tant, les dades d'especificitat i sensibilitat que es publiquen als estudis, tot i ser bones, no són comparables, ja que es basen en avaluacions no estandarditzades⁹⁵.

En els treballs que hem publicat s'han fet servir els patrons vasculars descrits per Takano et al. el 2010⁹¹ i Ni et al. el 2011⁹⁴. Ambdues classificacions s'utilitzen àmpliament però no han estat àmpliament validades.

Bertino et al.⁹⁵ van validar la classificació de Ni. Van estudiar 248 pacients amb lesions faringolaríngies i van classificar els patrons vasculars en 5 graus d'acord amb el que havia proposat Ni⁹⁴. Van veure que la sensibilitat, especificitat, precisió, valor predictiu positiu, i valor predictiu negatiu eren 97,4%, 84,6%, 92,7%, 91,6% i 95,1% respectivament. El 98% de les lesions malignes presentaven un patró vascular tipus V mentre que el 84,8% de les lesions no neoplàsiques presentaven patrons vasculars I-IV. La relació trobada entre lesions neoplàsiques i patró V i lesions no neoplàsiques i patrons I-IV va confirmar la validesa de la classificació de Ni.

4.4 Falsos negatius i falsos positius

La majoria d'estudis al voltant de la LBE es dissenyen per estudiar la precisió diagnòstica, la sensibilitat i l'especificitat. Ja veient que ni en el millor escenari s'aconsegueix un 100% val la pena estudiar en quines lesions la LBE no aporta informació respecte la LB o fins i tot si pot ser factor de confusió.

Fins ara, escassos estudis s'han dissenyat específicament de cara a l'anàlisi dels falsos positius i els falsos negatius de la LBE en lesions de cap i coll. Pel que fa als nostres resultats, els falsos negatius es deuen principalment a tumors escatosos submucosos, tumors no escatosos, lesions necròtiques, i en menor freqüència, també en lesions inflamatòries o en mucoses que han rebut RDT. Els falsos positius es deuen principalment a canvis post RDT, leucoplàsies, infeccions i úlceres.

Piazza et al.¹¹⁹ van revisar 128 pacients amb leucoplàsies i eritroplàsies orofaríngies. La taxa de falsos positius era de 32% sota visió directa i disminuïa a 27% amb LB i a 15% amb LBE. Pel que fa als falsos negatius eren de 49%, 22% i 11% respectivament.

Bertino et al.¹¹⁵ van trobar una taxa de falsos positius amb LBE de 35.5%, no obstant en aquest estudi la meitat dels falsos positius eren papil·lomatosis ja que s'havien considerat com sospitosos de malignitat tots aquells casos amb leucoplàsia o eritroplàsia i en qualsevol lesió exofítica o ulcerada. Aquesta falta d'uniformitat en els estudis conforma de nou la dificultat en comparar els resultats.

A banda d'aquests dos estudis, a la literatura hi ha casos clínics publicats que demostren que la LBE no és infal·lible, com per exemple el cas d'una lesió faríngia de >2cm que no es detectava amb LBE i en canvi sí que es posava de manifest amb tinció amb Lugol¹²⁰. En aquest cas concret la histologia confirmava la baixa densitat de vascularització de la lesió.

A continuació s'exposen per separat les lesions que de manera més freqüent indueixen a error.

4.4.1 Papil·lomatosis

La papil·lomatosis és una de les lesions que generen més dubte a l'hora d'avaluar amb LBE. Tjon Pian Gi et al.¹²¹ van estudiar per primera vegada la utilitat de la LBE en la detecció de papil·lomatosis respiratòria recurrent i reportaven una altíssima sensibilitat (97%) però amb baixa especificitat (28%). Les lesions papil·lomatoses presenten canvis en el patró de BCPI molt similars als que es veuen en lesions positives, amb puntejat marró de formes diverses i vasos dilatats, això fa que l'avaluació de lesions papil·lomatoses generi elevat nombre de falsos positius⁹⁵.

En la papil·lomatosis la densitat de vasos sanguinis no suposa un predictor de degeneració maligna ja que s'ha vist que tant en lesions incipients com en papil·lomes que progressen a carcinoma s'evidencien vasos sanguinis elongats¹²².

Per ajudar a diferenciar millor la papil·lomatosis del carcinoma escatós de cap i coll Lukes et al.¹²³ van descriure en el seu article que calia fixar-se en la superfície de l'epiteli, que és llis enlloc de rugós, i en la formació típica de papil·les amb un capil·lar central que es distribueixen de manera més o menys regular. Aplicant aquesta idea, en el seu estudi van obtenir una sensibilitat i especificitat per carcinoma escatós del 100% i del 82% respectivament i per papil·lomatosis del 94% i del 100% respectivament. La presència de múltiples lesions satèl·lit ens faran pensar també en papil·loma.

Ochsner i Kleins¹²⁴ van analitzar de manera retrospectiva la utilitat de la LBE en l'estudi de la papil·lomatosis laríngia en el pacient despert a la consulta. Per fer-ho van

realitzar fotografies de 10 pacients amb lesions papil·lomatoses laríngies, cada lesió es fotografiava amb LBE i LB i es mostrava a laringòlegs. Van concloure que en el 90% dels casos la LBE millorava la visualització de la lesió i que en el 46,7% dels casos la LBE mostrava àrees de teixit afectat que no es posaven de manifest sota LB. No obstant, en el 16,7% dels casos passava tot el contrari i amb la LBE era més difícil de visualitzar àrees d'afectació tissular.

Pel que fa als nostres resultats, els papil·lomes en general presenten un patró característic que permet una alta precisió diagnòstica (95,23% amb LBE i 82,92% amb LB). La dificultat ve donada quan els papil·lomes presenten canvis displàsics que compliquen la seva diferenciació respecte el patró tipus V descrit per Ni et al.⁹⁴. En aquest cas podria estar indicada la realització d'una biòpsia a la consulta abans de planificar el tractament (Figura 7).

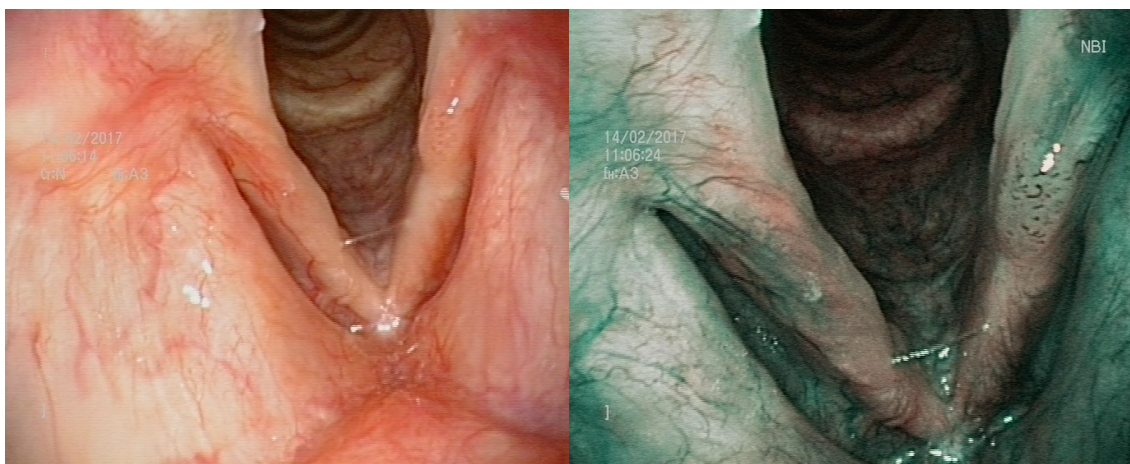


Figura 7. Papil·lomatosi de terç posterior de corda vocal esquerra.

4.4.2 Radioteràpia prèvia

El seguiment de pacients amb tumors de cap i coll tractats amb QRT ha estat des de sempre difícil. Els canvis que es produeixen, tals com mucositis, edema, fibrosi o radionecrosi fan que diferenciar entre la seqüela i una possible persistència o recidiva sigui extremadament complicat en determinats casos. Per altra, en alguns casos la

persistència tumoral pot ser en profunditat mantenint una mucosa d'aspecte quasi normal. Si tenim en compte doncs, el nombre creixent de pacients que entren en protocols de preservació d'òrgan, els canvis endoscòpics que tenen lloc post QRT, el risc de segones neoplàsies i el fet que el diagnòstic precoç de la persistència i/o recidiva és determinant en el pronòstic, ens n'adonem que, el seguiment d'aquests pacients suposa un repte majúscul pels professionals¹²⁵.

Tot i que el control d'aquest malalts forma part del dia a dia de molts hospitals, hi ha escassos articles en la literatura que s'enfoquin en la RDT i el seguiment amb LBE. Piazza et al.⁸⁰ van estudiar a la consulta, amb LBE i endoscopi flexible 59 pacients que havien rebut RDT de manera combinada o aïllada com a tractament de lesions neoplàsiques de cap i coll. En 13 pacients van detectar lesions sospitoses que van ser avaluades a quiròfan sota anestèsia general i endoscopi rígid. De les 13 lesions, 12 van resultar ser positives per carcinoma escatós i només una va ser un fals positiu. Amb aquestes dades consideraren que la LBE, en pacients que havien rebut RDT, tenia una sensibilitat i un valor predictiu negatiu de 100%, una especificitat de 98%, un valor predictiu positiu de 92% i una precisió de 98%.

Lin et al.¹²⁶ van concloure que la RDT prèvia en pacients amb CECC no afectava a la detecció de lesions precanceroses de mucosa d'orofaringe i hipofaringe. Zabrosdsky et al.⁹⁰ també van concloure que el seguiment de pacients tractats de CECC amb RDT es beneficiava del seguiment amb LBE a la consulta.

