

Roland Ernst Stiftung für Gesundheitswesen  
Geschäftsführung  
Naumannstr. 8  
01309 Dresden

## **Abschlussbericht**

Thema: **Bildgebung der Mundschleimhaut und deren Veränderungen bei Patienten mit Mundhöhlenkrebs**

Kursbezeichnung: **TOMscan** (Threedimensional imaging of the Oral Mucosa, Dreidimensionale Bildgebung der oralen Mukosa)

Antragsbearbeiter/Projektleiter:

Name, Vorname: Dr. rer. medic. Walther, Julia

Dienstbezeichnung/Funktion: Wissenschaftlicher Mitarbeiter/Habilitand im Arbeitsbereich Medizinische Physik und Biomedizinische Technik

Hochschule: Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus der TU Dresden

Telefon: 0351 458 6132 Email: [julia.walther@tu-dresden.de](mailto:julia.walther@tu-dresden.de)

Direktor der Klinik/des Instituts:

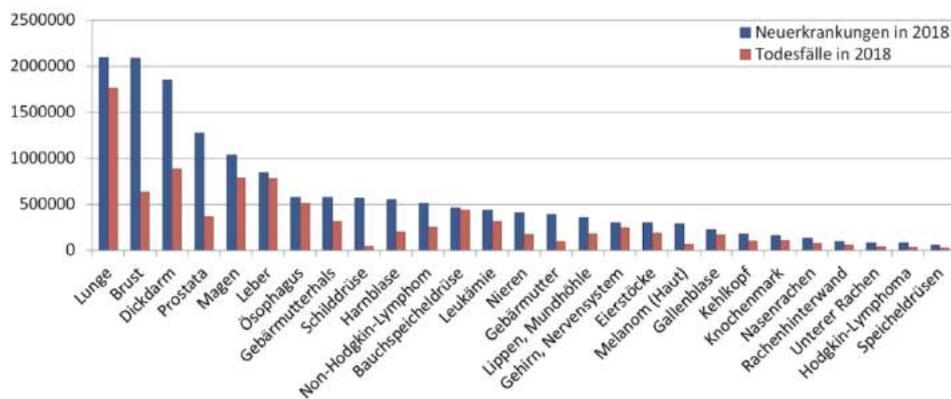
Name, Vorname: Prof. Dr. rer. nat. Koch, Edmund

Dienstbezeichnung/Funktion Hochschule: Leiter des Arbeitsbereiches Medizinische Physik und Biomedizinische Technik, Leiter der Arbeitsgruppe Klinisches Sensoring und Monitoring

Dresden, den 31.12.2020

## 1 Motivation und Zielstellung des Projekts

Mundrachenkrebs (Oropharyngeales Karzinom) ist derzeit eine der am häufigsten auftretenden Krebserkrankungen weltweit [Cogliano et al. 2004, Scully und Bagan 2009] und folglich eine wesentliche Komponente der globalen Krebsbelastung. Die häufigste diagnostizierte Form des Mundrachenkrebses ist das orale Plattenepithelkarzinom (engl. oral squamous cell carcinoma, OSCC) im Bereich der Lippe, der Mundhöhle und des Rachens [Lingen et al. 2008]. Die Inzidenz von Mundkrebs liegt weltweit bei etwa 350.000 neuen Fällen jährlich (Bild 1) und beträgt damit rund 3 % aller Malignome [Johnson et al. 2011, Messadi 2013]. Als Hauptrisikofaktor für OSCC wird der exzessive Konsum von Tabak und Alkohol [Petersen 2009, Dissanayaka et al. 2012], und der folglich synergistische Effekt gesehen [Petti 2009, Koontongkaew 2013], obgleich der Zusammenhang mit dem humanen Papillomavirus (HPV16 und HPV18) als neuer Risikofaktor in einzelnen Studien gezeigt wurde [D'Souza et al. 2007, Shillitoe 2009, Ang et al. 2010]. Wenngleich Behandlungsmethoden in den letzten Jahren verbessert wurden, so blieb die 5-Jahres-Überlebensrate in den vergangenen Jahrzehnten unverändert niedrig bei 50 % [Messadi 2013] (Bild 1).



**Bild 1:** Anzahl der Neuerkrankungen an und Todesfälle durch Mundhöhlenkrebs weltweit im Jahr 2018.

Mit dem Hintergrund der erhöhten Überlebensrate und gesteigerten Lebensqualität der Patienten umfasst die übergeordnete Zielstellung des Forschungsvorhabens die nichtinvasive und tiefenaufgelöste Detektion von Mundhöhlenkrebs und dessen Vorläuferstadien bei der Diagnosestellung. Der Schwerpunkt des vorliegenden Forschungsprojekts beinhaltet die Entwicklung einer OCT-basierten Untersuchungsmethode für die Bildgebung submuköser Strukturen der humanen Mundschleimhaut. Für das Erreichen des grundlegenden Ziels der Steigerung der Spezifität und Sensitivität bei der Untersuchung der Mundhöhle mit OCT, stellt die Entwicklung einer angepassten nichtinvasiven Bildgebungseinheit in Form einer miniaturisierten Optik einen entscheidenden Zwischenschritt dar. Darüber hinaus entspricht die Evaluation funktioneller Erweiterungen der OCT für die Bildgebung der oralen Mukosa einem zentralen Teilziel. Hintergrund ist, die mit intensitätsbasierter OCT gewonnenen Strukturmerkmale des Gewebes um funktionsmorphologische und physiologische Gewebeparameter zu erweitern und damit die klinische Relevanz der OCT zu bekräftigen. Eine weitverbreitete Variante der funktionellen OCT ist die polarisationssensitive OCT (PS-OCT), die im Wesentlichen das zu untersuchende Gewebe mit einem oder mehreren definierten Polarisierungseingangszuständen beleuchtet und die Detektion der Änderung dieser für die Messung der Gewebedoppelbrechung nutzt. Da das in der Bindegewebsschicht der humanen Mundschleimhaut enthaltene Kollagenfasernetzwerk in Abhängigkeit der Tumorprogression ab- und umgebaut wird, kann die Bildgebung der Doppelbrechung der Kollagenmatrix prognostisch einen wesentlichen Indikator für die nichtinvasive Beurteilung der Tumorinvasion bilden.

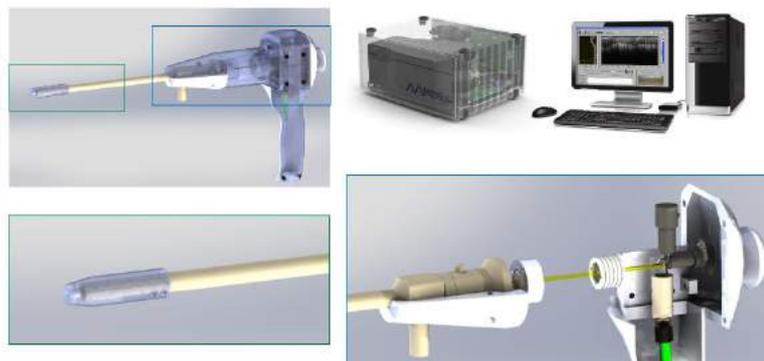
Zudem ist das Ziel zukünftiger Studien die angiografische Bildgebung, als zweite funktionelle Erweiterung der konventionellen OCT, zu ergänzen und damit ein weiteres Bewertungskriterium für die Diagnose der Art und Progression der oralen Läsion mit der Methode der OCT zu ermöglichen [Chen et al. 2018, Sirotkina et al. 2019]. Auch wird die Überwachung der mikrovaskulären Reaktion der Mundschleimhaut im Rahmen der Radio(chemo)therapie vorgeschlagen [Maslennikova et al. 2017].

