

**Das „Sehende Skalpell“:
OCT-navigierte fs-Laser Mikrochirurgie**

Von der Fakultät für Mathematik und Physik
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktor der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat.
genehmigte Dissertation

von
Dipl.-Ing. (FH) Ole Massow
geboren am 22.11.1980 in Münster

2010

Referent: Prof. Dr. Holger Lubatschowski

Korreferent: Prof. Dr. Uwe Morgner

Tag der Promotion: 2. Juni 2010

Zusammenfassung

Bei dem Versuch, chirurgische Eingriffe in der Medizin minimal invasiv zu gestalten, werden vermehrt Laser eingesetzt. Diese bieten bei der richtigen Auswahl der Parameter eine sehr kleine Wechselwirkungszone, beim Einsatz von Femtosekunden-Lasern (fs-Laser) liegt diese im Bereich von wenigen Mikrometern. Hiermit können unter Ausnutzung des Effekts der Photodisruption Schnitte unterhalb der Oberfläche eingebracht werden. Die gebotene Präzision kann jedoch bisher nur relativ aber nicht absolut erreicht werden, da eine geeignete Bildgebung zur Positionierung der Schnitte und deren Integration in ein Gerät fehlt. Dies würde die fs-Laser-basierte Herstellung von histopathologischen Dünnschnitten (fs-Laser-Mikrotomie) und Behandlung der Alterweitssichtigkeit (fs-Laser-Lentotomie) sowie von arteriosklerotischen Arterien (extraluminale fs-Laser-Angioplastie, kurz: ELAN) ermöglichen.

Das Ziel dieser Arbeit ist die Umsetzung des Konzeptes des „Sehenden Skalpells“, welches die Integration eines Optischen Kohärenztomographie-Systems (OCT) und fs-Lasers zur navigierten Schnittführung in biologischen Geweben vorsieht. Die OCT ist ein rein optisches Messverfahren, welches Schnittbilder mit einer Auflösung von wenigen Mikrometern ermöglicht. Die mittels OCT gewonnenen Informationen über die Struktur des Gewebe können auf den fs-Laser übertragen werden und somit durch den alternierenden Einsatz der beiden Systeme die Schnittführung kontrolliert werden. Der fs-Laser stellt dabei eine mögliche Lichtquelle für die OCT, allerdings erfüllt er nicht Anforderungen an die spektrale Breite. Die Entstehung der sog. nichtsolitonischen Strahlung bei der spektralen Verbreiterung soll an einer optischen Faser evaluiert werden.

Die Entstehung der nichtsolitonischen Strahlung wurde an einer photonische Kristallfaser untersucht in Abhängigkeit der Faserlänge und der Pulsenergie des Pumpasers. Für Faserlängen bis 300 μm konnte hier eine Breite von 50 - 60 nm erreicht werden, welche über die Faserlänge und Pulsenergie nahezu konstant bleibt. Die Zentralwellenlänge der erzielten Spektren verschiebt sich dagegen mit Pulsenergie in einem Bereich von 780 - 640 nm. Die eingesetzten OCT-Systeme liegen jedoch bei 830 bzw. 930 nm, die verwendeten fs-Laser bei 1030 nm.

Es wurden zwei verschiedene Systeme aufgebaut, eines für die Anwendung in der Mikrotomie und eines für die Lentotomie / ELAN. Die optische Integration der OCT-Systeme in die fs-Laser-Systeme erfolgte über die spektrale Abtrennung. Die jeweils für die fs-Laser angepassten Objektive konnten durch Unterfüllung an die für die OCT geringen numerischen Aperturen angepasst werden. Der Scan erfolgt dabei mechanisch durch Verfährung der Probe (Mikrotom) bzw. optisch durch Einsatz von Galvanometer-Scannern.

Mithilfe des fs-Laser-Mikrotoms konnten anhand der Gewebestruktur Schnitte in definierten Tiefen eingebracht werden, sowohl in porciner Cornea und Stimmlippe als auch in humanem Zahn. Innerhalb der fs-Laser-Lentotomie konnten Schnitte in porcinen Augenlinsen appliziert werden, dies gelang in extrahierten sowie noch innerhalb des Augenbulbus befindlichen Linsen. Bei letzteren konnte erfolgreich durch die Augenvorderkammer hindurch gearbeitet werden. Im Bereich der extraluminale fs-Laser-Angioplastie konnte die Schnitttiefe in der Außenwand mittels OCT kontrolliert werden. Die erzielte Präzision liegt innerhalb der Auflösung der jeweiligen OCT-Systeme von wenigen Mikrometern.

Im Rahmen dieser Arbeit konnte erstmalig die Integration von OCT- und fs-Laser-Systemen demonstriert werden. Der übliche notwendige Wechsel zwischen Bildgebung und Schnittapplikation entfällt. Die präzise fs-Laser-Positionierung im Raum und die Ausrichtung an Gewebestrukturen wird hiermit möglich. Verschiedene Anwendungsgebiete konnten erfolgreich aufgezeigt werden.

Schlagworte: Sehendes Skalpell, Femtosekundenlaser, Optische Kohärenztomographie, spektrale Verbreiterung, nichtsolitonische Strahlung

Abstract

To reach the goal of making surgical interventions less invasive, the use of lasers has become widely common. With the right choice of parameters very small laserlight tissue impact zones, such as necrosis, can be achieved. When using femtosecond lasers (fs-lasers) these are in the range of a few micrometers. By using the photodisruption effect fs-laser cuts can be applied within bulk material beneath the tissue surface. To this date the precision potential could only be reached relatively not absolutely, as an appropriate imaging system as well as the integration into a combined device was missing. Thereby the fs-laser based processing of histopathological slices (fs-laser microtomy) of native state biological tissue and the treatment of both presbyopia (fs-laser lentotomy) and arteriosclerotic arteries (extraluminal fs-laser angioplasty, ELAN) would come into reach.

The goal of this thesis is the demonstration of the „seeing scalpel“ concept, which is the integration of an optical coherence tomography system (OCT) and an fs-laser for navigated incisions in biological tissues. Therefore OCT is an all optical measurement modality providing cross sectional images at resolutions within a few micrometers. With information about tissue structure the exact positions are used for directing the fs-laser focus inside the material. By alternating operation of both OCT and fs-laser a controlled cutting process can be achieved. Furthermore the fs-laser is a potential lightsource for the OCT systems, missing the parameter of spectral bandwidth in particular. By utilising the so called non-solitonic radiation, generated by spectral broadening, the benefit shall be evaluated.

The formation of non-solitonic radiation was investigated on a photonic crystal fibre in dependency of the fibre length and the pulsenergy of the pump source. At fibre lengths up to 300 mm spectral widths of 50-60 nm at FWHM-level could be achieved, which were nearly constant over fibre length and puls energy. The central wavelength could be tuned within in a range of 780-640 nm by modifying puls energy of the 1030 nm fs-laser source. In contrast the used OCT devices are restricted to central wavelengths of 830 and 930 nm.

Within this thesis two different devices were set up, the first one for fs-laser microtomy and the second for fs-laser lentotomy / ELAN. The optical integration of the beam paths were realized by spectral separation. The objectives, which were highly optimized for fs-laser application, were adapted to the OCT requirements by underfilling of the numerical apertures. Scanning of the OCT beam was achieved by mechanical translation of the sample (fs-laser microtome) as well as the usage of galvanometer scanners.

By using the integrated fs-laser microtome incisions within predefined depths in accordance with the tissue structure could be obtained both in porcine cornea and vocal cord tissue as well as human tooth. At the fs-laser lentotomy cutting patterns such as the *steering wheel* were applied in porcine crystalline lenses, with experiments done in extracted lenses as well as lenses, which were still contained inside a closed eye bulbus. At the extraluminal fs-laser angioplasty an iterativ controlled cutting procedure was successful demonstrated. The achieved precision of each systems lies within the resolution of the used OCT systems.

Within this thesis the integration of both OCT and fs-laser systems were demonstrated for the first time. The conventional inevitable change of imaging and cutting device was eliminated. Thereby the precise three dimensional fs-laser positioning and the alignment according to tissue structures can be achieved. Various applications were pinpointed successfully.

Keywords: seeing scalpel, femtosecondlaser, optical coherence tomography, spectral broadening, non-solitonic radiation

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Das Konzept des „Sehenden Skalpells“	6
1.2. Zielsetzung und Inhalt dieser Arbeit	7
2. Wechselwirkung von Licht mit Gewebe	9
2.1. Wechselwirkung kurzkohärenter Strahlung hoher Intensität	10
2.1.1. Photodisruptionsprozess	10
2.1.2. Abtragsmechanismen bei Repetitionsraten im kHz- und MHz-Regime	13
2.2. Wechselwirkung Strahlung geringer Intensität	14
3. Optische Kohärenztomographie	21
3.1. Interferometrie in der Frequenzdomäne	22
3.2. Auflösung und Tiefenschärfe	25
3.3. Rauschquellen	27
3.4. Empfindlichkeit, Signal-Rausch-Verhältnis und Dynamikumfang	30
3.5. Artefakte	31
3.6. Dispersionsbalancierung	33
3.7. Polarisierung	35
3.8. Signalverarbeitung	35
3.9. Komplexe OCT	38
4. Nichtsolitonische Strahlung als Lichtquelle für die OCT	39
4.1. Theorie zur spektralen Verbreiterung in PCF	40
4.1.1. Grundlegende nichtlineare Effekte in optischen Fasern	41
4.1.2. Erzeugung von Superkontinua	43
4.2. Untersuchungen zur spektralen Verbreiterung in PCF	45
4.2.1. Beschreibung des Aufbaus und der Versuchsdurchführung	46
4.2.2. Eigenschaften des Peaks der nichtsolitonischen Strahlung	47
4.2.3. Polarisationsabhängigkeit	49
4.2.4. Überkopplung der verbreiterten Spektren	50
4.3. Fazit zur spektralen Verbreiterung	53
5. Mikrotomie	57
5.1. Aufbau des fs-Laserbasierten Mikrotoms	57
5.1.1. Optomechanischer Aufbau	57
5.1.2. Synchronisation der elektrischen Komponenten	59
5.2. Systemcharakterisierung	60
5.3. Positionsreferenzierung	61
5.4. Schnitte in biologischen Proben	62
5.4.1. Porcine Cornea	63
5.4.2. Porciner Larynx	63
5.4.3. Humaner Zahn	66
5.5. Fazit zur OCT-gestützten Mikrotomie	67

6. Mikrochirurgie	69
6.1. Abgrenzung zur bisherigen Arbeiten	69
6.2. Anwendungsfelder des fs-Laser Mikrochirurgiesystems	70
6.2.1. Presbyopie	70
6.2.2. Extraluminale fs-Laser-Angioplastie	71
6.3. Aufbau des Applikators für die Presbyopiebehandlung	73
6.3.1. Optomechanischer Aufbau	73
6.3.2. Synchronisation der elektrischen Komponenten	76
6.4. Systemcharakterisierung	76
6.5. Aufbereitung und Visualisierung der Daten	77
6.6. Referenzierung von fs-Laser und OCT	78
6.7. OCT-gestützte fs-Laser-Lentotomie	80
6.8. OCT-gestützte ELAN-Prozedur	81
6.9. Fazit zur OCT-gestützten Mikrochirurgie	84
7. Diskussion und Ausblick	89
Literaturverzeichnis	95
Anhang	102
A. Spezifikationen der dichroidischen Strahlteiler	103
B. Parameter des Positioniersystems	109
C. Datenblatt der PCF	111
D. Konstruktionszeichnungen	113
E. Schaltpläne	117
F. Liste der Veröffentlichungen	119
G. Lebenslauf	121
Danke...	123

1. Einleitung

Chirurgische, invasive Eingriffe stellen immer eine Verletzung des Körpers dar. Daher gibt es seit jeher die Bestrebung, diese Eingriffe minimal invasiv zu gestalten. Neben der Endoskopie und anderen Techniken werden dafür heutzutage vielfach Laser als therapeutisches Mittel eingesetzt. Diese können je nach verwendetem Lasertyp verschiedene Vorteile gegenüber mechanischen Instrumenten bieten, wie Eingriffe mit geringen Blutungen durch Koagulation der umgebenden Blutgefäße, minimal invasivem Einsatz durch Faserführung oder sehr präzisen Abtrag von Gewebe z.B. durch den Einsatz von Excimer-Lasern bei der Photorefraktiven Keratektomie (PRK)[Tro83]. Allen gemeinsam ist die Absorption der durch Laserlicht eingebrachten Energie. Die Art der Wechselwirkung ist dabei abhängig von den Laserparametern und den optischen Eigenschaften der Gewebe.

Mit Ausnahme der Ultrakurzpuls-Laser ist die Wechselwirkung zwischen Laserlicht und Gewebe durch die lineare Absorption bedingt. Ein sehr interessantes Werkzeug ist daher der Femtosekunden-Laser (fs-Laser), welcher aufgrund der nichtlinearen Absorption auch in für die verwendete Wellenlänge transparentem Gewebe Schnitte erzielen kann [Chu09]. Durch die Fokussierung von fs-Laserpulsen lassen sich auch Proben bearbeiten, welche für die genutzte Wellenlänge transparent sind und somit keine lineare Absorption aufweisen. Die Pulsdauer von wenigen hundert Femtosekunden hat eine nichtlineare Wechselwirkung zur Folge, der sogenannten Photodisruption. Aufgrund von Photodisruption können Proben so auch innerhalb des massiven Materials bearbeitet werden, ohne die Oberfläche selbst zu manipulieren. Der Schnitteffekt wird hier durch die mechanische Scherwirkung eines laserinduzierten expandierenden dichten Plasmas erzielt bzw. durch die chemische Dekomposition der bestrahlten Volumina bei Erzeugung eines Plasmas geringer Dichte. Die Präzision kann dabei im Mikrometer-Bereich im medizinischen Umfeld bis hin zum nm-Bereich im Bereich der Zellmanipulation liegen [Hei05]. Anwendung findet dieser Lasertyp bereits in der Augenheilkunde bei der Korrektur von Fehlsichtigkeiten des menschlichen Auges zur Präparation von Hornhautlappen (engl. *flap*) im Verlauf der fs-LASIK-Operation (engl. *femtosecond laser in situ keratomileusis*) [Liu98, Kur98].

Dieser Umstand wird bei der fs-LASIK ausgenutzt, um die Fehlsichtigkeiten durch Dickenänderung der Cornea zu korrigieren. Dazu wird das Auge durch eine Applanationsplatte fixiert, und mittels

fs-Laser ein Schnitt parallel unterhalb der Applanationsplatte in einer Tiefe von $80 - 160 \mu m$ eingebracht. Dieser Schnitt präpariert einen Flap, welcher zur Seite geklappt wird, und die eigentliche Dickenkorrektur erfolgt nun mittels Photoablation durch einen Excimer-Laser. Die Fokusslage und somit die Dicke des Flaps sind dabei durch die Justage vor dem Schnitt gegeben. Eine Anpassung der Schnitttiefe an die Schichtstruktur der Cornea ist hier nicht möglich, da eine geeignete Bildgebung bisher nicht eingesetzt wurde.

Ein weiteres Anwendungsfeld ist die Behandlung der Altersweitsichtigkeit, auch Presbyopie genannt. Die Fähigkeit des menschlichen Auges zur Fokussierung nimmt mit steigendem Alter ab, der Grund

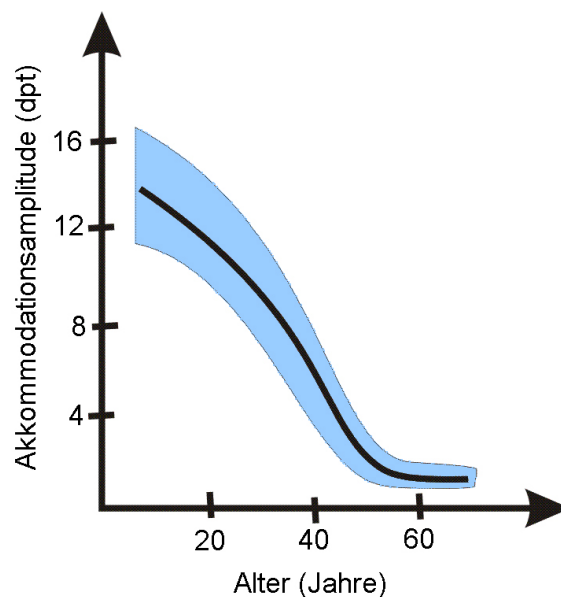


ABBILDUNG 1.1.: Abnahme der Akkomodationsfähigkeit der menschlichen Augenlinse über das Lebensalter. Ab einem Alter von 40 bis 50 Jahren erreicht diese ein Minimum von 1 - 2 Dioptrien. Nach [Dua22].

hierfür ist die zunehmende Verhärtung der Augenlinse. Betroffen sind hiervon sämtliche Personen, wobei die Altersgruppe von 50 - 60 Jahren dies am stärksten bemerkt durch die Abnahme der Nahakkommodation auf 1 - 2 Dioptrien (s. Abb. 1.1). Innerhalb der jetzt 40 - 50 Jährigen sind somit innerhalb der nächsten 10 Jahre allein in Deutschland 13.890.000 Personen (Stand 2010) betroffen (Abb. 1.2) [Sta09]. Eine mögliche Therapie stellt das Einbringen von Laserschnitten in die Linse dar [Rip07, Rip08a, Rip08b]. Hierdurch sollen Gleitebenen geschaffen werden, die zu einer gesteigerten Verformbarkeit der Linse und einem Rückgewinn der Akkomodation beitragen sollen. Allerdings kann an die Linse, anders als die Cornea, keine Referenzebene in direkten Kontakt gebracht werden. Zudem variiert die Position der Linse, also der Abstand von Corneaoberfläche zu Linsenmitte, in einem Bereich von bis zu 2 mm.

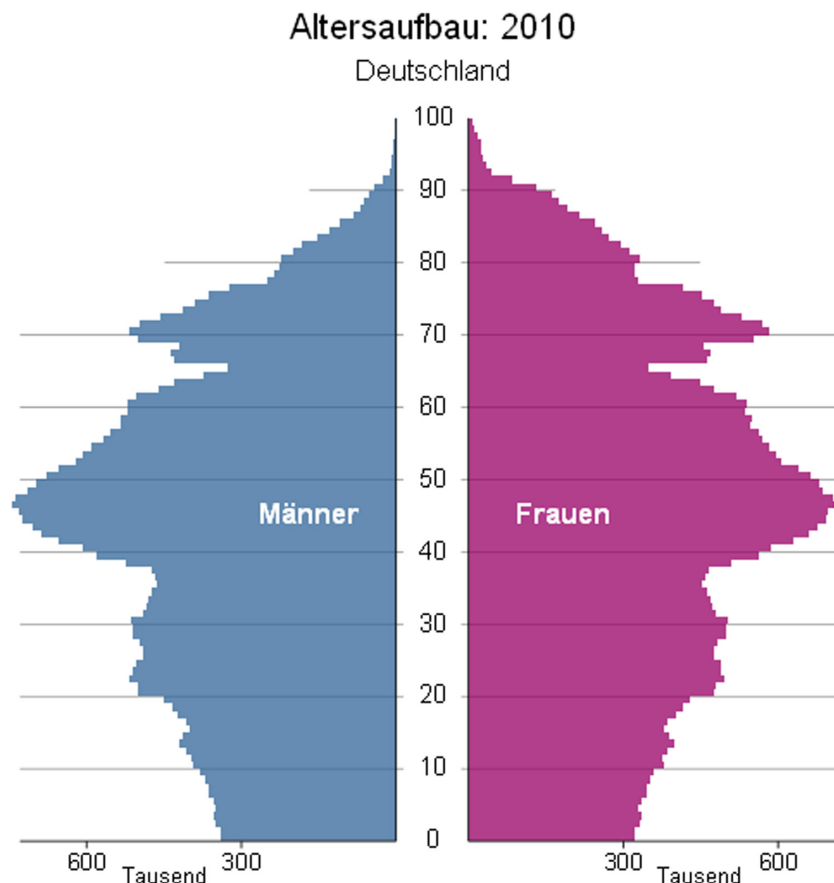


ABBILDUNG 1.2.: Verteilung der Alterstruktur der Bevölkerung in Deutschland. Die innerhalb der nächsten 10 Jahre von der Presbyopie betroffenen Altersgruppe der jetzt 40 bis 50 Jährigen beträgt 13,9 Mio Personen. Quelle: [Sta09].

Für Behandlungen, bei denen ein direktes Anbringen einer Referenz nicht möglich ist, somit kann die erforderliche Präzision nicht erzielt werden. Ebenso ist es nicht möglich, in definierten Tiefen Schnitte einzubringen. An dieser Stelle ist die Integration eines Messsystems erforderlich, welches im Vorfeld eine qualitative wie quantitative Bildgebung ermöglicht, woraus auf den Aufbau sowie die Dicken der Struktur geschlossen werden kann. Die daraus gewonnene Information kann dann zur Steuerung eines fs-Lasers genutzt werden. Die Umsetzung der fs-Laser-Applikation und der Bildgebung in zwei von einander getrennten Geräten ist nicht zweckmäßig, da durch den Wechsel der Geräte die Gefahr impliziert wird, sowohl Position als auch Orientierung innerhalb der „Probe“ und somit auch die Präzision zu verlieren.

Die Optische Kohärenztomographie (engl. *Optical coherence tomography*, OCT) ist ein optisches interferometrisches Messverfahren, welches nicht invasiv *in vivo* Schnittbilder von transparenten wie streuenden Proben ermöglicht. Die Auflösung dieses Verfahrens liegt im Bereich von typisch unter $10 \mu m$ gegenüber $10 - 40 \mu m$ von hochauflösendem Ultraschall oder $1 \mu m$ von konfokaler Mikro-

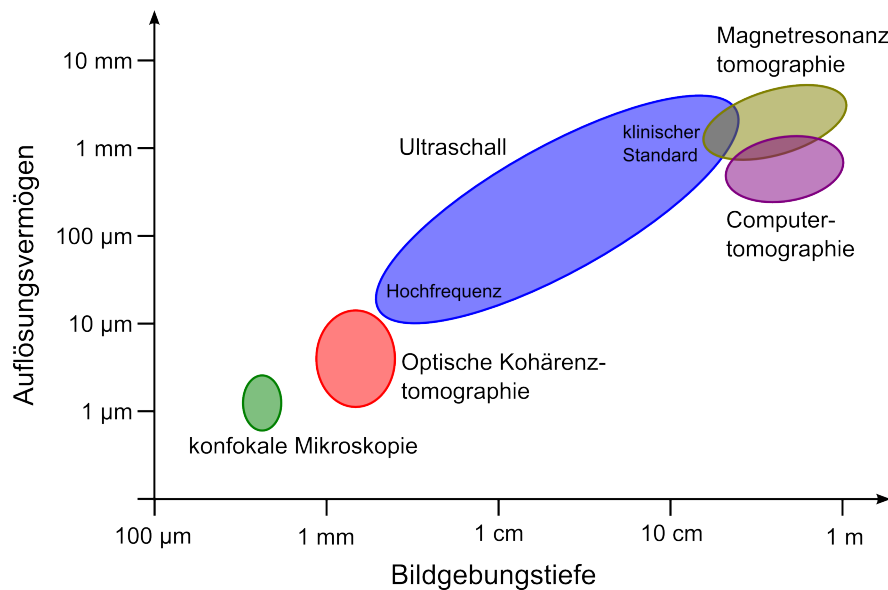


ABBILDUNG 1.3.: Typische Auflösungen und Bildgebungstiefen verschiedener nicht-invasiver Bildgebungssysteme im medizinischen Umfeld. Nach [Dre08, Spö08]

kospiem (Abb. 1.3). Gegenüber diesen in Reflexion betriebenen Verfahren können die Verfahren der Magnetresonanztomographie (MRT) und der Computertomographie (CT) nur in Transmission betrieben werden, wobei die Proben in den Aufbau eingebracht werden müssen. Die Mikro-CT weist typische Auflösungen im Bereich von $50 - 200 \mu m$ für die in-vivo-Bildgebung auf [Kal06]. Zudem wird bei der CT mit der Röntgenstrahlung eine ionisierende Strahlenquelle eingesetzt, wodurch bei der Bildgebung die gesamte Strahlungs-dosis berücksichtigt werden muss.

Durch die geringe Auflösung der CT und MRT sowie die Notwendigkeit des mechanischen Kontakts des Ultraschalls eignen sich diese Verfahren nicht für die Integration in das Sehende Skalpell. Die konfokale Mikroskopie bietet gegenüber der OCT zwar eine geringere Auflösung, allerdings ist auch die Bildgebungstiefe stark reduziert. Die OCT bietet hier die geeigneteren weil ähnlicheren Parameter in Bezug auf Präzision und Auflösung bzw. maximale Eindringtiefe und Bildgebungstiefe wie die fs-Laser-Applikation.

Die OCT wurde bereits mehrfach für die Bildgebung von Wechselwirkungen zwischen Lasern und Geweben oder Materie eingesetzt, bisher jedoch nur für die Darstellung von oberflächlichem Abtrag mittels Photoablation:

- So haben Boppart et. al. [Bop99] bereits 1999 den Einsatz eines Argon-Lasers ($\lambda = 514 \text{ nm}$) an verschiedenen Organen von Ratten ex-vivo demonstriert. Das verwendete TimeDomain-OCT wies eine Auflösung von $30 \mu m$ lateral und $18 \mu m$ axial auf.
- Kamensky et. al. [Kam99] nutzten ebenfalls 1999 die TimeDomain-OCT-Bildgebung von La-

serablationen ($\lambda = 1,32; 1,44; 1,54; 2,94 \mu m$) an extrahierten Schweinecorneae sowie humanen Kataraktlinsen. Die Auflösung der OCT betrug $15 \mu m$ axial und lateral.

- Untersuchungen an humaner Cornea ex- und in-vivo haben Bagayev et. al. [Bag02] 2002 mittels Photoablation eines UV-Excimer-Laser (ArF, $\lambda = 193 nm$) beobachtet. Der optische Aufbau war kollinear, jedoch wurden getrennte optische Ablenkeinheiten benutzt. Die TimeDomain-OCT hatte eine Auflösung von $5 - 20 \mu m$, die Dauer für eine Aufnahme (200 x 200 Pixel) betrug vier Sekunden.
- Shakhov et. al. [Sha01] nutzten 2001 einen Nd:YAG-Laser ($\lambda = 1,32$ bzw. $1,44 \mu m$) zur Entfernung von Tumoren im Kehlkopfbereich. Die endoskopische OCT wies eine Auflösung von $15 \mu m$ axial wie lateral auf. Die Systeme zur Bildgebung und Behandlung waren jedoch in einen Aufbau integriert sondern getrennte Geräte.
- Oh et. al. [Oh06] nutzten 2006 ein SweptSource-OCT mit einer Zeilenrate von 115 kHz und 200 Bildern/sec zur Darstellung von Ablationsprozessen an biologischen Geweben. Der Aufbau nutzt eine gemeinsame Optik, jedoch weist der OCT-Strahlengang eine eigene Strahlablenkung auf.
- Aktuelle Entwicklungen nutzen die OCT als Bildgebungsmodul für die Integration mit fs-Lasern, vor allem in Systemen für die Anwendung am Auge für z.B. die Katarakt- sowie die Presbyopiebehandlung. Diese Entwicklungen werden jedoch vorrangig in wirtschaftlichen Interesse vorangetrieben und bislang nicht publiziert. Neben den eigenen Anstrengungen arbeiten zur Zeit OptiMedica, Santa Clara (USA), [Cul10] sowie weitere Firmen an den technischen Umsetzungen insbesondere für die fs-Lentotomie.

Die oben genannten Systeme haben die Gemeinsamkeit, die Laser-Gewebe-Wechselwirkung mittels OCT darstellen und auch quantifizieren zu können. In neueren Ansätzen ist darüber hinaus die Darstellungsrate erhöht worden und eine direkte Steuerung des Lasereinsatzes mittels OCT-Bildgebung gelungen. Allerdings wurden die Laser nur zur oberflächlichen Photoablation eingesetzt und die Möglichkeiten zur Schnittgebung anhand der Tiefenstruktur nicht ausgenutzt.

Parallel zu den Entwicklungen für die Darstellung der Photoablation hat sich die OCT von der ursprünglichen Erfindung der OCT als Time-Domain-System durch Fercher et. al. [Fer88] und Huang et. al. [Hua91] wesentlich weiterentwickelt, speziell hin zu Systemen mit höherer Empfindlichkeit und schnelleren Erfassungsraten. Vor allem bedingt durch neue Entwicklungen auf dem Gebiet der Kameratechnik hat sich die Fourier-Domain-OCT [Fer95] einen großen Anteil durch die schnelle Erfassungsraten und höhere Sensitivität gegenüber der Time-Domain-OCT als die aktuell am häufigsten verwendete OCT-Technologie positioniert. Neue Laserkonzepte [Hub06] tragen aktuell zur Entwick-

lung von ultraschnellen OCT-Systemen im Bereich der SweptSource-OCT [Chi97] bei. Die weitere Entwicklung der Computertechnik bzw. die Übertragung der Berechnung auf Grafikkarten beschleunigen dabei die Auswertung bzw. Darstellung der erfassten OCT-Daten erheblich [Pro09]. Neu ist nun im Gegensatz zu den bisher gezeigten Anordnungen die Verbindung von Fourier-Domain-OCT zur Bildgebung und fs-Laser für die Manipulation im Inneren von biologischen Geweben im Sinne des Konzeptes des „Sehenden Skalpells“.

1.1. Das Konzept des „Sehenden Skalpells“

Der Vorteil des Ansatzes, die OCT als Bildgebung für die fs-Laser-Steuerung im Rahmen des „Sehenden Skalpells“ zu verwenden, liegt im optischen Messverfahren. Hierdurch lässt sich dieses in den optischen Aufbau des fs-Laser-Apparates integrieren. Zudem ist die OCT ebenso wie der fs-Laser berührungsfrei und benötigt daher keinen mechanischen Kontakt zur Probe oder Patienten im Gegensatz zum Ultraschallverfahren.

Der generelle Aufbau des „Sehenden Skalpells“ besteht aus einem Laser-Scanner-System (Abb. 1.4), welches mittels einer dreidimensionalen Positioniereinheit ultrakurze Laserpulse in einem Volumen appliziert. So können ein oder mehrere Schnitte erzeugt werden. Als Lichtquelle hierfür wird ein fs-Laser eingesetzt, um den Effekt der Photodisruption für die Schnittgebung zu nutzen. Die fs-Pulse werden durch eine Scannereinheit lateral und axial zur Probe abgelenkt und mittels eines Objektivs in die Probe fokussiert. Um die Schnitte entsprechend der Probenstruktur einbringen zu können, wird ein Bildgebungssystem integriert, welches dasselbe Scannersystem ausnutzt. Hierdurch kann bei paraxialer Strahlage eine (sehr) gute Relation zwischen Fokusslage und Bildposition erreicht werden. Beide Systeme, Schnitt- wie Bildgebung, benötigen dabei spektral breitbandige Lichtquellen, sodass die Verwendung einer Lichtquelle für beide Einsatzzwecke nahe liegt. Während die fs-Laser für Schnittgebung jedoch nur eine Breite von 20 nm (FWHM) aufweisen, verwenden aktuelle OCT-Systeme Lichtquellen mit einer Breite von 50 nm . Aus dieser Motivation heraus soll die spektrale Verbreiterung des fs-Lasers als Lichtquelle für die OCT evaluiert werden.

Weitere Anwendungsfelder, die im Rahmen dieser Arbeit dargestellt und behandelt werden sollen, sind die OCT-basierte fs-Laser-Mikrotomie sowie die OCT-gestützte extraluminale fs-Laser-Angioplastie (ELAN). Beide Anwendungen werden in den Kapiteln 5 und 6.2.2 beschrieben. Die Mikrotomie dient der Herstellung von histologischen Dünnschnitten zur lichtmikroskopischen Betrachtung. Die sonst langwierige Präparation der Proben kann durch den fs-Laser-Einsatz zum Schneiden entfallen, zudem bietet die OCT die Möglichkeit zur Platzierung der Schnitte entlang von Gewe-

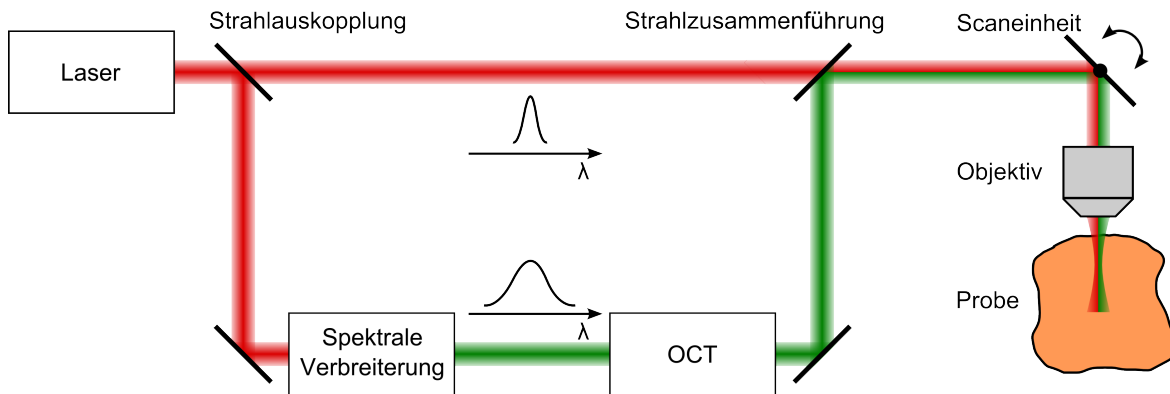


ABBILDUNG 1.4.: Das Konzept des „Sehenden Skalpells“: Laser (roter Strahlengang) und Bildgebung (grüner Strahlengang) verwenden dieselben optischen Elemente wie Strahlablenkung und Objektiv; als Lichtquelle für die OCT dient ein Ultrakurzpulslaser, welcher spektral verbreitert wird. Der Strahlengang des fs-Lasers ist in rot dargestellt, der Strahlengang des spektral verbreiterten Lichtes in grün. Die Farben sind willkürlich gewählt.

bestrukturen. Die Behandlung von arteriosklerotischen Arterien mittels ELAN dient der Öffnung der Gefäßwand. Dies hat den Zweck der Entlastung der verengten Gefäße sowie die Zugänglichkeit der in der Gefäßwand eingelagerten Plaque. Hierdurch kann diese vom körpereigenen Immunsystem angegriffen und verringert werden. Die OCT bietet hierbei die Möglichkeit zur präoperativen Navigation sowie die intraoperativen Kontrolle der Schnitttiefe.

1.2. Zielsetzung und Inhalt dieser Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist die Umsetzung der OCT-gestützten fs-Laserapplikation nach dem Konzept des Sehenden Skalpells. Dazu werden zwei verschiedene Systeme aufgebaut: Das erste dient der Herstellung von histologischen Dünnschnitten, das zweite zur Behandlung der Presbyopie mittels fs-Laser-Lentotomie. Beide Systeme beinhalten OCT-Systeme zur Bildgebung und Schnittplanung vor der fs-Laser-Applikation, welche der Schnittgebung innerhalb der jeweiligen Proben dient. Die beiden Systeme unterscheiden sich dabei durch die Anwendungszwecke in ihren Anforderungen bezüglich der Probeneigenschaften.

In Kapitel 2 und 3 werden die notwendigen Grundlagen der Licht-Gewebe-Wechselwirkung und die Einflüsse auf die Präzision sowohl bei der fs-Laserapplikation als auch bei der Bildgebung mittels OCT dargestellt. Die Wahl der eingesetzten Lasersysteme wird hier begründet ebenso wie die Einflüsse auf die technischen Größen der OCT, wie Sensitivität, Dynamikumfang und Auflösung.

In Kapitel 4 wird der Einsatz von Photonischen Kristallfasern (engl. *photonic crystal fibres*, PCF) für die spektrale Verbreiterung als Lichtquelle für die OCT untersucht. Hierbei soll die nichtsolitonische Strahlung ausgenutzt werden. Die notwendigen theoretischen Grundlagen ebenso wie die Evaluation einer beispielhaft ausgewählten Faser werden dargestellt.

Die beiden technischen Umsetzungen des Sehenden Skalpells werden in Kapitel 5, OCT-gestütztes Mikrotom, und in Kapitel 6, OCT-gestützte Mikrochirurgiebehandlung, beschrieben sowie die damit erzielten Ergebnisse im Bereich der Behandlungen der Presbyopie sowie der arteriosklerotischen Arterien präsentiert.

Abschliessend werden die erzielten Ergebnisse in Kapitel 7 übergreifend diskutiert und ein möglicher Ausblick dargelegt.

2. Wechselwirkung von Licht mit Gewebe

Das Konzept des Sehenden Skalpells sieht die Nutzung von Licht für die Trennung von biologischen Geweben sowie für die Bildgebung vor. Während sich die Parameter der Lichtquellen in den Punkten der spektralen Breite und der daraus resultierenden kurzen Kohärenzlänge ähneln, so ist die jeweilige Wechselwirkung aufgrund der emittierten Spitzenintensitäten generell zwischen nichtlinearer (Kap. 2.1) und linearer (Kap. 2.2) zu unterscheiden.

In Abbildung 2.1 erkennt man die Auftragung der Absorptionskoeffizienten μ_a für die wichtigsten Bestandteile menschlichen Gewebes, sowie die daraus resultierende Eindringtiefe δ_a über die Wellen-

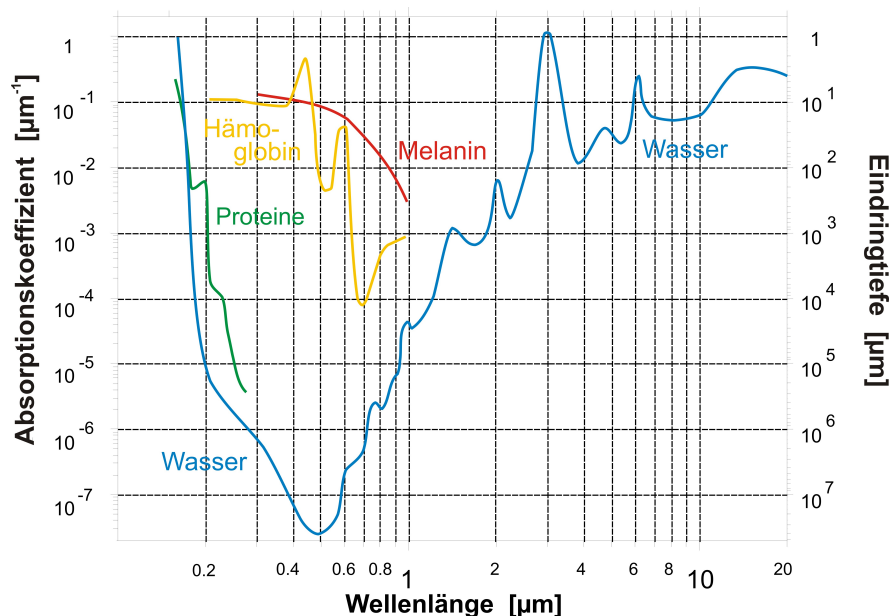


ABBILDUNG 2.1.: Absorptionskoeffizient μ_a sowie die daraus resultierende Eindringtiefe δ_a der wichtigsten Bestandteile von menschlichen Gewebe in Abhängigkeit der Wellenlänge. Als therapeutisches Fenster ergibt sich hieraus der Spektralbereich von 600 bis 1100 *nm*. Nach [Bou86].

länge λ . Beiden Anwendungen gemeinsam, der Mikrotomie und der Mikrochirurgie, ist die Ausnutzung des sogenannten „Therapeutischen Fensters“, also die Auswahl einer Wellenlänge mit geringer linearer Absorption. Die für die Gewebetrennung erforderlichen Leistungsdichten können im Fokus deponiert werden, da die Eindringtiefe des Lichtes in das Gewebe hoch ist. Der Wechselwirkungsme-

chanismus zur Gewebetrennung beruht auf dem nichtlinearen Effekt der Photodisruption, wodurch auch Schnitte in optisch transparenten Proben möglich sind (Kapitel 2.1). Auf der Seite der OCT ermöglicht die geringe Absorption eine hohe Bildgebungstiefe. Für die Bildentstehung ist vielmehr die Streuung des Gewebes interessant, worauf in Kapitel 2.2 näher eingegangen wird.