No obstant els resultats publicats en la literatura, en la nostra experiència veiem que tot i el paper de LBE en el seguiment d'aquest subgrup de població, i els avantatges que suposa, la RDT prèvia és el causant de la majoria de falsos positius. Per una banda, pel patró vascular que se'n deriva de la inflamació crònica, la hipervascularització (Figura 8) i de la necrosis (Figura 9) i per altra banda, per la dificultat en l'exploració que genera l'edema de la mucosa (Figura 10) i l'augment de secreció de moc viscosos en detriment de la menor producció de les glàndules salivals.

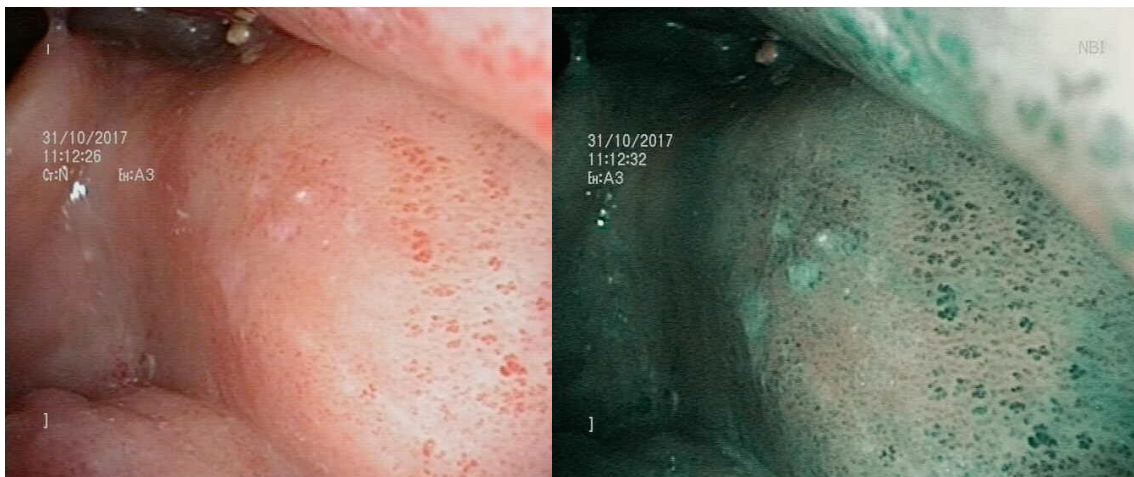


Figura 8. Àrea d'hipervascularització secundària a RDT.



Figura 9. Radionecrosi.



Figura 10. Edema de mucosa aritenoidea secundari a RDT.

4.4.3 Tuberculosi

Pel que fa a la tuberculosi laríngia només hi ha un article que descriu el patró de la LBE¹²⁷. Hi ha un altre article que fa referència a LBE i tuberculosi, en aquest cas a nivell gàstric, on defineixen un patró amb petits vasos dilatats i en espiral o microvasos amb una superfície amorfa¹²⁸. En la nostra experiència hem tingut dos casos de tuberculosi laríngia, un es va presentar en forma de múltiples úlceres laríngies. L'altre mostrava múltiples lesions exofítiques que, per la distribució de les lesions, ens van fer pensar en una papil·lomatosis tot i presentar un patró vascular tipus Vc amb LBE (Figura 11).

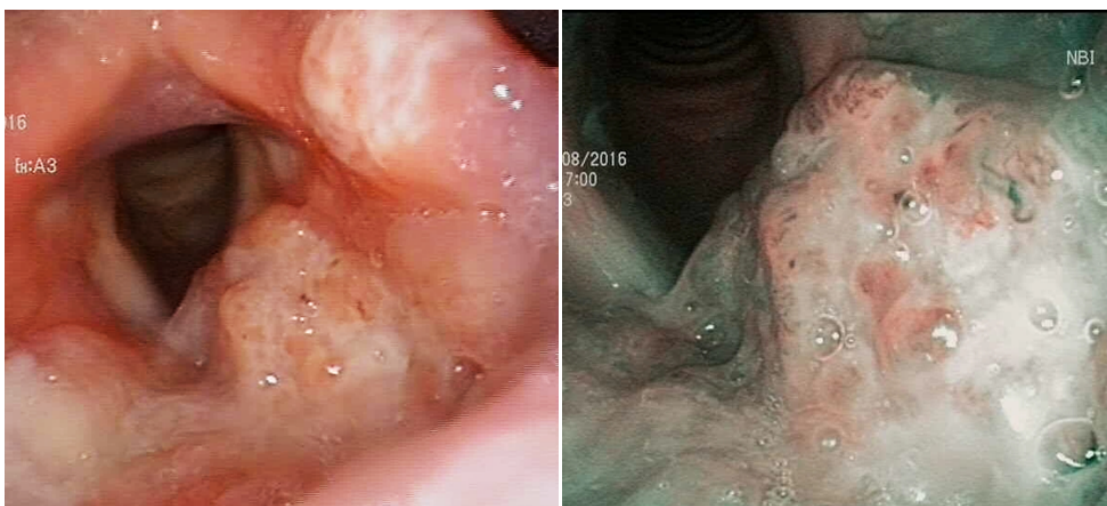


Figura 11. Tuberculosi laríngia.

4.4.4 Altres infeccions

A banda de la infecció per VPH i la tuberculosi hi ha altres infeccions que poden mimetitzar displàsies moderades o fins i tot carcinoma. És el cas per exemple d'infeccions fúngiques (Figura 12) o d'úlceres sifíltiques (Figura 13).

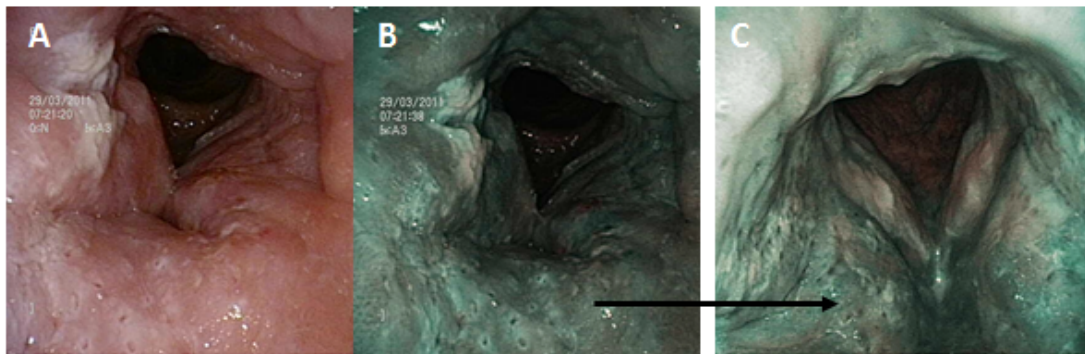


Figura 12. A i B mostren una infecció fúngica a nivell laringi. C displàsia laringia moderada. Destaca la similitud de l'aspecte sota LBE de B i C (fletxa).

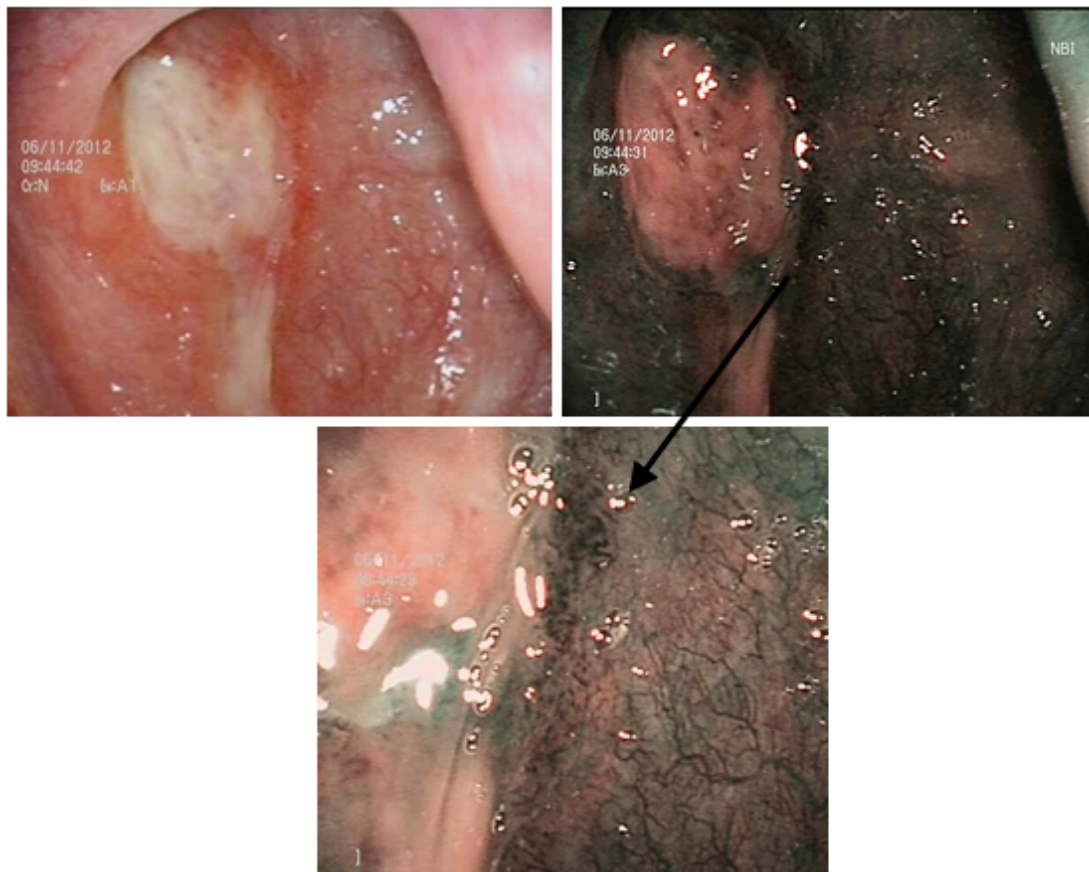


Figura 13. Úlcera sifilítica. La fletxa mostra vasos irregulars al voltant de la úlcera que es visualitzen sota LBE.