## 2 Ergebnisse der Bildgebung der Mundschleimhaut mit Optischer Kohärenztomografie

### 2.1 Endoskopische Bildgebung des humanen Mundschleimhaut

#### 2.1.1 Technische Entwicklung

Aufgrund der Nichtverfügbarkeit von kommerziellen Endoskopen für die hochauflösende OCT-Bildgebung der humanen Mundschleimhaut wurde für den Konzeptnachweis ein erster endoskopischer Prototyp auf Basis eines Laparoscops (KARL STORZ SE & Co. KG) entwickelt. Das verwendete starre Endoskop ist für die kombinierte Weißlicht-Nahinfrarot-Bildgebung designt und erlaubt in der ursprünglichen Anwendung die kontrastreichere intraoperative Darstellung anatomischer Strukturen, wie bspw. Gallengänge, Blut- und Lymphgefäße, mit Hilfe der Bildgebung des intravenös verabreichten Fluoreszenzfarbstoffs Indocyaningrün (ICG). Da die starre Optik auf das im nahinfraroten Wellenlängenbereich (engl. near-infrared range, NIR) liegende Fluoreszenzspektrum von ICG (750 nm-950 nm) optimiert ist, kann die OCT-Bildgebung ermöglicht werden. Der Vorteil der Verwendung eines kommerziellen Systems auf Basis einer modifizierten Hopkins-Stablinsen-Optik, verglichen zu der Kombination von Duplet-Objektiv- und Singulett-Feldlinsen als Bildübertragungssystem, besteht vor allem in der Verbesserung des Lichtdurchsatzes des Gesamtsystems sowie in der durch die Korrektur von Abbildungsfehlern, wie Astigmatismus und Bildfeldwölbung, gesteigerten Bildqualität. Dies ist neben der visuellen Bildgebung ebenfalls für die OCT relevant, da die Optik im Probenarm sowohl für die Beleuchtung als auch die Detektion genutzt wird.



**Bild 2:** Darstellung der endoskopischen Komponenten des entwickelten OCT-Systems bestehend aus Endoskopscanner auf Basis eines kommerziellen Laparoscops mit der Möglichkeit der Bildgebung im NIR-Bereich; (b) Basiseinheit des OCT-Systems mit integriertem Spektrometer für die Detektion der Interferenzspektren; (c) PC zur Ansteuerung aller elektronischen Komponenten sowie der Datenaufnahme und -prozessierung.

Die dem kommerziellen VIS/NIR-Endoskop vorgelagerte Optik kennzeichnet sich u. a. durch zwei proximal integrierte Galvanometerscanner für die distale 2D-Strahlableitung aus. Dadurch ist sichergestellt, dass ausschließlich optische und keine elektrischen Komponenten, wie distal integrierte und über hohe

Spannungssignale angesteuerte MEMS-Spiegel, im Kontakt mit dem Patienten stehen. Zudem ist die vorgelagerte Strahlableitungsoptik auf eine Bildgebung mit reduzierten Abbildungsfehlern ausgelegt. Die Integration des Endoskops in den Grundkörper des Handscanners ist so gestaltet, dass das Endoskop leicht ausgetauscht und somit, separat von der verbleibenden OCT-Strahlableitungsoptik, sterilisiert werden kann. Mit den entsprechenden Vorteilen bietet die Verwendung eines medizinischen Endoskops für die OCT-Bildgebung vor allem eine sichere, stabile und zuverlässige Ausgangssituation für die systematische Evaluation der intensitätsbasierten OCT für die Bildgebung der humanen Mundschleimhaut in Abhängigkeit von der Region innerhalb der Mundhöhle.

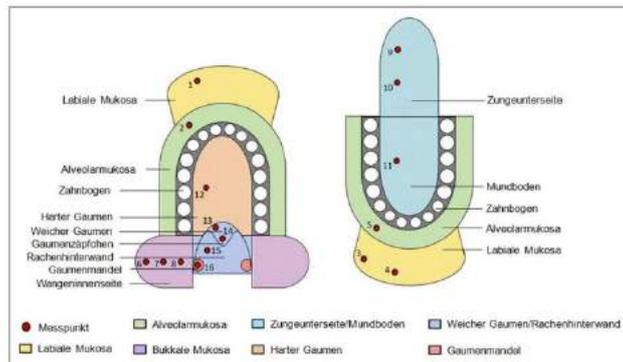
Auch wenn sich die mit dem endoskopischen Handscanner erzielten Schnittbilder durch eine hohe Bildqualität auszeichnen, ist die Geschwindigkeit des derzeit verwendeten spektrometerbasierten OCT-Systems (Tiefenscanrate 12 kHz) zu gering, um eine artefaktfreie Volumendarstellung der humanen Mundschleimhaut und die daraus erzeugten tiefenabhängigen Aufsichten (engl. en face view) zu gewährleisten, welches vor allem für die Detektion von Läsionsgrenzen wünschenswert ist. Darüber hinaus ist die Verwendung einer Lichtquelle mit einer Zentralwellenlänge von 1300 nm, anstelle der 840 nm, durch die gesteigerte Eindringtiefe und der daraus resultierende tiefere Einblick in das orale Bindegewebe erstrebenswert. Als Konsequenz dessen kann jedoch das kommerzielle Laparoskop nicht verwendet werden, da es im langwelligen Bereich um 1300 nm nur 5 % Transmission aufweist. Folglich ist für die Realisierung eines OCT-Systems mit einer Zentralwellenlänge von 1300 nm in Kombination mit einer schnellen durchstimmbaren Lichtquelle ein Redesign der medizinischen Endoskopoptik bzw. eine Eigenentwicklung erforderlich. Darüber hinaus kann die Handhabbarkeit durch die Miniaturisierung der proximalen Scanoptik verbessert werden.

Der mit dem entwickelten endoskopischen OCT-System erzielte Fortschritt umfasst die einfache nichtinvasive Bildgebung der Schichtstrukturen der normalen oralen Mukosa in nahezu allen Regionen der Mundhöhle mit der Möglichkeit einer ersten Abschätzung potenzieller Evaluationsparameter, wie der Epithelschichtdicke und der Homogenität des Plattenepithels. Eine erschwerte Situation der Zugänglichkeit liegt in der vestibulären Region der hinteren Molaren vor, für die sich potenziell eine zweite, speziell für diesen Bereich ausgelegte, abgewinkelte Optik empfiehlt. Ob die Basalmembran, als Grenze zwischen dem hyporeflektiven Epithelgewebe und der darunterliegenden hyperreflektiven Bindegewebsschicht [Albrecht et al. 2019, Albrecht et al. 2020], auf Basis der intensitätsbasierten OCT stets sicher detektiert und demnach als zuverlässiger Marker für pathologische orale Läsionen herangezogen werden kann, ist noch ausstehend.