Die Streuung ist neben der linearen Absorption der Hauptgrund für eine nicht ausreichende Energie-deponierung im Fokus, wohingegen die Art der Streuung bei der OCT entscheidend die Bildqualität beeinflusst.

2.1. Wechselwirkung kurzkohärenter Strahlung hoher Intensität

2.1.1. Photodisruptionsprozess

Bedingt durch die kurze Pulsdauer und die hohe Pulsspitzenintensität herrscht bei Verwendung von Ultrakurzpulslasern der Effekt der Photodisruption vor. Durch Fokussierung des Laserstrahls können im Fokus Leistungsdichten von $10^{11} \frac{W}{cm^2}$ in Flüssigkeiten bzw. $10^{14} \frac{W}{cm^2}$ in Luft erzielt werden. Durch nichtlineare Absorption der Strahlung kommt es zur Erzeugung eines Plasmas mit freien Elektronendichten von $10^{18} - 10^{23} cm^{-3}$, dem laserinduzierten optischen Durchbruch (engl. *laser induced optical breakdown*, kurz LIOB). Die ersten freien Elektronen („Seed“-Elektronen) werden vornehmlich durch zwei Effekte erzeugt: die Multiphotonen- sowie die Tunnelionisation. Für die folgende Betrachtung wird die Modellsubstanz Wasser als amorpher Halbleiter mit Valenz- und Leitungsband genähert beschrieben [Wil76].

Die Multiphotonenionisation wird durch die gleichzeitige Absorption von mehreren Photonen durch ein Atom oder Molekül erreicht. Die für die Ionisation notwendige Energie ergibt sich aus der Summe der einzelnen Photonen [GM31]. Die Ionisationsrate ist stark abhängig von der Intensität der Laserstrahlung, $P(I)_{MPI} = \sigma_k \cdot I^k$, mit der Intensität I , dem Multiphotonenabsorptionskoeffizient σ_k und der Anzahl an absorbierten Photonen k . Mit der Bandlücke von 6,5 eV für Wasser [Wil76] ergeben daraus für die Anregungswellenlänge $\lambda = 1030 \text{ nm}$ 6 Photonen, welche zur Erzeugung eines „Seed“-Elektrons notwendig sind. Die Tunnelionisation senkt aufgrund des hohen elektrischen Feldes den Coulomb-Wall eines Atompotenzials ab, wodurch ein Tunneln der Elektronen durch das verschmälerte Potenzial ermöglicht wird [Sch01].

Die weitere Erzeugung von freien Elektronen profitiert von den bereits freien „Seed“-Elektronen. Diese können durch sukzessive lineare Absorption von Photonen (inverse Bremsstrahlung) [Vog96, Liu97, Ken97] ihre kinetische Energie soweit erhöhen, dass durch Stoßionisation weitere Atome ionisiert werden können. In diesem Fall spricht man von Kaskadenionisation, welche zu einem expo-

mentuellen Anwachsens der Anzahl an freien Elektronen führt. Bei einer Dichte von 10^{21} cm^{-3} freier Elektronen kann eine vollständige Ionisation angenommen werden [Vog05]. Mit Hilfe der Kaskadenionisation kann der schnellere Anstieg an freien Elektronen im Vergleich zur reinen Multiphotonenionisation erklärt werden.

Für alle in Abbildung 2.2 gezeigten Pulsdauern ist die Erzeugung der freien Elektronen sowohl durch die Multiphotonen- als auch durch die Kaskadenionisation gegeben. Für Pulsdauern von 76 bzw. 6 ns ist ein sprunghafter Anstieg an freien Elektronen zu beobachten. Für Pulsdauern von 60 bzw. 3 ps und 100 fs ist dieser sprunghafte Anstieg durch die kürzer gewählte Zeitachse nicht erkennbar. Erst im Bereich der Pulsdauern kürzer als 40 fs dominiert allein die Multiphotonenionisation [Hei02]. Für Pulsdauern kürzer als 3 ps ist hierbei eine asymptotische Annäherung an die vollständige Ionisierung mit einer Plasmadichte von 10^{21} cm^{-3} zu erkennen, eine Sättigung bei der Erzeugung an freien Elektronen wird jedoch nicht erreicht. Für längere Pulsdauern kommt es dagegen nach der vollständigen Ionisierung zu einer weiteren Erwärmung des entstandenen Plasmas, der sog. Thermalisierung. Für Pulsdauern größer 10 ps bildet sich ein Gleichgewicht aus Erzeugung freier Elektronen, Rekombination und Thermalisierung aus, wobei es zu einer Erwärmung des Fokusvolumens um mehrere 1000 Grad Celsius kommt [Bir77]. Verläuft die Erwärmung in einem kürzeren Zeitraum als der Wärmeab-

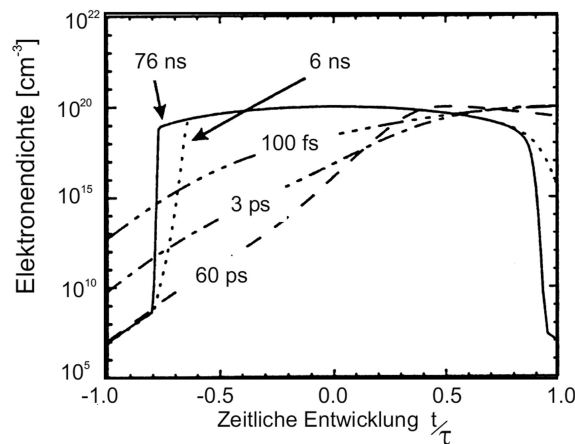


ABBILDUNG 2.2.: Entwicklung der Dichte an freien Elektronen in Abhängigkeit von verschiedenen Pulsdauern. Die Zeitskala ist auf die jeweiligen Pulsdauern normiert. Quelle: [Vog98].

transport, kommt es durch das „Thermal and stress confinement“ zu einer thermoelastischen Expansion des überhitzten Volumens in Form einer mechanischen Stoßwelle. Diese kann für thermalisierte Plasmen mehrere GPa betragen, für fs-Laser induzierte Plasmen liegt diese jedoch typisch im Bereich von 10 MPa [Noa99, Vog99]. Bei der Ausbreitung der Stoßwelle entstehen unter Berücksichtigung der Impulserhaltung nach innen gerichtete Zugkräfte [Noa98, Pal99], welche zu einem Zerreißen der umgebenden Gewebestrukturen führen [Vog05]. Dabei bildet sich eine Kavitationsblase aus [Bre95],

welche innerhalb weniger Mikrosekunden kollabiert und als Gasblase verbleibt [Hei02]. Die bei dem Prozess entstandenen Gase werden mit der Zeit im umgebenden wässrigen Medium gelöst.

Diese zeitliche Begrenzung des eingestrahnten Laserpulses hat auch eine räumliche Begrenzung des so erzeugten Plasmas zur Folge, da bei Pulsdauern kürzer als die Thermalisierungszeit von 10 ps keine zusätzliche Aufheizung des Fokusbereichs erfolgt. Daher ist die räumliche Ausdehnung einer Wechselwirkung eines fs-Pulses geringer als die eines ps- oder ns-Pulses.

Durch mehrfache Platzierung einzelner durch Photodisruption hervorgerufene Wechselwirkungsvolumina nebeneinander wird eine präzise Schnittführung erreicht, ähnlich einer „Mikroperforierung“ (s. Abb. 2.3). Während Wechselwirkungen zwischen zwei Kavitationsblasen, erzeugt durch ns-Pulse bereits durch [Lau74, Lau85] dargestellt wurden, sind diese für fs-Pulse Gegenstand aktueller For-

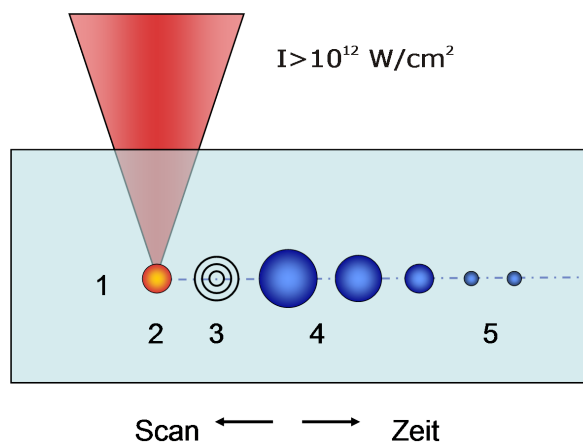


ABBILDUNG 2.3.: Schematische Darstellung des Photodisruptionsprozesses: Nichtlineare Absorption eines fokussierten Laserpulses (1), Plasmabildung (2), mechanische Stoßwelle (3), Kavitationsblase (4), verbleibende Gasblase (5).

schung [Tin09, Tin10].

Die Präzision des Schnittes ist vornehmlich durch die Größe der Kavitationsblase bedingt. Neben der bereits diskutierten Pulsdauer ist diese auch von der verwendeten Apertur des fokussierenden Objektivs abhängig. Bei der Fokussierung eines Gaußstrahls nimmt die Strahltaile, also der laterale Fokusbereich, mit ansteigender Numerischer Apertur ab. So ergeben sich für hohe Numerische Aperturen ($NA > 0,8$) Fokusbereiche von $200 - 300 \text{ nm}$ [Hei05, Vog08], während für $NA \approx 0,1 - 0,3$ der Kavitationsblasendurchmesser einige $10 \mu\text{m}$ beträgt, wenn die eingestrahelte Energie dem 1,5-fachen der Schwellenergie für den optischen Durchbruch entspricht [Rip07]. Ferner steigt mit abnehmender Numerischer Apertur die Elliptizität der erzeugten Plasmen [Arn07]. Dabei durchläuft die vordere Pulsflanke das Fokusbereich ungestört und erzeugt erste freie Elektronen durch Multiphotonenionisation [Sud02, Arn07]. Die Dichte des Plasma wird durch die nachfolgenden Pulsanteile weiter erhöht. Dabei erfahren die nachfolgenden Pulsanteile durch die bereits erzeugten

freien Elektronen eine Defokussierung [Sud02, Arn05]. Dies führt zu einer Abschirmung der durch die vordere Pulsflanke erzeugten Bereiche mit geringer freier Elektronendichte. Hierdurch kommt es zu einem länglich ausgebildeten Wechselwirkungsvolumen sowie einer Verschiebung des Bereichs des zentralen LIOBs entgegen der einfallenden Strahlrichtung (s. Abb. 2.4).

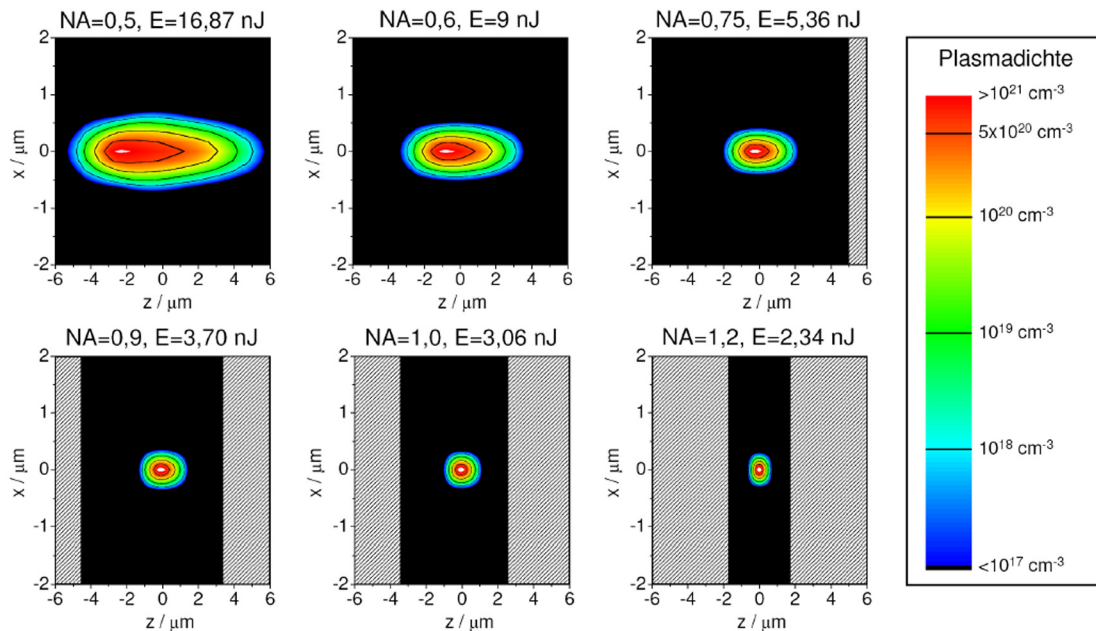


ABBILDUNG 2.4.: Konturgraphen von berechneten Durchbruchplasmen bei Numerischen Aperturen von 0,5 bis 1,2 bei einer Wellenlänge von 780 nm und einer Pulsdauer von 150 fs . Der geometrische Fokus befindet sich bei $z = 0$, der Laserstrahl trifft von links ein. Die Pulsenergie wurde jeweils 5% über der Schwelle zum optischen Durchbruch gewählt, sodass die Dichte an freien Elektronen von 10^{21} cm^{-3} in den weiß dargestellten Gebieten überschritten wurde. Die Konturlinien kennzeichnen die Bereiche gleicher Plasmadichte $\rho = 10^{18}, 10^{19}, 10^{20}$ und $5 \cdot 10^{20}\text{ cm}^{-3}$. Man beachte die verschiedene Skalierung in x- und z-Achse [Arn07].

2.1.2. Abtragsmechanismen bei Repetitionsraten im kHz- und MHz-Regime

Neben der Verwendung von Oszillator-Verstärker-Systemen, welche hochenergetische Pulse im kHz-Regime emittieren, haben sich auch reine Oszillator-Systeme etabliert. Diese weisen Pulswiederholraten im MHz-Bereich auf. Gegenüber den kHz-Systemen sind die MHz-Systeme aufgrund der geringen emittierten Pulsenergien für einen schnellen Abtrag mittels Einzelpulswechselwirkungen ungeeignet, dafür sind mit diesen Lasern umso präzisere Schnitte möglich.

So können mit diesen Systemen bei ausreichend starker Fokussierung ($NA > 0,6$) sogenannte „low density“ Plasmen mit Elektronendichten kleiner 10^{21} cm^{-3} erzeugt werden. Hierbei kommt es zur Io-

nisierung einzelner Atome und Moleküle, welche aufgrund der so erzeugten freien Radikale chemisch wechselwirken und zu einem Aufbrechen der Gewebestruktur führen. Diese Effekte sind kumulativ, d.h. während die Einzelpulsenergie nicht für den Effekt der Photodisruption ausreicht, führt die Summe mehrerer Einzelpulsenergien zur Gewebetrennung [Kue09].

Dazu werden die Laserpulse, welche mit einer gegebenen Repetitionsrate R vom Laser emittiert werden, mit einer Geschwindigkeit v über die Probe gescannt. Wird dabei die Geschwindigkeit so gewählt, dass die sich die einzelnen Foki mit dem Durchmesser d_{Spot} überlappen, so erhält man den Pulsüberlapp $\eta = \frac{R \cdot d_{Spot}}{v}$. Als prozentuale Angabe kann man berechnen nach: $\eta\% = 1 - 1/\eta$. Vergleichbar zum Pulsüberlapp kann auch der Überlapp der einzelnen Schnittlinien gewählt werden (s. Abb 2.5) [Rip07].

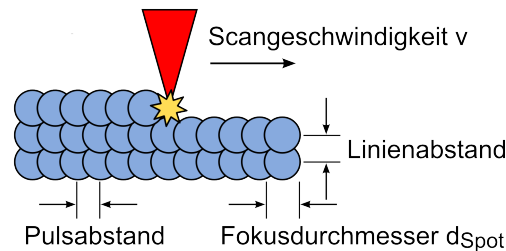


ABBILDUNG 2.5.: Erzeugung eines Flächenschnittes mittels Puls- bzw. Linienüberlapp.

Während die klassische Anwendung der kHz-Lasersysteme bei der Photodisruption mittels Einzelpulsen und die Anwendung der MHz-Systeme bei Erzeugung von „low density“ Plasmen liegt, verschwimmen die Grenzen dieser beiden Regime zusehend. So stehen durch Entwicklung neuer Materialien und neuer Konzepte Lasersysteme im oberen kHz-Bereich zur Verfügung, welche eine ausreichende Einzelpulsenergie aufweisen. Auf der anderen Seite nähern sich die Resonator-Systeme von dem typischen 80 MHz-Bereich an das kHz-Regime an, wobei durch Cavity-Dumping die Einzelpulsenergie erhöht wird.

Bei den nachfolgend beschriebenen Aufbauten (siehe Kapitel 5 und 6) werden die Lasersysteme T-PULSE 200 von AMPLITUDE SYSTEMES, Pessac (Frankreich) für das Laser-Mikrokeratom und μ JEWEL von IMRA AMERICA INC., Ann Arbor, Michigan (USA) für die Presbyopie-Behandlung eingesetzt. Die Tabelle 2.1 gibt einen Überblick über die Parameter der eingesetzten Lasersysteme.

2.2. Wechselwirkung Strahlung geringer Intensität

Während die oben genannten Effekte nur für Laserpulse mit hoher Spitzenintensität auftreten, betreffen die folgenden Wechselwirkungsmechanismen wie Streuung und lineare Absorption die Lichtquelle sowohl für das Schneiden wie für die Optische Kohärenztomographie. Dabei sind die folgenden Be-

TABELLE 2.1.: Übersicht über die verwendeten Lasersysteme und deren Parameter

Laserparameter	IMRA μJEWEL	AMPLITUDE SYSTEMES T-PULSE 200
Pulsdauer [fs]	306	360
Zentralwellenlänge [nm]	1040	1032
Mittlere Leistung [W]	0,373	2,6
Pulswiederholfrequenz [MHz]	0,100	10,1
Einzelpulsenergie [μ J]	3,73	0,246
Fokussierung [NA]	0,3	0,6

trachtungen für die OCT essentiell, wobei sie für fs-Laserapplikationen gern vernachlässigt werden. Die Absorption wird durch die im Gewebe befindlichen Chromophore bedingt und weist ein wellenlängenabhängiges Verhalten auf (siehe Abb. 2.1). Um ausreichende Eindringtiefen in Gewebe zu erzielen, ist es notwendig, Bereiche mit geringer Absorption, das sogenannte therapeutische Fenster, auszuwählen. Dieses liegt typisch im Bereich von 600 – 1100 nm und kann je nach Gewebetyp die verschiedenen Chromophore beinhalten. So wird für kurzwellige Strahlung die Absorption von epithelalem Hautgewebe hauptsächlich durch Hämoglobin und Melanin verursacht, während diese bei der Absorption von Gewebe im Auge vernachlässigt werden können.

Die Streuung von elektromagnetischen Wellen an Materie wird zunächst in elastische und inelastische Streuung unterschieden. Die inelastische Streuung bewirkt einen Energieübertrag an den Streuer und daher eine Veränderung der Wellenlänge. Dies tritt auf bei Fluoreszenz/Phosphoreszenz, Brillouin- und Raman-Streuung. Diese Arten der Streuung können für die OCT vernachlässigt werden, da durch die Frequenzkonversion die Kohärenzeigenschaften verloren gehen und sie keinen Anteil an der Detektion haben. Die elastische Streuung von Licht muss in Abhängigkeit von der Partikelgröße der Streuzentren betrachtet werden. Für Partikel wesentlich kleiner als die Wellenlänge, wie makromolekulare Strukturen (< 10 nm) und Membranen (≈ 100 nm), tritt die Rayleighstreuung als isotroper Prozess auf. Die Intensität I der Streuung für die Wellenlänge λ kann mit

$$I \propto \frac{1}{\lambda^4} \quad (2.1)$$

genähert werden. Für Partikel, die größer als 1/10 der Wellenlänge sind, also für Organellen (> 100 nm), Kollagenfasern (100 – 3000 nm) und Zellen (> 5 μ m), muss die Mie-Streuung betrachtet werden. Diese tritt überwiegend vorwärts gerichtet auf und kann durch

$$I \propto \frac{1}{\lambda^{0,4\dots0,5}} \quad (2.2)$$

genähert werden. Die Streuung folgt also einer λ^{-k} -Abhängigkeit, worin k ein Faktor ist, welcher abhängig ist von der Größe, Form und Dichte der Streuzentren sowie dem physiologischen Zustand bestimmter Chromophore abhängt, also von dem relativen Brechungsindex der streuenden Partikel [Nie07].

Neben diesen grundlegenden Betrachtungen müssen bei der Streuung die vier folgenden Fälle unterschieden werden (siehe hierzu Abbildung 2.6) [Oet08]:

1. Die einfache Rückstreuung tritt mit nur einer Interaktion im Gewebe auf. Durch den vollständigen Erhalt der Kohärenz und unter Anwendung der Kleinwinkelnäherung ist dieser Fall für die OCT ideal in Bezug auf Auflösung und Kontrast (vgl. Kap. 3.2). Man spricht in diesem Fall von ballistischen Photonen, auch wenn der Begriff ursprünglich nur für vorwärts gestreute Photonen angewandt wurde.
2. Die Streuung unter großem Winkel hat durch den Verlust der räumlichen Kohärenz keinen Anteil an der Signaldetektion. Hierdurch wird jedoch der Kontrast vermindert.
3. Die Streuung an großen Brechungsindexübergängen hat eine Verzerrung der Phasenfronten zur Folge. Dies führt zu einem Verlust an zeitlicher Kohärenz.
4. Die Vielfachstreuung (engl. *snake-like photons*) für kleine Winkel, wobei die Bahn der einzelnen Photonen auch außerhalb der Strahls verlaufen kann. Hierdurch suggerieren diese Photonen aufgrund ihrer aufgesammelten Laufzeit eine Streuung in tieferen Schichten. Dieser Verlust an räumlicher wie zeitlicher Kohärenz führt zu einer Abnahme der Auflösung und des Kontrastes

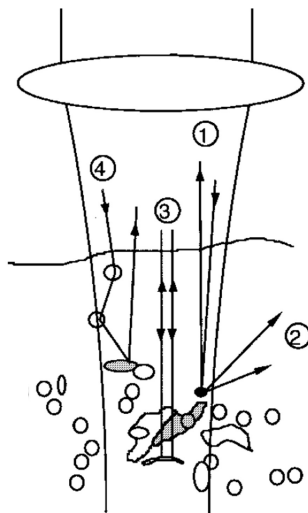


ABBILDUNG 2.6.: Streuprozesse in biologischen Geweben: Einfache Rückstreuung (1), Rückstreuung unter großem Winkel (2), Phasenfrontstörung durch großen Indexsprung (3) und Vielfachstreuung (4). Nach [Sch99].

von tieferliegenden Schichten.

Mit Ausnahme der einfachen Rückstreuung habe alle oben genannten Streuungen eine Verminderung der Auflösung der OCT zur Folge. Zur korrekten Interpretation der Tiefe tragen dabei nur die ballistischen und quasi-ballistischen Photonen bei, also alle einfach bzw. mehrfach gestreute Photonen, deren optische Weglängendifferenz nicht größer als die Auflösung ist. Mit zunehmender Tiefe der Streuzentren überwiegt die Anzahl der inkohärenten, diffusen Photonen. Diese tragen aufgrund des Verlusts der Kohärenz nicht zur Signaldetektion bei. Die mittlere freie Weglänge der Photonen ist definiert als

$$\delta = \frac{1}{\mu_t} = \frac{1}{\mu_a + \mu_s} \quad , \quad (2.3)$$

mit den gewebespezifischen Koeffizienten für Extinktion μ_t , Absorption μ_a und Streuung μ_s . Den Absorptionskoeffizienten kann man Abbildung 2.1 entnehmen. Bei dem Streukoeffizienten muss zusätzlich der Anisotropiefaktor g beachtet werden, sodaß μ_s durch den reduzierten Streukoeffizienten $\mu'_s = \mu_s \cdot (1 - g)$ ersetzt werden muss. Für $g = 0$ ergibt sich vollständig isotrope Streuung und für $g = 1$ vollständig vorwärts gerichtete sowie für $g = -1$ vollständig rückwärts gerichtete Streuung. Für biologische Gewebe können Anisotropiefaktoren von 0,7 bis 0,99 angenommen werden [Nie07]. Für biologische Gewebe wie humane Haut kann man den wellenlängenabhängigen Verlauf des reduzierten Streukoeffizienten der Abbildung 2.7 entnehmen. In Abbildung 2.8 sind beispielhaft die reduzierten Streukoeffizienten verschiedener Gewebetypen des menschlichen Kehlkopfes aufgetragen. In beiden Fällen kann man die Annäherung an die Streutheorien nach Mie und Rayleigh erkennen.

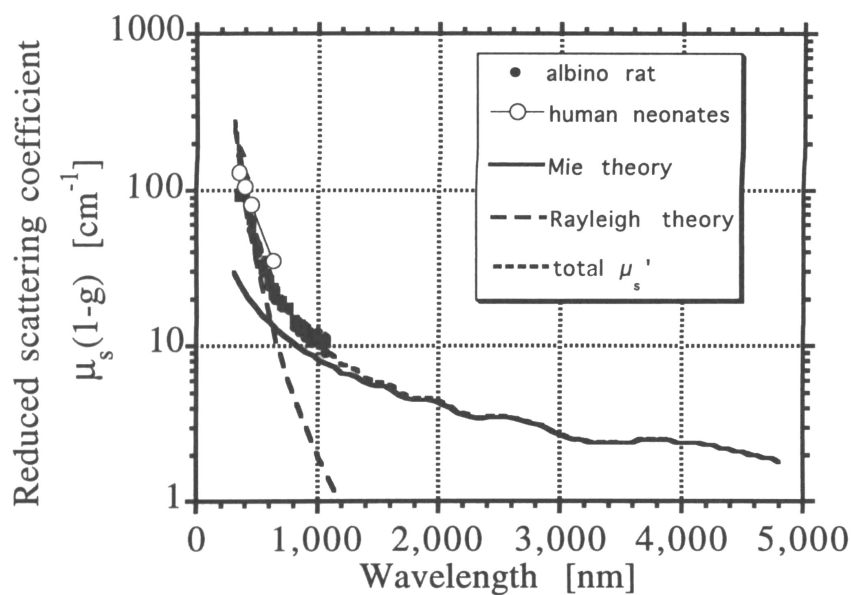


ABBILDUNG 2.7.: Reduzierter Streukoeffizient von humaner Haut. Gut erkennbar sind die Annäherung an die Streutheorien nach Mie und Rayleigh. Quelle: [Sch96].

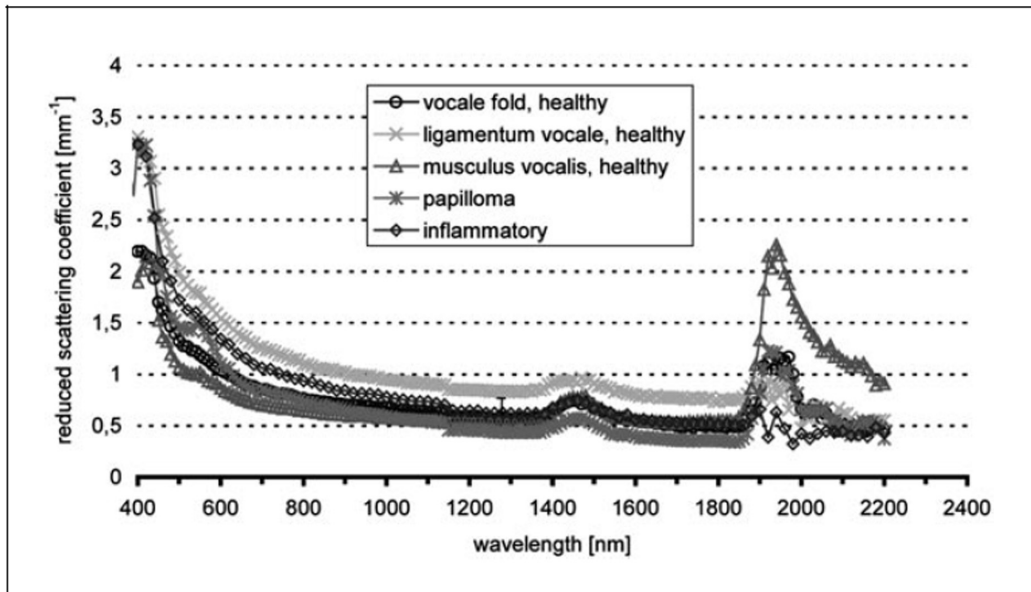


ABBILDUNG 2.8.: Reduzierter Streukoeffizient von humanem Kehlkopfgewebe. Die verschiedenen Gewebetypen zeigen nur geringfügige Unterschiede. Quelle: [Mah01].

Für optisch transparente Gewebe wird die Streuung nach diesen beiden Theorien vernachlässigt und durch die Reflexion an einem Brechungsindexsprung dominiert. Für streuende Gewebe ergibt sich mit Betrachtung der Absorptionskurve für Haut der Quotient aus reduziertem Streu- zu Absorptionskoeffizient (s. Abb. 2.9). Die zugehörige Kurvenverlauf weist im Bereich zwischen 650 und 1150 nm ein Maximum auf. Typische OCT-Geräte besitzen daher eine Zentralwellenlänge von etwa 850 bzw. 1300 nm . Polarisierungseffekte, wie sie z.B. bei der Rückstreuung an Kollagenfasern auftreten können, werden aufgrund der in dieser Arbeit verwendeten polarisationsinsensitiven Aufbauten vernachlässigt und nicht weiter betrachtet.

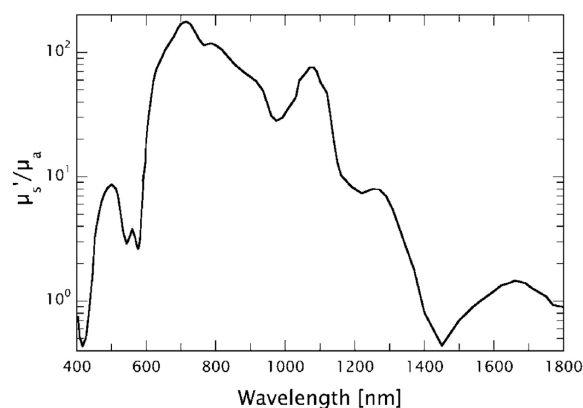


ABBILDUNG 2.9.: Quotient aus reduziertem Streu- zu Absorptionskoeffizient für humane Haut. Quelle: [Vog03].

Auswirkungen auf die fs-Laser-Applikation

Während Streuung für die OCT eine notwendige Voraussetzung ist, ist sie für die Applikation der fs-Laser-Pulse hinderlich. Für die verwendeten Laserwellenlängen von 1030 - 1040 nm dominiert die Absorption bei Anwendung in biologischen Proben, welche vornehmlich durch Wasser gegeben ist. Durch Streuung wird die im Fokus deponierte Energie vermindert, sodass dadurch die maximale Tiefe der Fokusslage und somit die Schnittlage begrenzt wird.

3. Optische Kohärenztomographie

Die Optische Kohärenztomographie (engl. *optical coherence tomography*, OCT) basiert historisch auf der Weißlicht-Interferometrie [Fer95]. Technisch spaltet sich die OCT in zwei Bereiche auf: Die erste nutzt einen verschieblichen Referenzarm, womit durch die Erfassung der Kreuzkorrelationsfunktion der kurzkohärenten polychromatischen Wellenzüge aus Proben- und Referenzarm die Probe hinsichtlich ihrer Reflektivität über die Tiefe durch mechanische Änderung der Referenzarmlänge abgerastert wird. Hieraus ergibt sich der Begriff der Time-Domain-OCT [Hua91], also der Messung in der zeitlichen Domäne.

Während die Interferenz der aus Referenz- und Probenarm stammenden Pulse nur innerhalb ihrer Kohärenzlänge Interferenz zeigen, können kleinere spektrale Anteile des kurzkohärenten Wellenzuges über einen größeren Bereich miteinander interferieren, da durch die Verminderung der betrachteten spektralen Breite eine Vergrößerung der Kohärenzlänge erreicht wird. Diese Untergliederung ermöglicht die Betrachtung der spektralen Interferenz, woraus sich der Name der Spektraldomäne ableitet (engl. *spectral domain*, SD-OCT). Die spektrale Interferenz kann durch Einsatz eines Spektrometers beobachtet werden (engl. *fourier domain*, FD-OCT) [Häu98], wobei ein Zeilensensor anstelle eines Einzelsensors verwendet wird, oder aber durch Durchstimmen der Lichtquelle (engl. *swept-source*, SS-OCT) [Chi97] bzw. (engl. *fourier domain mode locking*, FDML) [Hub06]. In beiden Fällen der SD-OCT entspricht die Verwendung eines Spektrometers bzw. das Durchstimmen der Lichtquelle einer Fouriertransformation. Daher muss über Rücktransformation aus der spektralen Interferenz das Tiefenprofil (A-Scan) der Probe wiedergewonnen werden.

Im Folgenden sollen nach der eingehenden grundlegenden Erklärung der FD-OCT die optisch begrenzenden Parameter der Auflösung sowie der Tiefenschärfe erläutert werden, um die Auswahl dieser Parameter für die späteren Aufbauten verfolgen zu können. Weiter werden technische Kenngrößen der OCT wie Sensitivität, Dynamikumfang und Signal-Rausch-Verhältnis eingeführt, um diese Parameter für die Bildgebung zu charakterisieren und später für die verschiedenen Proben entsprechend auswählen zu können.

3.1. Interferometrie in der Frequenzdomäne

Ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal der OCT im Vergleich zu optischen Mikroskopieverfahren ist die Ableitung der axialen Auflösung von der Kurzkohärenzinterferometrie. Die nachfolgende Darstellung ist [Dre08] entnommen. Der Ausgangspunkt stellt im einfachsten Fall ein Michelson-Interferometer (Abb. 3.1) dar, welches einen achromatischen Strahlteiler mit einem Teilungsverhältnis von 50% beinhaltet.

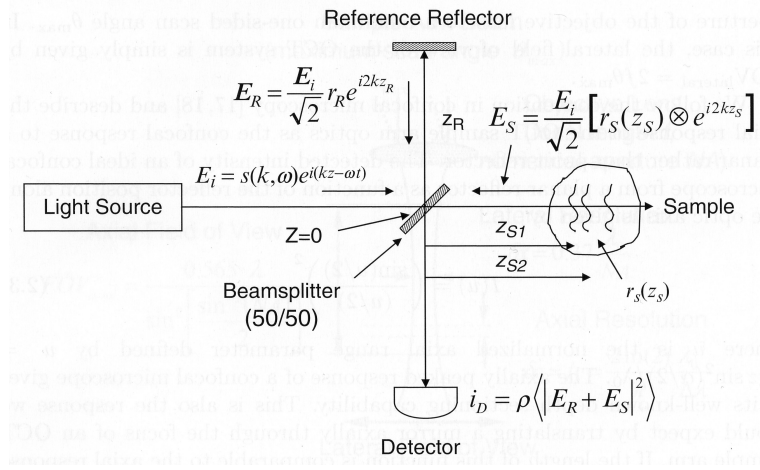


ABBILDUNG 3.1.: Schematische Darstellung eines Michelson-Interferometers für die OCT [Dre08].

Die Lichtquelle emittiert dabei eine polychromatische ebene Welle

$$E_i = s(k, \omega) e^{i(kz - \omega t)} \quad , \quad (3.1)$$

worin $s(k, \omega)$ die elektrische Feldamplitude in Abhängigkeit von der Wellenzahl $k = 2\pi/\lambda$ und der Winkelfrequenz $\omega = 2\pi\nu$ ist. Diese wird am Strahlteiler in den Proben- und den Referenzarm aufgeteilt.

Im Allgemeinen kann die Reflektivität $r_s(z_n)$ von biologischen Proben als kontinuierlich angenommen werden, da sich der Brechungsindex innerhalb der Proben kontinuierlich verändert. Der Vereinfachung halber sollen aber für die weitere Betrachtung diskrete Reflektivitäten

$$r_s(z_n) = \sum_{n=1}^N r_{Sn} \delta(z_S - z_n) \quad (3.2)$$

verwendet werden. Diese sind jeweils durch ihre Reflektivität r_{S1}, r_{S2}, \dots und den Abstand zum Strahlteiler z_{S1}, z_{S2}, \dots bestimmt. Das aus dem Probenarm zurücklaufende Feld wird beschrieben durch

$$E_s = \frac{E_i}{\sqrt{2}} \left[r_s(z_s) \otimes e^{i2kz_s} \right] = \frac{E_i}{\sqrt{2}} \sum_{n=1}^N r_{Sn} e^{i2kz_{Sn}} \quad (3.3)$$

mit „ \otimes “ als Faltungsoperator. Der Faktor 2 im Exponenten resultiert aus dem doppelten Probendurchlauf. Analog zum elektrischen Feld des Probenarms ergibt sich das des Referenzarmes. Hierin ist r_R die Reflektivität und z_R der Abstand zwischen Spiegel und Strahlteiler.

$$E_R = \frac{E_i}{\sqrt{2}} r_R e^{i2kz_R} \quad (3.4)$$

Die Interferenz der beiden Felder generiert auf dem Photodetektor einen Photostrom $I_D(k, \omega)$, welcher proportional dem Summenquadrat der eintreffenden Felder ist

$$I_D(k, \omega) = \frac{\rho}{2} \left\langle |E_R + E_S|^2 \right\rangle \quad (3.5)$$

Die Felder sind durch das abermalige Durchlaufen des Strahlteiler einer Abschwächung um den Faktor 2 unterworfen. Hierin ist ρ die spektrale Empfindlichkeit des Sensors (Einheit Ampere/Watt) und zeitliche Integration des Signals in Form der eckigen Klammern.