Pel que fa a la literatura en cap i coll, no hi ha descripcions específiques d'aquestes lesions ni del seu patró específic amb LBE. No obstant hi ha dos casos publicats en altres àrees. El primer descriu una criptococcosis endobronquial que es visualitzava com una placa sobre elevada amb dilatació irregular dels vasos, l'anatomia patològica va confirmar la presència de *Cryptococcus neoformans* i amb el tractament amb fluconazol aquestes lesions van desaparèixer¹²⁹. L'altre cas publicat és el d'una candidiasis esofàgica extensa. Publiquen la utilitat de la LBE no en la candidiasis en sí, que la descriuen com plaques blanques que no capten la llum de banda estreta, sinó de cara a la seva utilitat en la localització de punts de fibrina en una pacient amb sagnat de varius esofàgiques¹³⁰.

4.4.5 Amiloïdosi

L'amiloïdosi laríngia és una entitat poc freqüent que consisteix en el dipòsit de proteïnes fibril·lars extracel·lularment. A nivell otorrinolaringològic l'afectació laríngia aïllada és el més freqüent. A la literatura hi ha nombrosos casos publicats tot com a casos clínics aïllats i no consta la descripció del seu patró amb LBE. En la nostra experiència, en determinats casos que es presenten com una lesió exofítica aïllada es poden generar dubtes. No obstant el patró de LBE sol ser de tipus II (figura 14).

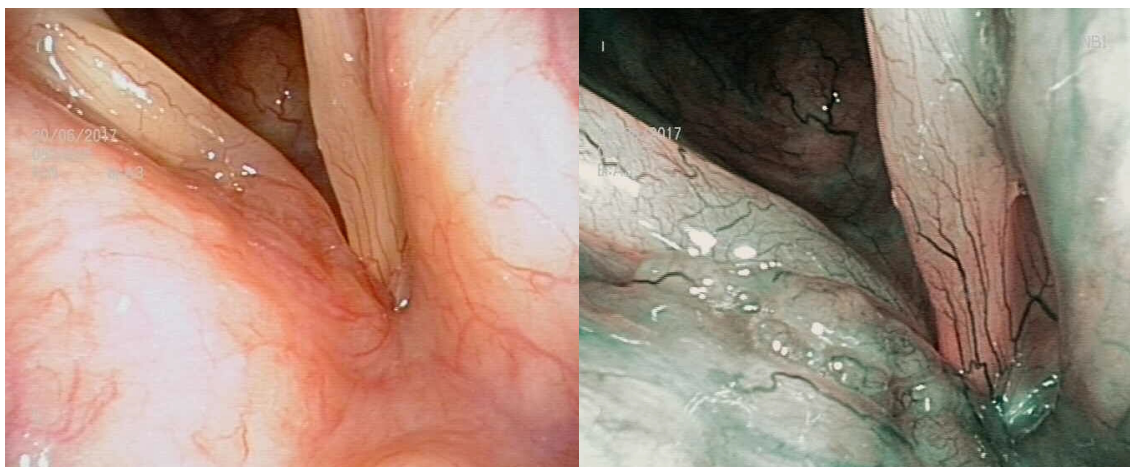


Figura 14. Amiloïdosi laríngia que afecta terç anterior de banda dreta.

4.4.6 Tumors neuroendocrins

Yamasaki et al.¹³¹ van descriure el patró del carcinoma neuroendocrí de colon com microvasos irregulars i disruptius i absència de patró vascular en les àrees deprimides. El carcinoma neuroendocrí de laringe és excepcional i suposa <1% de les neoplàsies laríngies¹³⁹, fins ara no se n'ha descrit cap patró vascular. Un dels nostres casos es va presentar com una massa ulcerada amb marges irregulars, l'altre, com un nòdul llis a l'epiglòtis i replec aritenoepiglòtic sense cap patró vascular sospitós en superfície (Figura 15). Aquesta gran varietat de presentació fa que no es pugui establir un patró vascular característic, conseqüentment, la LBE probablement no té valor en el diagnòstic d'aquest tipus de tumors.

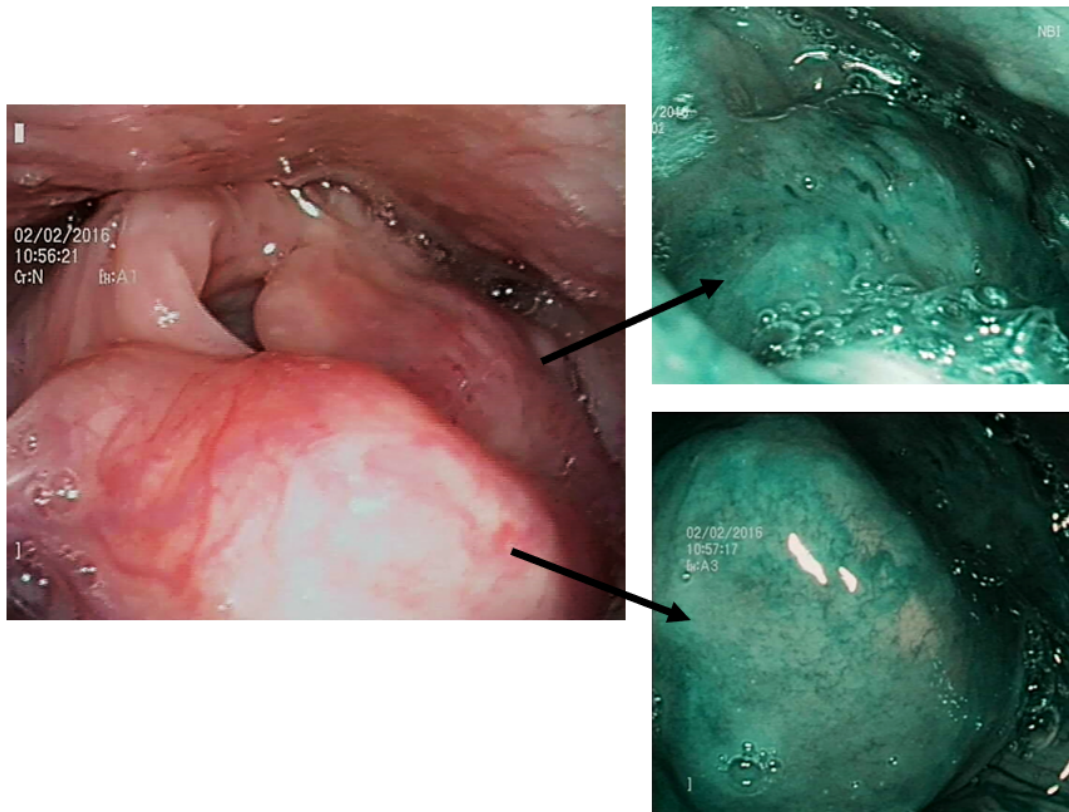


Figura 15. Tumor neuroendocrí. Presenta patró vascular normal sota LBE a nivell epiglòtic, en canvi a nivell aritenoepiglòtic s'evidencien alguns vasos dilatats.

4.4.7 Sarcomes

Els sarcomes també són un tipus histològic infreqüent i no hi ha publicada cap descripció del seu patró en cap i coll. Nonaka et al.¹³³ van publicar el cas d'un sarcoma de cèl·lula dendrítica interdigital del duodè. La lesió era elevada i amb LBE s'evidenciava la presència de vellositats blanquinoses i inflades sense seguir el patró típic de BCPI del carcinoma escatós. Els nostres dos casos de sarcoma de Kaposi tenien aspecte de lesió vascular sobrelevada en un cas, i d'augment de volum amigdal·lar amb vascularització sense patró de BCPI en l'altre.

4.4.8 Limfomes

Pel que fa als processos limfoproliferatius, hi ha nombrosos articles publicats que relacionen limfomes gastrointestinals i les seves característiques sota LBE. En dos casos de limfomes colorectals van descriure que l'endoscòpia de magnificació amb LBE va ser d'utilitat a l'hora de determinar la presència de microvasos enrotllats i allargats a la superfície de la lesió, característica que no s'observa mai en àrees d'hiperplasia limfoide¹³⁴. Arrel d'aquest tret diferencial els autors d'aquest articles van concloure que la LBE era una eina diagnòstica útil en la diferenciació de la hiperplàsia limfoide i el limfoma¹³⁵.

Ono et al.¹³⁶ també van descriure la presència de patró de vascularització anòmal en limfomes gàstrics. Van descriure àrees amb microvasos dilatats, destruïts, de forma anòmala i de mida anòmala. De totes maneres aquests canvis en la vascularització també es troben en carcinomes gàstrics, fent que la diferenciació entre limfoma i carcinoma amb LBE sigui difícil⁴⁵.

Petersen et al.¹³⁷ van descriure el cas d'un limfoma de mucosa nasal que passava totalment desapercebut amb LB i que en canvi es posava de manifest amb LBE. Pel que fa a la nostra experiència, a nivell de cap i coll els limfomes no solen presentar cap patró característic i la sospita ve derivada en major part per la història clínica i l'exploració amb LB. En les figures 16 i 17 es poden veure dos casos de limfomes.