### *2.1.2 Gegenüberstellung der OCT und Histologie*

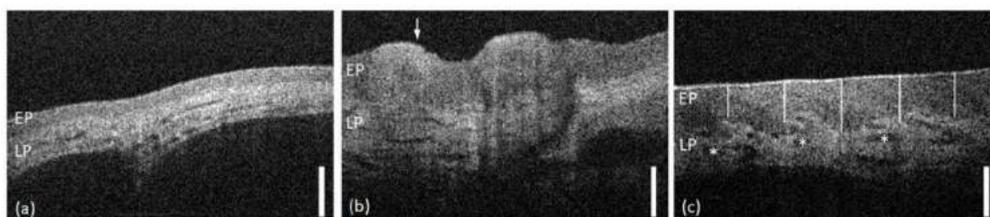
Auf Basis der vorgestellten Entwicklung einer endoskopischen OCT-Sonde für die Bildgebung der humanen Mundschleimhaut konnte eine erste Studie an 47 Probanden durchgeführt werden. Die dabei erzielten Ergebnisse bilden die Grundlage für die Bewertung und Diskussion des endoskopischen Designs für die intensitätsbasierte OCT. Im Rahmen der Probandenstudie wurden OCT-Schnittbildstapel von sieben verschiedenen Regionen der Mundhöhle mit der in Kapitel 2.3.1 präsentierten endoskopischen OCT aufgezeichnet (Bild 3) [Albrecht et al. 2019, Albrecht et al. 2020]. Wie dargestellt, wurden ausschließlich Bereiche mit auskleidender oraler Mukosa ausgewählt, da die Messtiefe des verwendeten OCT-Systems mit einer Zentralwellenlänge von 840 nm stark reduziert ist für Regionen mit spezialisierter und stark keratinisierter

Mukosa, wie beispielsweise der Zungenoberseite oder der Gingiva.



**Bild 3:** Übersicht der Messpunkte (rote Punkte) innerhalb der sieben Untersuchungsbereiche (kolorierte Zonen) der gesunden humanen Mundhöhle [Albrecht et al. 2020].

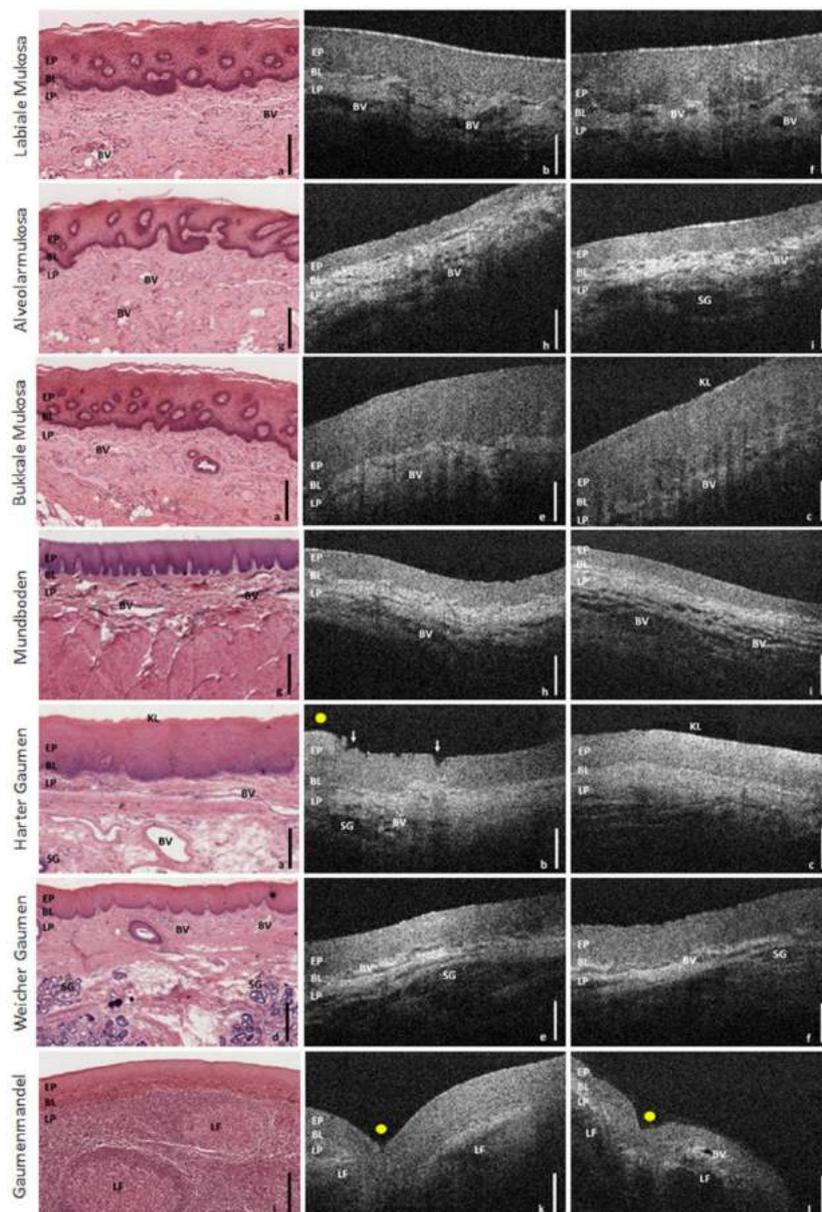
Aufgrund des konfokalen Messprinzips mit einhergehender begrenzter Aufnahmezeit pro Tiefenprofil (A-Scan) von 12 kHz können Patientenbewegungen während der Aufnahme von OCT-Schnittbildstapeln zu Bewegungsartefakten führen und damit die Rekonstruktion des Volumenstapels behindern. Für die wesentliche Minimierung von Bewegungsartefakten wurde die Untersuchung der Mundhöhle mit der endoskopischen OCT in Sitzposition unter Einsatz einer in der Augenheilkunde etablierten Kinnstütze für Patienten durchgeführt. Durch das Auf- und Anlegen des OCT-Endoskops am Patienten/Probanden sowie der beidhändigen Fixierung des Endoskops durch den durchführenden Arzt können alle Messpunkte ohne Schwierigkeiten kontaktlos bildgegeben werden. Die Aufnahme eines Bildstapels mit 64 Schnittbildern à 480 A-Scans dauert 2,6 s. Bei einer Gesamtuntersuchungsdauer von etwa 20 min für jeden Probanden lässt sich ableiten, dass vor allem das Ausrichten und Positionieren des Endoskops bisher den größten Zeitumfang benötigt. Für zukünftige Untersuchungen an Patienten mit Mundschleimhautläsionen werden planmäßig drei Messpunkte à zwei bis drei Wiederholungen benötigt, so dass der Zeitaufwand der OCT-Bildaufnahmen auf drei bis vier Minuten reduziert werden kann.



**Bild 4:** Repräsentative OCT-Schnittbilder (a) der sublingualen Mukosa, (b) des harten Gaumens und (c) der labialen Mukosa mit gekennzeichneten Merkmalen für die Bildauswertung. EP: Epithelium, LP: Lamina propria, Pfeil: Ausgeprägtes Oberflächenprofil durch Gaumenfalten, Vertikale Linien: Epitheliale Dickenmessung, Stern: Blutgefäße. Skalierbalken 200 µm.