Legt man nun die Referenzfläche auf den Strahlteiler, so erhält man für $z = 0$

$$I_D(k, \omega) = \frac{\rho}{2} \left\langle \left| \frac{s(k, \omega)}{\sqrt{2}} r_R e^{i(2kz_r - \omega t)} + \frac{s(k, \omega)}{\sqrt{2}} \sum_{n=1}^N r_{S_n} e^{i(2kz_{S_n} - \omega t)} \right|^2 \right\rangle \quad (3.6)$$

Durch die Entwicklung des Betragsquadrates in Formel 3.5 können die Terme eliminiert werden, welche die Winkelfrequenz $\omega = 2\pi\nu$ enthalten. Dies ist verständlich, da die Oszillation ν wesentlich schneller ist als die Antwortzeit eines realen Detektors. Dadurch erhält man die zeitlich invarianten Terme

$$\begin{aligned} I_D(k) = & \frac{\rho}{4} [S(k)(R_R + R_{S1} + R_{S2} + \dots)] \\ & + \frac{\rho}{4} \left[S(k) \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{S_n}} \left(e^{i2k(z_R - z_{S_n})} + e^{-i2k(z_R - z_{S_n})} \right) \right] \\ & + \frac{\rho}{4} \left[S(k) \sum_{n \neq m=1}^N \sqrt{R_{S_n} R_{S_m}} \left(e^{i2k(z_{S_n} - z_{S_m})} + e^{-i2k(z_{S_n} - z_{S_m})} \right) \right] \end{aligned} \quad (3.7)$$

mit der Substitution $S(k) = \langle |s(k, \omega)| \rangle$, welches die spektrale Verteilung der Lichtquelle wiedergibt. Es ist zweckmäßig, an dieser Stelle eine Gauß-förmige Spektralverteilung anzunehmen. Zum Einen weil dies recht gut das tatsächliche Spektrum wiedergibt, und zum Anderen weil die Fouriertransformation einer Gaußform wiederum dieselbe Form ergibt. Ein nicht gaußförmiges Spektrum hätte daher eine verbreiterte Kohärenzfunktion und damit einen Auflösungsverlust zur Folge. Die normierte Gauß-Funktion $S(k)$ und deren Fouriertransformation $\gamma(z)$ (vgl. Abb. 3.2) sind gegeben durch:

$$\gamma(z) = e^{-z^2 \delta k^2} \quad \xleftrightarrow{F} \quad S(k) = \frac{1}{\delta k \sqrt{\pi}} e^{-\left[\frac{(k-k_0)}{\delta k} \right]^2} \quad (3.8)$$

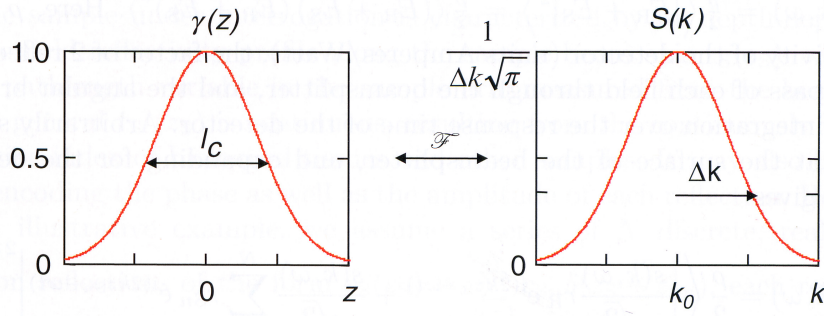


ABBILDUNG 3.2.: Die Kohärenzfunktion $\gamma(z)$ und das Spektrum der Lichtquelle $S(k)$ sind über die Fourier Transformation miteinander verknüpft [Dre08].

Durch die Eulersche Identität lässt sich Gl. 3.7 überführen in

$$\begin{aligned}
 I_D(k) = & \frac{\rho}{4} [S(k)(R_R + R_{S1} + R_{S2} + \dots)] && \text{DC-Term} \\
 & + \frac{\rho}{2} \left[S(k) \sum_{n=1}^N \sqrt{R_R R_{S_n}} \cdot \cos [2k(z_R - z_{S_n})] \right] && \text{Kreuzkorrelationsterm} \\
 & + \frac{\rho}{4} \left[S(k) \sum_{n \neq m=1}^N \sqrt{R_R R_{S_n}} \cdot \cos [2k(z_R - z_{S_n})] \right] && \text{Autokorrelationsterm} .
 \end{aligned} \tag{3.9}$$

Der „DC-Term“ beinhaltet hierin die Addition der aus den beiden Interferometerarmen eintreffenden Intensitäten. Auf diesen Gleichanteil wird durch den Kreuzkorrelationsterm eine Schwebung aufmoduliert, deren Frequenz von der Weglängendifferenz $z_R - z_{S_n}$ abhängt (s. Abb. 3.3). Betrachtet man nun erst einmal nur eine einzelne Oberfläche im Probenarm, so kann man das elektrische Feld analog zu Gleichung 3.4 beschreiben durch:

$$E_{S1} = \frac{E_i}{\sqrt{2}} r_{S1} e^{i2kz_{S1}} \quad . \tag{3.10}$$

Damit ergibt sich für den Photostrom auf dem Detektor die einfache Form:

$$I_D(k) \propto S(k) \left[R_R + R_{S1} + 2\sqrt{R_R R_{S1}} \cdot \cos [2k(z_R - z_{S1})] \right] \quad . \tag{3.11}$$

Befindet sich in der Probe mehr als eine Grenzfläche, kommt es zur Superpositionen von Kosinus-Termen verschiedener Modulationsfrequenz.

Der Autokorrelationsterm in Gl. 3.9 wird durch Interferenz von an verschiedenen Schichten der Probe reflektiertem Licht bedingt. Diese sind aufgrund der geringen Reflektivitäten (in der Größenordnung von $10^{-4} - 10^{-5}$) in biologischen Proben vernachlässigbar. Allerdings können einzelne Brechungsindexsprünge, wie z.B. Luft zu Wasser, ausreichen, um als alternative Referenz zu dienen und das Kreuzkorrelationssignal der OCT zu überlagern.

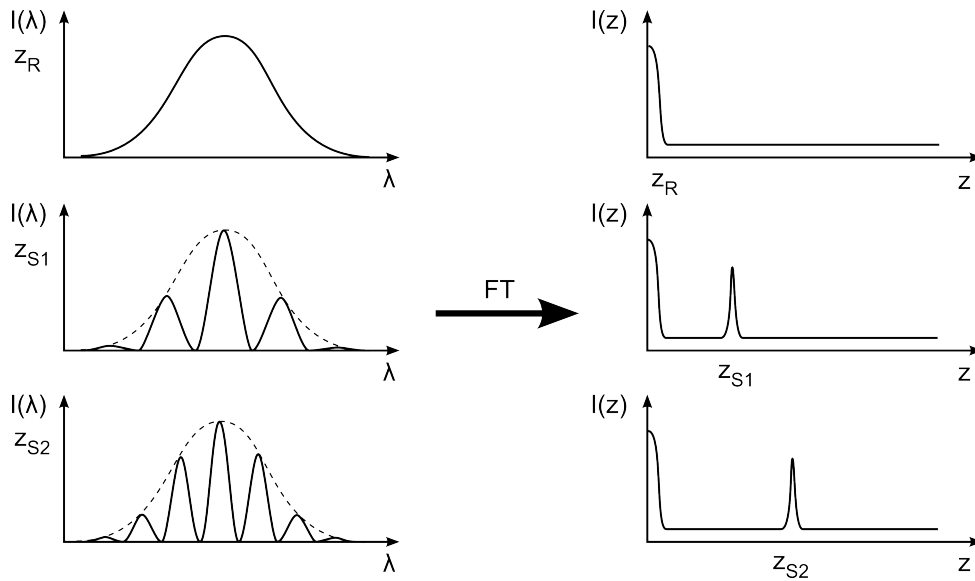


ABBILDUNG 3.3.: Stilisierte Darstellung der im Spektrometer erfassten Intensitätsverteilung $I(\lambda)$ über die Wellenlänge λ sowie der daraus mittels Fouriertransformation erhaltenen Intensitäten $I(z)$ über die Probenposition z . Die Abstände der Positionen z_R , z_{S1} und z_{S2} sind der Grafik 3.1 entnommen, mit $z_R < z_{S1} < z_{S2}$.

3.2. Auflösung und Tiefenschärfe

Entgegen der konfokalen Mikroskopie sind bei der OCT die axiale und die laterale Auflösung vollständig voneinander entkoppelt. Erstere ist durch die Kohärenzlänge der verwendeten Lichtquelle bedingt und letztere durch die Fokussierung innerhalb des Probenarms des Interferometers.

Folgt man weiterhin der Annahme, dass die Lichtquelle ein gaußförmiges Spektrum emittiert, so ergibt sich die axiale Auflösung Δz_{FWHM} als die Fouriertransformation des Spektrums, auch Kohärenzfunktion genannt. Die axiale Auflösung ist daher gleich der Kohärenzlänge l_c der Lichtquelle

$$\Delta z_{FWHM} = l_c = \frac{2 \cdot \ln 2}{\pi} \cdot \frac{\bar{\lambda}^2}{\Delta \lambda_{FWHM}} \quad (3.12)$$

Diese ist abhängig von der Zentralwellenlänge der Lichtquelle $\bar{\lambda} = 2\pi/k_0$ und der Halbwertsbreite (engl. *Full width half maximum*, FWHM) des Spektrums $\Delta \lambda_{FWHM}$.

Für den Freistrahlaufbau eines OCT-Systems wird die laterale Auflösung Δd_{FWHM} als Strahltaile des fokussierten Strahls definiert

$$\Delta d_{FWHM} = 2\sqrt{\ln 2} \cdot \frac{\bar{\lambda}}{\pi \cdot NA} \quad , \quad (3.13)$$

mit $NA = n \cdot \sin(\theta)$, wobei θ der Öffnungswinkel des Gaußschen Strahls und n der Brechungsindex ist. Der Tiefenschärfebereich b , auch Konfokalparameter genannt, gibt den Bereich an, in dem der Strahldurchmesser um den Faktor $\sqrt{2}$ gegenüber der Strahltaile angewachsen ist. Diese Größe wird

auch als Rayleigh-Länge z_R bezeichnet, welche gegeben ist durch

$$b = 2 \cdot \frac{\bar{\lambda}}{\pi \cdot NA^2} \quad , \quad (3.14)$$

mit der Vereinfachung $(n - \sqrt{n^2 - NA^2}) \approx NA^2$ für $NA < 0,5$. Bei einer großen Numerischen Apertur tritt der Konfokalparameter in Konkurrenz zur Kohärenzlänge der Lichtquelle, für kleine NA dagegen wird die Bildgebungstiefe nicht durch die Tiefenschärfe begrenzt und die Kohärenzlänge dominiert die axiale Auflösung (siehe Abb. 3.4).

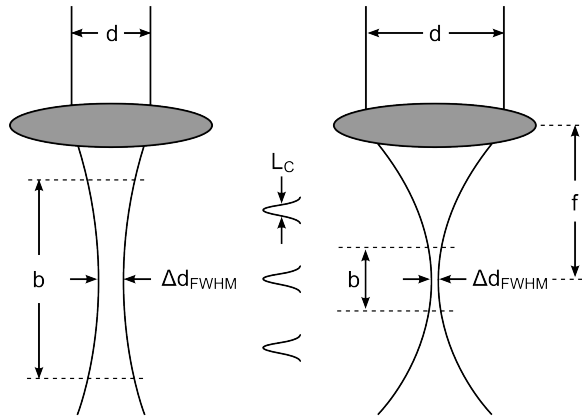


ABBILDUNG 3.4.: Unterschiedliche Fokussierung eines OCT-Strahls und die Auswirkungen auf die laterale Auflösung und den Tiefenschärfebereich.

Betrachtet man den interferometrischen Aufbau eines OCT als konfokalen Aufbau, im Vergleich zur konfokalen Mikroskopie jedoch mit einer vergleichsweise kleinen NA, so dominiert für die axiale Auflösung weiterhin die durch die Kohärenzlänge gegebene Auflösung. Relevant ist die weitere Betrachtung, und somit die Unterscheidung zwischen geometrischer und wellenoptischer Abbildung, also nur für die laterale Auflösung und die Tiefenschärfe. Als Kriterium für die Betrachtung als konfokaler Aufbau gilt:

$$1 \text{ AE} = 1,22 \cdot \bar{\lambda}/NA \quad (3.15)$$

mit der Airy-Einheit (AE). Die konfokale Betrachtung ist dann anzuwenden, wenn sich im Probenarm des Interferometers Aperturen kleiner $0,25 \cdot \text{AE}$ befinden, wie z.B. Einkopplungen in Single-Mode-Fasern. Die laterale Auflösung ergibt in dem Fall zu:

$$\Delta d_{FWHM} = \frac{2\sqrt{\ln 2}}{\sqrt{2}} \cdot \frac{\bar{\lambda}}{\pi \cdot NA} \quad (3.16)$$

und der Tiefenschärfebereich zu:

$$b = \sqrt{\left(\frac{0,88 \cdot \lambda}{NA^2}\right)^2 + \left(\frac{\sqrt{2} \cdot n \cdot PH}{NA}\right)^2} \quad (3.17)$$

worin der linke Term in der Wurzel die geometrisch-optische und der rechte Term die wellenoptische Beschreibung darstellt [Oet08]. Die konfokale Blende (engl. *pinhole*, PH) wird in den meisten Aufbauten durch Einfügen einer optischen Singlemode-Faser dargestellt. Im realen System muss meist ein Kompromiss zwischen der optischen Auflösung und dem Tiefenschärfebereich gefunden werden. Abhängig von der Anwendung werden dabei in axialer und lateraler Richtung gleiche (isotrope) Ausdehnungen angestrebt.

Das Abtasttheorem nach Nyquist besagt, daß eine Frequenz f mit einer Frequenz größer oder gleich dem doppelten dieser Frequenz $2f$ abgetastet werden muss, damit es verlustfrei aus dem diskreten Signal rekonstruiert werden kann. Auf einem Zeilensensor mit N Elementen können daher nur Frequenzen bis zu $N/2$ detektiert werden. Diese maximale Frequenz entspricht dabei der maximalen Weglängendifferenz zwischen Referenz- und Probenarm. Der maximale Messbereich z_{max} eines FD-OCT [Woj02]

$$z_{max} = \frac{1}{4 \cdot n} \cdot \frac{\bar{\lambda}^2}{\Delta\lambda_{FWHM}} \cdot N \quad (3.18)$$

ist gegeben durch die Zentralwellenlänge $\bar{\lambda}$ sowie die spektrale Breite $\Delta\lambda_{FWHM}$ der Lichtquelle und der Pixelanzahl N des Zeilensensors. Der Brechungsindex der Probe ist n . Der maximale Messbereich ist proportional zum axialen Auflösungsvermögen, eine Vergrößerung kann daher nur durch einen Verlust an Auflösung oder eine Erhöhung der Pixelanzahl erreicht werden. Beachtet werden muss ausserdem, dass sich der Messbereich innerhalb der Rayleighrange der Optik befindet. Andernfalls weist die Reflektivität über den Messbereich eine hohe Variation auf, was zur Folge hat, dass das maximale Signal-Rausch-Verhältnis nicht ausgenutzt werden kann.

3.3. Rauschquellen

Die folgenden Kenngrößen der OCT sind in ihrem Maximalwert durch die maximale Belichtung und in ihrem Minimalwert durch verschiedene Rauschquellen begrenzt (Abb. 3.5). Die maximale Belichtung des Sensors, im Falle der FD-OCT ein photosensitiver ladungssammelnder Zeilensensor (engl. *charge-coupled-detektor*, CCD), ist durch die maximale durch Photonen ausgelösten Ladungsträger gegeben (Photoelektrischer Effekt), welche in den einzelnen Sensorelemente gesammelt werden, bevor diese ausgelesen werden. Sammeln sich mehr Ladungsträger in einem Sensorelement, so kommt es zur Sättigung, da diese nicht im Element gehalten werden können und abfließen. Der Sensor übersteuert.

Die untere Begrenzung der Kenngrößen sind durch Rauschen bedingt, welches in der Lichtquelle, dem Interferometer und dem Detektor bzw. der Elektronik auftritt. In diesem Kapitel sollen daher die wichtigsten Rauschquellen benannt werden. Weitere Verluste, wie die Analog-Digital-Konversion,

sollen in diesem Zusammenhang ebenfalls betrachtet werden, auch wenn deren Limitierung keine eigentliche Rauschquelle darstellt. Das Rauschen der Lichtquelle setzt sich zusammen aus dem Schrotrauschen (engl. *shot noise*) und dem Excess-Rauschen (engl. *photon excess noise*) [Liu07]. Das Schrotrauschen der Photonen ist intrinsisch durch den Quantencharakter der Lichtes gegeben. Eine breitbandige Lichtquelle, wie superluminiszente Dioden (SLD) und fs-Laser, emittiert Photonen folgend einer Bose-Einstein-Verteilung, gegenüber einer Poisson-Verteilung für Single-Mode-Laser. Bei geringen Photonenzahlen, wie sie hier vorliegen, verhalten sich die statistischen Verteilungen sehr ähnlich, sodass die Unterscheidung nicht kritisch ist. Neben dieser nichtklassischen Rauschquelle erzeugen breitbandige Lichtquellen auch Photonen-Auslöse-Rauschen (engl. *photon excess noise*). Dieses Schwebungsrauschen entsteht durch die Interferenz benachbarter Moden und resultiert in einer Modulation der Einhüllenden des Spektrums (engl. *spectral ripple*). Als relatives Intensitätsrauschen (engl. *relative intensity noise*, RIN) werden Intensitätsschwankungen der Lichtquelle bezeichnet.

Eine ungleiche Leistungsverteilung in den Armen eines Interferometers hat einen Verlust an Interferenzkontrast und damit des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses zur Folge. Hier ist auf möglichst identische Leistungsverteilung zu achten, um den SNR zu maximieren.

Weiter tritt auch in der Elektronik Rauschen auf. Grundlegend ist hier das $1/f$ -Rauschen, welches an jedem elektrischen Übergang auftritt. Allerdings kann dieser Beitrag im Bereich der FD-OCT vernachlässigt werden, da dieser Rauschtyp durch seine niederfrequente Charakteristik seine Bedeutung bei typischen Ausleseraten von mehreren MHz verliert. Das thermische Rauschen, auch Johnson-Rauschen genannt, erzeugt durch thermische Prozesse freie Ladungsträgerpaare, welche den Dunkelstrom darstellen. Dieser auch Dunkelrauschen genannte Einfluss entspricht dem Signal ohne Belichtung des Sensors und entsteht, wenn zufällige Elektronen-Loch-Paare durch ausreichende thermische Energie in das Leitungsband überführt werden. Diese klassische Rauschquelle sollte nicht mit dem nichtklassischen Schrotrauschen des elektrischen Stromes verwechselt werden. Neben dem Rauschen der Detektoren weist die Verstärkungselektronik ebenfalls Rauschen auf. Dieses trägt durch seine Anteile an $1/f$ -Rauschen und Schrotrauschen jedoch nicht signifikant zum Gesamtrauschen bei und kann daher vernachlässigt werden.

Die Einflüsse der jeweiligen Rauscharten sind in Abbildung 3.5 dargestellt. Die FD-OCT ist dabei in drei verschiedenen Abschnitten vom Auslöse-, Schrot- und relativem Intensitätsrauschen begrenzt. Die Grenzen der Messdynamik sind gegeben durch die Sättigung des Photodetektors und die Ansprechschwelle.

Die Wandlung der analogen elektrischen Signal in digitale, auch Quantisierung genannt (engl. *analog digital conversion*, ADC), stellt keine eigentliche Rauschquelle dar. Allerdings kann sie aufgrund des Quantisierungsabstandes einen Verlust des Dynamikumfangs und des SNR implizieren, wenn die

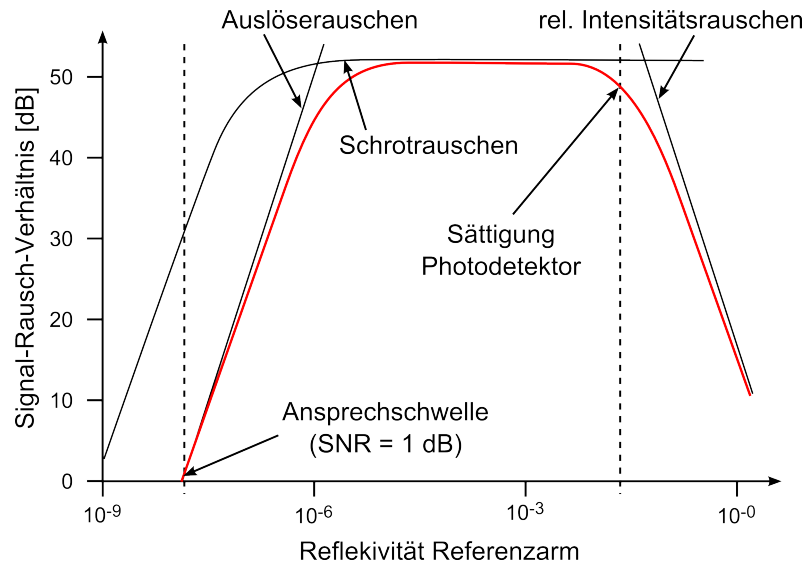


ABBILDUNG 3.5.: Verlauf des Signal-Rausch-Verhältnis eines FDOCT und die maßgeblichen Rauschanteile. Nach [Lei03].

Fouriertransformation (FT) sowie die Darstellung mit der gleichen Digitalisierungstiefe durchgeführt werden. Die in der FD-OCT eingesetzten Zeilenkameras haben in der Regel eine Digitalisierung von 12 bzw. 14 bit, welche in Abhängigkeit der Digitalisierungsbreite M in bit nach

$$DR_{ADC} = 10 \cdot \log(2^M) \quad . \quad (3.19)$$

einen Dynamikumfang DR_{ADC} von 36,1 bzw. 42,1 dB aufweisen. Wird die Wortbreite jedoch vor der FT und der Bilddarstellung erweitert, so kann nach dem Nyquist-Theorem die maximale Harmonische $N/2$ erfasst werden. Wird das Rauschen als weißes Rauschen angenommen, so wird dieses durch die FT sowohl im positiven als auch negativen Frequenzhalbraum, also über $N/2$ Elemente dargestellt, wodurch das Rauschen durch die Mittelung eliminiert wird. Hieraus ergibt sich der Dynamikumfang [Woj02] zu

$$DR_{ADC} = 10 \cdot \log\left(2^M \cdot \frac{N}{4}\right) \quad , \quad (3.20)$$

mit der ursprünglichen Digitalisierungstiefe M und der Anzahl der Sensorelemente N . Hieraus resultiert ein Dynamikumfang von 69,2 dB für 14 bit und 2048 Pixel bzw. 60,2 dB für 12 bit und 1024 Pixel.

Die oben genannten Rauschquellen lassen sich in zwei Gruppen einteilen: klassische und nichtklassische Rauschquellen. Die nichtklassischen sind durch den jeweiligen Quantencharakter bedingt und stellen die Begrenzung nach unten hin dar. Die klassischen hingegen können durch geeignete Maßnahmen minimiert werden. Die Abbildung 3.5 zeigt die Begrenzung des SNR über die Probenreflektivität in Abhängigkeit der Rauschquelle. Für geringe Reflektivitäten ist das Empfängerrauschen

vorherrschend, während es für hohe Probenreflektivitäten durch das relative Intensitätsrauschen begrenzt wird. Zwischen diesen beiden Bereiche lässt sich der maximale Signal-Rausch-Pegel erzielen, welcher durch das Schrotrauschen der Lichtquelle begrenzt wird. Ziel der Auslegung eines FD-OCT-Systems ist es, den Sättigungsbereich in den RIN-begrenzten Bereich zu legen und damit den Schrotrauschbegrenzten Bereich ausnutzen zu können. Hierbei muss auch Rücksicht genommen werden auf die Lichtleistung der Lichtquelle sowie die maximale Anzahl an Ladungsträgern eines Detektorelementes des Sensors vor Übersteuerung, der sog. full-well-capacity. Durch Anpassen der Integrationszeit des CCD kann hierbei das SNR maximiert werden, allerdings steigt durch die Erhöhung der Integrationszeit auch die Gefahr der Signalverwaschung durch Bewegungsartefakte (engl. *fringe-washout*). Dieser tritt auf, wenn der Weglängenunterschied und somit die Phasenbeziehung von Proben- zu Referenzarm während eines Integrationszeitraumes nicht konstant ist, und somit das Interferenzbild schlimmstenfalls durch einen Phasenversatz von $\pi/2$ vollständig eliminiert wird.

3.4. Empfindlichkeit, Signal-Rausch-Verhältnis und Dynamikumfang

Da in der Literatur Größen wie Sensitivität, Signal-Rausch-Verhältnis und Dynamikumfang (Abb. 3.6) sowohl inhaltlich wie mathematisch kontrovers eingeführt und benutzt wurden, sollen sie in diesem Kapitel zur weiteren Verwendung innerhalb dieser Arbeit definiert werden [Liu07]. Diese Werte sind entweder theoretischer Natur, da sie den maximal möglichen Bereich angeben, oder bei der realen Messung in der Regel auf einzelne Grenzflächen (z.B. Glas-Luft an einem Glaskeil) bezogen sind. Die folgenden Größen werden relativ in Dezibel angegeben. Da sie Intensitätsgrößen bezeichnen, muss sie angegeben werden nach

$$dB = 10 \cdot \log\left(\frac{I_1}{I_0}\right) \quad . \quad (3.21)$$

Viele vor allem ältere Quellen benutzen hier das 20-fache des Logarithmus, wodurch diese suggerieren, eine Verdopplung von Empfindlichkeit, SNR und Dynamikumfang erzielen zu können.

Das Signal-Rausch-Verhältnis (engl. *signal-noise-ratio*, SNR) gibt zu einem gegebenen Zeitpunkt die Reflektivität einer bestimmten Probe in Dezibel an. Dieser Wert wird gemessen zwischen dem Rauschteppich und der Signalspitzenamplitude. Hierbei ist zu beachten, daß das SNR über die Tiefe der Probe abnimmt (engl. *SNR-Rolloff*), da der Kontrast der spektralen Interferenz über die Weglängendifferenz der Interferometerarme sinkt. Der Kontrast ist über die Abbildungsqualität des Spektrometers gegeben. Je besser die Abbildung, desto höher ist der Kontrast und desto geringer ist der SNR-Rolloff [Dre08].

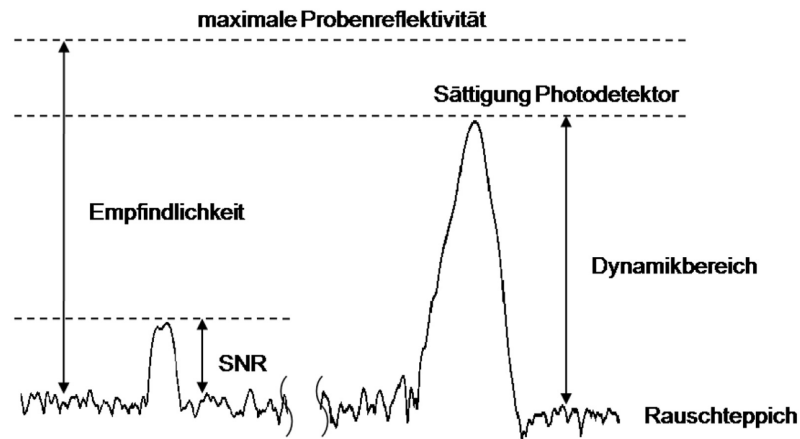


ABBILDUNG 3.6.: Empfindlichkeit, Signal-Rausch-Verhältnis und Dynamikumfang eines FDOCT.
Quelle: [Oet08].

Der Dynamikumfang eines FDOCT-Systems bezeichnet den maximalen Wertebereich zwischen der Übersteuerung des Sensors und dem Rauschteppich. Dieser stellt den Arbeitsbereich des Systems dar und ist mit dem maximalen SNR identisch.

Die Empfindlichkeit oder Sensitivität (engl. *sensitivity*) gibt die minimal mögliche Signalgröße an, die noch vom Rauschteppich unterschieden werden kann. In der Literatur hat man als Kenngröße hierfür einen $\text{SNR} = 1$ vereinbart. Für die OCT-Bildgebung ist der Dynamikumfang der Bildgebung jedoch vom Dynamikbereich abhängig anstatt von der Empfindlichkeit, bedingt durch die Messung der Kreuzkorrelationsfunktion anstelle von der Zahl von zurückgestreuten Photonen.

3.5. Artefakte

Im Bereich der FD-OCT können im Vergleich zur TD-OCT einige systemspezifische Artefakte auftreten. Diese sind Bewegungsartefakte und Artefakte, die aus der interferometrischen Messung hervorgehen. Diese Artefaktgruppe sind die der Fouriertransformation eigenen Artefakte: Sogenannte Geisterbilder bzw. -streifen. Diese werden hervorgerufen durch fehlerhafte interferometrische Messungen und lassen sich unterteilen in Autokorrelationsartefakte und Artefakte, welche durch die Übersteuerung des Zeilensensors bedingt sind.

Die Bewegungsartefakte werden durch die zeitliche Integration des optischen Signals hervorgerufen und stellen sich als Verringerung des SNR da. Kommt es innerhalb der Integrationszeit zu einer kontinuierlichen Phasenverschiebung zwischen Referenz- und Probenarm von 2π oder einen Phasensprung von π , so verschwindet der spektrale Interferenzkontrast und damit auch der SNR vollständig. Den maximalen SNR erhält man nur für einen phasenstabilen Integrationszeitraum [Roh09]. Dem

Gegenüber ist die Erhöhung der Integrationszeit eine Methode, das Signal-Rausch-Verhältnis durch die Eliminierung des zufällig verteilten Rauschanteils zu erhöhen [Liu07]. Hier gilt entsprechend der jeweiligen Probe abzuwägen. Die Autokorrelationsartefakte werden durch starke Reflexe einer Probe innerhalb des Probenarmes verursacht. Die einzelnen Reflexe sind in diesem so stark ausgeprägt, dass nicht mehr nur die Kreuzkorrelation mit dem Referenzarm überwiegt, sondern stattdessen auch die Autokorrelationen der Probenarmreflexe ausgeprägt sind. Dabei kann man sich diese als zweites Interferometer vorstellen. Hervorgerufen wird es häufig durch planparallele Glasplatten oder Brechungsindexübergänge von Luft zu Wasser, welche jeweils senkrecht zur einfallenden Strahlrichtung ausgerichtet sind. Die Effekte sind meist als Streifen oder mehrfache Überlagerung der einfachen darzustellenden Struktur ausgeprägt. Während der Bildanteil, welcher aus der Messung gegenüber dem Referenzarm gewonnen wird, durch die Verstellung der Referenzarmlänge im Bild verschoben werden kann, ist der Autokorrelationsanteil gegenüber einer Dejustage der Weglängendifferenz invariant. In Abbildung 3.7 sind sowohl ein B-Scan als auch ein daraus entnommener A-Scan dargestellt. Zur Demonstration wurde eine Messung gegenüber dem Referenzarm mit einer Messung mit einem Übergang von Glas zu Luft von einem dicken Glasblock gewählt, die dargestellte Probe ist ein Blatt Papier. Am Punkt A ist das Fouriertransformationssignal der Einhüllenden des Spektrums erkennbar, an Punkt B die Oberfläche der Probe aus der Messung des Autokorrelationssignals. Punkt C zeigt die Grenzfläche Glas - Luft sowie die Punkte D die Probenoberfläche gemessen gegen den Referenzarm.

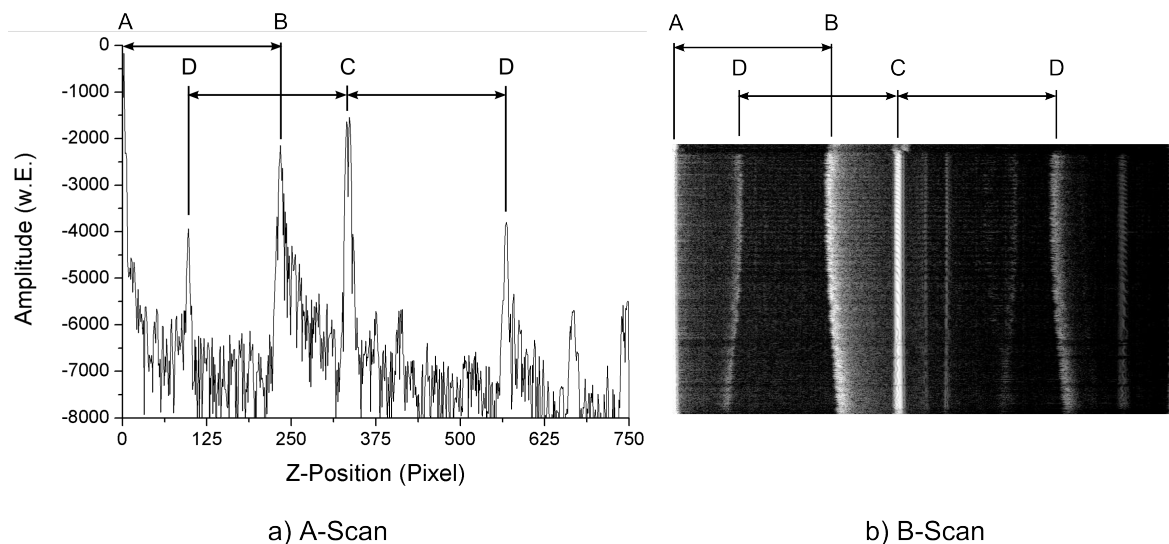


ABBILDUNG 3.7.: Artefakte durch verschiedene Referenzflächen innerhalb eines Interferometers. Dargestellt ist der Fall für eine zusätzlich eingebrachte Grenzfläche im Probenstrahlengang.

Diesem Effekt optisch ähnlich sind die Übersteuerungsartefakte. Wird der Sensor übersteuert, so wird das Interferenzsignal meist nur einer Grenzfläche mit dem Referenzarm durch die Fourier Transform-

mation in seiner Grundfrequenz und Vielfachen davon interpretiert. In Abbildung 3.8 sind eine Aufnahme eines übersteuerten Zeilensensors sowie der zugehörige A-Scan dargestellt, als Probenobjekt dient ein Übergang Luft - Glas eines dicken Glasblockes. An Punkt A erkennt man das Fouriertransformationssignal der Einhüllenden des Spektrums, an Punkt B das Signal der Glasblockkante. Die nachfolgenden Signale an den Punkten C (nur drei Punkte gekennzeichnet) befinden sich in ganzzahlig vielfachen Abständen zum Punkt B bei abnehmenden Signalamplitude. Dem lässt sich durch Anpassung der Intensitätsverteilung innerhalb des Interferometers oder der Integrationszeit entgegenwirken.

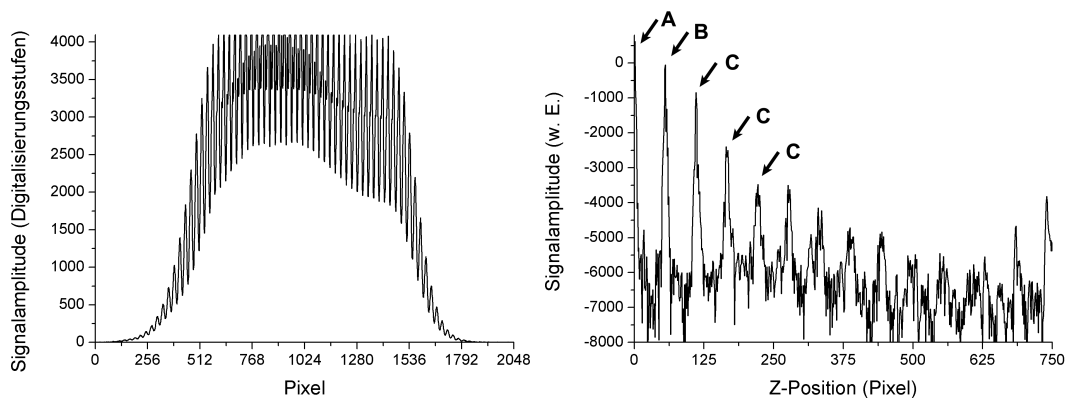


ABBILDUNG 3.8.: Übersteuerungsartefakte innerhalb einer OCT-Aufnahme. Durch die Fouriertransformation werden die Rohdaten-Signalverlauf (links) durch vielfache Peaks (rechts) fehlinterpretiert.

3.6. Dispersionsbalancierung

Die Dispersion ist bedingt durch die Wellenlängenabhängigkeit der Brechzahl optischer Medien, $n = n(\lambda)$. Hierdurch ist ein wellenlängenabhängiger Phasenversatz gegeben, welcher durch den Verlust an Kohärenz eine Verschlechterung der Auflösung eines OCT-Systems bewirkt. Dieser Effekt tritt sowohl in Gläsern auf, wie sie in Objektiven verwendet werden, als auch in den Proben selbst. Innerhalb eines optischen Aufbaus kann die chromatische Dispersion kompensiert werden, der Einfluss innerhalb von Proben kann dagegen nicht ausgeglichen werden.