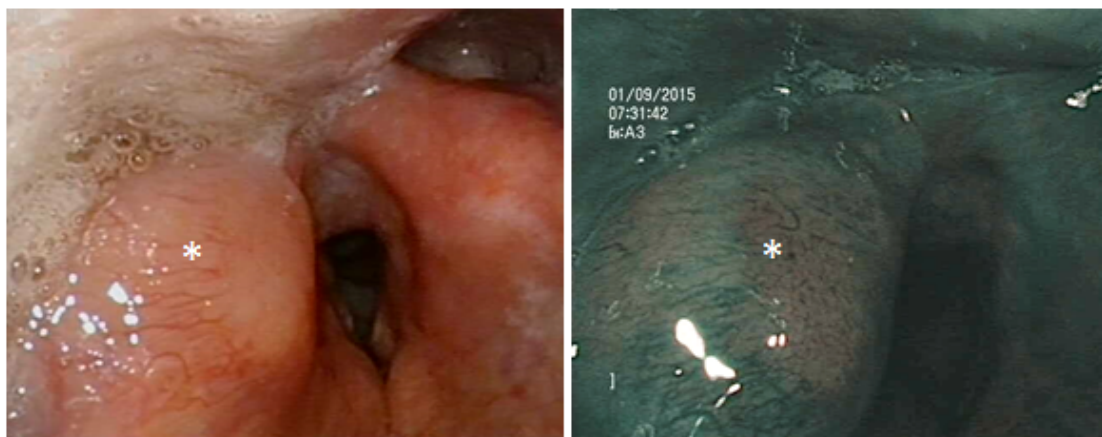


Figura 16. Limfoma del mantell a aritenoides dret

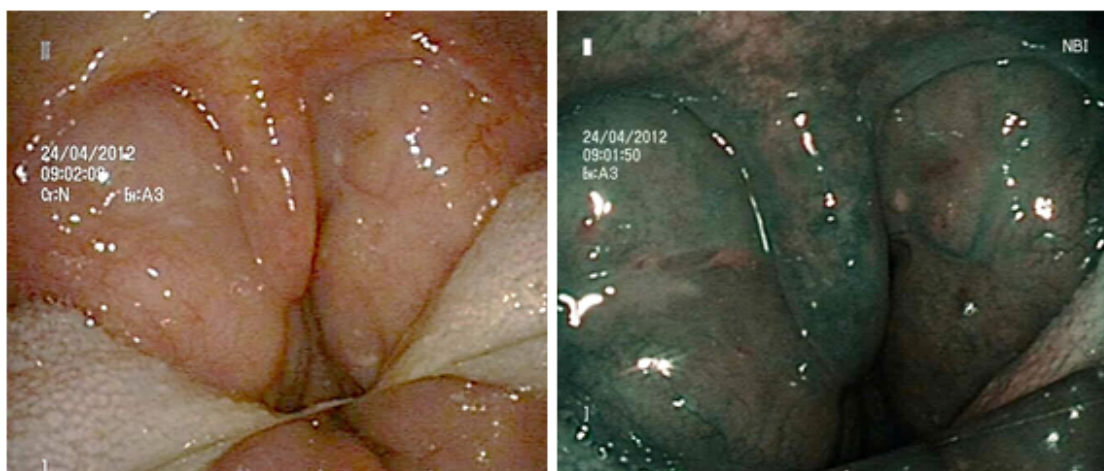


Figura 17. Augment de volum amigdalari bilateral en pacient amb leucèmia limfàtica crònica.

4.4.9 Carcinoma escatós submucós

Tal i com es comentarà posteriorment una de les limitacions de la LBE és l'exploració de tumoracions submucoses ja que la llum no penetra en profunditat i per tant no es pot valorar el patró de vascularització de la lesió. A la figura 18 es pot observar un CECC creixent a nivell submucós i per tant, sense cap patró característic amb LBE. La difícil avaluació d'aquests tumors fa que hi hagi major risc de falsos negatius.



Figura 18. CECC afectant la paret posterior de l'orofaringe. No alteracions en el patró vascular sota LBE.

4.5 Consistència

A l'hora d'estimar la consistència d'un test diagnòstic, és important determinar la fiabilitat del test mitjançant l'estudi de la concordança test-retest intraobservador i també la concordança entre diferents observadors¹¹². Des d'aquest punt de vista, els resultats obtinguts demostren que, tot i haver de fer front a la presència de secrecions, la náusea i la manca de col·laboració per part d'alguns pacients, la LBE millora la fiabilitat inter i intraobservador de la LB durant l'exploració de lesions de la VAS mitjançant un endoscopi flexible a la consulta. Fins ara únicament Zwakenberg et al.¹¹⁸ havien abordat de manera específica aquesta concordança tot i que ells ho van analitzar en el més còmode dels escenaris, és a dir, a quiròfan, sota anestèsia general i amb endoscopis rígids, permetent així, estudiar les lesions amb proximitat. Una altra diferència en el disseny de l'estudi és que van classificar les lesions en dos grups (benigne/maligne) enlloc de tres (benigne/dubtos/maligne). Els autors també van incloure un grup d'avaluadors experts i un de novells. Ells van incloure 4 cirurgians amb més de 10 anys d'experiència en laringologia o en oncologia de cap i coll, 4 residents de otorrinolaringologia i, 4 metges involucrats en la recerca en el camp de la otorrinolaringologia però sense experiència clínica. Nosaltres vam seleccionar un grup

de 3 otorrinolaringòlegs experimentats i 3 estudiants de medicina sense experiència en l'avaluació de lesions de cap i coll ni en LBE. Tot i les diferències metodològiques, els resultats d'ambdós estudis són concordants.

La concordança de la LBE ha estat estudiada en altres àrees d'aplicació de la tècnica. Yoo et al.¹¹⁵ va estimar la fiabilitat de la LBE en neoplàsies gàstriques. Alvarez et al.¹¹⁶ ho va fer en esòfag de Barret, i Lee et al.¹¹⁷ en la gradació mitjançant LBE de l'esofagitis.

És important tenir en compte que durant l'anàlisi de la concordança en cap moment hem analitzat el resultat histopatològic de les lesions ni tampoc el grau d'incert, o precisió, dels participants.

4.5.1 Concordança intraobservador

La concordança intraobservador va millorar amb l'addició de la LBE en tres dels participants, mentre que en els altres tres es va mantenir amb valors de κ similars a la LB (professional 2 i 3, i estudiant 2). Zwakenberg et al.¹¹⁸ van reportar millors resultats amb l'ús de LBE en tots els participants. Lee et al.¹¹⁷ van observar que la LBE millorava la concordança de 3 dels 7 endoscopistes experimentats que van participar, en els altres 4 els resultats eren similars als obtinguts amb LB.

Yoo et al.¹¹⁵ van analitzar la concordança intraobservador en l'estudi de neoplàsies gàstriques, el valor κ global era de 0,69 però hi havia una gran variabilitat de valors entre els observadors que es movien entre 0,51 i 0,90. En el nostre estudi el valor κ global va ser de 0,61, és a dir, una concordança substancial. Entre professionals el valor κ era 0,66 i entre estudiants era 0,55. Entre professionals vam obtenir una concordança intraobservador millor que entre estudiants quan s'utilitzava la LBE.

4.5.2 Concordança interobservador

Pel que fa a la concordança interobservador, el fet d'afegir LBE a la LB va millorar els valors globals d'una concordança moderada a substancial. Analitzant el subgrup de

professionals la concordança es mantenia substancial i en estudiants es mantenia moderada, no obstant, en ambdues situacions, els valors de κ milloraven amb la LBE.

Els altres estudis també coincideixen en trobar major concordança entre experts que entre novells. Això suggereix que l'experiència és un factor important en la concordança. Zwakenberg et al.¹¹⁸ també van trobar un augment de la concordança de $\kappa = 0,34$ a $\kappa = 0,40$ quan s'afegia la LBE. Entre observadors experimentats la concordança va passar de justa quan es feia servir LB sola a moderada quan s'afegia LBE. No obstant, entre el grup de no experimentats la concordança es va mantenir justa tant amb LB com LBE.

Álvarez et al.¹¹⁶ va objectivar resultats similars amb LB i LBE en l'estudi de l'esòfag de Barret amb valors de κ de 0,42 a 0,44. Lee et al.¹¹⁷ va veure que amb LBE s'obtenia una clara millora en comparació amb LB, amb valors κ de 0,63 i 0,45 respectivament.

Els resultats obtinguts en el nostre estudi estan en relació amb els dels estudis previs. L'ús de LBE va resultar en una millora de la concordança, passant de un valor κ de 0,57 (moderat) amb LB a 0,62 (substancial) afegint LBE.

Per altra banda, Yoo et al.¹¹⁵ va publicar una concordança interobservador moderada de 0,42 (0,49 en experts i 0,40 en aprenents). Ells van veure que la concordança interobservador disminuïa de forma discreta en el segon test sense tornar a entrenar. Per tant, van concloure que la concordança estava directament relacionada amb l'entrenament i que la disminució del valor de κ es podria relacionar amb una ignorància de la tècnica LBE. És interessant perquè en aquest estudi els resultats no són satisfactoris ni en el grup d'experts, ells ho justifiquen dient que les diferències es deuen al desconeixement de la LBE. Aquest és un dels motius pels quals es va realitzar un entrenament pretest, tant en un inici com a les tres setmanes en el nostre estudi.

4.6 Probabilitat de desenvolupar CECC segons resultats LBE

Per tal d'establir l'especificitat de la LBE hauríem de realitzar biòpsies a totes les lesions, no obstant, això no és èticament possible ja que hi ha lesions que tenen clar aspecte de benignitat. Watanabe et al.⁷² van ser els primers a establir un protocol per calcular l'especificitat de la LBE. Van considerar que aquelles lesions no sospitoses que no desenvolupaven un CECC durant un mínim de 13 mesos de seguiment eren lesions verdaderament benignes, encara que no hi hagués confirmació histològica. Nosaltres ens vam basar en el mateix concepte tot i que amb petites adaptacions. Vam estendre el període de temps de seguiment per poder analitzar el risc de conversió a carcinoma en el temps segons el tipus de patró vascular. Així vam poder estimar la taxa de supervivència lliure de carcinoma a 4 anys en una cohort de pacients que només havien estat seguits de prop sense biòpsia.

Resultat d'aquest seguiment vam veure que hi havia risc de degeneració maligne al llarg del temps, especialment en el subgrup de pacients que presentaven un patró de displàsia moderada o severa o en aquells amb lesions ulceratives que havien rebut QRT prèvia. Les lesions suggestives de displàsia lleu o negatives presentaven un risc de malignització del 11,1% mentre que si el patró vascular era suggestiu de displàsia moderada o severa el risc augmentava al 26,5%. Aquestes dades són comparables a les establertes clàssicament d'acord al criteri histològic de displàsia lleu i displàsia moderada o severa⁸². Basant-nos en aquest resultats la LBE sembla que seria una bona alternativa a la biòpsia per determinar el pronòstic de lesions premalignes cròniques sense tractament.