Für die Bildanalyse wurde je Proband für jeden Messpunkt eine bewegungsartefaktfreie Bildserie von fünf B-Scans ausgewählt. Anhand acht definierter Kriterien wurden das Epithel und die darunter angrenzende Lamina propria in jedem Schnittbild bewertet. Neben der qualitativen Beurteilung der Oberflächenintegrität, dem Relief/profil und der -keratinisierung sowie der Homogenität des Epitheliums wurde die Epitheldicke quantitativ auf Basis von fünf über die Bildbreite gleichverteilten Messpunkten ermittelt (Bild 4) [Albrecht et al. 2020]. Darüber hinaus wurde die Identifizierbarkeit der Basalmembran sowie der flächenmäßige Anteil der Blutgefäße relativ zur Gesamtfläche der abgebildeten Lamina propria bewertet. Die Definition dieser Bewertungskriterien

wurde anschließend qualitativ in Korrelation zu histologischen Schnittbildern (N = 70) der frei zugänglichen Datenbank des Instituts für Anatomie der Medizinischen Fakultät der TU Dresden gesetzt, mit dem Ergebnis, dass die Methode der OCT, im Rahmen der technischen Möglichkeiten, die strukturellen Besonderheiten der unterschiedlichen Regionen der humanen Mundhöhle in vivo abbildet (Bild 5) und folglich mit den Ergebnissen früherer Studien an gesunder oraler Mukosa korreliert [WilderSmith et al. 2009, Davoudi et al. 2012]. Anhand der Ergebnisse der Probandenstudie lässt sich die Definition der bisher acht Bewertungsparameter für die Einschätzung intensitätsbasierter OCT-Schnittbilder als eine solide Basis für die Datenauswertung weiterer Studien mit dem Ziel der automatischen Differenzierung struktureller Besonderheiten gesunder und pathologisch veränderter humaner Mundschleimhaut einschätzen.



**Bild 5:** Repräsentative OCT-Schnittbilder (a) der sublingualen Mukosa, (b) des harten Gaumens und (c) der labialen Mukosa mit gekennzeichneten Merkmalen für die Bildauswertung. EP: Epithelium, LP: Lamina propria, Pfeil: Ausgeprägtes Oberflächenprofil durch Gaumenfalten, Vertikale Linien: Epitheliale Dickenmessung, Stern: Blutgefäße. Skalierbalken 200 µm.

In Bild 5 wird ein Überblick über repräsentative Ergebnisse der sieben Untersuchungsergebnisse der vorderen und hinteren Mundhöhle aufgezeigt [Albrecht et al. 2020]. Neben der Reliabilität der intensitätsbasierten OCT-Messungen, die für die Darstellung, den Vergleich und die Korrelationsanalyse der charakteristischen Strukturmerkmale der gewählten Untersuchungsgebiete erforderlich ist, ist vor allem die systembedingte limitierte Messtiefe erkennbar. Dennoch wird deutlich, dass die für die Einstufung oraler Pathologien notwendige Abgrenzung von Epithel- und darunterliegender Bindegewebsschicht mehrheitlich sichergestellt werden kann. Zudem können auf Basis der Korrelation benachbarter OCT-Scans substanzielle Bewegungsartefakte innerhalb der für die Auswertung ausgewählten Serie von fünf Bildern ausgeschlossen werden. In der Studie an 47 Probanden konnten im Wesentlichen alle Messpunkte mit der entwickelten Optik bildgegeben werden. Ausnahme bilden die Rachenhinterwand (I) und die Gaumenmandel (II), die in Abhängigkeit der Patienten-Compliance vereinzelt nicht bildgegeben werden konnten (Erfolgsrate: 61,7 % (I) bzw. 72,3 % (II)). Darüber hinaus sei als Fortschritt die Gesamtheit von Aufnahme, Auswertung und Klassifizierung der OCT-Schnittbilddaten genannt, die auf Grundlage unserer Recherchen in dem präsentierten Umfang und der Komplexität bisher nicht publiziert vorliegen und zudem eine Datenbank für zukünftige klinische Studien sowie Soft- und Hardwareentwicklungen bilden.

Für die Weiterentwicklung endoskopischer oraler Sonden wird die Optimierung und Adaption der technischen Parameter, wie Aufnahmegeschwindigkeit, Messtiefe, Arbeitsabstand und Auflösung, an die Untersuchungssituation bei gleichzeitiger Ergonomisierung und Miniaturisierung des Handstücks angestrebt. Im Wesentlichen bedingt dies die Verwendung einer schnell durchstimmbaren Lichtquelle im Wellenlängenbereich um 1300 nm in Kombination mit starren bzw. faserbasierten Optiken.



**Bild 6:** Ergebnisse der Bildanalyse der gesunden auskleidenden Mundschleimhaut der sieben definierten Regionen der humanen Mundhöhle hinsichtlich (a) der Oberflächenintegrität, (b) dem -relief und (c) der -keratinisierung des Epithels sowie (d) der Homogenität der Epithelschicht, (e) der Identifizierbarkeit der Basalmembran und (f) dem Flächenanteil der Blutgefäße bezogen auf die Gesamtfläche der Lamina propria.

## 2.2 Bildgebung von Oralem lichen planus *in vivo*

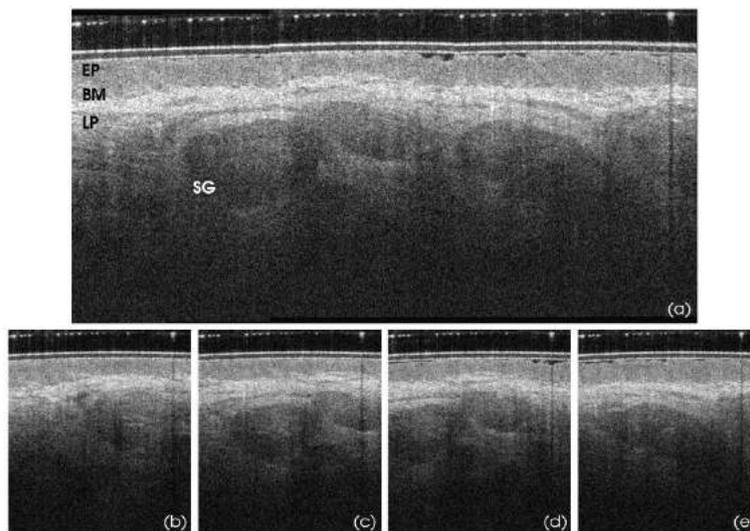
### 2.2.1 Technische Entwicklung

Eine erste technische Umsetzung einer miniaturisierten Oralsonde stellt die durch die University Adelaide (Prof. Robert McLaughlin) zur Verfügung gestellte faserbasierte Sonde dar. Diese wird zusammen mit dem entwickelten Fourier Domänen OCT-System der Arbeitsgruppe KSM (Bild 7) verwendet, welches eine Scanrate von 100 kHz und eine Zentralwellenlänge von 1285 nm aufweist und damit die neu definierten Kriterien erfüllt.