Die verschiedenen longitudinalen Moden einer breitbandigen Lichtquelle breiten sich mit Lichtgeschwindigkeit c innerhalb eines Mediums aus. Aufgrund der Wellenlängenabhängigkeit des Brechungsindex $n(\lambda)$ ergibt sich hieraus eine Phasengeschwindigkeit

$$\nu_{Phase}(\lambda) = \frac{c}{n_P(\lambda)} \quad . \quad (3.22)$$

Erfahren beide Anteile des interferierenden Lichtes aus Proben- und Referenzarm die gleiche Dispersion, so bleibt die Kohärenz vollständig erhalten. Ist dies nicht der Fall, so muss die Gleichung 3.11 bezüglich des Phasenversatzes $\Phi_{Dispersion}$ erweitert werden und man erhält:

$$I_D(k) \propto S(k) \left[R_R + R_{S1} + 2\sqrt{R_R R_{S1}} \cdot \cos[2k(z_R - z_{S1}) + \Phi_{Dispersion}] \right] \quad . \quad (3.23)$$

Die chromatische Dispersion, also die Änderung der spektralen Phase pro Weglänge, kann durch die Taylorentwicklung der Wellenzahl beschrieben, welche durch

$$k(\omega) = k_0(\omega_0) + k_1(\omega_0)(\omega - \omega_0) + \frac{1}{2}k_2(\omega_0)(\omega - \omega_0)^2 \quad . \quad (3.24)$$

gegeben ist. Die Dispersion nullter Ordnung k_0 erzeugt einen konstanten Phasenversatz, die Dispersion erster Ordnung k_1 ist die inverse Gruppengeschwindigkeit und beschreibt eine zeitliche Verzögerung ohne Einfluss auf die Pulsform. Die Dispersion zweiter Ordnung k_2 stellt die Gruppengeschwindigkeitsdispersion (engl. *group velocity dispersion*, GVD) dar und beschreibt die zeitliche Verbreiterung eines Pulses aufgrund der wellenlängenabhängigen Ausbreitungsgeschwindigkeit. Höhere Ordnungen haben für $\Delta\lambda \ll \lambda_0$ nur einen geringen Einfluss und können vernachlässigt werden [Dre08]. Unter Angabe des wellenlängenabhängigen Phasenbrechungsindex

$$n_P(\lambda) = \sqrt{1 + \frac{B_1 \cdot \lambda^2}{\lambda^2 - C_1} + \frac{B_2 \cdot \lambda^2}{\lambda^2 - C_2} + \frac{B_3 \cdot \lambda^2}{\lambda^2 - C_3}} \quad , \quad (3.25)$$

mit λ in μm sowie $B_{1,2,3}$ und $C_{1,2,3}$ als materialabhängige Konstanten, kann der Dispersionparameter D_{chrom} berechnet werden zu

$$D_{chrom}(\lambda) = \frac{1}{c} \cdot \frac{dn_G}{d\lambda} = \frac{\lambda}{c} \cdot \frac{d^2 n_P}{d\lambda^2} \quad , \quad (3.26)$$

mit der Einheit $\left[\frac{\text{ps}}{\text{nm} \cdot \text{km}} \right]$ und dem wellenlängenabhängigen Gruppenbrechungsindex n_G . Der Fall $k_2 > 0$ bezeichnet die normale Dispersion, $k_2 < 0$ anomale Dispersion. Die Wellenlänge, bei der der Fall $k_2 = 0$ auftritt, wird als Nulldispersionswellenlänge bezeichnet [Lan02].

Für einen kleinen spektralen Bereich $\Delta\lambda$ ergibt sich die zeitliche Differenz Δt_{chrom} für ein Medium mit einer Länge d zu

$$\Delta t_{chrom} = \frac{d}{c} \cdot \frac{dn_g}{d\lambda} \cdot \Delta\lambda = D_{chrom}(\lambda_c) \cdot d \cdot \Delta\lambda \quad . \quad (3.27)$$

Tritt Dispersion in nur einem Interferometerarm auf, so hat dies eine Verschlechterung der Auflösung durch Erhöhung der Kreuzkorrelationsbreite KKB zur Folge. Dies kann durch Einbringen von Medien mit angepasster Dispersion in den jeweils anderen Interferometerarm ausgeglichen werden (Dispersionsbalancierung).

$$KKB = \sqrt{l_c^2 + (c \cdot \Delta t_{chrom})^2} \quad (3.28)$$

Die Kohärenzlänge der Lichtquelle l_c bleibt dabei erhalten. [Roh09]

Für gegebene Objektive wird man jedoch nicht die Dispersionsdaten sowie die zugehörigen Glasdicken erhalten, vielmehr erhält man die Gruppengeschwindigkeitsdispersion (engl. *group velocity dispersion*, GVD) des Gesamtsystems

$$GVD(\lambda_c) = d \cdot D_{chrom}(\lambda_c) \quad (3.29)$$

mit der Einheit $\left[\frac{ps}{nm}\right]$ und für d in $[km]$.

Bei angestellten Berechnungen ist zu beachten, daß es sich hierbei um eine Näherung handelt. Der Verlauf der Dispersion wird als Gerade betrachtet, wobei dies für Systeme mit geringen spektralen Bandbreiten vertretbar ist, aber für hochauflösende und somit spektral breitbandigen Systeme problematisch werden kann.

3.7. Polarisation

Bei vollständig linear polarisiertem Licht kann es nur dann zur vollständigen Interferenz kommen, wenn die Polarisation innerhalb der Interferometerarme keine Veränderung erfährt. Werden die Polarisations Ebenen zueinander verkippt, so wird der Interferenzkontrast reduziert. Stehen die Ebenen orthogonal zueinander, so verschwindet der Kontrast vollständig [Oet08].

Die Beeinflussung der Polarisation kann sowohl im optischen Aufbau als auch in der Probe auftreten. Innerhalb des optischen Aufbaus kann dies bewusst durch polarisierende oder polarisationsdrehende Elemente als auch unerwünscht durch spannungsinduzierte Doppelbrechung hervorgerufen werden. Bei dem bewussten Einsatz ist auf entsprechende Kompensation oder Einbußen zu achten. Im unerwünschten Fall kann die Polarisationsrichtung durch Stellglieder angepasst werden.

Es kann allerdings die Polarisationsbeeinflussung innerhalb von Proben von der Polarisations sensitiven OCT ausgenutzt werden, um z.B. doppelbrechende Proben und Strukturen darzustellen. Ist dieser Effekt jedoch unerwünscht, so kann er kaum ausgeglichen werden.

3.8. Signalverarbeitung

Während die Time-Domain-OCT-Systeme eine direkte Messung der Reflektivität über die Probentiefe ermöglichen, erfasst die Fourier-Domain-OCT die sogenannte spektrale Interferenz. Diese ist nach Gleichung 3.11 die Modulationsfrequenz über das Spektrum in Abhängigkeit der Weglängendifferenz zwischen einer Referenzebene und einem rückstreuendem Objekt innerhalb des Probenarmes eines Interferometers. Die Modulationsfrequenz ergibt sich dabei aus der Fouriertransformation der

Weglängendifferenz (siehe Abbildung 3.3). Diese Fouriertransformation wird durch ein Gitter oder Prisma des Spektrometers erzeugt, welches als Detektor für die FD-OCT verwendet wird. Daher ist für die Rückgewinnung eine Rücktransformation der spektralen Interferenz notwendig.

Bezüglich der Fouriertransformation ist eine gaußförmige Einhüllende des Spektrums ideal, da die Fouriertransformation einer Gaußform wiederum eine Gaußverteilung ergibt. Andere Verteilungen erfahren durch die Transformation eine Verbreiterung und somit einen Auflösungsverlust, der Extremfall wäre hier ein Dirac-Stoß, welcher in ein Spektrum unendlicher Breite überführt würde. Reale Spektren von Lichtquellen wie Superluminescente Dioden (engl. *superluminescent diode*, SLD) weisen jedoch meist nur ein Gauß-ähnliches Spektrum auf. Dies resultiert häufig aus der Verwendung zweier optischer Übergänge. Daher ist es notwendig, das erfasste Spektrum durch eine Fensterung nachträglich in die Gaußform zu überführen. Hierfür wird meist die Hanning-Fensterfunktion gewählt [Nut81]. Außerdem muss von dem Signal der Gleichanteil entfernt werden (Subtraktion des Referenzspektrums).

Das so gewonnene Spektrum weist jedoch eine geringe Verzerrung auf, da die Abbildung des Spektrums auf der Zeilenkamera linear über die Wellenlänge λ ist, die Modulationsfrequenz jedoch linear über die reziproke Wellenlänge $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ ist (vgl. Gl. 3.11). Somit erscheint das Interferenzbild nicht als Schwebung konstanter Frequenz sondern vielmehr steigt die Frequenz für größere Wellenlängen an. Dies wird auch als „Chirp“ bezeichnet und hat ebenfalls einen Auflösungsverlust zur Folge, jedoch gibt es hierfür zwei Lösungsansätze.

Zum Einen kann mittels Short-Time-Fouriertransformation (STFT) die mittlere Wellenzahl eines kurzen Abschnittes des Spektrums bestimmt werden. Hierdurch kann die jeweils mittlere Wellenzahl eines Pixels bestimmt werden, und daraus der Verlauf aller Wellenzahlen polynomisch angenähert werden. Die Krümmung dieser Kurve dient zur Erzeugung einer Zuordnung der Pixel zu den Abtastpunkten der Interpolation über das Spektrum. Durch die Krümmung der Kurve wird eine Verschiebung der jeweiligen Interpolationspunkte erreicht, sodass die resultierende Interpolation linear über die Wellenzahl k ist (s. Abb. 3.9) [Hei09].

Zum Anderen wird in das Spektrometer ein Kompensationsprisma eingefügt, welches das Spektrum hinsichtlich der Wellenlänge λ linearisiert (s. Abb. 3.10) [Hu07]. Somit kann bei ausreichender Kompensation die Berechnung der Dechirp-Kennlinie sowie die Interpolation innerhalb der weiteren Software-Bearbeitung der Daten entfallen, die verbleibenden Schritte wie das „spectral shaping“ und die FFT müssen jedoch weiterhin durchgeführt werden.

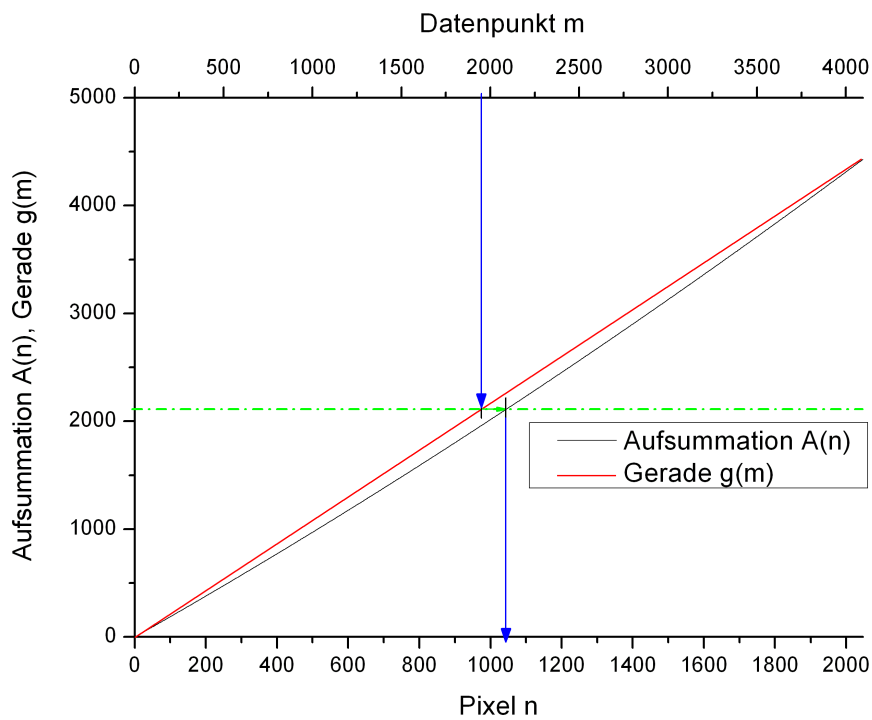


ABBILDUNG 3.9.: Verlauf des Chirps über das Spektrum infolge der linearen Abbildung des Spektrometers über die Wellenlänge λ . Dargestellt ist die Aufsummation des STFT-Signals sowie die Ausgleichsgerade [Hei09].

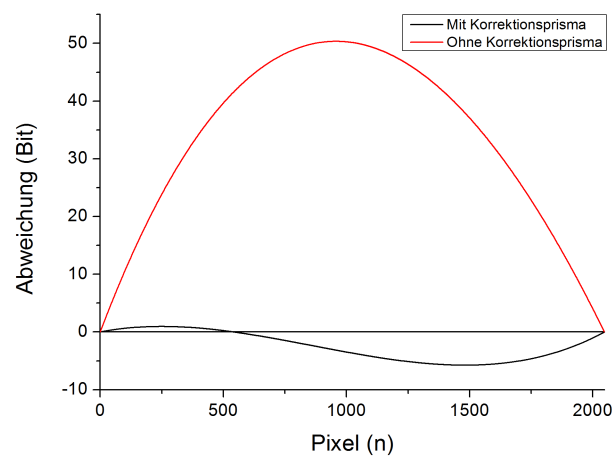


ABBILDUNG 3.10.: Verlauf des Chirps als Abweichung gegenüber einer linearen Auftragung über die Wellenzahl k .

3.9. Komplexe OCT

Misst man die spektrale Interferenz und wendet darauf die Fouriertransformation an, ohne die Phaseninformation mit anzugeben, so kann die Fouriertransformation die enthaltenen Frequenzen nicht eindeutig dem positiven oder negativen Ortshalbraum zuweisen. Infolge dessen wird die Frequenz für beide Halbräume interpretiert und in beiden abgebildet. Bei der nichtkomplexen FDOCT wird nur ein Halbraum grafisch dargestellt. Befinden sich nun Anteile einer Probe sowohl vor wie hinter der Position z_0 , so werden die beiden Probenhälften im gleichen Halbraum superpositioniert dargestellt (s. Abb. 3.11). Dabei wird die eine Hälfte der Probe an der Position z_0 gespiegelt wiedergegeben. Umgehen lässt sich dieser Effekt durch die Platzierung der Probe auf nur einer Seite in Bezug auf die Position z_0 oder aber durch die Erfassung der fehlenden Phaseninformation, die durch Aufnahme eines weiteren, gegenüber dem ersten um $\frac{\pi}{2}$ phasenversetzten, Interferogramms erhalten werden kann. Unter Angabe dieser Phaseninformation kann die Fouriertransformation die den jeweiligen Frequenzen zugehörigen Signale im richtigen Halbraum darstellen. Gleichzeitig erhält man bei Anwendung dieses Verfahrens eine Verdoppelung des Messraumes, da im Gegensatz zur nichtkomplexen OCT beide Halbräume genutzt werden können.

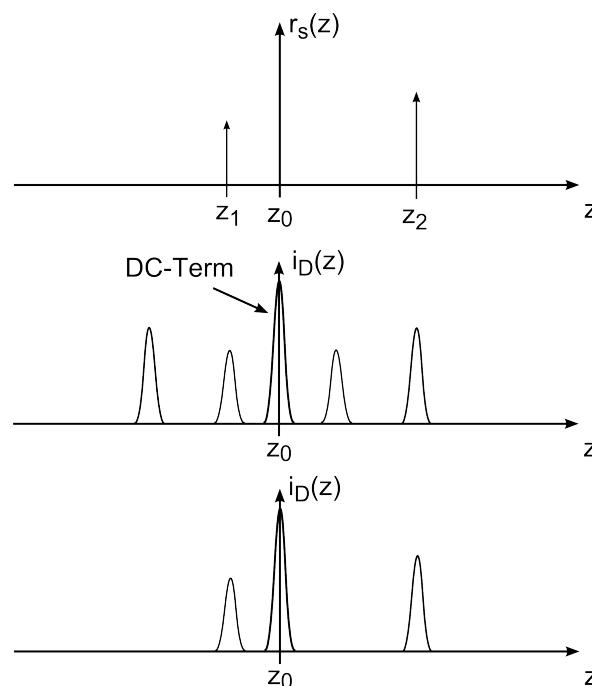


ABBILDUNG 3.11.: Interpretation von Reflexionen vor und hinter der Referenzebene durch nichtkomplexe (oben) und komplexe (unten) OCT. Die komplexe OCT erfasst zusätzlich ein zweites um $\phi/2$ verschobenes Interferogramm. Aus der Phaseninformation kann die der Reflektionsschicht zugehörige Frequenz in den zugehörigen Frequenz- bzw. Ortshalbraum zugeordnet werden [Dre08].

4. Nichtsolitonische Strahlung als Lichtquelle für die OCT

Ziel dieses Kapitels ist es, die notwendigen Eigenschaften von Lichtquellen für die Fourier-Domain-OCT herauszustellen sowie die Theorie und Versuche zu der spektralen Verbreiterung mittels Photonischer Kristallfasern gemäß des Konzeptes des „Sehenden Skalpells“ zu erläutern. Dabei soll evaluiert werden, in wie weit es möglich ist, das Spektrum nicht nur symmetrisch um die Anregungswellenlänge zu verbreitern sondern viel mehr eine Frequenzverschiebung hin zu typischen Wellenlängen für die OCT von 830 bzw. 930 nm zu erzielen, sodass CCD-Kameras als Sensoren für die Fourier-Domain OCT eingesetzt werden können.

Der dafür zugrunde gelegte Effekt ist der Solitonenzerfall in photonischen Kristallfasern zur Erzeugung eines Superkontinuums: Propagiert ein optischer Puls durch eine optische Faser, so erfährt er eine zeitliche wie spektrale Veränderung durch nichtlineare Effekte wie Selbstphasenmodulation (engl. *self phase modulation*, SPM), Kreuzphasenmodulation (engl. *cross phase modulation*, XPM), Vierwellenmischung (engl. *four wave mixing*, FWM), stimulierte Ramanstreuung (engl. *stimulated Raman scattering*, SRS) ebenso wie durch die dispersiven Eigenschaften der optischen Faser. Überschreitet die spektrale Verbreiterung aufgrund der nichtlinearen Prozesse einen Frequenzumfang von 100 THz [Agr07], was einer spektralen Breite von 364 nm bei einer Anregung von 1030 nm entspricht, so spricht man von der Erzeugung eines Superkontinuums. Solch große spektrale Verbreiterung wurde erstmals 1970 in festen und gasförmigen nichtlinearen Medien [Alf70] beobachtet. Da die so erzeugten Spektren keine Gaussform aufweisen, kann eine Angabe der spektralen Breite als Halbwertbreite (FWHM) nicht mehr gemacht werden. Vielmehr wird die Breite bei einem Abfall um 20 dB gegenüber dem Maximum angegeben. Für die nachfolgenden Versuche interessiert jedoch nicht die gesamte spektrale Breite, sondern die Breite des Spektrums im Bereich der OCT-Wellenlänge bei 830 nm bzw. 930 nm bei einem Abfall um 3 dB, da dies der Halbwertsbreite der typisch verwendeten Lichtquellen für die OCT entspricht.

4.1. Theorie zur spektralen Verarbeitung in PCF

Die spektrale Verbreiterung wird durch nichtlineare Effekte hervorgerufen. Der Brechungsindex ist dabei definiert als Summe des konstanten sowie des nichtlinearen intensitätsabhängigen Anteils des Brechungsindex

$$n = n_0 + \bar{n}_2 \cdot I(t) \quad (4.1)$$

mit $\bar{n}_2 = 2 \cdot n_2 / (\epsilon_0 c n_0)$. Hieraus ergibt sich der Nichtlinearitätsfaktor γ , von dem alle oben genannten nichtlinearen Prozesse abhängen. Er ist definiert als

$$\gamma = \frac{2 \pi n_2}{\lambda A_{eff}} \quad (4.2)$$

mit dem nichtlinearen intensitätsabhängigen Brechungsindex n_2 , der Wellenlänge λ und der effektiven Modenfläche A_{eff} [Agr07]. Für die meisten optischen Fasern können Werte von $\gamma \approx 1 \text{ W}^{-1} \text{ km}^{-1}$ erreicht werden, jedoch zeigen sich für diese Werte keine ausreichenden Nichtlinearitäten für die praktische Anwendung. Mit sogenannten Photonischen Kristallfasern können Werte von $\gamma > 10 \text{ W}^{-1} \text{ km}^{-1}$ erzielt werden. Diese Fasern sind entgegen den Standardfasern nicht als Stufenindexfasern aufgebaut, sondern weisen eine Struktur aus periodischen luftgefüllten Kanälen innerhalb einer massiven Quarzglasfaser auf. Den Faserkern stellt dabei eine zentrale Fehlstelle innerhalb der periodischen Struktur dar, wobei die Kapillare durch Quarzglas ersetzt wird. Bei diesem Fasertyp spricht man von der Gruppe der engl. *index-guided photonic bandgap fibre* (Abb. 4.1). In diesen Fasern wird das Licht innerhalb des Quarzglases der Fehlstelle durch den Brechungsindexübergang zur periodischen Lochstruktur geführt. Weiter werden hier die engl. *large mode area*, engl. *High NA* und die engl. *highly non-linear fibres*

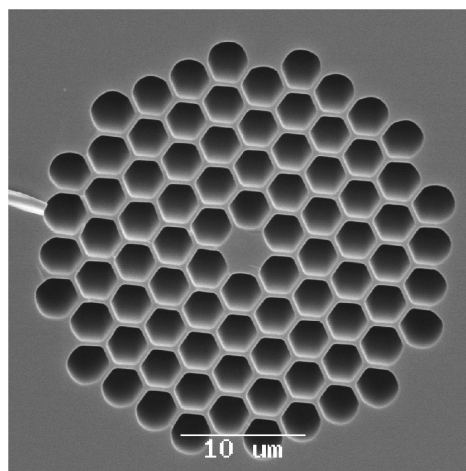


ABBILDUNG 4.1.: Faserendfläche einer indexgeführten Photonischen Kristallfaser. In der Mitte der hexagonalen Kapillarstruktur befindet sich die Fehlstelle, welche als Faserkern dient.

aufgrund ihrer Struktur unterschieden. Für die Versuche der spektralen Verbreiterung wurde eine Faser des letzten Fasertyps verwendet (vgl. Tabelle 4.1).

TABELLE 4.1.: Parameter der verwendeten Photonischen Kristallfaser CRYSTALFIBRE NL-3.2-945.

Faserparameter	CRYSTALFIBRE NL-3.2-945
Nulldispersionswellenlänge	945 nm
Kerndurchmesser	3,2 μm
Modenfelddurchmesser	2,8 μm
Cut-off Wellenlänge	730 nm
Numerische Apertur (bei 1060 nm, 5 %)	0,29
Dämpfung (bei 1060 nm)	< 20 dB/km
Nichtlinearitätsfaktor γ (bei 1060 nm)	23 $W^{-1}km^{-1}$

4.1.1. Grundlegende nichtlineare Effekte in optischen Fasern

Im folgenden werden die grundlegenden nichtlinearen optischen Effekte beschrieben. Diese haben bei ausreichender Pulsspitzenleistung jeweils eine spektrale Verbreiterung eines ultrakurzen Pulses zur Folge. Die spektrale Verbreiterung wird jedoch durch die Wechselwirkung erreicht und im nachfolgenden Kapitel 4.1.2 beschrieben.

Selbst- und Kreuzphasenmodulation

Der Effekt der Selbstphasenmodulation ist bedingt durch den zeitlichen Kerr-Effekt. Hohe optische Intensitäten verursachen durch die intensitätsabhängige Änderung des Brechungsindex eine nichtlineare Phasenverschiebung, die zeitliche Pulsform bleibt allerdings unverändert. Die Verbreiterung des Frequenzspektrums erfolgt dabei symmetrisch. Die zeitliche Abhängigkeit hat hier eine Phasenverschiebung zur Folge (Abb. 4.2), wohingegen die räumliche Abhängigkeit den Effekt der Selbstfokussierung zur Folge hat. Die Kreuzphasenmodulation ist bedingt durch die Brechungsindexvariation hervorgerufen durch ein anderes elektrisches Feld. Sie ist daher eine Begleiterscheinung der Selbstphasenmodulation.

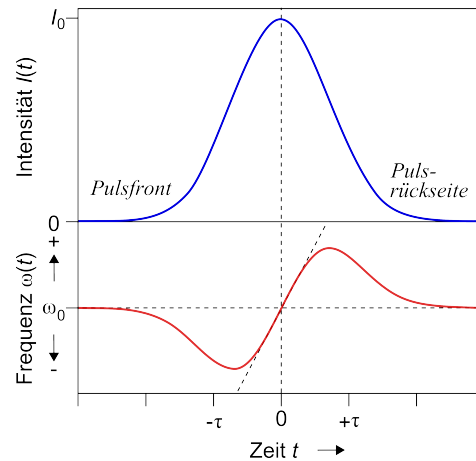


ABBILDUNG 4.2.: Oben: Zeitlicher Verlauf der Einhüllenden eines Laserpulses, unten: Frequenzverschiebung nach einer Ausbreitung aufgrund der Selbstphasenmodulation. Die vordere Pulsflanke erhält tiefere Frequenzen, der hintere höhere. Die Frequenzverschiebung ist im zentralen Bereich annähernd linear. Nach [Die06].

Vierwellenmischung

Die Vierwellenmischung ist eine intermodulare Verzerrung in optischen Systemen. Wenn drei Felder verschiedener Frequenzen ω_1 , ω_2 und ω_3 in einem nichtlinearen Medium wechselwirken, so kommt es zu einem Übertrag der Energie der Photonen der jeweiligen Frequenzen auf ein viertes Photon, also zu einer Erhöhung der Feldamplitude einer vierten Frequenz ω_4 .

$$\omega_4 = \omega_1 + \omega_2 + \omega_3 \quad (4.3)$$

Wechselwirken zwei elektrische Felder mit den Frequenzen ω_1 und ω_2 miteinander, so wird deren Energie auf Felder mit den Frequenzen ω_3 und ω_4 übertragen (Abb. 4.3).

$$\omega_1 + \omega_2 = \omega_3 + \omega_4 \quad (4.4)$$

Für den entarteten Fall $\omega_1 = \omega_2$ liegen die beiden neuen Spektralanteile symmetrisch um die Pumpfrequenz. Da die sowohl die Vierwellenmischung ebenso wie die SPM und die XPM phasensensitive Prozesse sind, können sich die Effekte über eine längere Propagationsstrecke aufsummieren [Pas08], und somit in Abhängigkeit der Wechselwirkungslänge zu einer spektralen Verbreiterung führen.

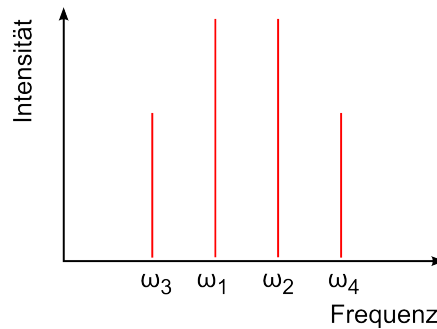


ABBILDUNG 4.3.: Frequenzschema der Vierwellenmischung [Pas08].

Stimulierte Ramanstreuung

Die stimulierte Ramanstreuung ist eine Ramanstreuung in Form einer stimulierten Emission. Findet eine Wechselwirkung zwischen einem Molekül und einem Photon statt, kommt es mit einer sehr geringen Wahrscheinlichkeit zu einer bleibenden Energieübertragung zwischen dem anregenden Photon und der angeregten Materie. Hierbei ändert sich die Rotations- bzw. Schwingungsenergie der angeregten Moleküle. Daher muss bei der Energiebetrachtung das Medium miteinbezogen werden, da ansonsten die Energieerhaltung nicht gegeben ist. Wird bei dem Streuvorgang des Lichtfelds das Energieniveau des Moleküls erhöht, so ist die Energie und die Frequenz des emittierten Photons geringer als die des anregenden Photons. Dieser Vorgang wird als Stokes-Raman-Streuung bezeichnet. Wird dagegen bei dem Anregungsvorgang das Energieniveau des streuenden Moleküls verringert, so besitzt das gestreute Photon eine höhere Energie und eine höhere Frequenz als die des anregenden Photons. Dies wird als Anti-Stokes-Raman-Streuung bezeichnet. Hiervon abhängig wird beim Übergang der Molekülniveaus ein optisches Phonon erzeugt bzw. vernichtet. Die Vibrationsniveaus bilden dabei in amorphen Medien Banden aus.

Bei der Ramanstreuung von ultrakurzen Pulsen kommt es zum Effekt der Verschiebung der Zentralwellenlänge hin zu größeren Wellenlängen: Die hohen Frequenzanteile eines Pulses können hierbei zu einer Anregung der Moleküle und dadurch zu einer Verstärkung der niederfrequenten Pulsanteile beitragen. Der Grad der Verschiebung der Zentralwellenlänge ist dabei abhängig von der Faserlänge sowie der Pulsspitzenleistung. Dieser Effekt wird auch als Intrapuls-Raman-Streuung bezeichnet.

4.1.2. Erzeugung von Superkontinua

Die vier oben beschriebenen Prozesse beeinflussen die zeitliche wie spektrale Entwicklung des propagierenden optischen Pulses. Neben diesen muss auch die Dispersion, genauer deren nichtlinearer Anteil, betrachtet werden. Generell wird bei der spektralen Verbreiterung zwischen langen und kurzen

(im fs-Bereich) Pulsen unterschieden. Daher wird im folgenden nur die Erzeugung von Superkontinua mittels Ultrakurzpulslaser betrachtet, resultierend aus dem Konzept des Sehenden Skalpells.

Solitonenzerfall und phasenangepasste nichtsolitonische Strahlung

Propagiert ein Puls durch eine optische Faser, so erfährt er aufgrund der Dispersion des Materials eine zeitliche Verbreiterung. Grund ist hier die Gruppengeschwindigkeitsdispersion, wodurch die verschiedenen Frequenzanteile unterschiedliche Ausbreitungsgeschwindigkeiten haben. Stellt sich aufgrund hoher Pulsintensität ein Gleichgewicht aus Selbstphasenmodulation und Dispersion (bei Anregung im anomalen Dispersionsbereich) ein, so breitet sich der Puls ohne zeitliche Verbreiterung aus, man spricht von einem optischen Soliton. Fundamentale Solitonen (mit der Ordnung $N = 1$) propagieren durch ein Medium mit einer konstanten stabilen Form. Solitonen höherer Ordnungen ($N \geq 2$) hingegen reproduzieren ihre Form in bestimmten Distanzen [Agr07, Die06].

Liegt die Zentralwellenlänge eines Solitons im anomalen Dispersionsbereich nahe der Nulldispersionswellenlänge, so kann ein Soliton einer höheren Ordnung N durch die Einflüsse aus Intrapuls-Raman-Streuung und Dispersion dritter Ordnung eine Energiestörung erfahren und dabei in N Fundamentalsolitonen zerfallen. Dies kann mathematisch durch die gestörte nichtlineare Schrödingergleichung beschrieben werden [Say06]. Bei dem Zerfall eines Solitons kommt es dabei zur Emission von Fundamentalsolitonen, die ins Langwellige verschoben sind, sowie Strahlung im kurzwelligen Spektralbereich (siehe Abb. 4.4). Diese Strahlung wird als phasenangepasste nichtsolitonische Strahlung bezeichnet [Her02, Hus01, Hus02]. Dabei wird eben der Energiebetrag als nichtsolitonische Strahlung emittiert, die der Differenz eines ungeradzahligen Solitons zum nächstniedrigeren ganzzahligen Solitonordnung darstellt.

Kohärenzeigenschaften und Stabilität von Superkontinua

Da die verbreiterten Spektren zur Interferometrischen Messung mittels OCT eingesetzt werden sollen, ist die Kohärenz der emittierten Strahlung von großem Interesse. Die Spektren propagieren durch eine Singlemode-Faser propagieren, folglich ist die Strahlung räumlich kohärent. Die zeitliche Kohärenz der einzelnen Spektren ist jedoch der Puls-zu-Puls-Stabilität des Pumpasers hinsichtlich der Energie, Breite und zeitlichen Eintreffen unterworfen, wodurch die spektrale Phase zum Einen von Puls zu Puls und zum Anderen über die Bandbreite des Superkontinuum variiert. In Hinsicht auf die Eigenschaften der interferometrischen Detektion der OCT ergeben sich zwei verschiedene Szenarien, unter denen die Kohärenz betrachtet werden muss: die Kohärenz über bestimmte Bereiche des Spektrums sowie die Kohärenz zwischen verschiedenen Pulsen.

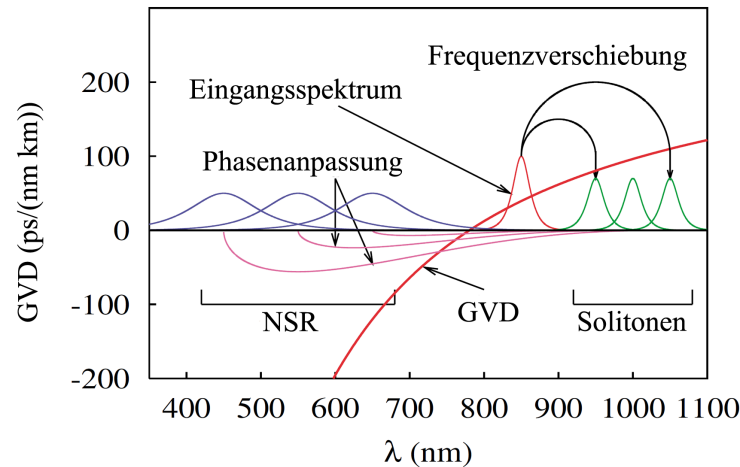


ABBILDUNG 4.4.: Superkontinuumzeugung nach Hermann und Husakou: Unter dem Einfluss der engl. *Third order dispersion* (TOD) und dem Raman Effekt zerfällt ein Soliton N-ter Ordnung in N fundamentale Solitonen. Gleichzeitig entsteht kurzwellige phasenangepasste Nichtsolitonische Strahlung (NSR) im normalen Dispersionbereich. Zusätzliche spektrale Anteile entstehen durch Selbstphasenmodulation und Vierwellenmischung. Nach [Her02, Say06].

Betrachtet man den Fall, dass die Interferenz nur zwischen Anteilen des gleichen Pulses gesucht wird und im Falle der Fourier-Domain-OCT sehr kleine Abschnitte der Spektrums miteinander interferieren, so ergeben sich für die Kohärenzeigenschaften keine Einschränkungen. Unterscheiden sich die Weglängen eines Interferometers derart, dass verschiedene Pulse miteinander in Interferenz kommen, so ergeben sich für längere Pulsdauern, die zur Erzeugung von Superkontinua genutzt werden, geringere Grade der Kohärenz [Agr07, S. 492]. Dieser letzte Fall kann jedoch vernachlässigt werden, da bei einer Repetitionsrate von 10 MHz ein Armlängenunterschied des Interferometers von 15 m vorliegen muss.

Weiter kann ebenso die Puls-zu-Puls-Stabilität der Superkontinua vernachlässigt werden, da bei der FDOCT über zumeist mehrere zehn bis hundert μs integriert wird. Hierbei kommt es zur Aufsammung von generierten Ladungsträgern, welche durch die interferierenden Photonen der einzelnen Pulse ausgelöst werden.

4.2. Untersuchungen zur spektralen Verbreiterung in PCF

Im Folgenden werden der Versuchsaufbau, die -durchführung sowie die erzielten Ergebnisse zur spektrale Verbreiterung von ultrakurzen optischen Pulsen in Abhängigkeit von der eingekoppelten Pulsenergie und der Propagationslänge dargestellt. Ebenso werden die Polarisationsabhängigkeit und das praktische Problem der Überkopplung der Spektren aus der PCF in Standard-Singlemode-Fasern

untersucht.

4.2.1. Beschreibung des Aufbaus und der Versuchsdurchführung

Als Pump-Laser für die spektrale Verbreiterung wurde ein t-Pulse 200 (AMPLITUDE SYSTEMES, Orsay, Frankreich) eingesetzt. Die Zentralwellenlänge liegt bei 1032,5 nm bei einer spektralen Breite von 3,5 nm (FWHM), gemessen mit dem Optical Spectrum Analyzer MS9710C der Firma ANRITSU GMBH, München. Die Pulsdauer wurde aus dem Gauss-Spektrum mit der Software FIBERDESK (Version 3.0) von Thomas Schreiber, Jena, zu 308 fs bestimmt sowie mit dem Autokorrelator MINI von APE - ANGEWANDTE PHYSIK UND ELEKTRONIK GMBH, Berlin, zu 329 fs gemessen (Herstellerangabe 330 fs). Die Repetitionsrate wird vom Hersteller mit 10,1 MHz angegeben, die mittlere maximale emittierte Leistung von 2,6 Watt wurde mit dem Messgerät COHERENT FIELDMAXII-TOP und dem thermoelektrischen Messkopf COHERENT PM10 bestimmt. Die mittlere maximale Pulsenergie ergibt sich damit zu 270 nJ. Für Leistungen kleiner 300 mW wurde das Messgerät PULSAR-1 (OPHIR, Jerusalem, Israel) mit dem thermoelektrischen Messkopf 3A-P-SH-V1-ROHS verwendet.

Der vom Laser emittierte Puls durchläuft einen Faraday-Isolator, sowie ein $\frac{\lambda}{2}$ -Plättchen und einen Polarisationsstrahlteiler zur Strahlabschwächung (siehe Abbildung 4.5). Der verbleibende Strahl wird über zwei dielektrische Spiegel und ein $\frac{\lambda}{2}$ -Plättchen zur Ausrichtung der Polarisationsrichtung sowie eine Linse C170TM-R von THORLABS, München, auf der Faserende der PCF fokussiert. Das Faserende wird mittels eines Stellisches NANOMAX MAX313/M von THORLABS, München, gehalten. Das andere Faserende der PCF wird mit einem Stellisch 17AMB003/MD der Firma CVI MELLES GRIOT, Albuquerque, New Mexiko (USA) gehalten. Das emittierte Licht wird mit einer Optik kollimiert und über zwei goldbeschichtete Spiegel und eine weitere Optik in eine Singlemode-Faser eingekoppelt. Bei den Versuchen zur Überkopplung der verbreiterten Spektren kamen die Paarungen aus Tabelle 4.2 zum Einsatz. Die Faserenden werden vor den Versuchen jeweils neu präpariert, um Effekte durch Verschmutzungen oder Wasseraufnahme zu verringern. Die wirkenden Kapillarkräfte

TABELLE 4.2.: Paarungen der Optiken (horizontale Anordnung), die zur Überkopplung des spektral verbreiterten Lichtes aus der PCF in die Singlemode-Faser verwendet wurden.

Kollimation aus PCF	-	Fokussierung auf SM-Faser
THORLABS C170TM-B	-	SCHÄFTER & KIRCHHOFF 60FC-4-M20-10
ZEISS N-Achroplan 10x (440930-99)	-	ZEISS N-Achroplan 5x (420930-99)

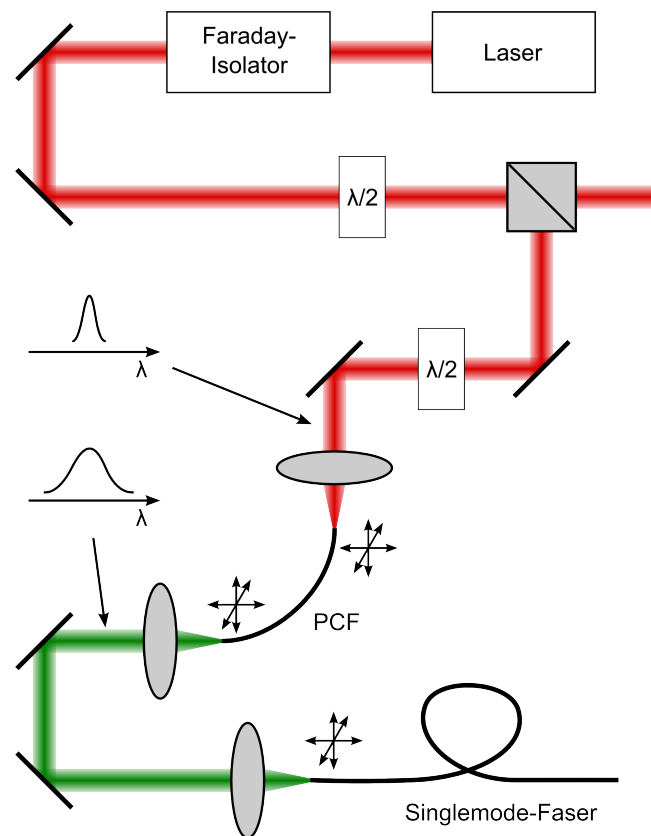


ABBILDUNG 4.5.: Opto-mechanischer Aufbau zur spektralen Verbreiterung mittels Photonischer Kristallfaser.

te bewirken eine Einlagerung ebenso werden Partikel durch den Strahlungsdruck sowie den Effekt der optischen Pinzette in Richtung des Fokus auf dem Faserende transportiert. Der zur Halterung notwendige Anpressdruck wird minimal gehalten, um spannungsinduzierte Doppelbrechung und dadurch verursachte Polarisationsänderungen zu vermeiden.