Un cop analitzats amb detall aquells casos que van acabar malignitzant a carcinoma vam veure que hi havia certes ocasions en les que la utilitat de la LBE era menys evident. Tractaments previs amb QMT i/o RDT feien que el patró vascular fos de difícil interpretació ja que es confonia fàcilment amb inflamació, a més, fins ara no s'han descrit patrons de referència per aquests subgrups. En aquells pacient amb lesions malignes tractades prèviament que presentaven risc de recurrència local a nivell

submucós, la LBE no era d'utilitat ja que només aporta informació de la part superficial de la mucosa. Pel que fa a la papil·lomatosis en adults la LBE tampoc seria útil com a marcador de degeneració, ja que sovint presenten un patró vascular que pot generar molta confusió i la presència d'un patró tipus V no sempre es tradueix a nivell histològic.

En canvi, les variacions en lesions displàsiques superficials es poden monitoritzar fàcilment durant l'exploració amb LBE a la consulta. Els canvis en el color, el patró vascular i la regularitat de la mucosa permeten, en la majoria de pacients, la realització d'un diagnòstic precoç i, conseqüentment, en la majoria de vegades també un tractament mínimament invasiu.

4.7 Futur com a tècnica de cribratge

Com s'ha dit a la introducció, a dia d'avui no disposem d'una tècnica de diagnòstic precoç estandarditzada pel càncer de cap i coll. El fet de que la LBE tingui un alt valor predictiu negatiu, permet afirmar amb seguretat que un pacient amb una exploració negativa amb LB i amb LBE té una alta probabilitat de no tenir una neoplàsia de cap i coll⁸⁷. Aquest aspecte és de gran interès ja que pot ser útil a l'hora de fer un seguiment, no intervencionista basat en exploracions periòdiques, en pacients amb una exploració no sospitosa, però amb factors de risc.

Pel que fa a les característiques que han de complir els tests diagnòstics de cribratge, idealment han de realitzar-se en poblacions o subgrups de població on la malaltia a descartar sigui freqüent per tal de treure-li el màxim rendiment. També és important conèixer la història natural de la malaltia, que aquesta tingui una fase pressimptomàtica i que la intervenció precoç millori el pronòstic. El test ha de ser fàcil i mínimament invasiu, amb un alt valor predictiu positiu i sensible per descartar la població sana¹⁰⁸. La LBE realitzada en un subgrup de població de risc com per exemple pacients grans fumadors i/o bevedors i en pacients amb antecedent de neoplàsies de VAS compliria les característiques d'un test ideal de cribratge. No

obstant, calen estudis que determinin si és cost eficaç la utilització rutinària de la LBE en pacients de risc.

Similar al cribratge, la LBE juga un paper important ens aquells pacients que tradicionalment han estat classificats d'afectació nodal amb primari desconegut (Figura 19). En molts d'aquest pacients la imatge amb LB, la tomografia computeritzada i la tomografia per emissió de positrons són negatives. En aquest casos una exploració detallada amb LBE pot canviar radicalment el diagnòstic, el tractament i el pronòstic¹³⁸.



Figura 19. Lesió amb patró vascular suggestiu de malignitat en LBE que passa per alt amb LB.

4.8 Limitacions de la LBE

Tot i que ha demostrat ser una prova diagnòstica excel·lent, presenta certes limitacions. La primera d'elles és la presència de sagnat, ja sigui per traumatisme durant la inserció de l'endoscopi o posterior a la biòpsia. En cas de sagnat l'hemoglobina extravasada absorbeix tota la llum blava, es tenyeix la mucosa de negre fent impossible l'avaluació del patró capil·lar superficial.

Una limitació important quan efectuem l'exploració amb el pacient despert a la consulta és que es requereix apropar l'endoscopi a la mucosa per determinar amb seguretat les característiques vasculares de la lesió. Aquesta proximitat pot desencadenar el reflex

nauseabund. Similar al que es produeix quan hi ha extravasació d'hemoglobina, en pacient desperts a la consulta, la presència de secreció i de saliva pot limitar enormement l'exploració, ja que crearà una pel·lícula sobre la mucosa, que impedirà la visualització del patró vascular, a la vegada que embrutarà l'endoscopi.

A banda d'això, com s'ha vist en l'estudi de falsos positius i falsos negatius, hi ha escenaris en que la LBE pot no ser útil. En limfomes, tumors submucosos, tumors neuroendocrins, la biòpsia és indispensable.

Finalment, la corba d'aprenentatge suposa una altra limitació a l'hora d'avaluar lesions amb LBE. Durant l'aprenentatge de la tècnica augmenten els falsos positius i per tant les biòpsies innecessàries. Segons Piazza et al.¹¹⁹ els principals falsos positius que es produeixen durant el procés d'aprenentatge es deuen a lesions inflamatòries agudes i a canvis secundaris a RDT. Piazza et al. van descriure un 13,7% de falsos positius, 70% dels quals corresponien als tres primers mesos de la corba d'aprenentatge¹¹⁹. Per avaluar el paper de la corba d'aprenentatge vam analitzar els resultats obtinguts en el primer període de l'estudi (època en que les classificacions dels patrons vasculars no existien o estaven poc esteses) i es van comparar amb els resultats obtinguts dels pacients avaluats durant la segona meitat de l'estudi. Vam veure que a major experiència de l'observador la precisió diagnòstica augmentava un 7%. L'àrea sota la corba del segon grup de pacients estava per sobre el 0,9, representant una precisió diagnòstica excel·lent¹¹⁴. També vam veure que a partir de 200 casos avaluats s'arribava a un "plateau" i la precisió diagnòstica ja no millorava. Avui dia, és d'esperar que els nous especialistes que aprenen la tècnica de LBE tinguin una corba d'aprenentatge més curta, ja que molts d'ells aprendran de la mà de personal sènior i, per altra banda, la publicació dels patrons vasculars de laringe i de cavitat oral facilita la classificació de les lesions.

La variabilitat inter i intraobservador podria plantejar-se com una limitació de la LBE en sí. Aquest és el motiu pel qual vam decidir posar en marxa l'estudi de la concordança de la tècnica. Zwakenberg et al.¹¹⁸ van analitzar la variabilitat intra i interobservador

fent servir endoscopis rígids amb el pacient a quiròfan. Van veure que afegint la LBE millorava la variabilitat intra i interobservador, independentment del grau d'experiència de l'observador. Els resultats concorden amb els obtinguts en el nostre estudi.

4.9 Limitacions dels estudis

Entre les limitacions dels estudis que formen part d'aquesta tesi cal destacar que l'exploració amb LBE sempre es realitza després de la LB, per tant en realitat els resultats no són de LBE de manera aïllada, són de LB amb LBE. Idealment hagués sigut interessant poder randomitzar les exploracions i comparar LB i LBE de manera separada, no obstant, a la pràctica clínica se sol començar amb LB i després s'alterna amb LBE per examinar de manera exhaustiva les diverses sublocalitzacions. Una altra possible limitació és l'anàlisi retrospectiu de les dades, tot i que les imatges es recol·lecten prospectivament, en el cas particular de l'estudi de precisió diagnòstica podria estar esbiaixat i podria reflectir, en part, l'experiència de l'examinador.

Una tercera limitació recau en la graduació anatomopatològica de les lesions. Per classificar les lesions displàsiques a nivell histològic el nostre centre fa servir la classificació de l'Organització Mundial de la Salut de 2005^{139,140}. Un estudi recent demostra que, amb aquesta classificació, la discordança interobservador més gran la trobem entre lesions amb displàsia moderada i severa¹⁴¹. Aquesta limitació afecta, per tant, tots aquelles estudis que incloguin aquest tipus de displàsia. No obstant, en els nostres estudis aquesta és una limitació sense massa significació ja que en l'estudi de la precisió diagnòstica i en l'estudi dels errors la displàsia moderada i la severa s'inclouen en el mateix grup. A més a més, al nostre centre les mostres les avalua un patòleg expert en cap i coll. En l'estudi de la reproductibilitat, no es va relacionar el patró amb LBE amb la histologia per tant, aquesta no suposaria cap limitació.

Pel que fa a l'estudi dels errors la principal limitació és que hi ha pocs casos per cada subtipus histològic, fent difícil el poder establir una patró vascular per cadascun d'ells. En realitat això es deu a la baixa prevalença de lesions no escatoses en cap i coll i a

l'alta precisió diagnòstica amb la LBE ja que de les 530 lesions només 29 van resultar ser falsos negatius.

En l'estudi de la variabilitat inter i intraobservador una possible limitació és el fet que els observadors decidien el patró vascular en base a una imatge, mentre que en la pràctica clínica real els examinadors disposen de imatges en vídeo i dades d'història clínica. Una altra possible limitació és el fet d'haver presentat imatges de diferents sublocalitzacions sense tenir en compte que la consistència podria veure's influenciada per aquestes sublocalitzacions. Per aquest motiu les imatges provinents de cavitat oral i orofaringe van ser excloses de l'anàlisi.

4.10 Punts forts dels estudis

El gran nombre de lesions avaluades i la distribució en diverses sublocalitzacions, fa que l'estudi de precisió diagnòstica sigui un dels estudis publicats a la literatura que inclou més lesions.

A banda d'això, cal destacar que l'avaluació endoscòpica ha estat realitzada per un examinador expert i que els anatomopatòlegs desconeixien les troballes de l'endoscòpia.

El fet de que els tres estudis s'hagin realitzat amb pacients sota anestèsia local a la consulta també és un punt fort, ja que és on es realitza el seguiment dels pacients i on es prenen la majoria de decisions. El percentatge de pacients que no permeten un control adequat a la consulta és inferior al 5%.