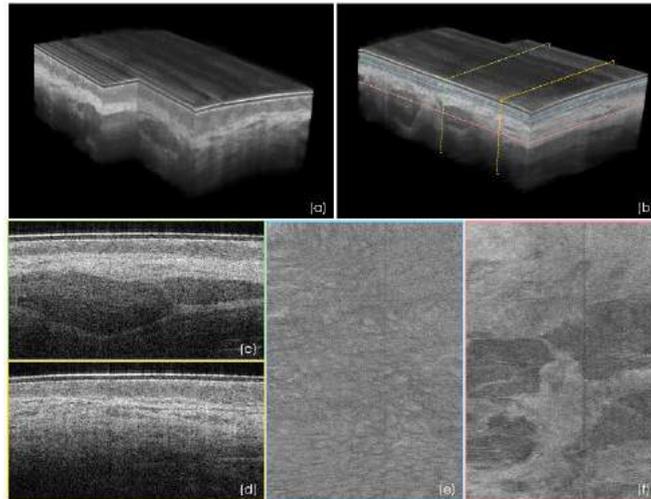


**Bild 7:** Miniaturisierte Oralsonde (UA Prof. McLaughlin) in Kombination mit dem entwickelten faserisierten OCT-System der AG KSM.

Im Vergleich zur oben dargestellten endoskopischen Entwicklung auf Basis eines kommerziellen Laparoscops, wird die miniaturisierte Oralsonde für die Bildgebung der humanen Mundschleimhaut mit einer Schutzfolie versehen und direkt auf den zu untersuchenden Bereich aufgesetzt. Erste repräsentative Ergebnisse der labialen Mukosa der Lippeninnenseite sind in Bild 8 aufgezeigt. Durch das laterale Verschieben der Sonde entlang der oralen Mukosa, ist die vergrößerte Schnittdarstellung und darüber hinaus ebenfalls eine 3D-Bildgebung (Bild 9) möglich.



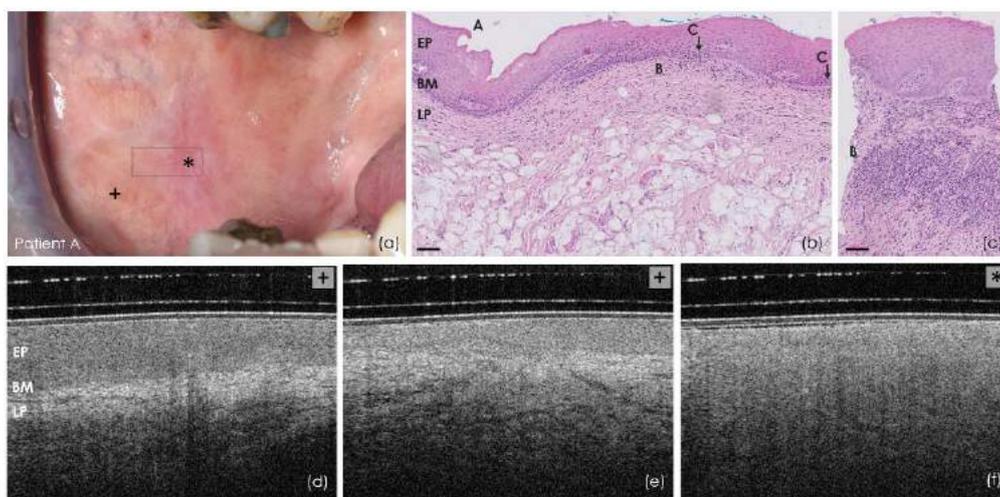
**Bild 8:** *In vivo* Schnittdarstellung der gesunden Innenseite der unteren Lippe mit einfachem (b-e) und vergrößertem lateralem Bildgebungsbereich. EP: Epithelium, LP: Lamina propria, BM: Basalmembran, SG: Speicheldrüsen.



**Bild 9:** 3D-Visualisierung der normalen oralen Mukosa der Lippeninnenseite *in vivo* (a,b). Neben den konventionellen Schnittbildern (c,d) ist auf Basis der 3D-Bildgebung ebenfalls die tiefenaufgelöste Aufsicht der oralen Gewebeschichten möglich.

### 2.2.2 Ergebnisse Patientenstudie

Im Rahmen des geförderten Projekts, wurde zudem eine Pilotstudie an sechs Patienten mit oralem Lichen planus durchgeführt. Die dabei mit Hilfe der faserbasierten Oralsonde untersuchten Regionen umfassen die bukkale Mukosa der Wangeninnenseite sowie die Alveolarmukosa als Übergangsregion von Lippeninnenseite zu den Zähnen. Anhand der folgenden Abbildungen 10 und 11 wird zunächst deutlich, dass die Veränderung der Schichtstruktur der Mundschleimhaut im Falle des vorliegenden oralem Lichen planus durch das entwickelte OCT-System mit optimierter Oralsonde detektiert werden kann. Zudem bestätigt die Gegenüberstellung der *in vivo* OCT-Schnittbildstapel mit den histologischen Schnittbildern, die Erkenntnisse durch die *in vivo* OCT-Bildgebung, wie die Keratinisierung der Oberfläche des Epitheliumsm, den verringerten Kontrast der Basalmembran sowie die Zunahme der Gefäßstrukturen innerhalb des Bindegewebes der Mundschleimhaut.



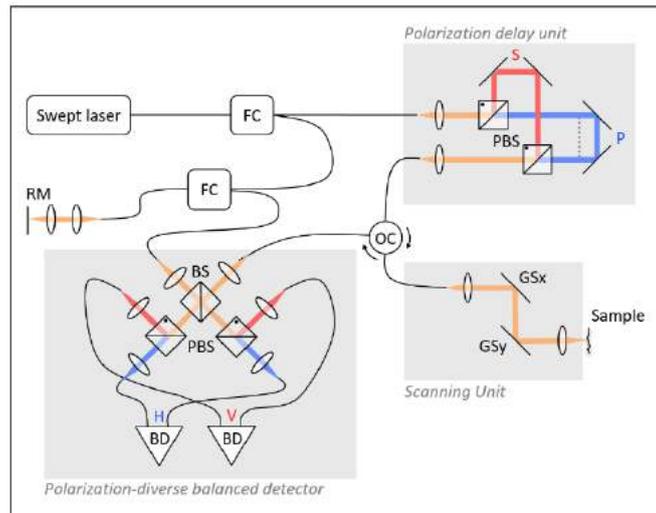
**Bild 10:** Orales Lichen planus (OLP) der Wangeninnenseite (a) in Gegenüberstellung mit den Ergebnissen der Histopathologie (b,c) und OCT (d-f). Stern: Zentrum des LP. EP: Eithelium, BM: Basalmembran, LP: Lamina propria, A: Parakerntinsiertes Epithelium, B: Lymphzyteninfiltrat, C: Partiale Degeneration der Basammembran als Demarkationslinie zwischen Epithelium und darunterliegendem Bindegewebe.



**Bild 11:** Fotografien und OCT-Schnittbilder von Patienten mit symptomatischen oralem Lichen planus (OLP) der Wangeninnenseite und Alveolarregion. Mittlere Spalte (Markierung Stern): Zentrum OLP. Rechte Spalte (Markierung Plus): Umpliegendes unauffällige Region.