4.2.2. Eigenschaften des Peaks der nichtsolitonischen Strahlung

Bei der spektralen Verbreiterung in der Faser NL-945-3,2 kommt es aufgrund des Solitonenzerfalls in Fundamentalsolitonen zu einem stark ausgeprägtem Anteil an langwelligem Licht. Aufgrund der Phasenanpassung entsteht gleichzeitig Nichtsolitonische Strahlung, welche in den kurzwelligen Bereich verschoben ist. Die Ausprägung der einzelnen Fundamentalsolitonen lässt sich aufgrund der Verschmierung der einzelnen Solitonen nicht mehr erkennen, welche durch die Prozesse wie SPM, XPM und Vierwellenmischung hervorgerufen werden (vgl. Abbildung 4.6).

Die Spektren zeigen hierbei eine Verteilung der Energie hauptsächlich im langwelligen sowie im

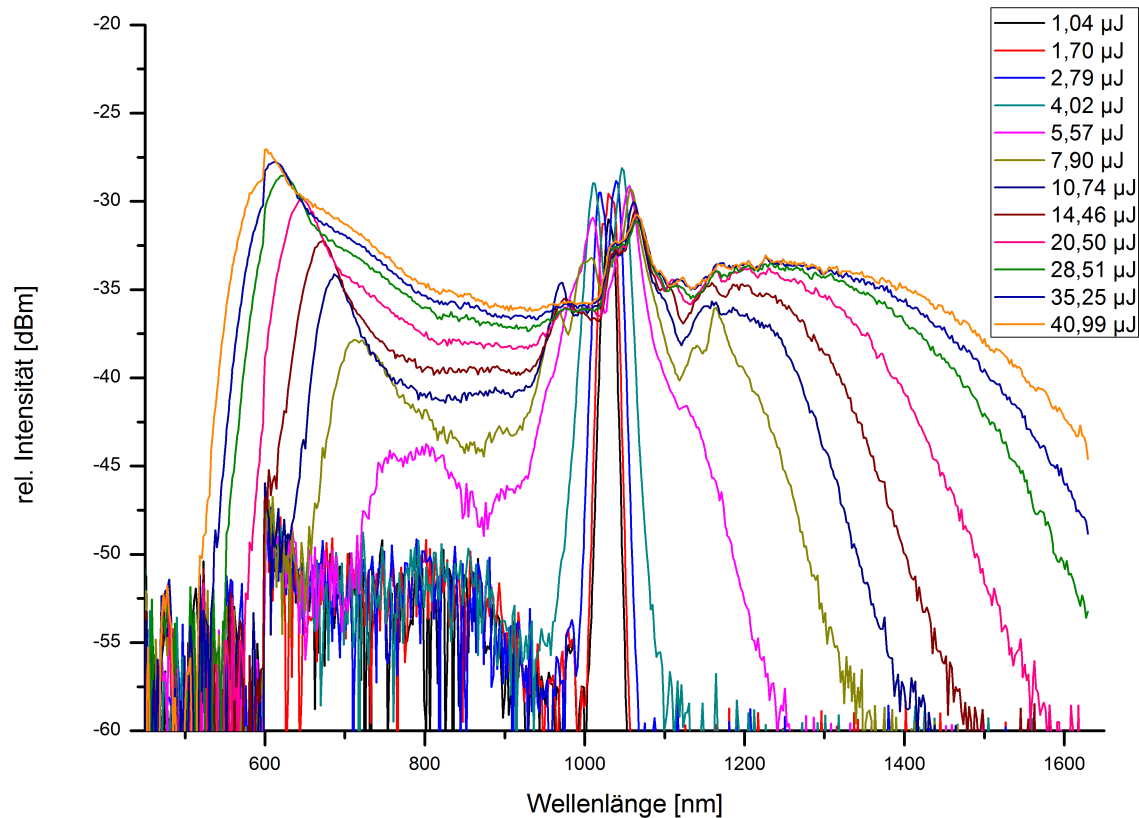


ABBILDUNG 4.6.: Spektrale Verbreiterung in Abhängigkeit der Pulsenergie, beispielhaft in einer PCF NL-945-3,2 mit einer Länge von 100 mm. Die gesamte spektrale Breite wächst mit steigender Pulsenergie an.

durch die Nichtsolitonische Strahlung erzeugten kurzwelligen Bereich. Die Breite des gesamten Spektrums wächst für ansteigende Pulsenergien sowie Faserlängen an (Abbildung 4.6).

Der für die OCT nutzbare Bereich um 830 nm bzw. 930 nm weist dagegen nur geringe Energie auf. Die durch den Solitonenzerfall verursachte langwellige Strahlung kann für die OCT aufgrund des Spektralbereichs und der damit verbundenen hohen Kosten für die Detektoren nicht genutzt werden. Die Intensitätsverteilung der Nichtsolitonischen Strahlung ist gaußähnlich und stellt im kurzwelligen Bereich ein Maximum dar. Die Nutzung für die OCT wäre daher vorteilhaft, jedoch ist die Wellenlänge des Maximums sowie die spektrale Breite den Parametern Pulsenergie und Faserlänge unterworfen. Da sich der durch den Solitonenzerfalls hervorgerufene Spektralanteil mit ansteigender Pulsenergie ins Langwellige verschiebt, kommt es aufgrund der Phasenanpassung zu einer Verschiebung der Nichtsolitonischen Strahlung ins zunehmend Kurzwellige (Abbildung 4.7). Die Zentralwellenlänge des Maximums der NSR sinkt dabei logarithmisch mit der Pumpenergie ab, allerdings lässt sich ein direkter Zusammenhang zwischen Zentralwellenlänge des Maximums der NSR und der Faserlänge nicht erkennen.

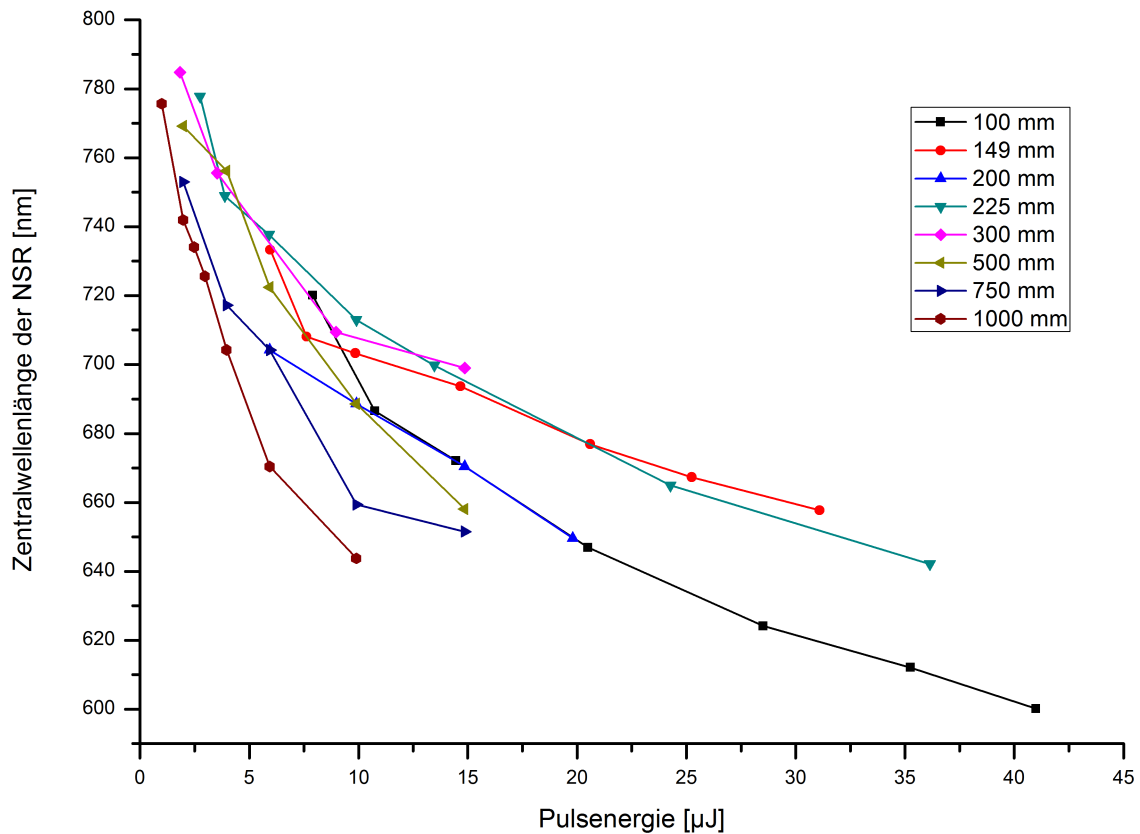


ABBILDUNG 4.7.: Zentralwellenlänge der nichtsolitonischen Strahlung in Abhängigkeit der Faserlänge und der Pulsenergie. Die Zentralwellenlänge verschiebt sich mit ansteigender Pulsenergie ins Kurzwellige, ein direkter Zusammenhang zwischen Zentralwellenlängen und der Faserlänge lässt sich nicht erkennen.

Die Halbwertsbreite der nichtsolitonischen Strahlung (Abbildung 4.8) zeigt zwei Dinge: Für kurze Faserlängen bis 300 mm nimmt die Breite bis auf 50 - 60 nm für gemittelte Pumpleistungen von ca. 100 mW bzw. Pulsenergien von ca. 100 nJ zu, oberhalb dieser Werte erfolgt jedoch nur eine marginale Verbreiterung. Für größere Faserlängen ab 500 mm erreichen die Halbwertsbreiten der NSR Werte von bis zu 110 nm, allerdings unter Ausbildung von zwei Maxima der Nichtsolitonischen Strahlung.

4.2.3. Polarisationsabhängigkeit

Weiter wurde die Polarisationsabhängigkeit der erzeugten spektralen Verbreiterung untersucht. Durch Rotation des $\lambda/2$ -Plättchen wurde die Polarisationsausrichtung des linear polarisierten Lasers im Bereich von 0° bis 360° in Schritten von 20° vorgenommen. Die erzeugten Spektren zeigen keine erkennbare Abhängigkeit der spektralen Breite und Form von der Polarisationsrichtung des einge-

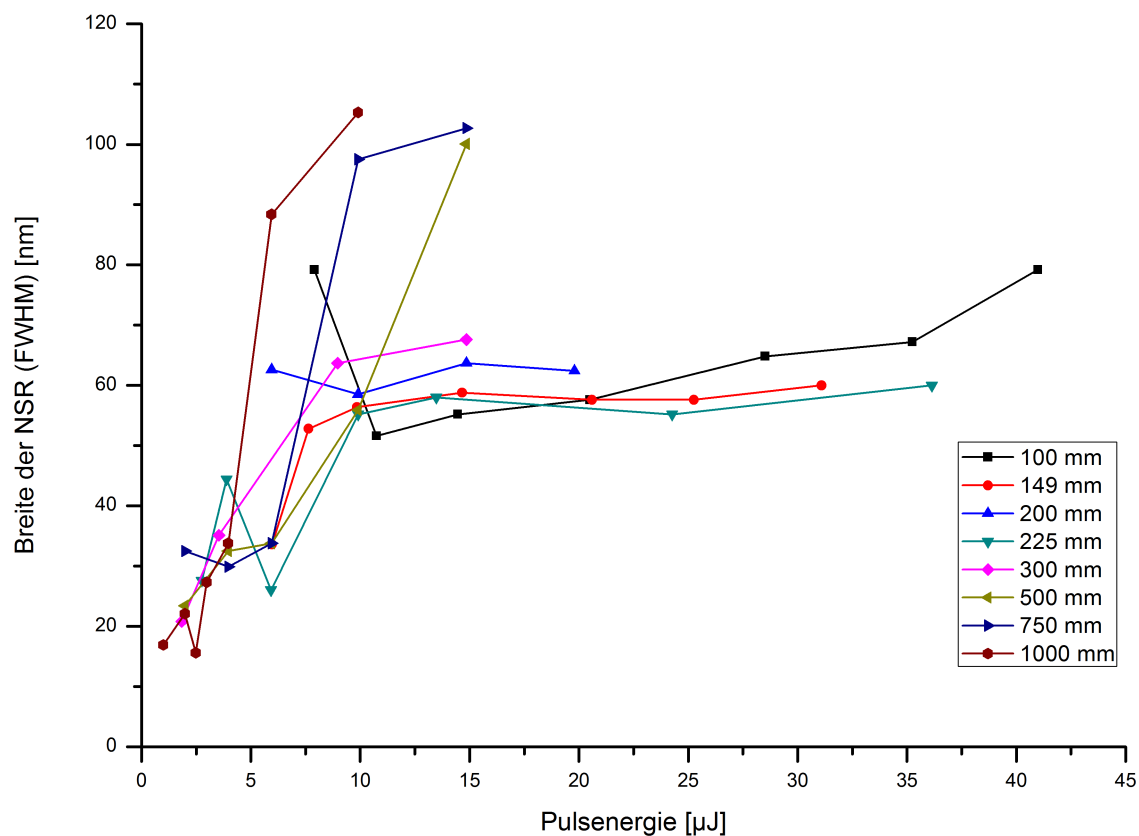


ABBILDUNG 4.8.: Breite der nichtsolitonischen Strahlung (FWHM) in Abhängigkeit der Faserlänge und der Pulsenergie. Für Faserlängen bis 300 mm ist die Breite eines jeweils einzelnen Maximums angegeben, für Faserlängen ab 500 mm ergeben sich zwei voneinander getrennte Maxima der NSR, die Breite ist in beiden Fällen für einen Abfall um 3 dB angegeben.

koppelten Lichtes (siehe Abbildung 4.9). Eine Abhängigkeit von der hexagonalen Kapillarstruktur der photonischen Kristallfaser ist nicht erkennbar, ebenso wenig eine Abhängigkeit von spannungsinduzierter Doppelbrechung verursacht durch die Klemmung der Faser.

4.2.4. Überkopplung der verbreiterten Spektren

Bedingt durch das weite singlemodige Übertragungsverhalten der photonischen Kristallfasern ergibt sich, dass der Modenfelddurchmesser über die Wellenlänge nahezu konstant bleibt, wohingegen die Numerische Apertur mit der Wellenlänge ansteigt. Der Verlauf ist in Abbildung 4.10 exemplarisch für die Faser photonische Kristallfaser LMA-5 dargestellt. Bei dieser Faser handelt es sich um eine engl. *large mode area fibre*, die Verläufe sind für beide Fasertypen gleichermaßen charakteristisch. Für die verwendete Faser NL-3,2-945 sind die Werte für die Wellenlänge $\lambda = 1060 \text{ nm}$ in Tab. 4.1 abgebildet. Aus dieser wellenlängenabhängigen Dispersion resultiert eine starke chromatische Abbe-

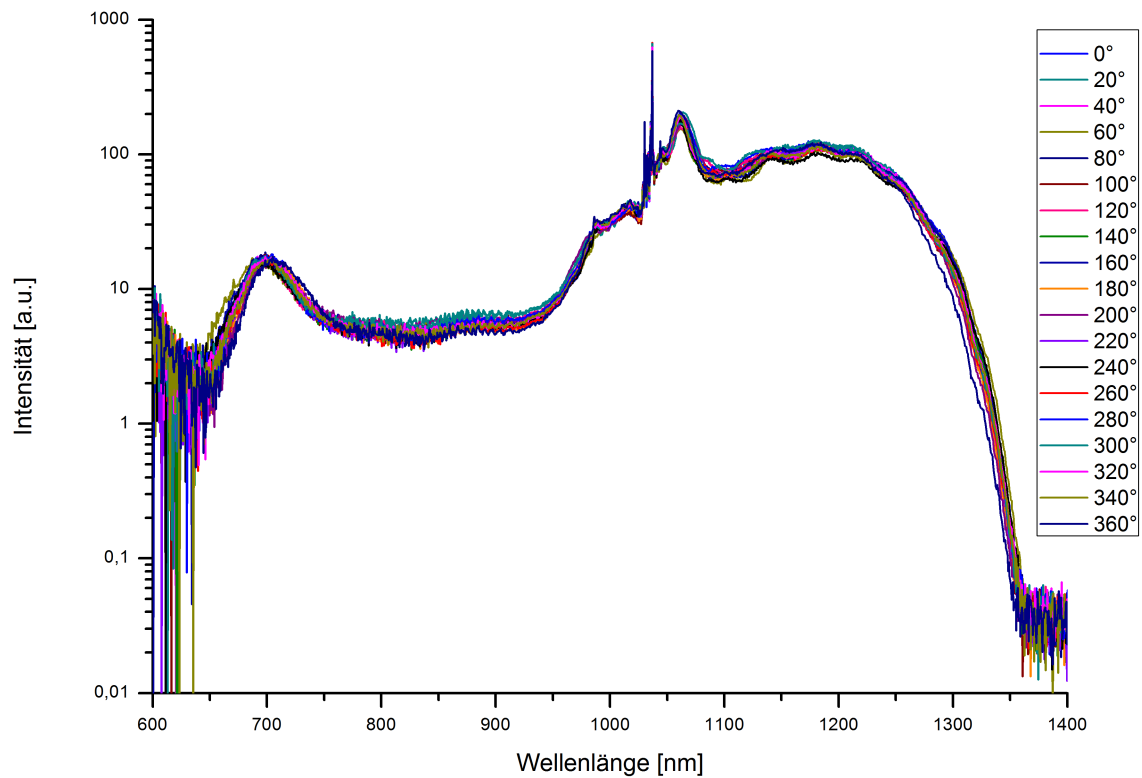


ABBILDUNG 4.9.: Spektrale Verbreiterung mittels PCF in Abhängigkeit der Polarisationsrichtung eines linear polarisierten Pumplasers. Ein signifikanter Einfluss hinsichtlich spektraler Breite und Form lässt sich nicht erkennen.

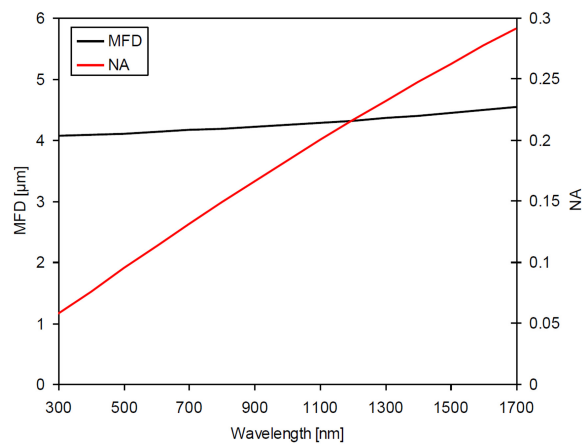


ABBILDUNG 4.10.: Verlauf der Numerischen Apertur (NA) und des Modenfelddurchmessers (MFD) beispielhaft für die optische Faser LMA-5 von Crystal fibre. [NKT]

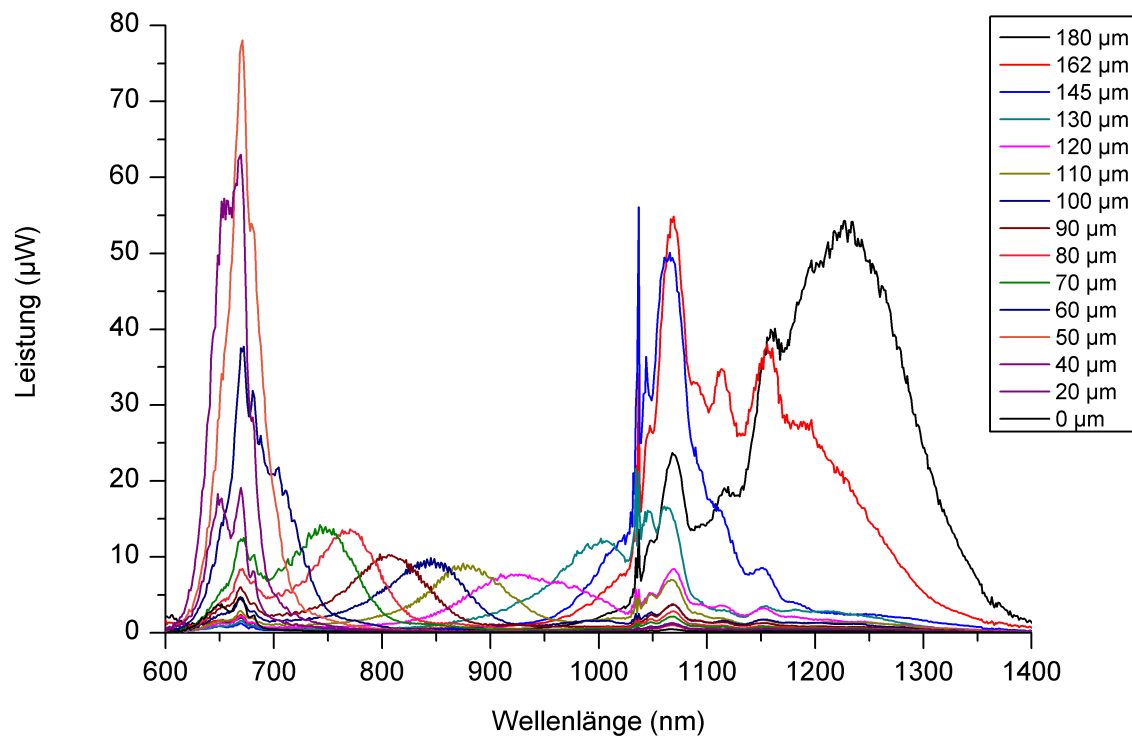


ABBILDUNG 4.11.: Überkopplung der verbreiterten Spektren infolge der chromatischen Abberation der verwendeten Linsenpaarung. Die Spektren werden unvollständig, d.h. nur als verschmälerte spektrale Bereiche, übertragen.

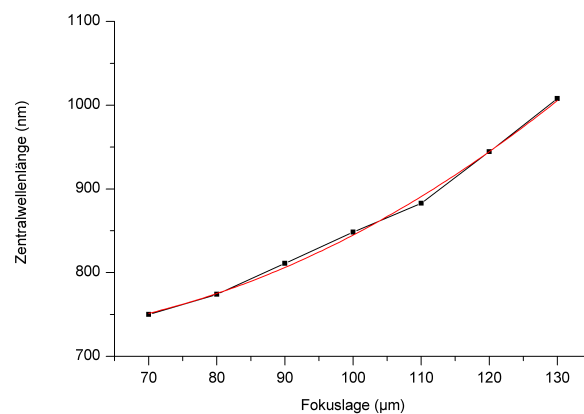


ABBILDUNG 4.12.: Chromatische Abberation der verwendeten Linsenpaarung sowie deren Fit mit einer quadratischen Funktion.

ration, insofern keine Korrektur dafür vorgesehen wird (Abbildung 4.11 und 4.12). Werden hingegen chromatisch korrigierte Objektive verwendet, so kann die chromatische Abberation auf ein geringes Maß reduziert werden (siehe Abb. 4.13). Die Methode der Bestimmung der Steigung der chromatischen Abberation kann für ein gleichförmiges oder einen gleichförmigen Ausschnitt eines Spektrums angewandt werden. Für ein nicht gleichförmiges Spektrum ist sie hingegen nicht sinnvoll anwendbar, so dass hierfür keine Aussage über die Restgröße der chromatischen Abberation getroffen werden kann.

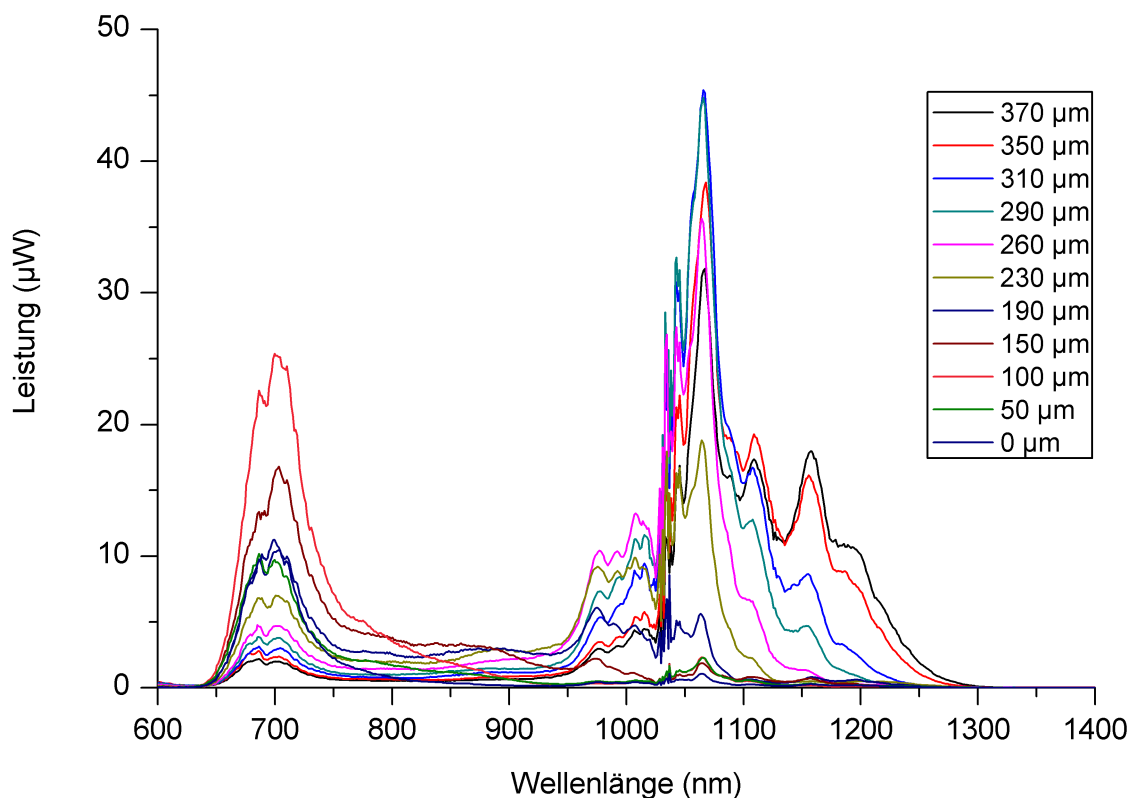


ABBILDUNG 4.13.: Überkopplung der verbreiterten Spektren unter Verwendung der Paarung aus Mikroskopobjektiven. Eine signifikante chromatische Abberation ist nicht erkennbar für den zu übertragenden Bereich von $\approx 100 \text{ nm}$ spektraler Breite.

4.3. Fazit zur spektralen Verbreiterung

Die spektrale Verbreiterung konnte erfolgreich an der PCF NL-3.2-945 demonstriert werden, der Schwerpunkt der Betrachtung wurde hierbei insbesondere auf die Erzeugung der nichtsolitonischen Strahlung im kurzwelligen Spektralbereich gelegt. Dabei wurden besonders die Breite und die Zentralwellenlänge der nichtsolitonischen Strahlung in Abhängigkeit von der Faserlänge und der Pulsenergie betrachtet.

Für Faserlängen im Bereich bis 300 mm konnte nichtsolitonische Strahlung mit einem stark gaussähnlichen Intensitätsprofil generiert werden. Bezüglich der Abhängigkeit von den Pulsenergien zeigt sich eine negativ logarithmische Entwicklung der Zentralwellenlänge der nichtsolitonischen Strahlung mit ansteigender Pulsenergie. Die Breite der NSR steigt für Faserlängen bis 300 mm und Pulsenergien von $10 \mu J$ rasch an, für größere Energien stagniert die spektrale Breite bei ca. 60 nm. Eine Abhängigkeit von der Faserlänge lässt sich nicht klar erkennen.

Für Faserlängen größer 500 nm zeigt sich ebenfalls ein rascher Anstieg der Breite des Spektrums auf bis zu 110 nm für Energien bis $15 \mu J$. Die Breiten wurden als Halbwertsbreiten bestimmt (FWHM), wobei es zur Ausprägung von zwei überlagerten gaussähnlichen Intensitätsprofilen kam. Größere Energien wurden jedoch nicht eingekoppelt. Entgegen den kurzen Faserlängen kann man hier eine Tendenz des Einflusses der Faserlänge über die spektrale Breite und gleichzeitig ansteigende Pulsenergie erkennen.

Die Verwendung von Faserlängen bis 300 mm und Pulsenergien größer $10 \mu J$ ermöglicht eine spektrale Breite der nichtsolitonischen Strahlung von circa 60 nm, die Breite ist dabei von der Faserlänge nahezu entkoppelt. Die Zentralwellenlänge dagegen zeigt keine Abweichung von der logarithmischen Entwicklung über die Pulsenergie. So kann die Lage der Zentralwellenlänge nach der initialen Auswahl der Faserlänge durch die Pulsenergie beeinflusst werden. Inwieweit sich dies auf die Faserlängen > 500 mm übertragen lässt, muss in weiteren Experimenten untersucht werden.

Die erzielten spektralen Breiten für Faserlängen bis 300 mm liegen somit in der gleichen Größenordnung wie die spektrale Breite von kommerziell erhältlichen Superluminiszenzdioden. Die Zentralwellenlängen der erzielten nichtsolitonischen Strahlungsmaxima befindet sich jedoch unterhalb der Zentralwellenlängen der OCT-Systeme von 830 bzw. 930 nm.

Durch den Einsatz von Photonischen Kristallfasern mit Nulldispersionswellenlängen dichter an der Pumpwellenlänge des Lasersystems könnten hier zu einer geringeren gesamten spektralen Breite und damit zu einer geringeren Verschiebung der Nichtsolitonischen Strahlung ins Kurzwellige führen.

Für den Einsatz der PCF als Lichtquelle für die OCT sind noch die technischen Probleme durch die spektrale Breite bzw. die optischen Eigenschaften der Photonischen Kristallfasern zu meistern. Gegenüber Standard-Singlemode-Fasern weisen die PCF einen kleineren Modenfelddurchmesser auf, besitzen jedoch eine größere wellenlängenabhängige Numerische Apertur. Direkte Faserschmelzverbindungen (engl. *splices*) zwischen PCF und Singlemode-Fasern weisen daher aufgrund der geringen Überdeckung der optischen Parameter hohe Verluste auf. Bei der Freistrahlabbildung aus der PCF in die SM-Faser mit Linsen muss die starke chromatische Abberation beachtet werden, welche aus der wellenlängenabhängigen NA der PCF resultiert. Asphären und Achromate weisen im Vergleich zu Mikroskopobjektiven ggf. keine ausreichende chromatische Korrektur auf.

Die offene Struktur der PCF ist gegenüber angreifenden Querkräften sehr empfindlich. Ähnlich den polarisationserhaltenden Singlemode-Fasern könnte durch spannungsinduzierte Doppelbrechung ein polarisationsempfindliches Verhalten verursacht werden. Im Rahmen der durchgeführten Versuche konnte dies vollständig unterdrückt werden. Bei Verwendung einer polarisierten Strahlquelle besteht die Möglichkeit, in weiteren Versuchen einen weiteren Freiheitsgrad für die spektrale Verbreiterung zu untersuchen. Die hier durchgeführte Evaluation nutzt den Zerfall von Solitonen höherer Ordnungen aus, wodurch sowohl ein langwelliger als auch ein kurzwelliger Anteil durch die Phasenanpassung hervorgerufen wird. Dieser Solitonenzerfall hat den Nachteil, daß der Großteil der Pulsenergie in den langwelligen Spektralanteil durch den Zerfall ins nächstniedrige Fundamentalsoliton übergeht. Gelingt es dagegen, Solitonen mit einer Ordnung $1 < N < 2$ zu nutzen, so entsteht kein langwelliger Anteil. Der kurzwellige nichtsolitonische Anteil bleibt durch die Phasenanpassung des Solitonenzerfalls in die Ordnung $N = 1$ erhalten [Hus01]. Dieser Ansatz könnte für das Konzept des „Sehenden Skalpells“ sehr lohnend sein, da hier das Eingangsspektrum nahezu unverändert bleibt und zusätzlich ein kurzwelliger Spektralanteil erzeugt wird. Inwieweit hiermit die gleichzeitige Nutzung als Lichtquelle für die OCT und die Photodisruption möglich ist, muss noch untersucht werden.

5. Mikrotomie

Die Mikrotomie ist ein Verfahren zur Herstellung von dünnen Schnitten zur lichtmikroskopischen Untersuchung. Die klassische Herstellung dieser sog. Dünnschnitte erfolgt durch mechanisches Abschneiden von Probenschichten mit einer Dicke von wenigen Mikrometern. Dazu wird die Probe zuerst durch eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert und anschliessend in Paraffin eingebettet. Dieser Prozess kann von Stunden bis wenige Tage in Anspruch nehmen. Die so präparierte Probe wird mit einem Mikrotom, d.h. einem hochfrequent schwingenden mechanischem Messer, in die Dünnschnitte zerteilt.

Das fs-Laserbasierte Mikrotom kann die Proben hingegen im nativen Zustand aufbereiten [Wil07], d.h. die Präparation entfällt. Dazu wird die native Probe auf einem Träger platziert, welche als Referenz für die Schnittführung dient. Um jedoch die Schnitte an der Probenstruktur orientieren zu können, ist die Integration einer Bildgebung notwendig.

5.1. Aufbau des fs-Laserbasierten Mikrotoms

Im Folgenden werden der optomechanische Aufbau sowie die Synchronisation der elektrischen Komponenten des Mikrotoms beschrieben.

5.1.1. Optomechanischer Aufbau

Der Aufbau des fs-Laserbasierten Mikrotoms (Abb. 5.1) setzt sich aus den Strahlengängen des fs-Lasers, des Interferometers für die OCT und der Kamerabildgebung sowie der Ansteuerung der einzelnen Komponenten zusammen.

Der Strahl des fs-Lasers T-PULSE 200 von AMPLITUDE SYSTEMES, Pessac (Frankreich) (siehe Tab. 2.1) wird vor der Einkopplung in das optische System aufgeweitet (nicht eingezeichnet) und über einen Polygonscanner in einer Richtung gescannt. Über ein kundenspezifisches Objektiv wird der Strahl von unten in die Probe fokussiert, die Probe liegt hierbei auf einem Objektträger mit einer

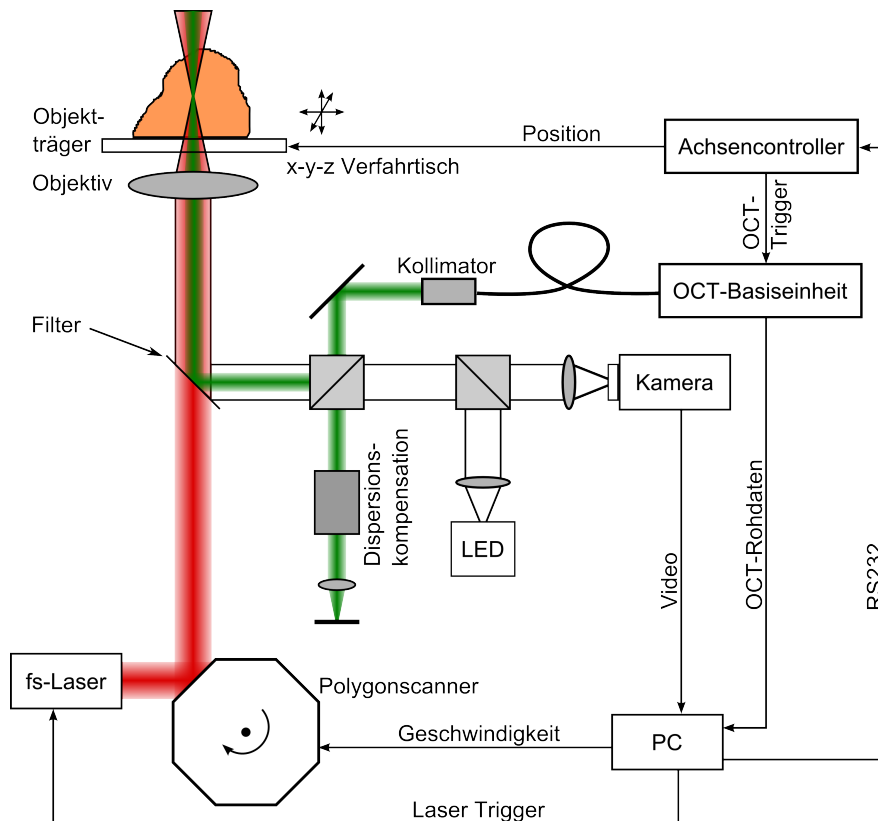


ABBILDUNG 5.1.: Schematische Skizze des Aufbaus für die fs-Laserbasierte Mikrotomie. Der Strahlengang des fs-Lasers ist in rot dargestellt, der OCT-Strahlengang in grün. Der Kamerastrahlengang ist durch schwarze Linien an seinen Randstrahlen eingefasst. Die Farben sind willkürlich gewählt, alle Wellenlängen liegen im roten und nahinfraroten Spektralbereich. Der fs-Laser wird mittels Polygonspiegel über die Probe in einer Richtung gescannt, die Probe kann zusätzlich in allen drei Raumrichtungen verfahren werden. Für die OCT-Bildgebung wird ausschließlich die Probe verfahren. Die OCT-Basiseinheit beinhaltet u.a. SLD, Spektrometer und Strahlteiler.

Dicke von 1 mm. Das Bildfeld des Objektivs und somit die maximale Länge der Scanlinie beträgt $890 \mu\text{m}$. Um flächige Schnitte in die Probe einbringen zu können, wird diese mit einem 2-Achs-Verfahrtisch in lateraler sowie durch eine Achse in axialer Richtung zusätzlich verfahren (Parameter siehe Anhang B). Bedingt durch die Apertur des X-Y-Achsensystems ergibt sich eine maximale Schnittfläche von $14 \times 14 \text{ mm}^2$. Somit können beliebige dreidimensionale flächige Schnitte appliziert werden. Zwischen Pyramidalscanner und Objektiv wurde die OCT-Bildgebung in den bereits existierenden fs-Laseraufbau [Rip07] integriert.