En l'article de la precisió diagnòstica s'estudia per primera vegada el risc de transformació maligne de lesions sospitoses en funció del patró de vascularització, en pacients que segueixen un seguiment endoscòpic sense biòpsia ni cirurgia. Aquest fet ha de permetre un consell més acurat al pacients de cara a riscos i beneficis de realitzar cirurgies de repetició en laringitis cròniques.

Un altre dels punts forts és l'observació de que, a diferència d'altres localitzacions, a nivell de cap i coll els limfomes no mostren patró vascular identificable per LBE. Per

això, davant una història clínica compatible i una lesió amb superfície llisa sense úlceres suggestiva de limfoma per LB, cal realitzar una biòpsia. Fins ara, cap article havia descrit els patrons de LBE en limfomes.

Finalment en relació a l'estudi de la reproductibilitat, es tracta del primer estudi d'aquestes característiques realitzat a la consulta.

5. Conclusions

Fruit dels tres treballs realitzats se'n deriva que:

1. L'endoscòpia amb Llum de Banda Estreta és una eina diagnòstica que es pot fer servir a la consulta per millorar la precisió en el diagnòstic i seguiment de lesions malignes i premalignes de cap i coll.
2. El patró vascular objectivat durant l'endoscòpia amb Llum de Banda Estreta té un valor pronòstic de degeneració a malignitat.
3. El patró vascular objectivat durant l'endoscòpia amb Llum de Banda Estreta permet escollir àrees de major rendiment diagnòstic en una biòpsia.
4. L'endoscòpia amb Llum de Banda Estreta és una tècnica observador dependent i els resultats es troben condicionats, en part, per la corba d'aprenentatge.
5. Un anàlisi acurat dels falsos negatius i dels falsos positius evidencia que es tracta d'una tècnica molt útil en lesions superficials de mucosa, ja siguin lesions displàsiques o carcinoma escatós.
6. En la exploració de tumoracions de cap i coll amb LBE, els falsos negatius venen donats principalment per lesions submucoses i histologies diferents al carcinoma escatós. En la exploració de tumoracions de cap i coll amb LBE, els falsos positius se solen deure a canvis mucosos secundaris a radioteràpia, úlceres i infeccions.
7. L'exploració de lesions de cap i coll amb Llum de Banda Estreta presenta una consistència substancial i millora la concordança inter i intraobservador respecte la Llum Blanca aïllada tant en examinadors experimentats com en no experimentats.

6. Bibliografia

Bibliografía:

1. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lorteyasuot-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013;49(6):1374-1403.
2. Mesía R, Garcia-Saenz JA, Lozano A, et al. Could the Addition of Cetuximab to Conventional Radiation Therapy Improve Organ Preservation in Those Patients With Locally Advanced Larynx Cancer Who Respond to Induction Chemotherapy? An Organ Preservation Spanish Head and Neck Cancer Cooperative Group Phase 2 Study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2017;97(3):473-480.
3. Noone AM, Howlader N, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2015, National Cancer Institute. Bethesda, MD
4. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008;58(2):71-96.
5. Heukelom J, Hamming O, Bartelink H, et al. Adaptive and innovative Radiation Treatment FOR improving Cancer treatment outcomE (ARTFORCE); a randomized controlled phase II trial for individualized treatment of head and neck cancer. *BMC Cancer* 2013;13:84.
6. Morgan JE, Breau RL, Suen JY, Hanna EY. Surgical wound complications after intensive chemoradiotherapy for advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;133(1):10-14.
7. Hanna E, Alexiou M, Morgan J, et al. Intensive chemoradiotherapy as a primary treatment for organ preservation in patients with advanced cancer of the head and neck: efficacy, toxic effects, and limitations. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130(7):861-867.
8. Seijas-Tamayo R, Fernández-Mateos J, Adansa Klain JC, et al. Epidemiological characteristics of a Spanish cohort of patients diagnosed with squamous cell

- carcinoma of head and neck: distribution of risk factors by tumor location. *Clin Transl Oncol.* 2016;18(11):1114-1122.
9. Huang SH, O'Sullivan B. Overview of the 8th Edition TNM Classification for Head and Neck Cancer. *Curr Treat Options Oncol.* 2017;18(7):40.
 10. Lydiatt WM, Patel SG, O'Sullivan B, et al. Head and Neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin.* 2017;67(2):122-137.
 11. Iglesias Docampo LC, Arrazubi Arrula V, Baste Rotllan N. SEOM clinical guidelines for the treatment of head and neck cancer (2017). *Clin Transl Oncol.* 2018;20(1):75-83.
 12. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100(1):57-70.
 13. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell.* 2011;144(5):646-674.
 14. Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1995;11:73-91.
 15. Hobson B, Denekamp J. Endothelial proliferation in tumors and normal tissues: continuous labeling studies. *Br J Cancer.* 1984;49(4):405-413.
 16. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell.* 1996;86(3):353-364.
 17. Baeriswyl V, Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol.* 2009;19(5):329-337.
 18. Bergers G, Benjamin LE. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer.* 2003; 3(6):401-410.
 19. Lantieri LA, Martín-García N, Wechsler J, Mitrofanoff M, Raulo Y, Baruch JP. Vascular endothelial growth factor expression in expanded tissue: a possible mechanism of angiogenesis in tissue expansion. *Plast Reconstr Surg.* 1998;101(2):392-398.
 20. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis.

- Nature.1992;359(6398):843–845
21. Hlushchuk R, Barré S, Djonov V. Morphological Aspects of Tumor Angiogenesis. *Methods Mol Biol.* 2016;1464:13-24.
 22. Nagy JA, Chang SH, Shih SC, Dvorak AM, Dvorak EF. Heterogeneity of the tumor vasculature. *Semin Thromb Hemost.* 2010;36(3):321–331.
 23. Kumagai Y, Toi M, Inoue H. Dynamism of tumour vasculature in the early phase of cancer progression: outcomes from oesophageal cancer research. *Lancet Oncol.* 2002;3(10):604-610.
 24. Almalki WH, Shahid I, Mehdi AY, Hafeez MH. Assessment methods for angiogenesis and current approaches for its quantification. *Indian J Pharmacol.* 2014;46(3):251–256.
 25. Gaustad JV, Simonsen TG, Leinaas MN, Rofstad EK. Sunitinib treatment does not improve blood supply but induces hypoxia in human melanoma xenografts. *BMC Cancer.* 2012;12:388
 26. Stubbs M, McSheehy PM, Griffiths JR, Bashford CL. Causes and consequences of tumour acidity and implications for treatment. *Mol Med Today.* 2000;6(1):15–19.
 27. Simo R, Bradley P, Chevalier D, et al. European Laryngological Society: ELS recommendations for the follow-up of patients treated for laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2014;271(9):2469-2479.
 28. Strong MS. Diagnosis of carcinoma of the larynx: a review of current methods. *The Laryngoscope,* 1975;85(3):516–521.
 29. Scalco AN, Shipman WF, Tabb HG. Microscopic suspension laryngoscopy. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1960;69:1134-1138.
 30. Kleinsasser O. A laryngomicroscope for the early diagnosis and differential diagnosis of cancers in the larynx, pharynx and mouth. *Z Laryngol Rhinol Otol.* 1961;40:276-279.
 31. Jako GJ. Laryngoscope for microscopic observation, surgery, and

- photography. The development of an instrument. *Arch Otolaryngol.* 1970;91(2):196-199.
32. Piazza C, Cocco D, Del Bon F, Mangili S, Nicolai P, Peretti G. Narrow band imaging and high definition television in the endoscopic evaluation of upper aero-digestive tract cancer. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2011;31(2):70–75.
33. Kiesslich R, Jung M. Magnification endoscopy: does it improve mucosal surface analysis for the diagnostic of gastrointestinal neoplasias? *Endoscopy.* 2002;34(10):819-822.
34. Takehana S, Kaneko M, Mizuno H. Endoscopic diagnostic system using autofluorescence. *Diag Therap Endo.* 1999;5(2):59-63.
35. K. Iseki, M. Tatsuta, H. Iishi, N. Sakai, H. Yano, Ishiguro S. Effectiveness of the near-infrared electronic endoscope for diagnosis of the depth of involvement of gastric cancers. *Gastrointest Endosc.* 2000;52(5):755-762.
36. Gono K, Yamazaki K, Doguchi N, et al. Endoscopic Observation of Tissue by Narrowband Illumination. *Opt rev.* 2003;10(4):211-215.
37. Koburg E, Steinbach E. Vital staining with toluidine blue for early diagnosis and delineation of malignant laryngeal tumors. *Arch Klin Exp Ohren Nasen Kehlkopfheilkd.* 1969;194(2):320-323.
38. Strong MS, Vaughan CW, Inoze J. Toluidine Blue in Diagnosis of Cancer of the larynx. *Otolaryngol.* 1970;91(6):515-519.
39. Piazza C, D. Bon F, Peretti G, Nicolai P. “Biologic endoscopy”: optimization of upper aerodigestive tract cancer evaluation. *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery.* 2011;19(2):67–76.
40. Portugal LG, Wilson KM, Biddinger PW, Gluckman JL. The role of toluidine blue in assessing margin status after resection of squamous cell carcinomas of the upper aerodigestive tract. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996;122(5):517–519.