### 2.3 Bildgebung des Kollagenfasernetzwerks der humanen Mundschleimhaut

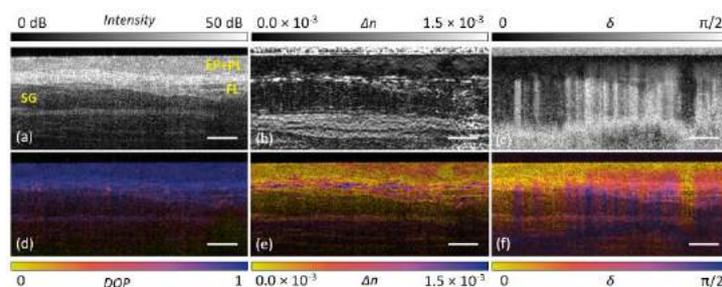
Als weiteren wichtigen Punkt des Projekts wurde die Visualisierung der Gewebe-Doppelbrechung mit polarisationssensitiven OCT (PS-OCT) ermöglicht, sodass die strukturelle tiefenaufgelösten Bildgebung der Kollagenfaserorganisation innerhalb der Bindegewebsschicht der humanen Mundschleimhaut realisiert werden konnte. Anstelle nur eines zirkularen Polarisationszustandes, werden zwei orthogonale Eingangszustände in einer Polarisationsverzögerungseinheit (engl. polarization delay unit, PDU) durch das sog. Polarisationsmultiplexverfahren getrennt und genutzt, um das Gewebe simultan zu beleuchten [Lim et al. 2012, Baumann et al. 2012, Wang Z et al. 2014, Villiger et al. 2016].



**Bild 12:** PS OCT-System für die Bildgebung der humanen Mundschleimhaut der vorderen Mundhöhle.

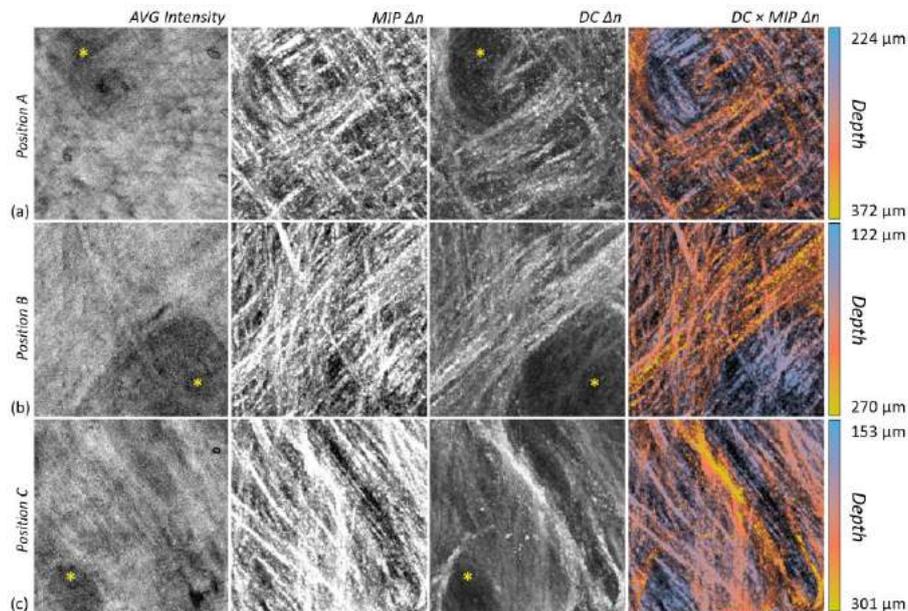
FC (fiber coupler): Faserschmelzkoppler, OC (optical circulator): Optischer Zirkulator, RM (reference mirror): Referenzspiegel, GS (galvanometer scanner): Galvanometerspiegel, BS (beam splitter): Strahlteiler, PBS (polarizing beam splitter): Polarisationsabhängiger Strahlteiler, S,P: Orthogonale Polarisierungseingangszustände, BD (balanced detector): Detektoreinheit, H,V: Horizontale und vertikale Polarisationskanäle.

Die daraus rekonstruierten komplexwertigen Tomogramme der vier Detektionskanäle des PS-OCT-Systems enthalten die kumulative Polarisationsinformation des Hin- und Rückwegs des Lichtes innerhalb der Probe und bilden die Grundlage für die Berechnung der tiefenaufgelösten Doppelbrechung des untersuchten Gewebes und damit die kontrastreiche Darstellung polarisationsändernder Strukturen wie bspw. dem Kollagenfaserverbund innerhalb der Lamina propria.



**Bild 13:** PS OCT-Schnittbilddarstellung der labialen Mundschleimhaut. (a) Intensitätsbasierte Darstellung des Epitheliums (EP), der Papillarschicht (papillary layer, PL) und der Retikulärschicht (reticular layer, RL). (b,e) Tiefenaufgelöste Doppelbrechung ( $\Delta n$ ) und (c,f) kumulative Phasenverzögerung in 8-bit- und Farbdarstellung.

Durch eine adaptierte Prozessierung ist die Bildgebung der orts aufgelösten Kollagenfaserausrichtung in der tiefenabhängigen Aufsicht des detektierten dreidimensionalen OCT-Schnittbildstapels möglich [Walther et al. 2019].

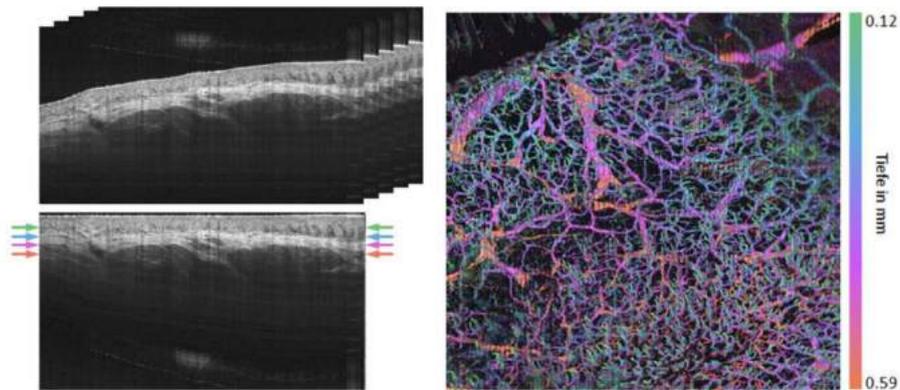


**Bild 14:** Aufsicht (*en face* Darstellung) der intensitätsbasierten Schnittbildstapel (AVG Intensity) sowie der lokalen Doppelbrechung (MIP: Maximum-Intensitäts-Projektion, DC (depth-encoded): tiefenaufgelöste Aufsicht). Die Überlagerung der tiefenaufgelösten Doppelbrechung mit der Maximum-Intensitäts-Projektion ist für drei verschiedene Positionen der Innenseite der Lippe gegeben.