Die OCT-Basiseinheit 930SR der Firma THORLABS HL, Lübeck, beinhaltet eine SLD als Lichtquelle, einen Faserschmelzkoppler sowie ein Spektrometer. Das Licht propagiert von der SLD durch den Faserkoppler und eine externe optische Singlemode-Faser, bevor es am Kollimator 60FC-4-A3,1-02 von SCHÄFTER & KIRCHHOFF, Hamburg auf einen frei propagierenden Strahl mit einer

Apertur von $0,56\text{ mm}$ kollimiert wird. Am Hybrid-Strahlteiler G335525000 von LINOS, Göttingen, teilt sich der Strahl in einem Verhältnis von je 50% in den Referenz- und Probenarm auf. Der Referenzarm durchläuft Glassubstrate zur Dispersionskompensation und wird im Reflektormodul von THORLABS HL, Lübeck, reflektiert. Der Probenarmstrahl wird über einen kundenspezifischen Filter 107470 (Seite 1: unbeschichtet, Reflektivität der P-Polarisation: $0,6\%$; Seite 2: Reflektivität der P-Polarisation: $< 2\%$ ($1020\text{-}1040\text{ nm}$) bzw. $> 99,0\%$ ($870\text{-}990\text{ nm}$), Reflektivität der S-Polarisation: $> 99,9\%$ ($870\text{-}990\text{ nm}$), alle Werte für einen Winkel von $45 \pm 2^\circ$) durch das Objektiv in die Probe mit einer Numerischen Apertur von $0,15$ fokussiert. Das zurückgestreute Licht aus Proben- bzw. Referenzarm interferiert am Strahlteiler und wird mit dem Spektrometer aus der OCT-Basiseinheit detektiert.

Für das vorhandene Objektiv wird eine Gruppengeschwindigkeitsdispersion von $3,0823 \cdot 10^{-3} \frac{\text{ps}}{\text{nm}}$ angegeben, als Ausgleich wird hierfür eine Dispersionskompensation in Form eines Substrats SF10 mit einer Dicke von $22,2\text{ mm}$ sowie ein Prismenpaar NT47-244 von EDMUND OPTICS, Karlsruhe, (Substrat: N-SF11, berechnete Dicke: 12 mm) in den Referenzarm eingebracht.

Zur Probenbeleuchtung für die Kamerabildgebung wird eine LED mit einer Wellenlänge von 840 nm eingesetzt. Das emittierte Licht wird mit einer Asphäre kollimiert und propagiert über den Strahlteiler kollinear mit dem Strahlengang des OCT-Probenarmes. Das rückgestreute Licht wird mittels einer Linse mit einer Brennweite von 60 mm auf eine CCD-Kamera abgebildet. Das resultierende Bildfeld beträgt $435\ \mu\text{m} \times 320\ \mu\text{m}$. Die Steuerung der Schnittführung sowie der Bildgebung wird durch einen PC übernommen. Die Programmierung beider Teilsysteme wurde in Labview umgesetzt.

5.1.2. Synchronisation der elektrischen Komponenten

Der PC fungiert als zentrale Einheit, der die Ansteuerung der weiteren Komponenten sowie die Auswertung der OCT-Daten übernimmt. Zur Ansteuerung der Verfahrachsen werden die notwendigen Unterprogramme auf einen Achsencontroller übertragen und die OCT-Datenerfassung auf Aufnahmebereitschaft gestellt. Die zeitliche Aufnahmesteuerung der einzelnen B-Scans erfolgt durch den Achsencontroller. Der Scan erfolgt durch Verfahrung der Probe bei konstanter Bewegungsgeschwindigkeit, hierzu wird vor dem eigentlichen Messbereich eine Beschleunigungsstrecke hinzugefügt. Die OCT-Daten werden vom PC gemäß Kapitel 3.8 verarbeitet. Bei Aufnahme von volumetrischen Datensätzen werden wiederholt zueinander lateral versetzte B-Scans aufgenommen. Die zeitliche Ansteuerung ist in Abbildung 5.2 dargestellt. Zu Beginn der Erfassung von 2D- oder 3D-Datensätzen (Zeitpunkt A) werden A-Scans als Weißabgleich erfasst. Hierzu wird die Probe entlang der z-Achse

soweit verfahren, dass die aus dem Probenarm reflektierte Intensität vernachlässigbar gering gegenüber der des Referenzarmes ist. Dieses Verfahren kann angewandt werden, da die Rayleigh-Länge des OCT-Strahls ausreichend kurz und somit der Strahl nach dem Fokus stark divergent ist. Anschliessend wird zu jedem Triggersignal ein A-Scan innerhalb der Zeitpunkte B bis C erfasst. Das Triggersignal hat dabei ein feste Frequenz von 1 kHz, die Anzahl der Zeilen pro B-Scan ist daher abhängig von der Verfahrensgeschwindigkeit und der Strecke. Die erfassten Zeilen werden einzeln an den PC übermittelt und dort zu einem B-Scan zum Zeitpunkt D zusammengefasst und prozessiert.

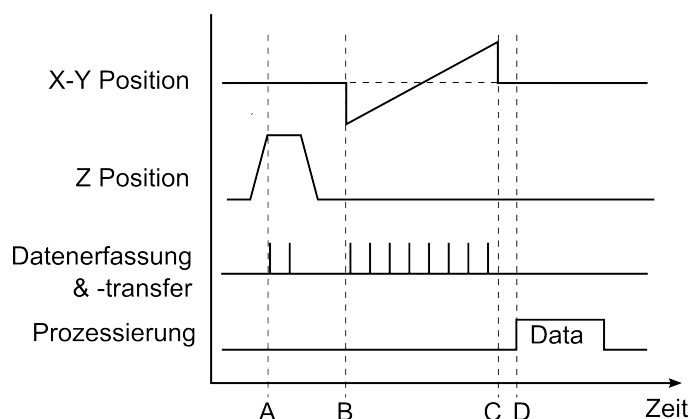


ABBILDUNG 5.2.: Zeitliches Ablaufschema des fs-Laser-Mikrotoms. Die X-Y-Positionierung wird zur Erfassung der A-Scans verwendet, während die Z-Positionierung der Erfassung des Weißabgleichs dient. Hierzu wird zu Beginn der Erfassung eines Datensatzes die Probe durch Verfahrnung der Z-Achse aus dem Rayleighbereich verfahren. Die Darstellung ist entlang der Zeitachse verzerrt.

5.2. Systemcharakterisierung

Die Fokussierung des fs-Lasers als auch des OCT-Strahls wurden nach dem Knife-Edge-Verfahren [Sie91] bestimmt. Danach ergibt sich ein minimaler Strahltaillenradius von $1,08 \mu\text{m}$ für den fs-Laser ($\lambda = 1030 \text{ nm}$) bzw. von $1,77 \mu\text{m}$ für den OCT-Strahl ($\lambda = 930 \text{ nm}$). Die Numerischen Aperturen betragen 0,6 für den fs-Laser und 0,15 für die OCT. Eine geringere Numerische Apertur lässt sich für die OCT nicht erzielen, da diese durch die Divergenz der Strahlauskopplung und die optische Wegstrecke zwischen Kollimator und Objektiv begrenzt ist. Die daraus resultierende Rayleighlänge beträgt somit $16,2 \mu\text{m}$, wodurch die Bildgebungstiefe nicht vollständig innerhalb des konfokalen Parameters liegt.

Das eingesetzte OCT-System verwendet die Skalierung nach $10 \cdot \log$, die axiale Auflösung wurde daher bei der Halbwertsbreite (-3 dB) zu $7,29 \mu\text{m}$ bestimmt. Die maximale Sensitivität beträgt 53 dB, der Abfall des Signal-Rausch-Verhältnisses ist in Abbildung 5.4 aufgetragen. Über die eine Messtiefe

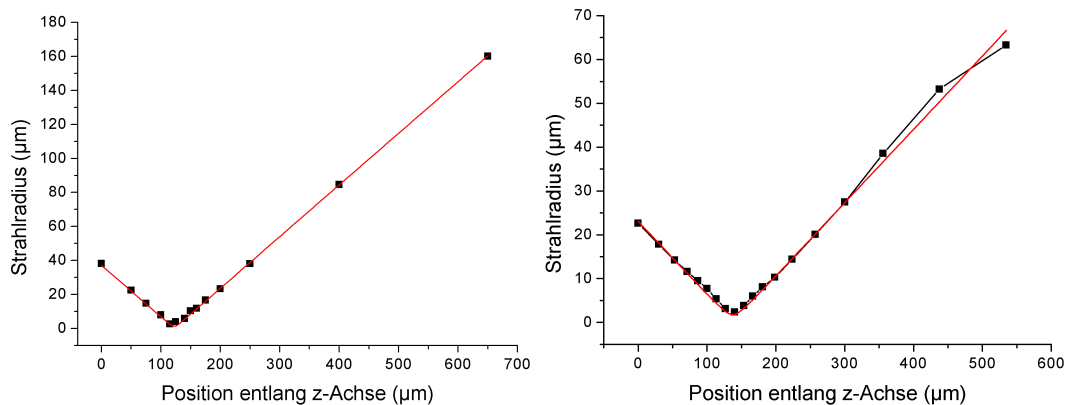


ABBILDUNG 5.3.: Strahlpropagationsverlauf des fs-Lasers (links) und des OCT-Strahls (rechts) des Mikrotoms. Die z-Achsen sind nicht gegeneinander referenziert.

von 1 mm beträgt dieser 21 dB. Allerdings überwiegt die hohe Numerische Apertur und somit die Defokussierung des OCT-Strahls den Signalverlust über die Messtiefe und begrenzt diesen auf etwa 500 µm.

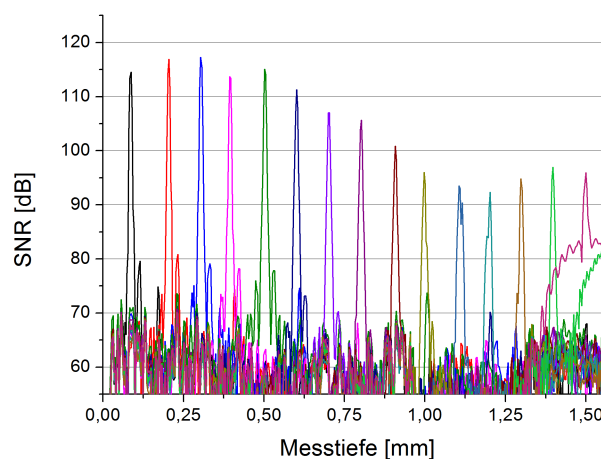


ABBILDUNG 5.4.: Abfall des Signal-Rausch-Abstandes des OCT-Systems THORLABS HL 930SR. Der SNR-Abfall über die Messtiefe von 1 mm beträgt 21 dB. Der Signalabfall aufgrund der hohen numerischen Apertur und somit der Defokussierung des OCT-Strahls überwiegt jedoch den SNR-Abfall und begrenzt die Bildgebungstiefe auf etwa 500 µm.

5.3. Positionreferenzierung

Da das Mikrotomiesystem zum Erstellen von Dünnschnitten aus nativen Proben ausgelegt ist, werden mit dem Lasersystem vorrangig flächige Schnitte ausgeführt, sodass einer lateralen Referenzierung von fs-Laser- und OCT-Strahl eine untergeordnete Rolle zugeschrieben wird. Die axiale ist aufgrund

der gewünschte Präzision dagegen umso wichtiger. Dazu wird der Fokus des fs-Lasers oberhalb eines Objektträgers positioniert, welcher sich auf dem Verfahrssystem befindet. Durch die Verfahrnung der z-Achse wird der Träger an die Fokusposition angenähert, bis das Fokalvolumen die Grenzfläche von Luft und Glas des Objektträgers berührt, was durch Plasmaleuchten erkennbar ist. Die Positioniergenauigkeit beträgt hier $1 \mu\text{m}$, bedingt durch die Schrittweite des Verfahrssystems und das Fokolvolumen. Die Position der z-Achse gibt die relative Lage des Fokus an. Dies wird an verschiedenen Positionen des Objektträgers wiederholt, um eine Verkipfung des Trägers durch mechanische Justage ausgleichen zu können. Die Fokusslage des OCT-Systems wird nach der Justage durch Messung der rückgestreuten Intensität ebenfalls auf die Grenzfläche zwischen $100 \mu\text{m}$ (bei streuenden Proben) bis $200 \mu\text{m}$ (bei transparenten Proben) oberhalb des Objektträgers positioniert. Die Referenzarmlänge wird daraufhin so justiert, dass sich die Glasgrenzfläche und die Probe innerhalb des Bildbereichs befinden.

5.4. Schnitte in biologischen Proben

Die Proben von porciner Cornea und Stimmlippengewebe wurden adulten Schlachtschweinen entnommen und innerhalb von 3 bis 4 Stunden in den Experimenten eingesetzt. Für den Transport wurden sie in physiologischer Natriumchloridlösung gelagert. Pathologische Veränderungen an den Proben wie Eintrübungen konnten zum Zeitpunkt der Präparation nicht festgestellt werden [Hsi05]. Die Proben wurden mit einer ringförmigen Fixierung auf Objektträgern gehalten. Im Falle von Zahnproben wurden diese getrocknet, zerteilt, poliert und mit Cyanacrylat-Klebstoff auf Objektträgern fixiert.

In den nachfolgenden Proben wurde die OCT benutzt, um die Schnitttiefen für fs-Laser-Schnittgebung bezüglich der Gewebestruktur zu bestimmen. Die Dicke der epithelialen Gewebsschicht wurden hierzu unter Berücksichtigung der jeweiligen optischen Brechkraft bestimmt und die Schnitttiefe circa 30 % unterhalb der Dicke definiert. Insgesamt wurden in jede Probe drei Schnitte mit einer Länge von $500 \mu\text{m}$ und einer Breite von $890 \mu\text{m}$ eingebracht (siehe Abb. 5.5). Nach jedem Schnitt wird ein B-Scan erfasst, zusätzlich ein 3D Volumen nach dem 2. und nach dem 3. Schnitt.

Nach Applikation der Schnitte in Cornea-Gewebe werden die Cornea trepaniert, um die Bereiche für die histopathologische Präparation zu separieren. Die Cornea- und Stimmlippenproben werden nach erfolgtem Schnitt in Cacodylat gepufferter Paraformaldehyd (4 %)/ Glutaraldehyd (2.5 %) Lösung fixiert. Die Färbung der histopathologischen Schnitte erfolgt mit Hematoxylin und Eosin (HE-Färbung). Die Zahnproben werden als Dünnschliff präpariert und mit Toluidin-Blau angefärbt.

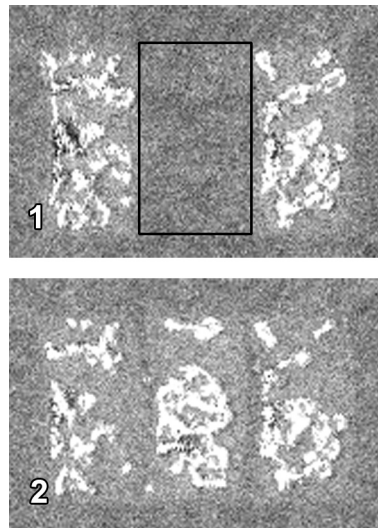


ABBILDUNG 5.5.: EnFace-Projektion der 3D-OCT-Daten von Schnitten in Porciner Cornea. Die Abb. 1 zeigt die zwei zuerst eingebrachten Schnitte, diese sind durch die verbleibenden akkumulierten Gasblasen sowie die leicht erhöhte Streuung erkennbar. Der schwarze Kasten zeigt die Zielfläche des nachträglich einzubringenden Schnittes an, welcher in Abb. 2 erkennbar ist.

5.4.1. Porcine Cornea

Die Proben von porciner Cornea sind hochgradig transparent und wurden bei Pulsenergien von 93 nJ und einem Puls- bzw. Linienüberlapp von 75% bzw. 30% geschnitten. Die Dicke der epithelialen Schicht wurde mittels OCT zu $102 \mu\text{m}$ gemessen, die Schnitttiefe daher zu $130 \mu\text{m}$ gewählt.

Die native Probe und die darin eingebrachten Schitte sind in den OCT-Aufnahmen in Abbildung 5.6 dargestellt, ebenso eine zum Vergleich angefertigte histopathologische Präparation. Die Grenzfläche zwischen Objektträger, auf dem die Probe platziert war, und dem Epithel der Probe selbst ist als oberste Linie (**G** in Abb. 5.6) erkennbar, darunter folgt die Grenzfläche zwischen Epithel (**E**) und Stroma (**S**). Die Schnitte sind hierin als streuende Schicht erkennbar, welche unterbrochen ist von akkumulierten Gasblasen. Die kollabierten Schnittbereiche sind gekennzeichnet durch Pfeile.

5.4.2. Porciner Larynx

Porcines Stimmlippengewebe wurde zur Demonstration der Schnittgebung in streuenden biologischen Proben genutzt. Appliziert wurden Pulsenergien von 130 nJ und Puls- bzw. Linienüberlapp von 75% und 40% . Die Schnitte wurden $10 \mu\text{m}$ unterhalb der epithelialen Schicht appliziert, deren Dicke mittels OCT zu $35 \mu\text{m}$ gemessen wurde.

Die native Probe und die darin eingebrachten Schitte sind in den OCT-Aufnahmen in Abbildung 5.7 dargestellt, ebenso eine zum Vergleich angefertigte histopathologische Präparation. Die Grenz-

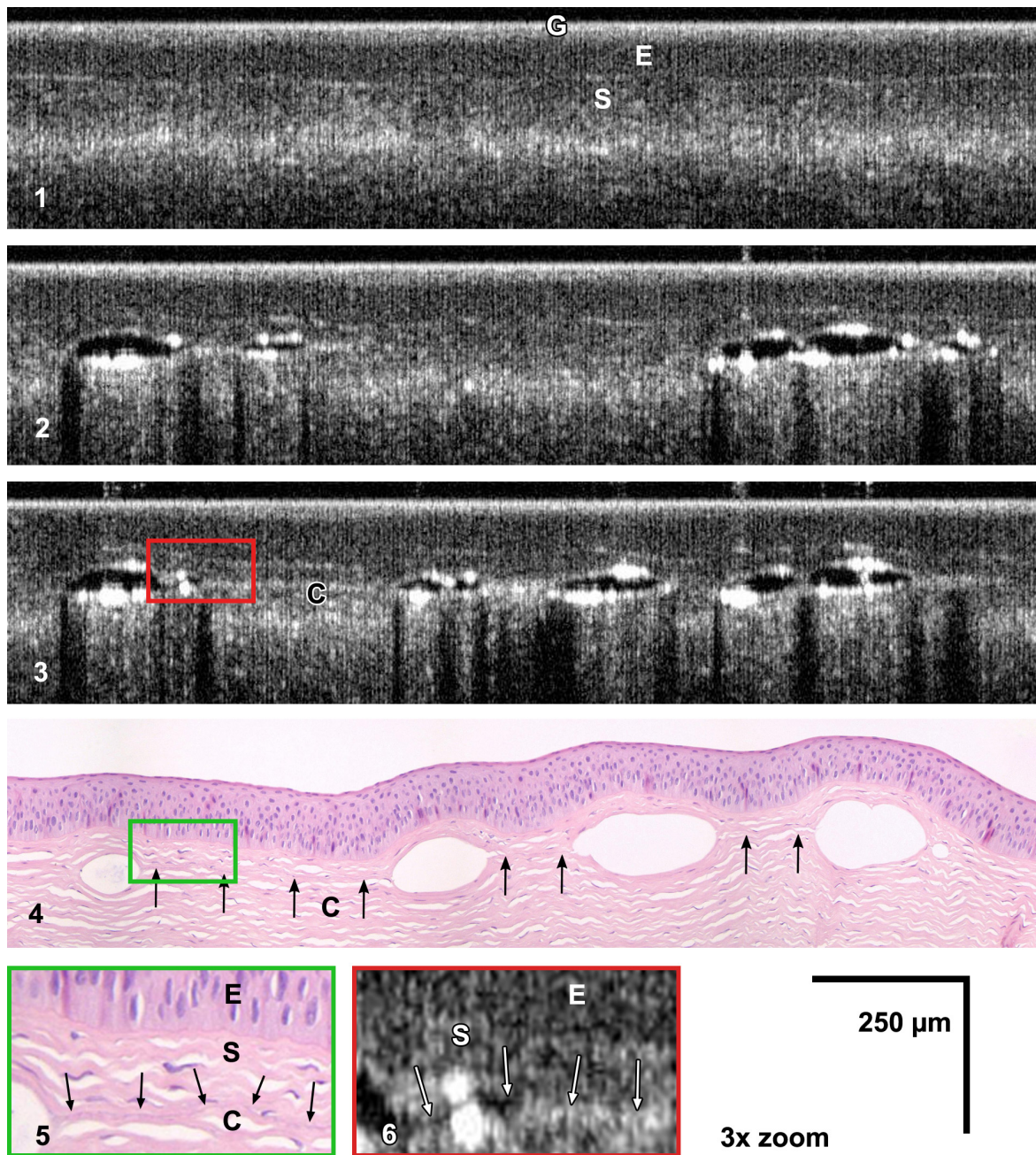


ABBILDUNG 5.6.: OCT-Aufnahmen (1-3, 6) und histopathologische Präparation (4, 5) von Schnitten in porciner Cornea. Die Abb. 1 zeigt die native Probe, die Abb. 2 und 3 die eingebrachten und anhand der Abb. 1 ausgerichteten Schnitte. Die Abb. 4 zeigt die zugehörige histopathologische Präparation des gesamten Schnittes. Die Abb. 5 und 6 zeigen Detailvergrößerungen der Schnitte aus den Bildern 3 und 4. Die Schnitte sind u.a. durch Pfeile gekennzeichnet. In den Bildern bedeuten: G: Grenzfläche Glausträger - Probe, E: Epithel, S: Stroma, C: Schnitt.

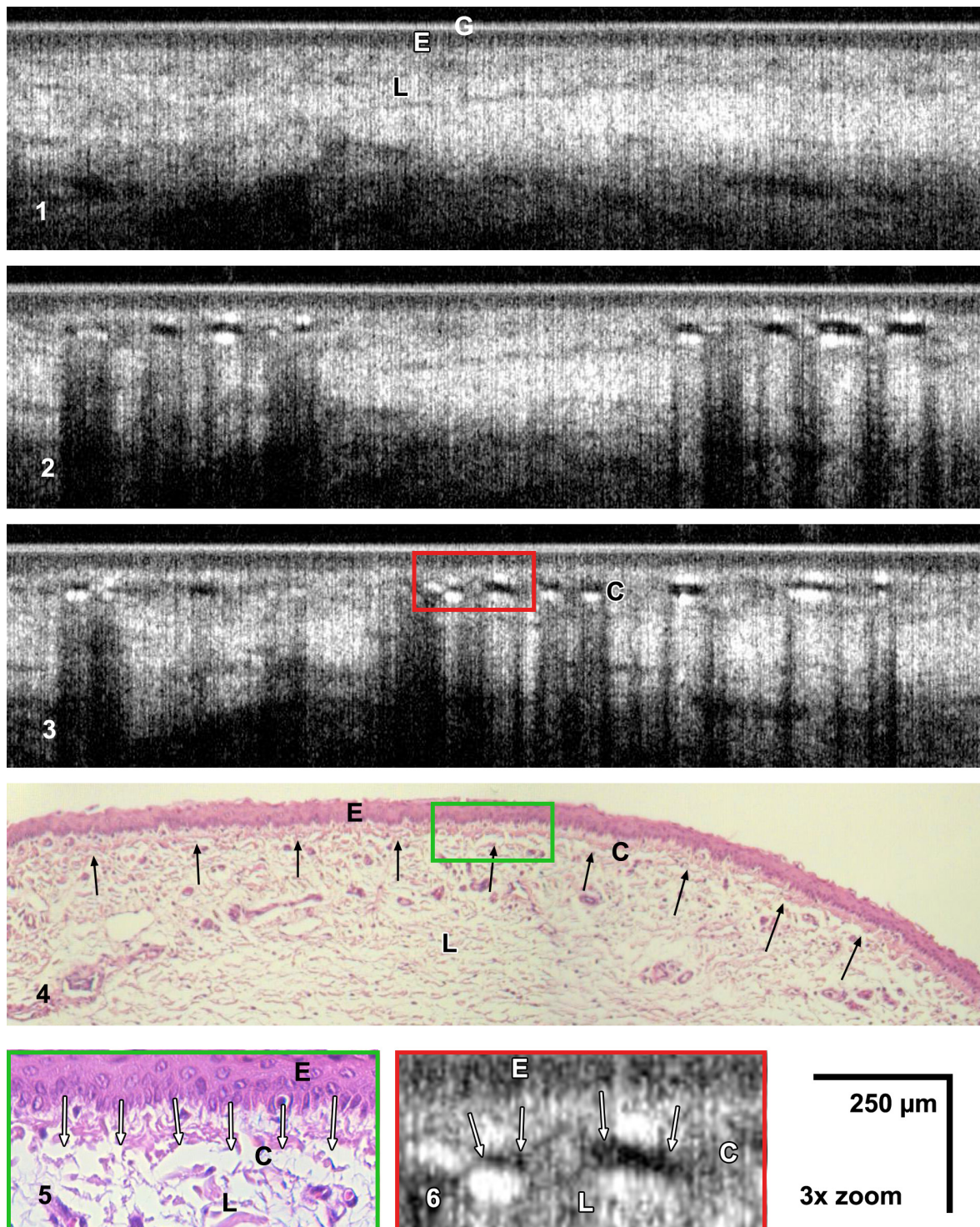


ABBILDUNG 5.7.: OCT-Aufnahmen (1-3, 6) und histopathologische Präparation (4, 5) von Schnitten in Porcinem Stimmlippengewebe. Die Abb. 1 zeigt die native Probe, die Abb. 2 und 3 die eingebrachten und anhand der Abb. 1 ausgerichteten Schnitte. Die Abb. 4 zeigt die zugehörige histopathologische Präparation des gesamten Schnittes. Die Abb. 5 und 6 zeigen Detailvergrößerungen der Schnitte aus den Bildern 3 und 4. Die Schnitte sind u.a. durch Pfeile gekennzeichnet. In den Bildern bedeuten: G: Grenzfläche Glasträger - Probe, E: Epithel, L: Lamina propria, C: Schnitt.

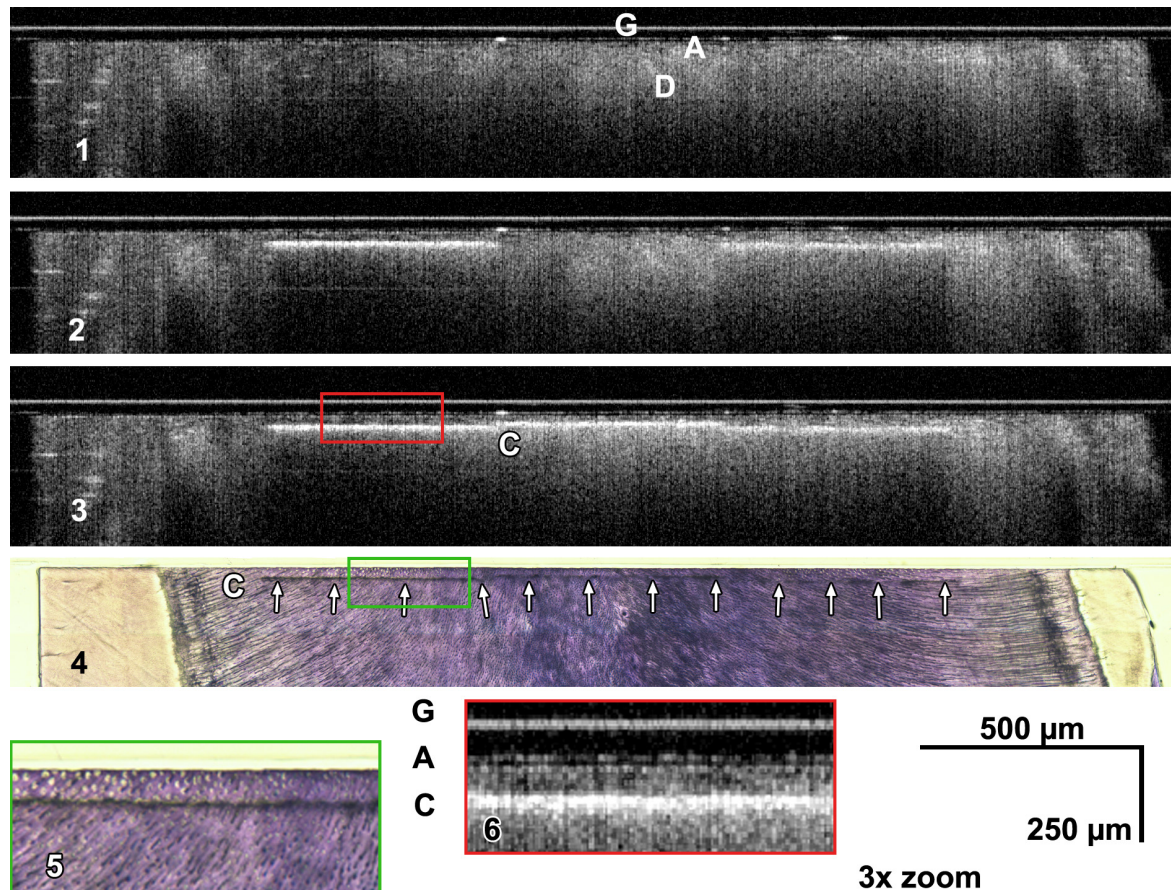


ABBILDUNG 5.8.: OCT-Aufnahmen (1-3, 6) und histopathologische Präparation (4, 5) von Schnitten in Humanem Zahn. Die Abb. 1 zeigt die native Probe, die Abb. 2 und 3 die eingebrachten und anhand der Abb. 1 ausgerichteten Schnitte. Die Abb. 4 zeigt die zugehörige histopathologische Präparation des gesamten Schnittes. Die Abb. 5 und 6 zeigen Detailvergrößerungen der Schnitte aus den Bildern 3 und 4. Die Schnitte sind u.a. durch Pfeile gekennzeichnet. In den Bildern bedeuten: G: Grenzfläche Glasträger - Probe, A: Klebeschicht, D: Dentin, C: Schnitt.

fläche zwischen Objektträger, auf dem die Probe platziert war, und dem Epithel der Probe selbst ist als oberste Linie erkennbar, darunter folgt die Grenzfläche zwischen Epithel und Lamina propria. Die eingebrachten Schnitte sind als Schicht kleiner verbleibender Gasblasen erkennbar sowie als Bereiche mit reduzierter Streuung. Die Abbildung 5.7.4 zeigt den Schnitt in der zugehörigen histopathologischen Präparation, welche anhand der Probenstruktur ausgerichtet wurde. Der Schnitt ist hier durch zusätzliche schwarze Pfeile gekennzeichnet.

5.4.3. Humaner Zahn

Humane Zähne, als Probe für biologisches stark streuendes hartes Gewebe, wurde bei Pulsenergien von 100 nJ und einem Puls- bzw. Linienüberlapp von 55 % und 30 % geschnitten. Da bei dieser

Probe keine Epithelschicht vorhanden ist, wurde in einem Abstand von $23 \mu\text{m}$ unterhalb der Klebeschicht geschnitten. Diese dient der Fixierung der Probe auf dem Objektträger und wurde mittels OCT zu einer Dicke von $29 \mu\text{m}$ bestimmt. Die Schnitte wurden innerhalb des Dentins des Zahnes in einer Tiefe von $48 \mu\text{m}$ appliziert.

Die native Probe und die darin eingebrachten Schnitte sind in den OCT-Aufnahmen in Abbildung 5.8 dargestellt, ebenso eine zum Vergleich angefertigte histopathologische Präparation. Die Grenzfläche zwischen Objektträger, auf dem die Probe platziert war, und der Klebstoffschicht ist als oberste Linie erkennbar, darunter folgt die Grenzfläche zwischen Klebstoffschicht und Dentin. Die eingebrachten Schnitte sind als Bereiche mit erhöhter Streuung ohne Ausbildung von Blasen erkennbar. Die Abbildung 5.8.4 zeigt den Schnitt in der zugehörigen histopathologischen Präparation. Der Schnitt ist hier durch zusätzliche weiße Pfeile gekennzeichnet.

5.5. Fazit zur OCT-gestützten Mikrotomie

Im Rahmen der OCT-gestützten Mikrotomie konnte erfolgreich ein kommerzielles OCT-System in das bereits existierende fs-Laser-Mikrotom integriert werden. Für die Schnittgebung wird ein fs-Laser mit einer Repetitionsrate von 10 MHz eingesetzt. Geschnitten wird mit geringer Pulsenergie im Nano-Joule-Bereich bei gleichzeitigem Einsatz von Puls- bzw. Linienüberlapp. Zur Bildgebung wird ein FourierDomain-OCT-System mit einer Auflösung von $7,29 \mu\text{m}$ axial und $1,77 \mu\text{m}$ lateral verwendet.

Zur Integration wurde ein mechanisch wie optisch angepasstes Interferometer aufgebaut, sowie die Software zur integrierten Steuerung beider Systeme umgesetzt. Weiter wurde hierzu ein Konzept für die Synchronisation der Komponenten und der Ansteuerung der OCT sowie für den Ablauf der OCT-Software umgesetzt. Dies beinhaltet ein geeignetes Scannerkonzept, was die Einbindung des bereits vorhandenen Scansystems vorsieht. Zum Scan für die OCT werden dabei ausschließlich die mechanischen Verfahrachsen genutzt, da so daß Sichtfeld für die OCT den maximalen Schnittbereich von $14 \times 14 \text{ mm}^2$ umfasst. Hierdurch konnte die Dispersionskorrektur für den zentralen optischen Durchgang durch das Objektiv optimiert werden und es ergeben sich gleiche Scanparameter in beiden Ortsrichtungen. Unter Verwendung des Polygonscanners ergäbe sich nur ein eindimensionaler Scanbereich mit maximal $890 \mu\text{m}$ Länge.

In verschiedene Proben wurden Schnitte eingebracht, die Proben konnten dazu mit der OCT vor dem Schneiden und die applizierten Schnitte bei Pulsenergie oberhalb sowie im Bereich der Schwellenergie mittels OCT erfolgreich dargestellt werden. Die Referenzierung erfolgte dazu ausschliesslich in Richtung der z-Achse, da das verwendete Lasersystem vornehmlich zur Applikation von flächigen

Schnittmustern geeignet ist. Die initiale Bestimmung der Fokusslage ist durch die Bestimmung der Fokusslage an einer Glasfläche auf $1 \mu\text{m}$ genau, während die OCT und somit die nachfolgende Positioniergenauigkeit der Fokusslage eine axiale Auflösung von $7,29 \mu\text{m}$ aufweist.

Zur Schnitt- und Bildgebung werden die Proben auf einem Objektträger positioniert. Dieser stellt, mit seiner mechanischen Dicke von 1 mm , im Strahlengang für die OCT als planparallele Platte ein mögliches Fizeau-Interferometer dar. Dies würde die Artefakte erzeugen, wie sie im Kap. 3.5 beschrieben sind. Bedingt durch die Dicke der Glasplatte sowie die geringe Rayleigh-Länge von $16,2 \mu\text{m}$ des OCT-Strahls ist das Interferenzsignal dieses Objektes jedoch vernachlässigbar klein, sodass die Bildgebung durch den Referenzarm dominiert wird (siehe Abbildung der OCT-Aufnahmen der verschiedenen biologischen Proben).

In den verwendeten Proben, porcine Cornea und Stimmlippe sowie humaner Zahn, wurde in bestimmten Tiefen Schnitte eingebracht. Die Schnitttiefe konnte dazu vorher mit der OCT in Bezug auf die Grenzflächen innerhalb der Gewebestruktur ausgewählt werden. Die Überprüfung auf die erzielte korrekte Schnitttiefe erfolgte wiederum mit der OCT. Vergleichend wurden von den Proben nachträglich histologische Dünnschnitte angefertigt. Diese sind jedoch nicht zur Bestimmung der erzielten Schnitttiefe geeignet, da es bei der Herstellung der Dünnschnitte zu Schrumpfungsfaktoren kommt. Die Schrumpfung der verschiedenen Gewebestrukturen erfolgt nicht gleichförmig und führt zu einer Verzerrung der Schichtdicken. Eine andere geeignete Methode zur Überprüfung fehlt hier.

Das mechanische Scannen der Proben birgt einige Probleme, da es durch die Beschleunigung der Proben sowie durch den zumeist vorhandenen wässrigen Film zwischen Träger und Probe zum Verdrutschen der Probe kommt. Zur Minimierung dieser Effekte konnten Routinen zum Verfahren der Achsen implementiert werden, welche ein Anpassen der Beschleunigungsrampen zulassen.

Die Schnitte konnten dabei in Form von Reflexion an Brechungsindexsprüngen sowie Streuung an den Fragmenten der Photodisruption erfolgreich detektiert werden.

6. Mikrochirurgie

Das System für die fs-Laser basierte OCT-unterstützte Mikrochirurgie hat als Ziel, die OCT als Navigation für die fs-Laser-Applikation auszunutzen und somit gezielt dreidimensionale Strukturen mittels Photodisruption in biologischen Proben zu schneiden. Obwohl der Aufbau gezielt für die Anwendung an der Presbyopie entwickelt wurde, sind andere Anwendungsfelder möglich (Kap. 6.2). Nach den Grundlagen zu den Anwendungen wird der Aufbau dargestellt (Kap. 6.3) und charakterisiert (Kap. 6.4). Die Aufbereitung und Visualisierung der Bilder (Kap. 6.5) sowie die Referenzierung des Lasersystems und der Bildgebung (Kap. 6.6) werden beschrieben, sowie die erzielten Ergebnisse zur fs-Laser-Lentotomie (Kap. 6.7) bzw. der extraluminalen fs-Laser-Angioplastie (ELAN, Kap. 6.8) präsentiert und abschliessend dargestellt (Kap. 6.9).

6.1. Abgrenzung zur bisherigen Arbeiten

Die Einsatz des fs-Lasers als mögliche erfolgreiche Methode für die Presbyopiebehandlung wurde bereits 2009 von Schumacher in [Sch09] demonstriert. Das bei Schumacher [Sch09] entwickelte Labormuster weist jedoch eine OCT-Einkopplung nach der Fokussierung des Schneidlasers auf, wodurch dieser durch den dort eingebrachten Filter eine Krümmung der Wellenfronten der einlaufenden Pulse erfährt und somit keinen Schneideffekt mehr erzielt. Die Schnitt- und Bildgebung sind daher nur alternierend nach mechanischem Verfahren des Filters möglich. Weiter besitzt das verwendete OCT-System eine proprietäre Software, welche eine nicht erwünschte Vorverarbeitung der Messdaten vornimmt. Ein Zugang zu den Rohdaten oder vorverarbeiteten Daten ist nicht möglich, der für die direkte Referenzierung von Bildgebung und Schnittführung notwendig ist. Daher soll in den Aufbau des Presbyopie-Scanners ein OCT integriert werden, welches hinsichtlich der oben genannten Punkte an die Anwendung angepasst werden kann. Auch soll die bereits vorhandene Scaneinheit genutzt werden, um die aus den OCT-Daten gewonnenen Informationen über die Probenstruktur zur präzisen Ansteuerung der Schnittgebung nutzen zu können.