41. Kerawala CJ, Beale V, Reed M, Martin IC. The role of vital tissue staining in the marginal control of oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000;29(1):32–35.
42. Epstein JB, Feldman R, Dolor RJ, Porter SR. The utility of toloum chloride rinse in the diagnosis of recurrent or second primary cancers in patients with prior upper aerodigestive tract cancer. *Head Neck* 2003; 25(11):911–921.
43. Fennerty MB. “Tissue staining (chromoscopy) of the gastrointestinal tract,” *Can J Gastroenterol*. 1999;13(5):423–429.
44. Canto MI. Vital staining and Barrett’s esophagus. *Gastrointest Endosc*. 1999;49(3 Pt2):S12–16.
45. Ohnita K, Isomoto H, Shikuwa S, et al. Magnifying chromoendoscopic findings of early gastric cancer and gastric adenoma. *Dig Dis Sci*. 2011;56(9):2715-2722.
46. Hamou JE. Contact Endoscopy and Micro Endoscopy. International patent WO/1980/001641, 1980. US patent 4,385,810, 1983.
47. Andrea M, Dias O, Santos A. Contact endoscopy of the vocal cord: normal and pathological patterns. *Acta Otolaryngol* 1995;115(2):314–316.
48. Carriero E, Galli J, Fadda G, Di Girolamo S, Ottaviani F, Paludetti G. Preliminary experiences with contactendoscopy of the larynx. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2000;257(2):68–71.
49. Hughes OR, Stone N, Kraft M, Arens C, Birchall MA. Optical and molecular techniques to identify tumor margins within the larynx. *Head Neck* 2010;32(11):1544–1553.
50. Dowthwaite S, Szeto C, Wehrli B, et al. Contact endoscopy as a novel technique in the detection and diagnosis of oral cavity and oropharyngeal mucosal lesions in the head and neck. *J laryngol otol*. 2014;128(2):147–152.

51. Fryen A, Glanz H, Lohmann W, Dreyer T, Bohle LM. Significance of autofluorescence for the optical demarcation of field cancerisation in the upper aerodigestive tract. *Acta Otolaryngol* 1997;117(2):316–319.
52. Dhingra JK, Zhang X, McMillan K, et al. Diagnosis of head and neck precancerous lesions in an animal model using fluorescence spectroscopy. *Laryngoscope* 1998;108(4 Pt1):471–475.
53. Harries ML, Lam S, MacAulay C, Qu J, Palcic B. Diagnostic imaging of the larynx: autofluorescence of laryngeal tumours using the helium-cadmium laser. *J Laryngol Otol* 1995;109(2):108–110.
54. Poh CF, Zhang L, Anderson DW et al. Fluorescence visualization detection of field alterations in tumor margins of oral cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2006;12(22):6716–6722
55. Succo G, Garofalo P, Fantini M, Monticone V, Abbona GC, Crosetti E. Direct autofluorescence during CO₂ laser surgery of the larynx: can it really help the surgeon?. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2014;34(3):174-183.
56. Crosetti E, Pilolli F, Succo G. A new strategy for endoscopic staging of laryngeal carcinoma: multistep endoscopy. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2012;32(3):175-181.
57. Upile T, Fisher C, Jerjes W et al. Recent technological developments: in situ histopathological interrogation of surgical tissues and resection margins. *Head Face Med*. 2007;3:13.
58. Adegun OK, Tomlins PH, Hagi-Pavli E, et al. Quantitative analysis of optical coherence tomography and histopathology images of normal and dysplastic oral mucosal tissues. *Lasers Med Sci*. 2012;27(4):795-804
59. Drexler W, Morgner U, Ghanta RK, Kärtner FX, Schuman JS, Fujimoto JG. Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography. *Nature Medicine*. 2007;7(4):502-507.

60. Kaufman SC, Musch DC, Belin MW, et al. "Confocal Microscopy: A Report by the American Academy of Ophthalmology", *Ophthalmology*. 2004;111(2):396-406.
61. Jerjes W, Upile T, Conn B et al. In vitro examination of suspicious oral lesions using optical coherence tomography. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2010;48(1):18–25.
62. Mobley J, Vo-Dinh, T. *Biomedical Photonics Handbook*. Vo-Dinh, T, editor. New York: CRC Press; 2003.
63. Zhu TC, Dimofte A, Finlay JC, et al. Optical properties of human prostate at 732 nm measured in mediated photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*. 2005; 81(1):96–105.
64. Sandell JL, Zhu TC. A review of in-vivo optical properties of human tissues and its impact on PDT. *J Biophotonics* . 2011;4(11-12):773–787.
65. Arridge SR, Hebden JC. Optical imaging in medicine: II. Modeling and reconstruction, *Phys. Med. Biol*. 1997;42(5):841-853.
66. Gono K. Narrow Band Imaging: Technology Basis and Research and Development History. *Clin Endosc*. 2015;48(6):476-480
67. Sambongi M, Igarashi M, Obi T, et al. Analysis of spectral reflectance of mucous membrane for endoscopic diagnosis. *Med Phys*. 2000;27:1396-1398
68. Wang LH, JacquesSL, Zheng LQ. MCML-Monte Carlo modeling of light transport- in multi-layered tissues. *Comput. Methods Programs Biomed*. 1995;47(2):131-146.
69. Gono K, Obi T, Yamaguchi M, et al. Appearance of enhanced tissue features in narrow-band endoscopic imaging. *J Biomed Opt*. 2004;9(3):568–577.
70. Sano Y, Kobayashi M, Hamamoto, Y. New diagnostic method based on color imaging using narrow band imaging (NBI) system for gastrointestinal tract. *Gastrointest Endosc*. 2001; 53(5):AB125.

71. Watanabe A, Tsujie H, Taniguchi M, Hosokawa M, Fujuta M, Sasaki S. Laryngoscopic detection of pharyngeal carcinoma in situ with narrowband imaging. *Laryngoscope* 2006;116(4):650–654.
72. Watanabe A, Taniguchi M, Tsujie H, Hosokawa M, Fujuta M, Sasaki S. The value of narrow band imaging endoscope for early head and neck cancers. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;138(4):446–451.
73. Watanabe A, Taniguchi M, Tsujie H, Hosokawa M, Fujuta M, Sasaki S. The value of narrow band imaging for early detection of laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2009;266(7):1017–1023.
74. Vu AN, Farah CS. Efficacy of narrow band imaging for detection and surveillance of potentially malignant and malignant lesions in the oral cavity and oropharynx: a systematic review. *Oral Oncol.* 2014;50(5):413–420.
75. Fujii S, Yamazaki M, Muto M, Ochiai A. Microvascular irregularities are associated with composition of squamous epithelial lesions and correlate with subepithelial invasion of superficial type pharyngeal squamous cell carcinoma. *Histopathology.* 2010;56(4):510–522.
76. Muto M, Katada C, Sano Y, Yoshida S. Narrow band imaging: a new diagnostic approach to visualize angiogenesis in superficial neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2005;3(7 Suppl 1):S16–S20.
77. Piazza C, Del Bon F, Peretti G, Nicolai P. Narrow band imaging in endoscopic evaluation of the larynx. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012;20(6):472–476.
78. Kraft M, Fostiropoulos K, Gurtler N, Arnoux A, Davaris N, Arens C. Value of narrow band imaging in the early diagnosis of laryngeal cancer. *Head Neck.* 2016;38(1):15–20.
79. Piazza C, Cocco D, De Benedetto L, Del Bon F, Nicolai P, Peretti G. Narrow band imaging and high definition television in the assessment of laryngeal

- cancer: a prospective study on 279 patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2010;267(3):409–414.
80. Piazza C, Cocco D, De Benedetto L, Del Bon F, Nicolai P, Peretti G. Role of narrow-band imaging and high-definition television in the surveillance of head and neck squamous cell cancer after chemo- and/or radiotherapy. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2010;267(9):1423–1428.
81. Tan NC, Herd MK, Brennan PA, Puxeddu R. The role of narrow band imaging in early detection of head and neck cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2012;50(2):132–136.
82. Gale N, Michaels L, Luzar B, et al. Current review on squamous intraepithelial lesions of the larynx. *Histopathology.* 2009;54(6):639–656
83. Tirelli G, Piovesana M, Gatto A, Tofanelli M, Biasotto M, Boscolo Nata F. Narrow band imaging in the intra-operative definition of resection margins in oral cavity and oropharyngeal cancer. *Oral Oncol.* 2015;51(10):908-913.
84. Tirelli G, Piovesana M, Gatto A, Torelli L, Boscolo Nata F. Is NBI-Guided Resection a Breakthrough for Achieving Adequate Resection Margins in Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma? *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2016;125(7):596-601.
85. Garofolo S, Piazza C, Del Bon F. Intraoperative narrow band imaging better delineates superficial resection margins during transoral laser microsurgery for early glottic cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2015;124(4):294-298.
86. Chen MM, Roman SA, Kraus DH, Sosa JA, Judson BL. Transoral robotic surgery: a population-level analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014;150:968–975.
87. Cosway B, Drinnan M, Paleri V. Narrow band imaging for the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma: A systematic review. *Head Neck.* 2016;38 Suppl 1:E2358–67.