Da die Kollagenmatrix als potenzieller prognostischer Marker in einer Vielzahl von Malignitäten identifiziert wurde, nimmt sie auch bei der Bewertung oraler Dysplasien eine zentrale Rolle ein und wird zunehmend bei der Erforschung von Diagnoseverfahren zur Detektion oraler Präkanzerosen berücksichtigt [Gopinathan et al. 2015, John und Murthy 2016, Pal et al. 2016]. Die *in vivo* Detektion der wesentlichen, dreidimensionalen Kollagenfaserstruktur der humanen Mundschleimhaut, mit hinreichend großem Bildfeld von wenigen Millimetern bei einer räumlichen Auflösung im Mikrometerbereich, ist bisher nur durch die Methode der PS OCT gegeben. Trotz begrenzter Bildgebungstiefe, können tiefer liegende Strukturen durch die minimalinvasive Verwendung kanülenförmiger PS OCT-Sonden bildgegeben werden [Villiger et al. 2016].

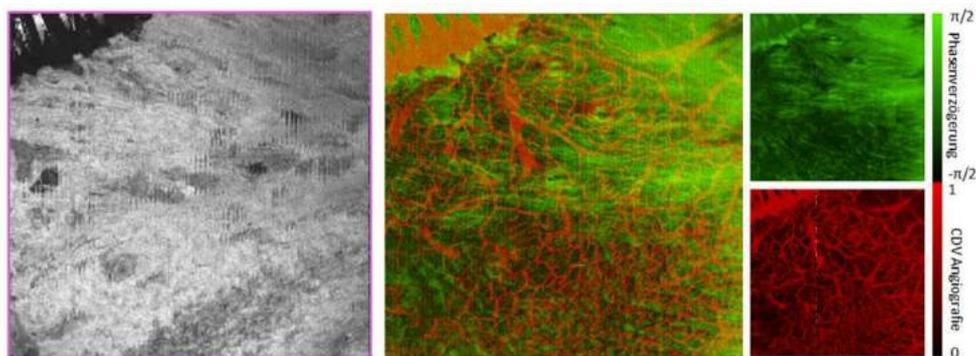
## 2.4 Bildgebung des Blutgefäßstrukturen der oralen Bindegewebsschicht

In einer weiteren Proof-of-Principle-Studie konnte erstmals die Bildgebung der Blutgefäße parallel zu den doppelbrechenden Faserstrukturen in der Lamina propria der Bindegewebsschicht der oralen Mukosa der vorderen humanen Mundhöhle gezeigt werden. Die Auswertung der vaskulären Strukturen wurde durch den sog. Complex differential variance (CDV) Algorithmus realisiert, der sich vor allem durch die Resistenz gegen systembezogene Phaseninstabilitäten und geringfügige axiale Patientenbewegungen auszeichnet und initial für die Bildgebung der Mikrogefäße des humanen Augenhintergrunds entwickelt worden ist [Nam et al. 2014, Braaf et al. 2018]. Grundlage ist die Berücksichtigung der durch den Blutfluss hervorgerufenen Phasen- und Intensitätsänderungen der mit einem PS-OCT-System detektierten Interferenzsignale. Ergebnisse der Angiografie der labialen oralen Mukosa sind in Bild 15 dargestellt.



**Bild 15:** Tiefenaufgelöste Angiografie der Gefäße der humanen labialen oralen Mukosa *in vivo* auf Basis einer Serie von fünf, an quasi identischer Stelle aufgezeichneten B-Scans.

Der Nutzen der OCT-Angiografie und der Mehrwert gegenüber der klassischen intensitätsbasierten OCT soll in weiteren *in vivo* Studien an frühen das Epithel betreffenden oralen Läsionen, sowie im Rahmen der Mukositisbildung während der Radiochemotherapie geklärt werden. Überdies soll die Aufbereitung der Mess- und Bilddaten für die ärztliche Beurteilung in dem Maß aufbereitet werden, dass eine Diagnose im klinischen Ablauf perspektivisch realisiert werden kann. Einen ersten Ansatz stellt die direkte Überlagerung des angiografischen und doppelbrechenden Kontrasts dar, wie in Bild 16 gezeigt wird.



**Bild 16:** Tiefenabhängige Aufsicht (engl. en face view) des Intensitätssignals sowie der Überlagerung der angiografischen (rot) und doppelbrechenden (grün) Information der humanen labialen oralen Mukosa in einer Tiefe von 430  $\mu\text{m}$  relativ zur nivellierten Oberfläche (Bild 10).

### 3 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen des geförderten Projekts konnte das bestehende endoskopische OCT-System erweitert und optimiert werden und darüber hinaus ein neu entwickeltes OCT-System auf Basis einer durchstimmbaren Lichtquelle, mit optimiertem Wellenlängenbereich sowie einer um das Zehnfache gesteigerten Aufnahmezeit, realisiert und in Kombination mit einer miniaturisierter Oralsonde in einer ersten klinischen Pilotstudie eingesetzt werden. Diese erste Studie zur Bildgebung von oralem Lichen offenbart den Mehrwert des neuen Systems in Form von 2D- und 3D-Bildgebung mit verringerten Bewegungsartefakten und gesteigerter Bildgebungstiefe. Zudem bildet dieses System die Voraussetzung für die zukünftige funktionelle endoskopische OCT-Bildgebung der humanen Mundschleimhaut *in vivo*. Als funktionelle Erweiterungen der intensitätsbasierten OCT wurden sowohl die polarisationssensitive OCT (PS-OCT) als auch die OCT-Angiografie untersucht. Ziel dieser Untersuchungen war die Evaluierung der Zweckmäßigkeit sowie Durchführbarkeit der polarisationssensitiven OCT (PS-OCT) für die nichtinvasive Bildgebung der Bindegewebsschicht der humanen Mundschleimhaut. Zielvorstellung war dabei die gesteigerte Aussagekraft über die im anatomischen Verbund vorliegenden Strukturmerkmale in Abhängigkeit von der untersuchten Region innerhalb der Mundhöhle durch die Verwendung von PS-OCT mit angiografischem Kontrast. Dafür wurde ein in der Arbeitsgruppe KSM entwickeltes PS-OCT-System mit durchstimmbarer Lichtquelle um 1300 nm und einer kombinierten Scan- und Detektionseinheit im Freistrahlbau für die Bestimmung der Änderung der Eingangspolarisation genutzt, welches die Bildgebung der vorderen Mundhöhle, wie der labialen und lingualen oralen Mukosa, erlaubt. Für eine zukünftige flexible, patientennahe Bildgebung doppelbrechender Strukturen innerhalb des Mundraums wird das im Rahmen des geförderten Projekts entwickelte System mit hangehaltener faseroptischer Sonde eingesetzt. Dabei ist jedoch bei dem bevorzugten Einsatz von Single-Mode-Fasern zu berücksichtigen, dass jede Bewegung der Faser zu einer potentiellen Verformung des Faserkerns führt, die wiederum die Polarisationszustände aufgrund der veränderlichen doppelbrechenden Eigenschaften beeinflussen und damit die Messung der Doppelbrechung der zu untersuchenden Probe überlagern und verfälschen kann. Konzeptionell wird deshalb das vorgestellte OCT-System mit fasergekoppelte miniaturisierter Optik erweitert um mehrere sequentiell bzw. simultan eingebrachten Polarisationszuständen zu realisieren. Letzterer Ansatz geht mit dem hohen technischen Aufwand einer Polarisationsverzögerungseinheit einher, die das sog. Polarisationsmultiplexverfahren nutzt, um zwei orthogonale Polarisationszustände zeitlich zueinander zu verzögern und damit einen definierten Gangunterschied und somit eine definierte Verschiebung innerhalb der Messtiefe zu erreichen und folglich die simultane Beleuchtung der Probe mit diesen zwei Polarisationszuständen zu erlauben. Die Justage und Optimierung der im Rahmen dieses Projekts aufgebauten Polarisationsverzögerungseinheit wird Gegenstand zukünftiger Arbeiten sein.