6.2. Anwendungsfelder des fs-Laser Mikrochirurgiesystems

Das fs-Laser Mikrochirurgiesystem wurde als Labormuster für die Behandlung der Presbyopie entwickelt. Die Eigenschaften des Systems wurden daher auf die Erfordernisse zur Bildgebung von Linsen angepasst. Weitere Anwendungsmöglichkeiten des entwickelten Systems beinhalten die Bildgebung und das Schneiden von transparenten und streuenden biologischen Geweben, wie dies am Beispiel der ELAN-Prozedur beschrieben wird.

6.2.1. Presbyopie

Die Presbyopie ist die altersbedingte Weitsichtigkeit. Die Linse stellt die optische Komponente des Auges dar (Abb. 6.1), welche durch von außen angreifende Zugkraft die Krümmung und somit die Brechkraft variieren kann. Diese sogenannte Akkomodation dient der Fokussierung von der Fern- zur Nahsicht [Hel55]. Die Akkomodationsamplitude verringert sich zeitlebens durch Verhärtung der Linse und tendiert zur Weitsicht (siehe auch Abb. 1.1). Die Dicke der Linse wird im relaxierten Zustand häufig mit einer Dicke von 3,6 mm angegeben, allerdings ändert sich die Dicke mit der Akkomodation und ansteigendem Lebensalter [Atc02]

$$\text{Linsendicke}(mm) = 3,46 + 0,013 \cdot \text{Alter}(\text{Jahre}) \quad . \quad (6.1)$$

Somit ergibt sich für eine 40 jährige Person eine mechanische Linsendicke von 3,98 mm.

Zurzeit werden verschiedene Behandlungskonzepte dieser Erkrankung verfolgt, wie die medikamentöse Behandlung [Til06, Ben08] oder der chirurgische Eingriff mit dem Ersatz der Augenlinse [Gla08]. Im Rahmen voran gegangener Arbeiten am LZH e.V. wurde die mögliche Behandlung mittels fs-Laser sowohl auf Basis von FEM-Simulationen als auch in Tierversuchen erarbeitet [Sch09]. Diese sieht vor, dem Elastizitätsverlust bedingt durch die Verhärtung der Augenlinse durch Schnitte, welche in die Linse mittels fs-Lasern eingebracht werden, und dem daraus resultierenden Flexibilitätsgewinn entgegen zu wirken [Rip07, Rip08a, Rip08b]. Die Schnitte stellen dabei Gleitebenen dar, wodurch die Verformbarkeit der Linse wieder verbessert werden kann. Hierzu wird ein Muster in die Linse gelasert, die sog. *steering wheel* Struktur. Entgegen anderen Anwendungen von fs-Lasern am Auge, wie z.B. bei der fs-LASIK, fehlt für den Eingriff jedoch die Information über die Position und Dicke der Augenlinse, welche jedoch mittels OCT ermittelt werden können.

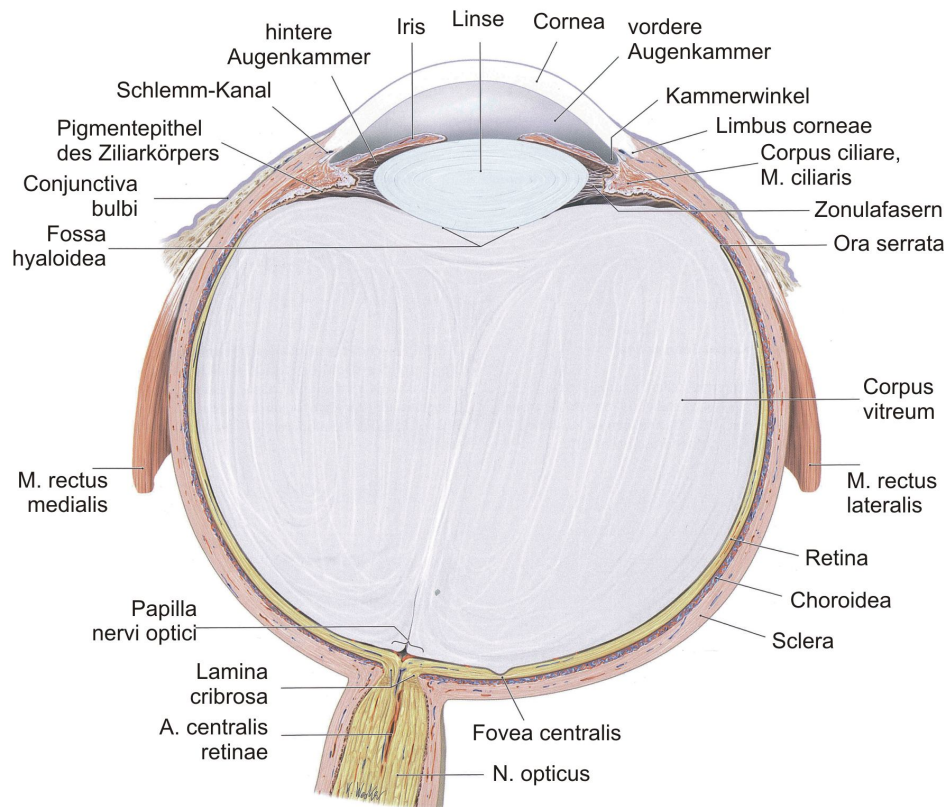


ABBILDUNG 6.1.: Schematische Zeichnung des Aufbaus eines humanen Bulbus. Gut zu erkennen sind die Cornea, die Vorderkammer sowie die Linse und deren Halterung am Ziliarkörper mittels der Ziliarfäden. [Sch06]

6.2.2. Extraluminale fs-Laser-Angioplastie

Das Krankheitsbild der Arteriosklerose wird gemeinhin auch als Arterienverkalkung bezeichnet. Präziser bezeichnet sie die Veränderung des Bindegewebes der Arterien. Bei dieser Systemerkrankung der Schlagadern kommt es zu Ablagerungen von Fettzellen innerhalb der Gefäßwand, welche sich unter Einfluss von Makrophagen zu einer zunächst fettigen, später fibrösen sogenannten Plaque entwickelt. Diese wächst stetig und wird zunehmend kalzifiziert. Durch die Volumenzunahme kann es schließlich zu einer Gefäßverengung bis hin zum Verschluss kommen (Embolie). Bei fortschreitender Erkrankung kann es auch zu einer (Teil-) Ablösung, d.h. zu einer Bildung eines Thrombus, kommen und an anderer Stelle zu einem Gefäßverschluss führen.

Bereits angewandte und somit etablierte Verfahren sind ein Bypass bzw. ein Stent. Ein Bypass wird bei vollständiger Embolie angewandt. Dabei wird operativ das verschlossene Blutgefäß mit einem biologischen oder auch künstlichen Blutgefäß umgangen und so der Blutfluss in die abgeschnittenen Gewebeteile sichergestellt. Bei teilweisem Gefäßverschluss, besonders im Falle der Herzkranzgefäße, hat sich die perkutane transluminale koronare Angioplastie etabliert. Hierbei wird in die betroffenen

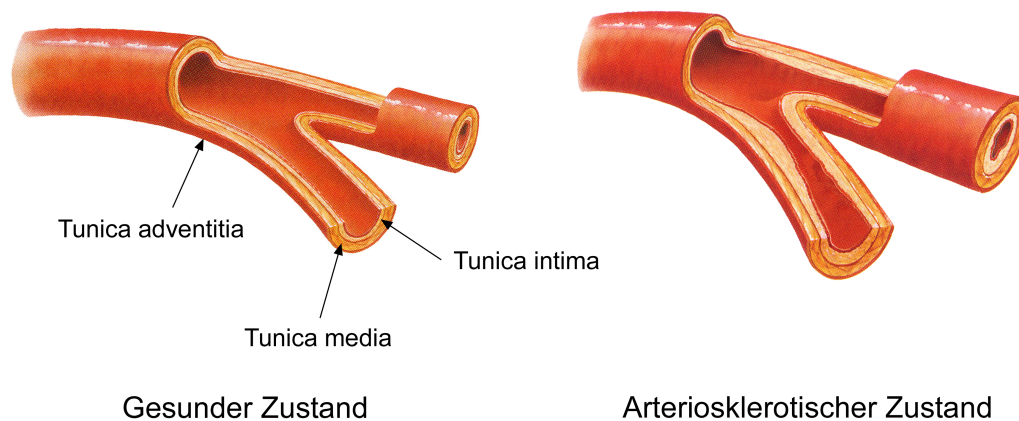


ABBILDUNG 6.2.: Struktur einer humanen Arterie bestehend aus der Schichtstruktur von Tunica adventitia, Tunica media und Tunica intima. Der arteriosklerotische Zustand zeichnet sich durch die Anlagerung einer Plaque zwischen Tunica media und intima gegenüber dem gesunden Zustand aus. Nach [Che07]

Gefäßstellen ein Ballon-Katheter eingebracht, welcher mit einem Druck von einigen bar aufgeblasen wird. Durch die Ausdehnung des Ballons wird eine Weitung des verengten Gefäßabschnittes erreicht. Um diese Weitung aufrecht zu erhalten, wird an dieser Stelle ein sog. Stent, eine Stützstruktur, eingebracht, welcher auch nach Abschluss des Eingriffes im Gefäß verbleibt. Die so eingebrachten Stents neigen jedoch zu Ausbildung von Restenosen, also der erneuten Verengung des Blutgefäßes im Bereich des Stents. Als Ursache dieser Restenosen wird eine geringfügige Verletzung der inneren Gewebeschichten, der Tunica intima, vermutet. Das hieraus resultierende übermäßige Wachstum (Intima Hyperplasie) hat die erneute Thrombosegefahr zur Folge. Neuere Ansätze dieser etablierten Methode sehen daher biodegradierbare, d.h. vom Körper abbaubare, oder mit Medikamenten beladene Stents vor, wodurch das übermäßige Wachstum und somit die Restenosegefahr eingegrenzt werden soll. Das Therapiekonzept extraluminalen fs-Laser-Angioplastie (ELAN) mittels fs-Laser sieht im Kontrast zu etablierten Therapiemethoden nicht die Behandlung aus dem Gefäßinneren, sondern von der Gefäßaußenseite vor. Hierbei soll mittels fs-Laser die Gefäßwand eröffnet werden, um so zum Einen eine Weitung an der Stelle der Verengung zu erreichen. Zum Anderen ist die zugängliche Plaque durch die Phagocytose angreifbar und könnte so degradiert werden [Wil04]. Zum Einbringen dieser Schnitte ist die Kenntnis der jeweiligen Dicke der Gefäßwand sowie die bereits eingebrachte Schnitttiefe erforderlich, da ansonsten die Gefahr einer vollständigen Durchtrennung besteht. Daher müssen zu Beginn sowie in regelmäßigen Abständen Querschnittsprofile der Gefäßwand mittels OCT erstellt werden. Durch die Integration von OCT und fs-Laser kann dabei eine Therapie ohne Gerätewechsel erreicht und ein Verlust der Position verhindert werden.

6.3. Aufbau des Applikators für die Presbyopiebehandlung

Die Beschreibung der Applikators gliedert sich in den opto-mechanischen Aufbau und die Synchronisation der elektrischen Komponenten. Sowohl der Aufbau als auch die Datenverbindungen zur Synchronisation der Geräte sind in Abbildung 6.3 dargestellt.

6.3.1. Optomechanischer Aufbau

Der vom Laser IMRA μ JEWEL (siehe Tab. 2.1) emittierte Strahl wird durch das „Teleskop 1“ (Abb. 6.3) in Galileischer Anordnung um einen Faktor 3 im Strahlquerschnitt reduziert, um die Apertur des akusto-optischen Modulator (kurz AOM) nicht zu überschreiten. Der AOM MTS80-A3-1064AC (AA OPTOELECTRONIC, Orsay, Frankreich) dient der Pulsselektion, da das Lasersystem keine Möglichkeit dazu bietet. Diese ist notwendig, um eine Überlappung der Fokalvolumen und somit eine Puls zu Puls Wechselwirkung zu vermeiden bzw. die Schnittwirkung mittels Einzelpulsen sicherzustellen. Die Pulsselektion erfolgt durch die Ablenkung einzelner Pulse am AOM unter einem Winkel von 15° , während die restlichen Pulse in der 0. Beugungsordnung in eine Strahlfalle laufen. Die Effizienz der 1. Ordnung beträgt 85%, die Schaltzeiten betragen $1,5\mu s$. Die so selektierten Pulse durchlaufen weiter ein $\lambda/2$ -Plättchen und einen Polarisationsstrahlteiler zur Einstellung der Pulsenergie und werden anschliessend im „Teleskop 2“ auf die maximale Apertur des Scannersystems INTELLISCAN 20 von SCANLAB, Puchheim, von 20 mm aufgeweitet. Das Scannersystem beinhaltet zwei Galvanometerscanner DYNAXIS L zur lateralen Strahlableitung. In axialer Richtung kann die Fokusslage durch die Verfahrachse M405.DG von PHYSIK INSTRUMENTE (PI) GMBH & CO. KG, Karlsruhe, angepasst werden. Die Fokussierung erfolgt durch das Objektiv 112921 von SCANLAB, Puchheim, mit einer maximalen Numerischen Apertur von 0,18 bei einem Arbeitsabstand von 55 mm. Eine Applanationsplatte kann unterhalb des Objektivs gehalten werden, diese dient der Applanations der biologischen Proben.

Der Aufbau des OCT ist im Bereich des Interferometers als Freistahlaufbau ausgeführt (Abb. 6.4), wohingegen die Ankopplung von Lichtquelle und Detektor faserbasiert ist. Als Lichtquelle dient eine Superluminiszenzdiode SLD-351-HP1-DIL-SM-PD-FC/APC mit dem Treiber PILOT-4-AC von SUPERLUM DIODES, Irland, welche über einen faseroptischen polarisationsunempfindlichen Zirkulator PIOC385P23111 (COMPOTRON GMBH, München), einer optischen Singlemode-Faser P3-830A-FC-2 (THORLABS, Dachau) und einen Kollimator 60FC-4-M20-10 (SCHÄFTER & KIRCHHOFF GMBH, Hamburg) einen Strahl mit einer Apertur von 3,61 mm emittiert. Die Faseroptischen Komponenten sind durch FC/APC-Stecker miteinander verbunden. Der OCT-Strahl wird an einer Strahlteilerplatte (LINOS, Göttingen) mit einem Verhältnis von 80% / 20% in Proben- und Refe-

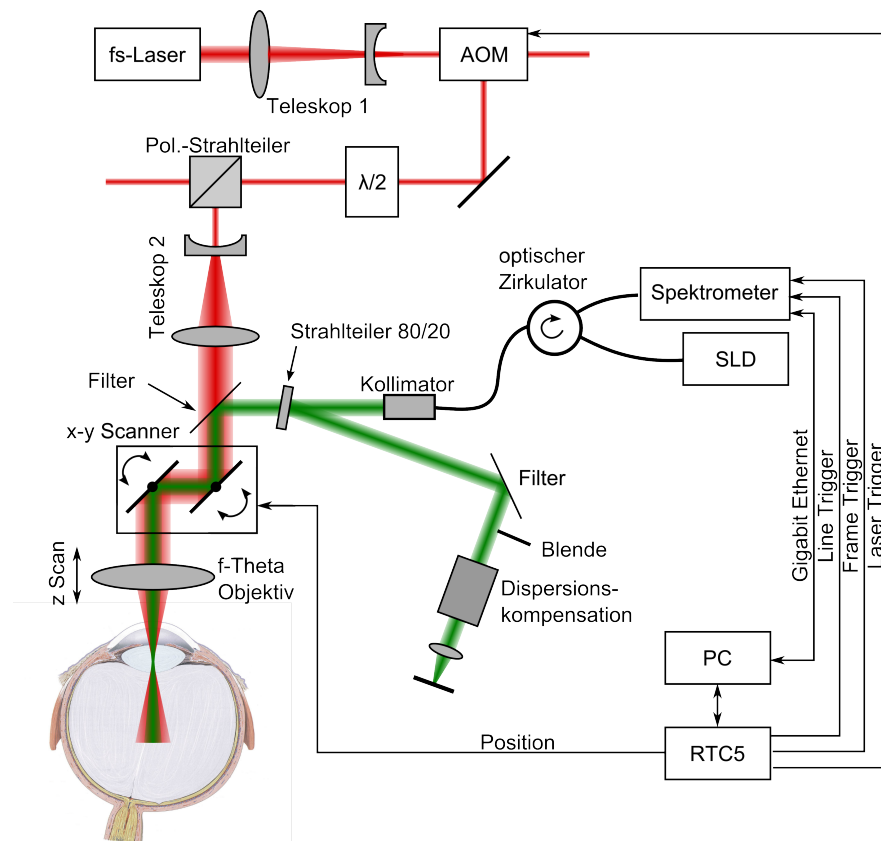


ABBILDUNG 6.3.: Skizze des Aufbaus des „Sehenden Skalpells“ für die Mikrochirurgie an Linse und Arterie. Der Strahlengang des fs-Lasers zum Schneiden ist in rot dargestellt, der OCT-Strahlengang in grün. Die Farben sind willkürlich gewählt, die Zentralwellenlängen beider Systeme liegen im NIR. Der AOM im Strahlengang des fs-Lasers erlaubt eine Pulsselektion bevor der Strahl mit dem zweiten Teleskop auf die maximale Apertur des Scanners aufgeweitet wird. Der Strahlengang des OCT-Systems ist teilweise faserbasiert. Die Apertur des Scanners wird nur zu einem Bruchteil ausgenutzt, um eine schwache Fokussierung zu erzielen. Das System wird zentral über einen PC gesteuert, welcher auch die Datenverarbeitung der OCT übernimmt.

renzarm aufgeteilt. Im Probenarm wird der Strahl über einen Filter TECHSPEC LONGPASS FILTER (48564) (EDMUND OPTICS, Karlsruhe) kollinear zum Strahl des fs-Lasers eingekoppelt und verläuft weiter über das Scannersystem und wird am Objektiv mit einer Numerischen Apertur von 0,02 in die Probe fokussiert. Der in den Referenzarm reflektierte Strahl verläuft ebenfalls über einen TECHSPEC LONGPASS FILTER sowie ein Substrat SF10 mit einer Länge von 22,2 mm als Dispersionsausgleich. Die Strahlintensität kann durch eine seitliche in den Strahl verschiebbliche Blende abgeschwächt werden. Das Reflektormodul des Referenzarmes besteht aus einem Hastings-Triplett (NT45-251) (EDMUND OPTICS, Karlsruhe)(auf einen Durchmesser von 8 mm abzentriert) und einem mit Aluminium beschichteten Spiegel G340506000 (LINOS, Göttingen). Der Spiegel ist, in Vor-

bereitung für eine mögliche Erfassung komplexwertiger OCT-Aufnahmen, auf einen Piezokristall PICMA PIEZO-CHIPAKTOR PL055.31 (PHYSIK INSTRUMENTE (PI) GMBH & CO. KG, Karlsruhe) gehalten. Die interferierenden Strahlen aus Proben- und Referenzarm werden am Kollimator wieder in den faseroptischen Aufbau eingekoppelt. Am Optischen Zirkulator erfolgt eine Trennung der Strahlengänge von Lichtquelle und Detektor. Das Interferenzsignal wird mit dem Spektrometer OPEN FRAME SPECTROMETER HYPERION 830 (THORLABS HL, Lübeck) und der CCD-Kamera RUNNER RÜL2048-30GM (BASLER, Ahrensburg) detektiert.

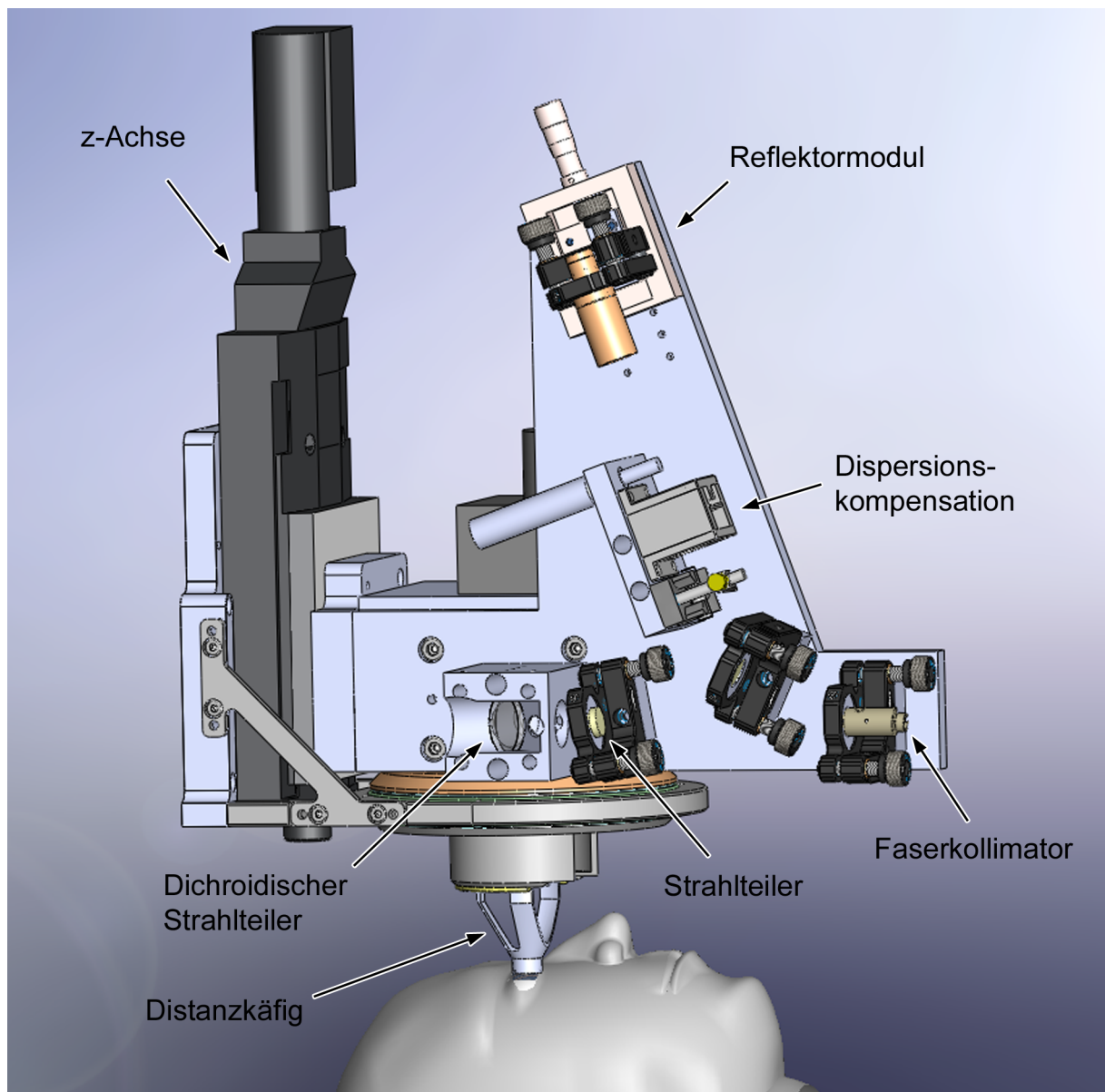


ABBILDUNG 6.4.: 3D-Modell der OCT-Einkopplung am Presbyopiesystem. Der X-Y Galvanometerscanner ist verdeckt und befindet sich auf der Rückseite des Interferometers für die OCT.

6.3.2. Synchronisation der elektrischen Komponenten

Die generelle Steuerung von Scannersystem und AOM bzw. CCD-Kamera erfolgt durch einen PC. Der Computer übernimmt dabei die Initialisierung und übergeordnete Ansteuerung der einzelnen Komponenten. Die zeitliche synchrone Ansteuerung erfolgt durch die in dem PC verbaute RTC5-Steuerkarte, welche die Positionsbefehle an das Galvanometer-Scannersystem sendet und ausserdem sowohl den AOM zur Pulsselektion als auch die Kamera zur Erfassung von A-Scan-Rohdaten (Line-Trigger) und der Übermittlung der B-Scan-Rohdaten (Frame-Trigger) an den PC triggert. Die Ansteuerung der Kamera folgt daher den Positionsbefehlen des Scannersystems.

Die CCD-Kamera des Spektrometers RUNNER RUL2048-30GM von BASLER, Ahrensburg, wird konfiguriert und übersendet die Spektren über eine Gigabit-Ethernet-Schnittstellenkarte PCIE-8231 von NATIONAL INSTRUMENTS GERMANY GMBH, München. Der zeitliche Ablauf der Erfassung eines B-Scans ist in Abbildung 6.5 dargestellt. Zu jedem Line-Trigger wird ein A-Scans erfasst. Die Belichtungsdauer der Kamera muss dabei kleiner als der zeitliche Abstand zweier Trigger sein. Zu jedem B-Scans werden mehrere A-Scans zum Weißabgleich aufgenommen (Zeitpunkt A), hierzu wird der Scanner in eine Position gebracht, in welcher der Probenarm durch eine ausreichend hohe Ablenkung des Probenarmstrahls blockiert ist und keine Intensität aus dem Probenarm auf den Detektor fällt. Anschliessend werden bei konstanter gleichmäßiger Verföhrung der Scanspiegel die A-Scans erfasst (Zeitpunkt C bis D) und das gesamte Datenpaket nach Auslösen des Frame-Trigger (Zeitpunkt D) an den PC übertragen.

6.4. Systemcharakterisierung

Der maximale Bildbereich des OCT-Systems beträgt $3,75 \text{ mm}$ an Luft bei einer Auflösung von $6,5 \mu\text{m}$ (gemessen an Luft) bzw. $5,53 \mu\text{m}$ (theoretischer Wert). Die Fokussierung des fs-Lasers mit einer Numerischen Apertur von 0,18 als auch des OCT-Strahls von 0,02 wurden nach dem Knife-Edge-Verfahren bestimmt. Danach ergibt sich ein minimaler Strahltaillenradius von $2,5 \mu\text{m}$ für den fs-Laser ($\lambda = 1030 \text{ nm}$) und $34 \mu\text{m}$ (gemessen) bzw. $8,4 \mu\text{m}$ (Strahlpropagationsfit) für den OCT-Strahl ($\lambda = 840 \text{ nm}$). Letzterer zeigt eine starke chromatische Abberation, welche aus der starken Optimierung des Objektivs für den fs-Laser resultiert. Als Konfokalparameter ergeben sich $919 \mu\text{m}$ für den theoretischen Wert und $3500 \mu\text{m}$ für den gemessenen.

Nach Kapitel 3.4 nimmt das Signal-Rausch-Verhältnis über die Messtiefe ab. Ermittelt man dies für das oben beschriebene System, so erhält man einen Gesamtabfall von -26 dB, ausgehend von einer maximalen Sensitivität von 58 dB. Der Verlauf ist in Abbildung 6.7 dargestellt.

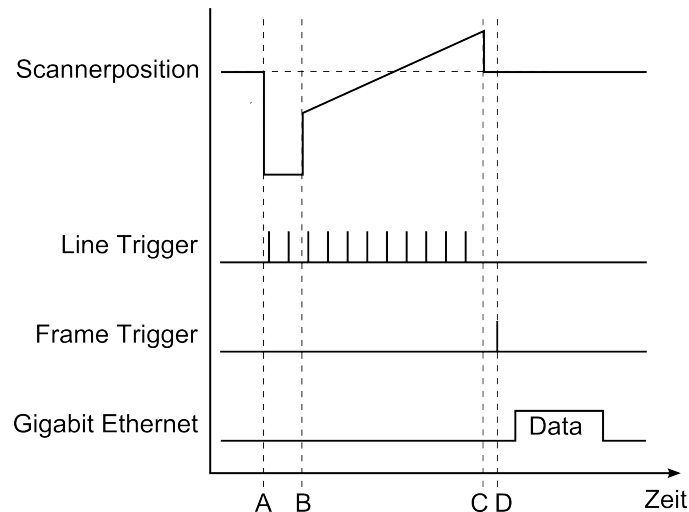


ABBILDUNG 6.5.: Zeitliches Schema der Datenerfassung des Presbyopie-Laser-Systems. Zwischen den Zeitpunkten A und B erfolgt die Erfassung der A-Scans für den Weißabgleich, zwischen B und C die Erfassung der B-Scan-Rohdaten. Zum Zeitpunkt D löst der Frame-Trigger die Übertragung der im Speicher der Kamera abgelegten Rohdaten an den PC aus. Dargestellt ist die Erfassung von 2 A-Scans zum Weißabgleich sowie 9 A-Scans. Die Darstellung ist zeitlich nicht homogen.

6.5. Aufbereitung und Visualisierung der Daten

Um die erfassten OCT-Daten anzeigen zu können, werden sie nach Kap. 3.8 prozessiert. Die B-Scans können danach direkt für die Darstellung und die Schnittsteuerung verwendet werden, bei Bedarf kann für expotierte Ansichten nachträglich eine Anpassung des Kontrastes mit dem Bildbearbeitungsprogramm IMAGEJ vorgenommen werden.

Die erzeugten dreidimensionalen Datensätze müssen erst für die Anzeige mit einem Rendering-

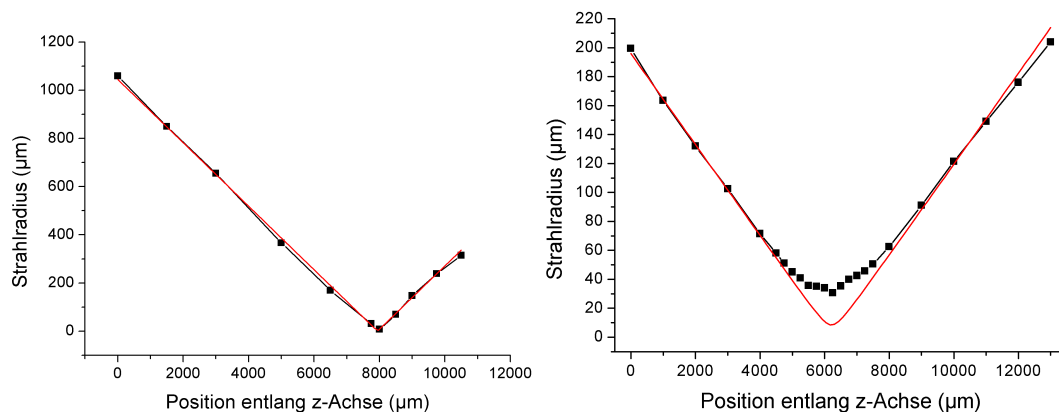


ABBILDUNG 6.6.: Strahlpropagationsverlauf des fs-Lasers (links) und des OCT-Strahls (rechts) des Mikrotoms. Die z-Achsen sind nicht gegeneinander referenziert.

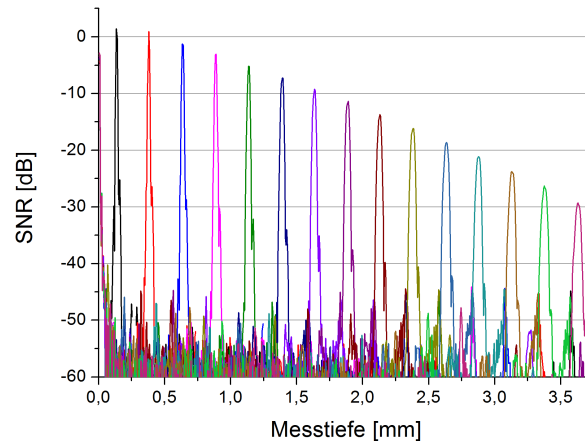


ABBILDUNG 6.7.: Abfall des Signal-Rausch-Abstandes über die Messtiefe des OPEN FRAME SPEKTROMETER HYPERION 830. Der SNR-Abfall über die gesamte Messtiefe von 3,75 mm beträgt 26 dB.

Programm aufbereitet werden. Diese werden in IMAGEJ auf eine Bittiefe von 8 Bit reduziert. Der Kontrast ist typischerweise stark eingegrenzt und wird daher so angepasst, dass der Umfang des Kontrastes den Bereich vom Maximum des Histogramms bis zum Randbereich im Hellen abdeckt. Die Datensatzgröße wird entlang der optischen Achse gestaucht, um eine gleichmäßige Auflösung in allen drei Raumrichtungen zu erhalten. Alternativ kann in einigen Programmen zur Darstellung der dreidimensionalen Datensätze auch die jeweilige Ortsauflösung angegeben werden. Der so modifizierte Datensatz wird anschließend wieder als Raw-Datei gespeichert.

Die Darstellung der dreidimensionalen Daten erfolgt mit einer Volume Rendering Software, die besten Ergebnisse konnten hier mit der Software VOREENVE erzielt werden. 3DVIEW von RMRSYSTEMS kann gut für eine schnelle Visualisierung der Daten verwendet werden.

Für die Auswahl der Schnitttiefe reicht die zweidimensionale Darstellung aus, wenn die Probe wie im Falle einer Linse ein Maximum besitzt. Mit zwei rechtwinklig zueinander stehenden B-Scans kann die Probe zur optischen Achse zentriert werden. Die dreidimensionalen Daten dienen vielmehr der Dokumentation der applizierten Schnitte.

6.6. Referenzierung von fs-Laser und OCT

Die so erzeugten OCT-Bilder können nun für die Bestimmung der Schnittposition verwendet werden. Durch Strahlversatz und -verkippung von OCT zu fs-Laser sind die räumlichen Fokuspositionen von OCT- und fs-Strahl jedoch zueinander verschieden. Um den Versatz zu bestimmen und somit ausgleichen zu können, muss nach jeder Justage der Optiken eine Referenzierung durchgeführt werden.

Zuerst erfolgt die axiale Referenzierung, anschliessend die in lateraler Richtung.

Zur Bestimmung der axialen Fokuslage des fs-Lasers wird die z-Achse in die Mittenposition verfahren. Anschließend wird eine Platte mit Fotopapier an den Fokus angenähert, bis sich im Fokus eine Ablation des Fotopapier zeigt. Die OCT wird nun durch Messung der rückgestreuten Intensität bei geblocktem Referenzarm so justiert, dass die Fokuslage der OCT 1 mm unterhalb der Oberfläche des Fotopapiers befindet. Durch Anpassung der Referenzarmlänge wird der Bildbereich so verschoben, dass die Grenzfläche von Luft und Fotopapier sowie darunter liegende Schichten vollständig dargestellt werden. Die Fokuslage des fs-Lasers berechnet sich aus den OCT-Daten aus der Summe des initialen Versatzes z_{offset} von fs-Fokus und Referenzpunkt im OCT-Bild in Luft und dem OCT-Bildpunkt $\Delta z_{optisch}$ in Bezug auf den Referenzpunkt (siehe Abbildung 6.8). Der Brechungsindex n wird dabei als konstant für beide Wellenlängen von fs-Laser und OCT und als homogen über die Probtiefe angenommen.

$$z = z_{offset} + \Delta z_{optisch} \cdot n \quad (6.2)$$

Zur Bestimmung des lateralen Versatzes wird ein *steering wheel* Muster in eine HEMA-Probe appli-

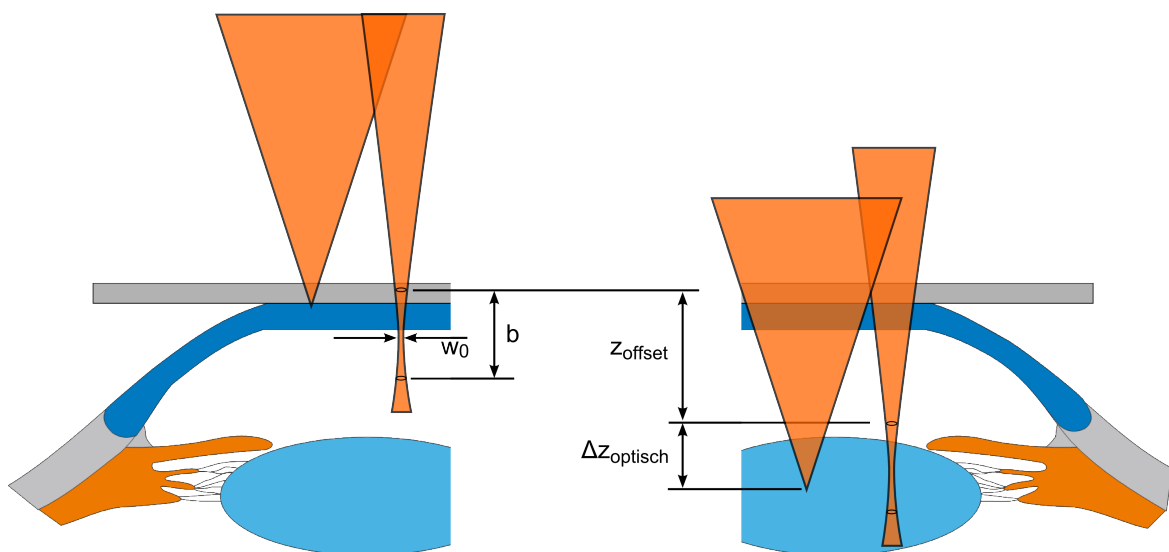


ABBILDUNG 6.8.: Fokusreferenzierung mittels OCT in Strahlrichtung.

ziert und anschliessend ein 3D-Datensatz mit dem OCT aufgenommen und als enFace-Darstellung visualisiert. Aus dem lateralen Versatz der Struktur gegenüber der Bildmitte (Abb. 6.9, grünes Kreuz) werden mit Kenntnis der Seitenlängen des OCT-Bildes die Wegdifferenzen zur Positionskorrektur des fs-Lasers bestimmt. Anschliessend wird in dieselbe Probe eine weitere Struktur zur Überprüfung der Korrektur eingebracht (Abb. 6.9, rotes Kreuz).