88. Vicini C, Montevecchi F, D'Agostino G, DE Vito A, Meccariello G. A novel approach emphasising intra-operative superficial margin enhancement of head-neck tumours with narrow-band imaging in transoral robotic surgery. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2015;35(3):157-161.
89. Arens C, Betz C, Kraft M, Voigt-Zimmermann S. Narrow band imaging for early diagnosis of epithelial dysplasia and microinvasive tumors in the upper aerodigestive tract. *HNO.* 2017;65(Suppl 1):5-12.
90. Zabrodsky M, Lukes P, Lukesova E, Boucek J, Pizak J. The role of narrow band imaging in the detection of recurrent laryngeal and hypopharyngeal cancer after curative radiotherapy. *Biomed Res Int.* 2014;2014:175398.
91. Takano JH, Yakushiji T, Kamiyama I, et al. Detecting early oral cancer: narrowband imaging system observation of the oral mucosa microvasculature. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010;39(3):208–213.
92. Inoue H, Kumagai Y, Yoshida T, Kawano T, Endo M, Iwai T. High-magnification endoscopic diagnosis of the superficial esophageal cancer. *Digest Endosc.* 2000 Jan;12(suppl 1):32–35.
93. Inoue H, Kaga M, Sato Y, et al. Magnifying endoscopy diagnosis of tissue atypia and cancer invasion depth in the area of pharyngo-esophageal squamous epithelium by NBI enhanced magnification image: IPCL pattern classification. In: Cohen J, ed: *Advanced Digestive Endoscopy: Comprehensive Atlas of High Resolution Endoscopy and Narrowband Imaging.* New York: Blackwell Publishing 2007: 49–66
94. Ni XG, He S, Xu ZG, et al. Endoscopic diagnosis of laryngeal cancer and precancerous lesions by narrow band imaging. *J Laryngol Otol.* 2011;125(3):288–296
95. Bertino G, Cacciola S, Fernandes WB Jr, et al. 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*. 2015;37(2):215–222.
96. Yang SW, Lee YS, Chang LC, Hwang CC, Luo CM, Chen TA. Use of endoscopy with narrow-band imaging system in evaluating oral leukoplakia. *Head Neck*. 2012;34(7):1015–1022.
97. Yang SW, Lee YS, Chang LC, Hwang CC, Chen TA. Use of endoscopy with narrow-band imaging system in detecting squamous cell carcinoma in oral chronic non-healing ulcers. *Clin Oral Investig*. 2014;18(3):949–959.
98. Lin YC, Wang WH, Lee KF, Tsai WC, Weng HH Value of narrow band imaging endoscopy in early mucosal head and neck cancer. *Head Neck*. 2012;34(11):1574–1579.
99. Qi X, Yu D, Zhao X, et al. Clinical experiences of NBI laryngoscope in diagnosis of laryngeal lesions. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(10):3305–3312.
100. Machida H, Sano Y, Hamamoto Y, et al. Narrow-band imaging in the diagnosis of colorectal mucosal lesions: a pilot study. *Endoscopy*. 2004;36(12):1094-8109.
101. Morita FH, Bernardo WM, Ide E, et al. Narrow band imaging versus lugol chromoendoscopy to diagnose squamous cell carcinoma of the esophagus: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer*. 2017;17(1):54.
102. Yoshida T, Inoue H, Usui S, Satodate H, Fukamu N, Kudo SE. Narrow-band imaging system with magnifying endoscopy for superficial esophageal lesions. *Gastrointest Endosc*. 2004;59(2):288–295.
103. Bryan RT, Billingham LJ, Wallace DM. Narrow band imaging flexible cystoscopy in the detection of recurrent urothelial cancer of the bladder. *BJU Int*. 2008 Mar;101(6):702-705
104. Racioppi M, D'Agostino D, Ragonese M, Gianfrancesco LD, Bassi PF. NBI: results review. *Urologia*. 2015 Oct;82 Suppl 2:S9-11

105. K Shibuya, H Hoshino, M Chiyo, et al. High magnification bronchovideoscopy combined with narrow band imaging could detect capillary loops of angiogenic squamous dysplasia in heavy smokers at high risk for lung cancer. *Thorax*. 2003 Nov;58(11):989–995
106. Argimón Pallás JM, Jiménez Villa. *Métodos de investigación Clínica y epidemiológica*, 3a Edición. Mosby, 2007.
107. Carrasco de la Peña JL. *El método estadístico en la investigación médica*. 6a Edición. Ciencia, 1995.
108. Hernández Aguado I, Lumbreras Lacarra B. *Manual de epidemiología y salud pública para grados en ciencias de la salud*. 2a Edición. Panamericana, 2011.
109. Cohen J. Weighted: nominal scale agreement with provision for scaled disagreement or partial credit. *Psychol Bull*. 1968;70(4):213-220.
110. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33(1):159–174.
111. Doménech JM. *Fundamentos de Diseño y Estadística: Medida del Cambio: Análisis de Diseños con Medidas Intrasujeto*. 12th ed. Barcelona, Spain: Signo; 2011.
112. Gilchrist JM. Weighted 2 x 2 kappa coefficients: recommended indices of diagnostic accuracy for evidence-based practice. *J Clin Epidemiol*. 2009;62(10):1045-53.
113. Chmura Kraemer H, Periyakoil VS, Noda A. Kappa coefficients in medical research. *Stat Med*. 2002;21(14):2109-2129.
114. Obuchowski NA, Lieber ML, Wians FH. ROC curves in clinical chemistry: uses, misuses, and possible solutions. *Clin Chem*. 2004;50(7):1118–1125.
115. Yoo CH, Park MI, Park SJ, et al. Observer variability in gastric neoplasm assessment using the vessel plus surface classification for magnifying endoscopy with narrow band imaging. *Clin Endosc*. 2014;47(1):74–78.

116. Alvarez Herrero L, Curvers WL, Bansal A, et al. Zooming in on Barrett oesophagus using narrow-band imaging: an international observer agreement study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009;21(9):1068–1075.
117. Lee YC, Lin JT, Chiu HM. Intraobserver and interobserver consistency for grading esophagitis with narrow-band imaging *Gastrointest Endosc*. 2007;66(2):230–236.
118. Zwakenberg MA, Dikkers FG, Wedman J, Halmos GB, van der Laan BF, Plaat BE. Narrow band imaging improves observer reliability in evaluation of upper aerodigestive tract lesions. *Laryngoscope*. 2016;126(10):2276–2281.
119. Piazza C, Del Bon F, Paderno A,. The diagnostic value of narrow band imaging in different oral and oropharyngeal subsites. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(10):3347-3353.
120. Tsuji K, Doyama H, Nakanishi H, et al. Case of pharyngeal cancer not detected during preoperative transoral endoscopy with narrow band imaging. *Clin J Gastroenterol*. 2015;8(2):68-72.
121. Tjon Pian Gi RE, Halmos GB, van Hemel BM, et al. Narrow band imaging is a new technique in visualization of recurrent respiratory papillomatosis. *Laryngoscope*. 2012;122(8):1826-1830.
122. Bolontrade MF, Stern MC, Binder RL, Znklusen JC, Gimenez-Conti IB, Conti JC. Angiogenesis is an early event in the development of chemically induced skin tumors. *Carcinogenesis*. 1998;19(12):2107-2113.
123. Lukes P, Zabrodsky M, Lukesova E, et al. The role of NBI HDTV magnifying endoscopy in the prehistologic diagnosis of laryngeal papillomatosis and spinocellular cancer. *Biomed Res Int*. 2014;2014:285486.
124. Ochsner MC, Klein AM. The utility of narrow band imaging in the treatment of laryngeal papillomatosis in awake patients. *J Voice*. 2015;29(3):349-351.
125. Yom SS, Machtay M, Biel M, et al. Survival impact of planned restaging and

- early surgical salvage following definitive chemoradiation for locally advanced squamous cell carcinomas of the oropharynx and hypopharynx. *Am J Clin Oncol.* 2005;28(4):385–392.
126. Lin YC, Watanabe A, Chen WC. Narrowband Imaging for Early Detection of Malignant Tumors and Radiation Effect After Treatment of Head and Neck Cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2010;136(3):234-239.
127. Honda M, Omori T, Kawakubo H, et al. A case of laryngeal tuberculosis observed with high-magnification endoscopy. *Gastrointest Endosc.* 2010;52(6):1528-1532.
128. Yaita H, Nakamura S, Kurahara K, et al. Gastric tuberculosis resembling depressed type, early gastric cancer. *Endoscopy.* 2014;46 Suppl 1 UCTN:E669-E670.
129. Handa H, Kurimoto N, Mineshita M, Miyazawa T. Role of narrowband imaging in assessing endobronchial cryptococcosis. *J Bronchology Interv Pulmonol.* 2013;20(3):249-251.
130. Furuichi Y, Kasai Y, Takeuchi H, et al. Narrow-band imaging can increase the visibility of fibrin caps after bleeding of esophageal varices: a case with extensive esophageal candidiasis. *Clin J Gastroenterol.* 2017;10(4):331-335.
131. Yamasaki Y, Uedo N, Ishihara R, Tomita Y. Endoscopic mucosal resection of early stage colon neuroendocrine carcinoma. *BMJ Case Rep.* 2015;2015.
132. Ferlito A, Silver CE, Bradford CR, Rinaldo A. Neuroendocrine neoplasms of the larynx: an overview. *Head Neck.* 2009;31(12):1634-1646.
133. Nonaka K, Honda Y, Gushima R, et al. Narrow-band imaging of interdigitating dendritic cell sarcoma originating in the duodenum. *Endoscopy.* 2011;43 Suppl 2 UCTN:E113-E114.
134. Kuroha M, Endo K, Sato Y, et al. Magnifying endoscopy findings in follicular lymphoma of the rectum using narrow band imaging. *Endoscopy.* 2011;43 Suppl

- 2 UCTN:E346-E347.
135. Norimura D, Isomoto H. Colorectal involvement of follicular lymphoma -- findings with narrow band imaging and magnifying endoscopy. *Endoscopy*. 2013;45 Suppl 2 UCTN:E296-E297.
136. Ono S, Kato M, Takagi K, et al. Long-term treatment of localized gastric marginal zone B-cell mucosa associated lymphoid tissue lymphoma including incidence of metachronous gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010;25(4):804-809.
137. Petersen KB, Kjaergaard T. Role of narrow band imaging in the diagnostics of sinonasal pathology. *BMJ Case Rep*. 2017;2017.pii: bcr2016218175.
138. Filauro M, Paderno A, Perotti P, et al. Role of narrow-band imaging in detection of head and neck unknown primary squamous cell carcinoma. *Laryngoscope*. 2018 Sep;128(9):2060-2066.
139. Gale N, Poljak M, Zidar N. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: What is New in the 2017 WHO Blue Book for Tumours of the Hypopharynx, Larynx, Trachea and Parapharyngeal Space. *Head Neck Pathol*. 2017;11(1):23-32.
140. Barnes L, Eveson JW, Reichart P. World Health Organization Classification of Tumours: pathology and genetics of head and neck tumours. Lyon, France, International Agency for Research on Cancer (IARC) Press, 2005:140-143.
141. Fleskens SA, Bergshoeff VE, Voogd AC, et al. Interobserver variability of laryngeal mucosal premalignant lesions: a histopathological evaluation. *Mod Pathol*. 2011;24(7):892-898.

Il·lustració de portada realitzada per Mar Mestres Ramon