## Referenzen

- Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tan PF, Westra WH, Chung CH, Jordan RC, Lu C, Kim H, Axelrod R, Silverman CC, Redmond KP, Gillison ML. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2010;363(1):24-35.
- Albrecht M, Schnabel C, Koch E, Walther J. Qualitative image comparison between in vivo endoscopic optical coherence tomography and conventional histology of the healthy human oral mucosa. *Proc SPIE 10857, Lasers in Dentistry XXV, 1085708* (28 February 2019).
- Albrecht M, Schnabel C, Mueller J, Golde J, Koch E, Walther J. In Vivo Endoscopic Optical Coherence Tomography of the Healthy Human Oral Mucosa: Qualitative and Quantitative Image Analysis. *Diagnostics* 2020, 10:827.
- Baumann B, Choi W, Potsaid B, Huang D, Duker JS, Fujimoto JG. Swept source/Fourier domain polarization sensitive optical coherence tomography with a passive polarization delay unit. *Opt Express* 2012;20(9):10218-30.
- Braaf B, Donner S, Nam AS, Bouma BE, Vakoc BJ. Complex differential variance angiography with noise-bias correction for optical coherence tomography of the retina. *Biomed Opt Express*. 2018;9(2):486–506
- Chen PH, Wu CH, Chen YF, Yeh YC, Lin BH, Chang KW, Lai PY, Hou MC, Lu CL, Kuo WC. Combination of structural and vascular optical coherence tomography for differentiating oral lesions of mice in different carcinogenesis stages. *Biomed Opt Express* 2018;9(4):1461-1476.
- Cogliano V, Straif K, Baan R, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F. Smokeless tobacco and tobacco-related nitrosamines. *Lancet Oncol* 2004;5(12):708.
- Davoudi B, Lindenmaier A, Standish BA, Allo G, Bizheva K, Vitkin A. Noninvasive in vivo structural and vascular imaging of human oral tissues with spectral domain optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2012;3(5):826-39.
- Dissanayaka WL, Pitiyage G, Kumarasiri PV, Liyanage RL, Dias KD, Tilakaratne WM. Clinical and histopathologic parameters in survival of oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2012;113(4):518-25.
- D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, Westra WH, Gillison ML. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007;356(19):1944-56.
- Gopinathan PA, Kokila G, Jyothi M, Ananjan C, Pradeep L, Nazir AH. Study of collagen birefringence in different grades of oral squamous cell carcinoma using picrosirius red and polarized light microscopy. *Scientifica* 2015;2015:802980.
- John RE und Murthy S. Morphological analysis of collagen and elastic fibers in oral squamous cell carcinoma using special stains and comparison with Broder's and Bryne's grading systems. *Indian J Dent Res* 2016;27(3):242-8.
- Johnson NW, Warnakulasuriya S, Gupta PC, Dimba E, Chindia M, Otoh EC, Sankarana-rayanan R, Califano J, Kowalski L. Global oral health inequalities in incidence and outcomes for oral cancer: causes and solutions. *Adv Dent Res* 2011;23(2):237-46.
- Koontongkaew S. The tumor microenvironment contribution to development, growth, invasion and metastasis of head and neck squamous cell carcinomas. *J Cancer* 2013;4(1):66-83.
- Lim Y, Hong YJ, Duan L, Yamanari M, Yasuno Y. Passive component based multifunctional Jones matrix swept source optical coherence tomography for Doppler and polarization imaging. *Opt Lett* 2012;37:1958-1960.
- Lingen MW, Kalmar JR, Karrison T, Speight PM. Critical Evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral Oncol* 2008;44(1):10-22.

Maslennikova AV, Sirotkina MA, Moiseev AA, Finagina ES, Ksenofontov SY, Gelikonov GV, Matveev LA, Kiseleva EB, Zaitsev VY, Zagaynova EV, Feldchtein FI, Gladkova ND, Vitkin A. In-vivo longitudinal imaging of microvascular changes in irradiated oral mucosa of radiotherapy cancer patients using optical coherence tomography. *Sci Rep* 2017;7:16505.

Messadi DV. Diagnostic aids for detection of oral precancerous conditions. *Int J Oral Sci* 2013;5(2):59-65.

Nam AS, Chico-Calero I, Vakoc BJ. Complex differential variance algorithm for optical coherence tomography angiography. *Biomed Opt Express* 2014;5(11):3822-32.

Pal R, Shilagard T, Yang J, Villarreal P, Brown T, Qiu S, McCammon S, Resto V, Vargas G. Remodeling of the epithelial-connective tissue interface in oral epithelial dysplasia as visualized by noninvasive 3D imaging. *Cancer Res* 2016;76(16):4637-47.

Petersen PE. Oral cancer prevention and control – the approach of the World Health Organization, *Oral Oncol* 2009;45(4 5):454-60.

Petti S. Lifestyle risk factors for oral cancer. *Oral Oncol* 2009;45(4-5):340-50.

Scully C und Bagan J. Oral squamous cell carcinoma overview. *Oral Oncol* 2009;45(4 5):301-8.

Shillitoe EJ. The role of viruses in squamous cell carcinoma of the oropharyngeal mu-cosa. *Oral Oncol* 2009;45(4–5):351-5.

Sirotkina MA, Moiseev AA, Matveev LA, Zaitsev VY, Elagin VV, Kuznetsov SS, Gelikonov GV, Ksenofontov SY, Zagaynova EV, Feldchtein FI, Gladkova ND, Vitkin A. Accurate early prediction of tumour response to PDT using optical coherence angiography. *Sci Rep* 2019;9:6495.

Villiger M, Lorensen D, McLaughlin RA, Quirk BC, Kirk RW, Bouma BE, Sampson DD. Deep tissue volume imaging of birefringence through fibre-optic needle probes for the delineation of breast tumour. *Sci Rep* 2016;6(1):28771.

Walther J, Li Q, Villiger M, Farah CS, Koch E, Karnowski K, Sampson DD. Depth-resolved birefringence imaging of collagen fiber organization in the human oral muco-sa in vivo. *Biomed Opt Express* 2019;10(4):1942-56.

Wang Z, Lee HC, Ahsen OO, Lee B, Choi W, Potsaid B, Liu J, Jayaraman V, Cable A, Kraus MF, Liang K, Hornegger J, Fujimoto JG. Depth-encoded all-fiber swept source polarization sensitive OCT. *Biomed Opt Express* 2014;5(9):2931-49.

Wilder-Smith P, Lee K, Guo S, Zhang J, Osann K, Chen Z, Messadi D. In vivo diagnosis of oral dysplasia and malignancy using optical coherence tomography: preliminary studies in 50 patients. *Lasers Surg Med* 2009;41(5):353-7.