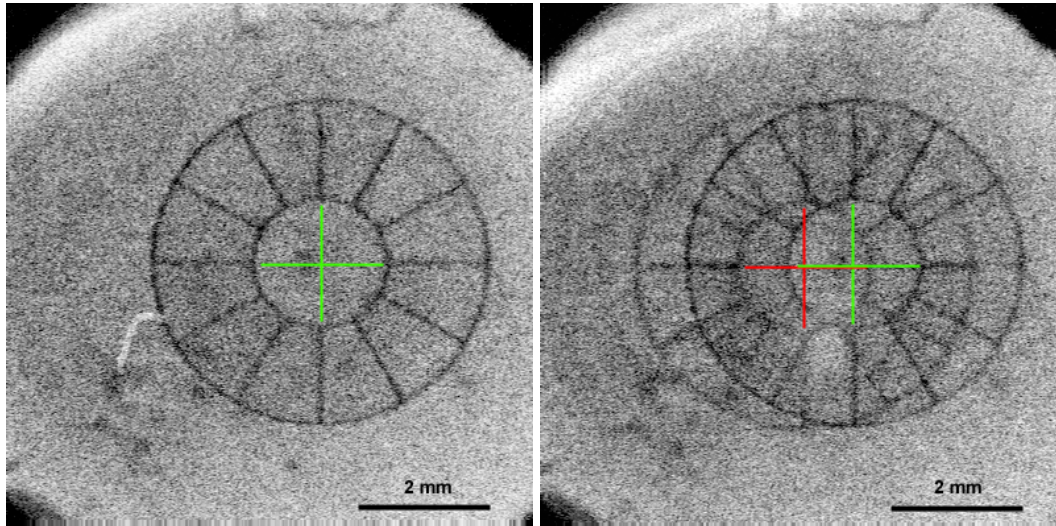


ABBILDUNG 6.9.: Referenzierung der Position des fs-Lasers zur OCT durch das Einbringen von fs-gelasierten Strukturen in HEMA. Im linken Bild ist der laterale Versatz vor der Korrektur dargestellt. Im rechten Bild erkennt man zusätzlich die Positionskorrektur. Die grünen Kreuze zeigen die unkorrigierten Mittenpositionen, das rote Kreuz die um $\Delta x = 0,76\text{mm}$ und $\Delta y = 0,06\text{mm}$ verschobene Mittenposition.

6.7. OCT-gestützte fs-Laser-Lentotomie

In eine extrahierte porcine Linse wurde ein *steering wheel* Muster appliziert (Abbildung 6.10). Dazu wurde die Linse mit einer Glasplatte applaniert und mittels OCT unter der Scannereinheit positioniert. Die Schnitte wurden mit der Pulsenergie $1,4 \mu\text{J}$ und Spotabständen von $6 \mu\text{m}$ lateral und axial eingebracht. Anschließend wurde die Glasplatte zur Applanation entfernt und die nachfolgenden OCT-Bilder aufgenommen. In Abbildung 6.11 ist die daraus erstellte 3D-Projektion dargestellt, worin die obere Fläche des Linsenkapselsackes grau und das applizierte *steering wheel* Muster rot eingefärbt sind.

Ebenso wurde bei der Laserapplikation an der Linse eines geschlossenen porcinen Bulbus verfahren. Allerdings wurde hier die Cornea applaniert und der Schnitt in die Linse eingebracht. Dazu wurden als Parameter die Pulsenergie $1,4 \mu\text{J}$ und die Spotabständen von $6 \mu\text{m}$ lateral und axial gewählt. Die Positionsreferenzierung wurde nach dem Verfahren aus Kapitel 6.6 durchgeführt, sodass die erfassten OCT-Daten nur die anteriore Linsenhälfte zeigen. Die Aussenansicht des gesamten Bulbus ist in Abbildung 6.12 dargestellt.

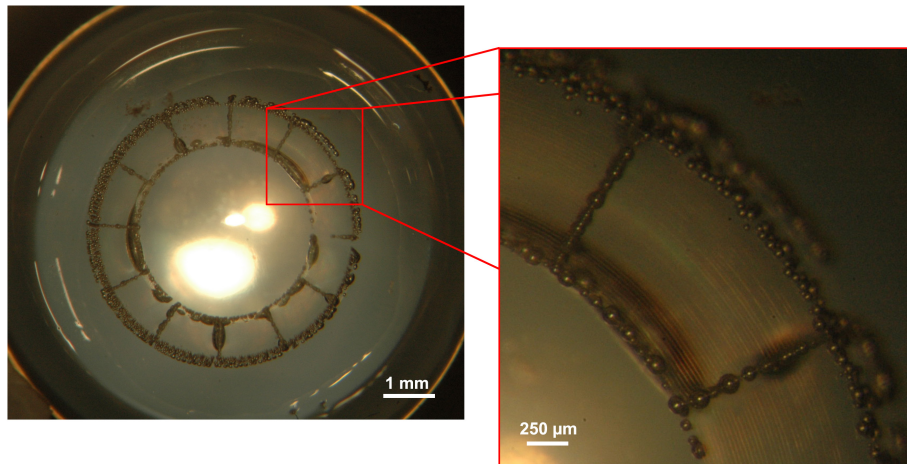


ABBILDUNG 6.10.: *Steering wheel* Struktur in einer extrahierten Linse. Der eingebrachte Schnitt weist im Bereich des Randes und der Stege eine zu hohe Pulsenergie auf, die Deckelfläche der Struktur wurde mit optimierten Parametern geschnitten.

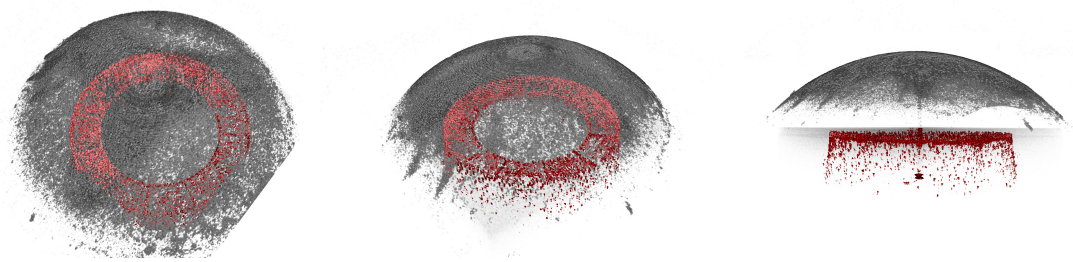


ABBILDUNG 6.11.: Volumen Rendering aus den OCT Daten der extrahierten Linse unter verschiedenen Ansichtswinkeln. Die Schnitte sind rot eingefärbt, der Kapselsack ist grau dargestellt.

6.8. OCT-gestützte ELAN-Prozedur

Zur Behandlung von arteriosklerotischer Arterien werden einzelne Schnittlinien oder auch vertikale Schnittfläche an der Arterienwand appliziert. Versuchsweise wird dies hier an Schnitten an einer Kaninchenarterie demonstriert. Dazu wird die Arterie im Halsbereich eines eutanasierten Tieres freigelegt und mittels einer Halterung unter dem Applikator positioniert (s. Abb. 6.13). Hierzu wird das Tier auf den Rücken gelegt. Eine Applanation der Oberfläche wie der Applikation am Auge erfolgt bei der Arterie nicht. Die Schnitte werden jeweils an der Oberfläche von außen nach innen appliziert. Während der Vorgangs wird wiederholt zwischen Bildgebung und fs-Laser gewechselt.

Im Folgenden sind die aufgenommenen OCT-Bilder innerhalb der Schnittprozedur dargestellt. Die Abbildung 6.14 zeigt die Probe vor der Applikation der Schnitte, die Abbildungen 6.15 und 6.16 die Probe nach den nachfolgenden Schnitten. Die Übersichtsdarstellungen zeigen die Lage Querschnitts-



ABBILDUNG 6.12.: Applizierte Schnitte in der Linse innerhalb eines geschlossenen porcinen Bulbus. Der Außendurchmesser der applizierten *steering wheel* Struktur beträgt 5 mm. Der Schnitt ist als Blasenstruktur innerhalb der Linse erkennbar. Die Fotografie ist wenige Minuten nach der Behandlung erfolgt.

OCT-Bilder. Erstere wurden mit Voreen angefertigt, letztere sind jeweils drei benachbarten OCT-Aufnahmen gemittelte Darstellungen.

Zur Erstellung der Schnitte in der Arterienwand wurde eine Pulsenergie von $2,74 \mu J$ und einem Spotabstand von $2 \mu m$ axial und lateral appliziert. Hierzu wurde an einem eutanasierten Tier die Arterie im Halsbereich freigelegt und mittels eines Halters (s. Abb. 6.13) unter dem Applikator positioniert. Die Arterie wurde nicht gespült noch künstlich unter Druck gesetzt. Während der Prozedur wurde eine regelmäßige Befeuchtung durchgeführt, um eine Veränderung des Gewebes und somit der optischen Eigenschaften durch Austrocknung zu verringern. Die Abbildungen 6.14, 6.15 und 6.16 zeigen die 3D-Projektion der Arterie vor der fs-Laserapplikation, sowie während und nach dem Schnitt. Diese wurden aus volumetrischen OCT-Datensätzen erstellt, welche eine laterale Ausdehnung von 400 Pixeln auf 8 mm Kantenlänge bzw. eine axiale Ausdehnung von 750 Pixeln auf 3,75 mm aufweisen. Daraus resultiert eine laterale Auflösung von $20 \mu m$ bzw. axial $5 \mu m$. In den Projektionsansichten ist jeweils die Position der Querschnittsbilder eingezeichnet. Die dargestellten Querschnittsbilder sind zur Rauschverminderung über drei benachbarte B-Scans gemittelt. Die aus den OCT-Querschnittsbildern ermittelten Werte hinsichtlich Wandstärke ausserhalb des bzw. im Schnittbereich sind in der Tabelle 6.1 zusammengefasst.

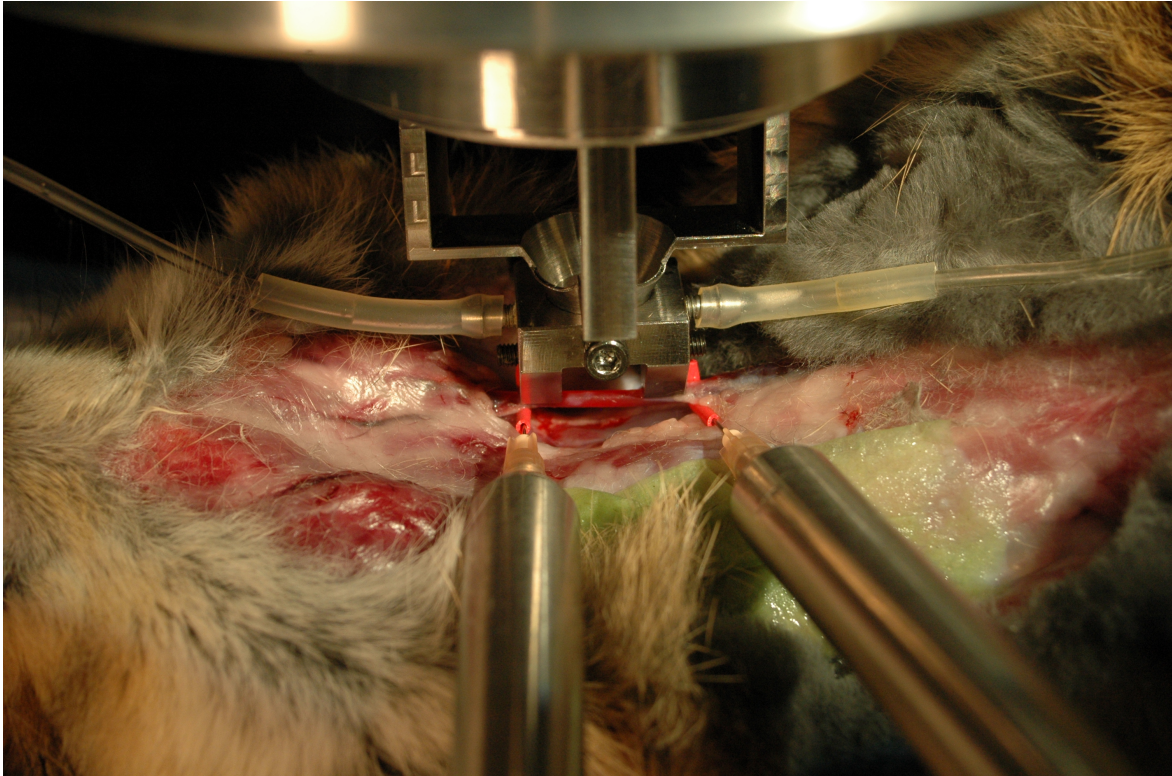


ABBILDUNG 6.13.: Lage der freigelegten Arterie unter dem Applikator. Der Kopf befindet sich links des Halters, das Tier liegt auf dem Rücken. Der Distanzkäfig oberhalb der Arterie entspricht dem aus Abb. 6.4.

Die Schnitte wurden mit einer Pulsenergie von $1,8 \text{ nJ}$ und einem lateralen wie axialen Spotabstand von $2 \mu\text{m}$ ausgeführt. Der Schnitt in Abb. 6.15 wurde durch eine Schnitttiefe von $40 \mu\text{m}$ erzielt, der zweite in Abb. 6.16 durch eine Schnitttiefe von gemittelt $135 \mu\text{m}$. Hierbei ist zu beachten, dass die Arterie unter einem geringen aber nicht weiter bestimmten Druck stand, sodass sich bei der Durchführung des Schnittes die Arterienwand in Richtung des Laserfokus ausgewölbt hat. Nach dem letzten Schnitt ist an der Innenseite der Arterienwandung eine leichte Auswölbung erkennbar. Dieses ist durch die verkürzte optische Wegstrecke aufgrund der fehlenden Gewebestrecke bedingt und wird als Bildgebungsartefakt bewertet. Eine geringfügige Trocknung der Arterie konnte während des Versuchszeitraumes trotz Befeuchtung des Gewebes nicht vollständig verhindert werden. Der Außendurchmesser der Arterie sowie die Dicke der Arterienwandung nimmt geringfügig ab (siehe Tabelle 6.1). Der erfolgte Schnitt ist in Abbildung 6.17 fotografisch dokumentiert.

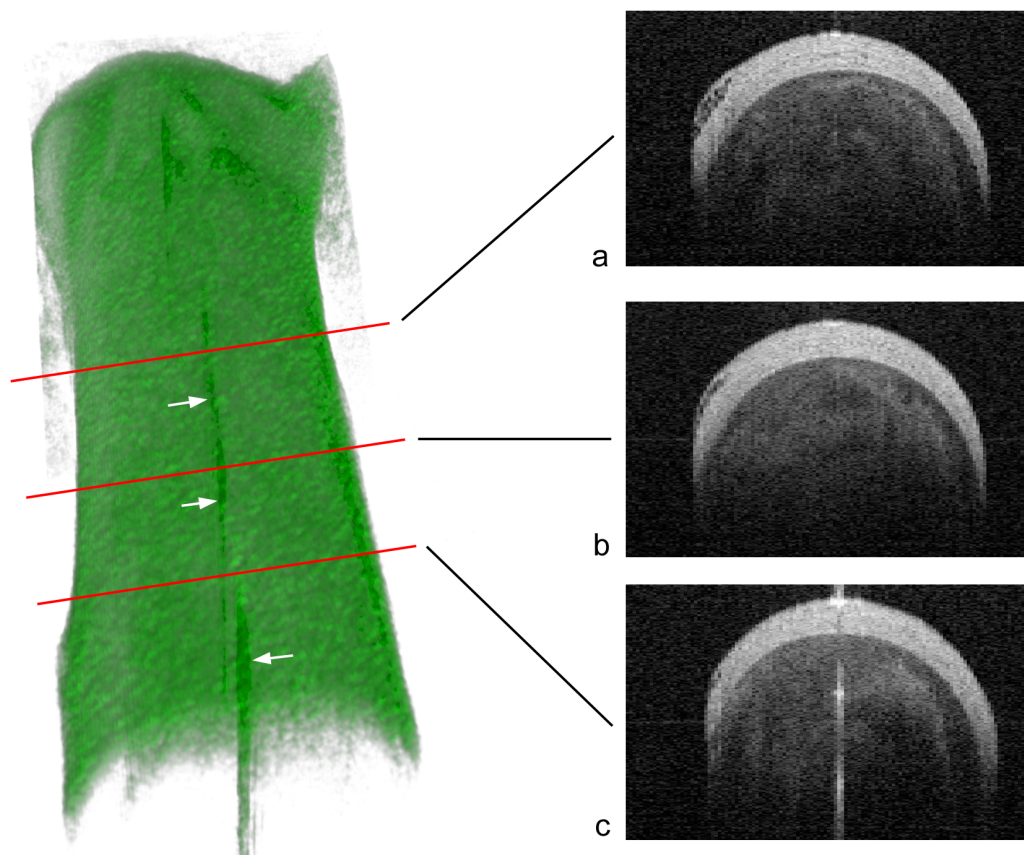


ABBILDUNG 6.14.: Arterie vor Applikation der Schnitte. Die Linien (weiße Pfeile) entlang des Apex der Arterie in der 3D-Projektion (links) sind Übersteuerungsartefakte der OCT. Die Querschnittsbilder rechts sind mit 120 Pixeln ($2,4\text{ mm}$) in lateraler und 300 Pixeln ($1,5\text{ mm}$) in axialer Richtung dargestellt.

6.9. Fazit zur OCT-gestützten Mikrochirurgie

Die im Rahmen der Anwendung für die Mikrochirurgie vorliegende Systemintegration von Bildgebung in Form der OCT und eines fs-Lasers für die Schnittgebung konnte erfolgreich umgesetzt werden. Hierzu wurde in das bereits bestehende Lasersystem für die Presbyopiebehandlung ein selbst-aufgebautes Fourierdomain-OCT-System integriert.

Dazu wurde die optomechanische Integration (das Interferometer), das Ansteuerungskonzept des Galvanometer-Scannersystems sowie der Datenerfassung und die softwaretechnische Umsetzung in Labview realisiert. Hierzu wurden die hardwarenahe Ansteuerung der Scanner und der Zeilenkamera ebenso wie die Datenverarbeitung für die OCT umgesetzt.

Das optische System trennt dabei den fs-Strahlengang über einen dichroidischen Strahlteiler vom OCT-Strahlengang ab, wodurch der Galvanometer-Scanner für beide Anwendungen gleichsam genutzt werden kann. Dadurch kann eine laterale Referenzierung der Anwendungen innerhalb der OCT-

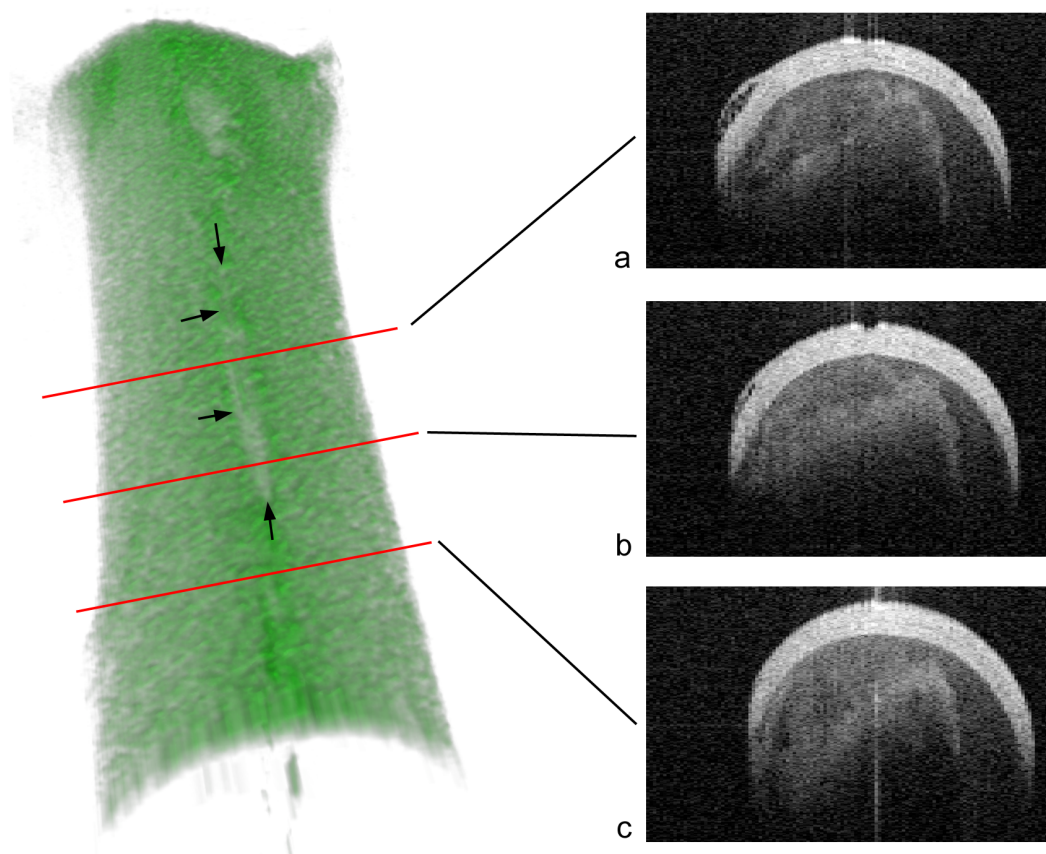


ABBILDUNG 6.15.: Applikation der ersten Schnittees von 3 mm Länge in einer Arterie (schwarze Pfeile). Die Querschnittsbilder rechts sind mit 120 Pixeln (2,4 mm) in lateraler und 300 Pixeln (1,5 mm) in axialer Richtung dargestellt.

Auflösung erreicht werden. Die laterale Auflösung der OCT $34 \mu m$ ist durch die Optimierung des Objektivs auf die Wellenlänge $\lambda = 1064 \text{ nm}$ um den Faktor 4 schlechter als die theoretisch berechnete $8,4 \mu m$. Für die Anwendung innerhalb der Presbyopie-Behandlung ist diese Abweichung hinnehmbar, da der Hauptaugenmerk auf der Bestimmung der Grenzflächenpositionen liegt. Die ELAN-Prozedur erleidet hieraus jedoch einen starken lateralen Auflösungsverlust. In axialer Richtung beträgt die Auflösung $6,5 \mu m$, was für die vorgestellten Anwendungen ausreichend ist. Die Probe bleibt aufgrund der rein optisch Scanverfahrens unbewegt.

Die Schnitte innerhalb der Linse konnten sowohl bei applizierten Pulsenergien weit oberhalb der Schwellenergie in Form von großen Gasblasen (Reflexion am Brechungsindexsprung) als auch mit optimierten Parameter in Form von kleinsten Gasblasen (Reflexion bzw. Streuung) dargestellt werden.

Die dabei erzielte Sensitivität von 58 dB ist ausreichend, um sowohl anteriore als auch posteriore Kapselflächen von Linsen darzustellen. Der Abfall des Signal-Rausch-Verhältnisses über die Mess-

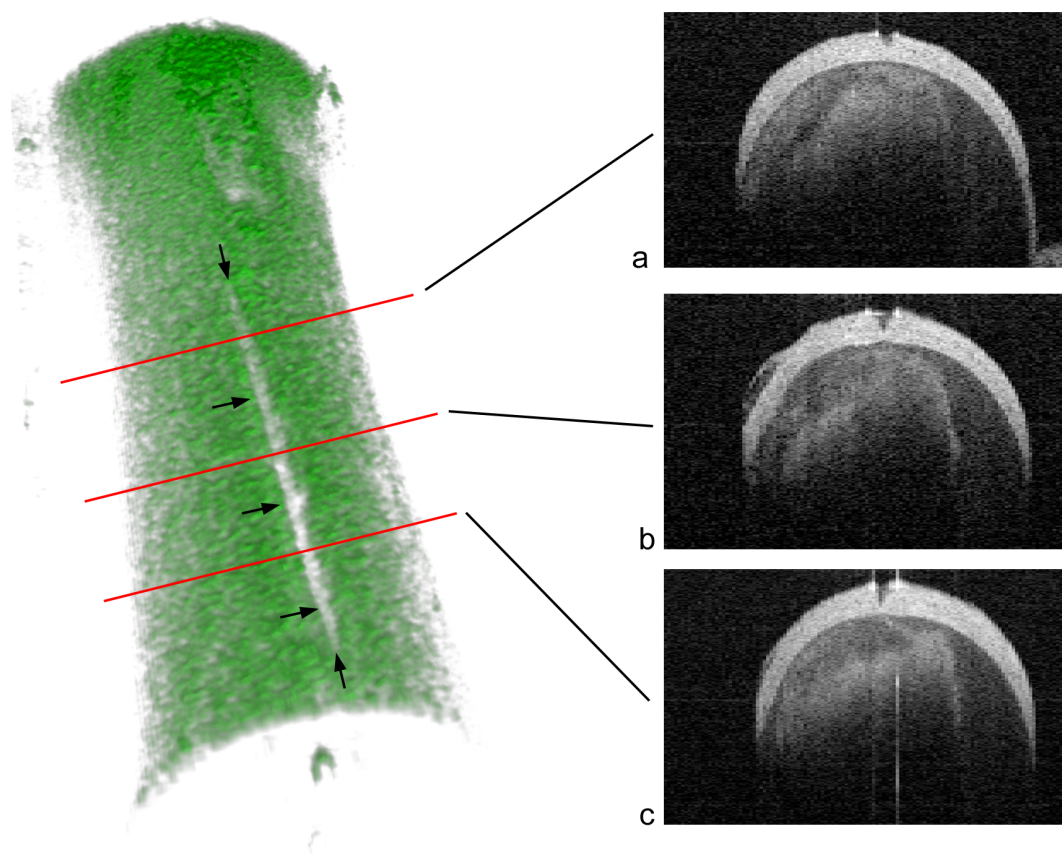


ABBILDUNG 6.16.: Applikation des zweiten Schnittes von 5 mm Länge in einer Arterie (schwarze Pfeile). Die Querschnittsbilder rechts sind mit 120 Pixeln (2,4 mm) in lateraler und 300 Pixeln (1,5 mm) in axialer Richtung erfasst worden.

tiefe ist jedoch drastisch und wird hier zu einer schlechten Darstellbarkeit der posterioren Kapsel­fläche führen. Dem kann eventuell mit einer „invertierten“ Darstellung der Linse begegnet werden, also einem auf dem Kopf stehendem Abbild mit der posterioren Fläche im Bereich der höchsten Sensi­vität.

Die aktuell darstellbare Probentiefe des eingesetzten OCT-Systems in Wasser beträgt $\approx 2,8\text{ mm}$, die optische Dicke einer humanen Linse im Alter von 40 Jahren hingegen $5,29\text{ mm}$ (siehe Kap. 6.2) [Atc02]. Das System ist bereits für die Messbereichsverdopplung mit der komplexen Datenerfassung durch einen Piezo im Referenzarm zur Modulation der Armlängendifferenz vorbereitet. Mittels dieses Verfahrens kann die Linse vollständig dargestellt werden.

Für die Anwendung im Bereich der Presbyopie-Behandlung mittels fs-Laser konnten die Linsen mittels OCT erfolgreich vor der Einbringung der Schnitte dargestellt werden. Dies wurde während sich die Applanationsplatte im Strahlengang befand, allerdings sind dann Artefakte in der Bilddarstellung zu beobachten, die auf die planparallele Platte zurückzuführen sind. Anschliessend wurden Schnitte

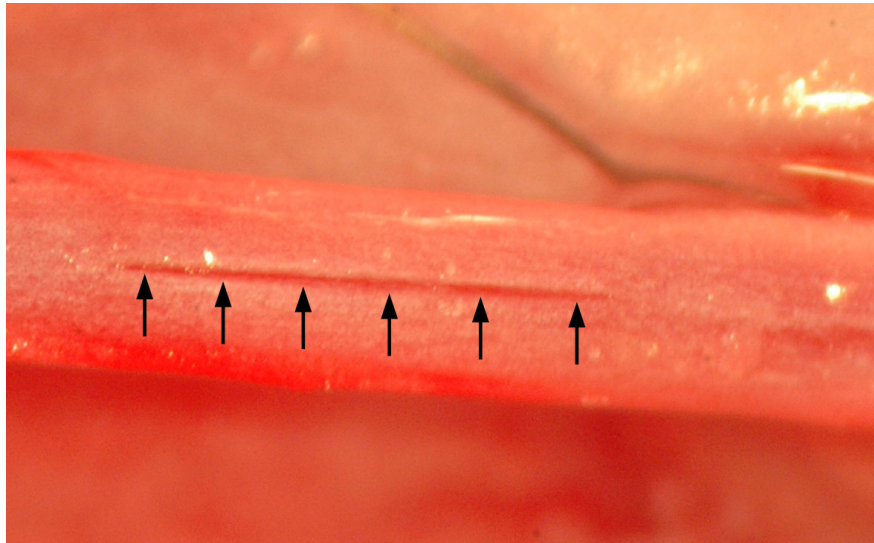


ABBILDUNG 6.17.: Vergrößerte fotografische Aufnahme des Schnittes in der Arterie. Die Schnittlänge beträgt 5 mm , der Außendurchmesser der Arterie im Mittel $1,73\text{ mm}$.

in extrahierten und noch im Bulbi befindlichen porcinen Linsen appliziert. Letztere konnten aufgrund der optischen Tiefe des vorderen Augenabschnittes von typisch $10,3\text{ mm}$ und der optischen Bildtiefe des OCT-Systems von $2,8\text{ mm}$ in Wasser nicht vollständig dargestellt werden. Die nach Kap. 6.6 durchgeführten axialen Referenzierung erlaubt hier jedoch eine präzise Schnitfführung.

Im Bereich der ELAN-Prozedur konnte erfolgreich die Schnitttiefe mit Hilfe der OCT dokumentiert und kontrolliert werden. Dies ist alternierend zur Applikation der fs-Laserschnitte möglich, da beide Anwendungen, Bildgebung und Schneiden, auf die gleichen Ressourcen, d.h. Scanner und Steuerungsmodule, zugreifen. Die Schnitte konnten dabei mit der Ablesegenauigkeit in der Größenordnung von einem Pixel dargestellt werden. Für die direkte Steuerung der Schnitttiefe ist es jedoch erforderlich, die bislang getrennten Software für die Bild- und die Schnittgebung in eine gemeinsame zu integrieren. Somit wird es möglich sein, häufiger und vor allem schneller zwischen Bildgebung und Schneiden zu wechseln und somit den gesamten Schneideprozess kleinschrittiger und präziser durchführen zu können. Dies auch interessant für die Anwendung im realen Einsatz, wobei die Arterien mit einem Innendruck beaufschlagt sind. Dadurch wölben sich die Arterien während des Schneideprozesses dem Fokus entgegen und es wird eine tiefere, ungewollte, Schnitttiefe erreicht. Der bisherige Zeitraum lässt sich dadurch stark verkürzen und Effekte durch die Trocknung des Gewebes verringern.

Die Datenerfassung von 2 kHz A-Scanrate ist ohne Datenverlust möglich, darüber kann es bei Einsatz der derzeitigen Labview-Software zum Verlust einzelner B-Scan-Datensätze kommen. Begrenzt wird dies durch die Prozessierungsdauer auf dem PC, sodass die maximale Zeilenrate der Kamera von 29 kHz nicht ausgenutzt werden kann. Mögliche Auswege sind die Programmierung in einer

TABELLE 6.1.: Abmessungen der Arterie bzw. der Schnitte darin.

Abb.	Querschnitt	Breite [mm]	Wanddicke [μm]	Verbleibende Wanddicke [μm]
6.14	a	1,74	220	220
	b	1,70	220	220
	c	1,70	210	210
6.15	a	1,71	170	160
	b	1,68	180	140
	c	1,66	180	180
6.16	a	1,74	160	100
	b	1,66	190	60
	c	1,62	190	50

Programmiersprache wie C/C++ und die Verlagerung einzelner Prozessierungsschritte auf Beschleunigerkarten wie CUDA von NVIDIA.

7. Diskussion und Ausblick

Das Ziel dieser Arbeit, die Realisierung eines „Sehenden Skalpells“, d.h. die Integration eines OCT- und fs-Laser-Systems in ein gemeinsames System konnte erfolgreich demonstriert werden. Hierzu wurden zwei verschiedene Systeme umgesetzt, die sich im Aufgabenfeld der Anwendung und damit in der technischen Umsetzung unterscheiden. Das erste System findet Anwendung in der Herstellung von histopathologischen Schnitten aus nativen Proben und verwendet eine Probenverfahung zum Abrastern der Probe. Das zweite System für die OCT-navigierte Mikrochirurgie dient der Behandlung der Presbyopie mittels fs-Laser-Lentotomie, also das gezielte Einbringen von fs-Laser-Schnitten in die Augenlinse, und der Behandlung von arteriosklerotischen Arterien durch Schnitte in der Außenwand von Blutgefäßen. In beiden Fällen konnte eine OCT-navigierte Schnittführung umgesetzt werden. Im Rahmen des Konzeptes des Sehenden Skalpells wurde weiter die spektrale Verbreiterung mittels Photonischer Kristallfaser evaluiert.

Die genutzte spektrale Verbreiterung des fs-Laser, welcher bereits im System für die Schnitapplikation vorhanden ist, nutzt dabei den Zerfall von Solitonen aus. Dieser liefert dabei durch den Zerfall von Solitonen höherer Ordnung in Fundamentalsolitonen einen langwelligen sowie einen phasenangepassten kurzwelligen Spektralanteil, die nichtsolitonische Strahlung. Um eine optische Trennung des fs-Laser-Systems von der OCT zu erzielen, soll dabei gleichzeitig eine Frequenzverschiebung erzielt werden. Bei Anregung mit Wellenlängen bei $\lambda = 1030 \text{ nm}$ liegt der langwellige Anteil dabei im infraroten Bereich, hierfür sind jedoch keine kostengünstigen Detektoren für die Fourier-Domain-OCT zu finden. Die nichtsolitonische Strahlung hingegen befindet sich im nahinfraroten Bereich, wofür kostengünstige CCD-Zeilencameras verwendet werden können. Letztere wurden daher auf ihre Eignung für die OCT hin untersucht. Innerhalb der wissenschaftlichen Literatur wird vielfach die Ausnutzung der spektralen Verbreiterung in PCF beschrieben, die gezielte Nutzung der nichtsolitonischen Strahlung wurde bisher jedoch nicht beschrieben.

Im Rahmen der erfolgten Untersuchungen konnte nichtsolitonische Strahlung bis 110 nm spektrale Breite für Faserlängen $> 500 \text{ mm}$ bzw. 60 nm für Fasern bis 300 mm Länge erzielt werden. Bei letzter Faserlänge konnte dabei ein Bereich gefunden werden, in dem die spektrale Breite über die Pulsener-

gie konstant bleibt, jedoch mit der Faserlänge variiert. Die mit diesen Parametern erreichte spektrale Breite von 60 nm bietet gegenüber kommerziell erhältlichen Superluminisenzdioden (SLDs) keinen Vorteil. Interessant ist hier jedoch die Möglichkeit zur Durchstimmbarkeit der Zentralwellenlänge der nichtsolitonischen Strahlung in Abhängigkeit der Faserlänge. Bei Verwendung von Faserlängen > 500 mm stellt die PCF jedoch eine interessante Lichtquelle für die OCT dar aufgrund der erzielten spektralen Breite von bis zu 110 nm, hier sind aber weitere Versuche bei höheren Pulsenergien auszuführen.

Die hier erzielte spektrale Verbreiterung ist dabei stark von dem ausgenutzten Parameterraum abhängig, wie die Pulsdauer, die Wellenlänge und den Chirp der Pumpquelle, die Nulldispersionswellenlänge, den Nichtlinearitätskoeffizienten sowie den Verlauf der Dispersion dritter Ordnung der verwendeten Photonischen Kristallfaser sowie deren Länge und die eingestrahlte Pulsenergie. Daher ist eine Übertragbarkeit der hier erreichten Ergebnisse und deren Parameter auf andere Lasersysteme nicht direkt möglich. Im Rahmen dieser Arbeit wurde vielmehr eine einzelne Faser unter der Betrachtung der Parameter der Faserlänge und der Pulsenergie evaluiert. Die erzielten Zentralwellenlängen liegen dabei nicht im Bereich der klassischen OCT-Wellenlängen von 830 nm bzw. 930 nm. Daher wurden in den Systemen für die fs-Laser-Mikrotomie sowie der -mikrochirurgie Superluminisenzdioden genutzt.

Die Umsetzung im Falle des Mikrotoms konnte erfolgreich unter den gegebenen Eigenschaften wie den mechanischen und optischen Anforderungen sowie vorhandenen Systemkomponenten gelöst werden. So wurde ein kommerzielles FD-OCT-System 930SR von THORLABS HL, Lübeck, in das bestehende fs-Laser-Mikrotom integriert. Das Interferometer des OCT-Systems in Form eines Handapplikators wurde hierzu durch ein Freistrahlintferometer ersetzt, die Trennung der beiden optischen Systeme erfolgt über einen dichroidischen Strahlteiler. Das im fs-Lasersystem vorhandene Objektiv konnte zur Fokussierung des OCT-Strahls genutzt werden, hierzu wurde eine geeignete Dispersionskorrektur im Referenzarm vorgesehen. Die Fokussierungen der beider Anwendungen zum Schneiden und zur Bildgebung konnten durch verschiedene Ausfüllung der Apertur des Objektivs realisiert werden. Hierbei ist die Numerische Apertur der OCT bereits durch die Divergenz des OCT-Strahls begrenzt, eine weitere Reduzierung der Strahldurchmessers hätte hier eine Verringerung der Rayleighlänge für die OCT zur Folge. Die OCT wird nicht durch das Objektiv gescannt, vielmehr erfolgt der Scan durch die mechanische Verföhrung der Probe, hierdurch muss der Winkelabhängigkeit der Dispersion keine Rechnung getragen werden. Zur Integration wurde ein Ansteuerungskonzept erstellt, welches die vorhandenen Verföhrachsen zum Scannen der Proben ausnutzt. Die Geschwindigkeit des verwendeten OCT-System beträgt 1 kHz Zeilenrate, ist damit aber ausreichend für die Art

der Datenerfassung.

Das bereits am Laser Zentrum Hannover e.V. vorhandene System zur Behandlung der Presbyopie wurde ebenfalls um ein Fourier-Domain-OCT erweitert. Dieses wurde jedoch aus einzelnen Komponenten selbstständig aufgebaut, um vollständigen Einfluss auf die optischen Parameter und die Programmierung zu erlangen. Hierzu wurden neben dem optischen Aufbau des Interferometers und der OCT-Basiseinheit, bestehend aus Detektor und Lichtquelle, die elektrische Ansteuerung der einzelnen Komponenten erarbeitet. Das Scannerkonzept sieht in diesem Fall die Nutzung der bereits in fs-Laser-System vorhandenen Galvanometerscanner vor. Die Datenverarbeitung der OCT wurde in Labview implementiert. Die so erzielten technischen Daten wie Sensitivität und Dynamikumfang sind mit denen kommerzieller Systeme vergleichbar.

Bei den beiden realisierten Systemen ist die Fokussierung der Schnitt- und der Bildgebung hinsichtlich des Öffnungswinkels verschieden, die fs-Laser benötigen zur Erzielung von ausreichenden Energiedichten Objektive mit hohen Numerischen Aperturen, wohingegen für die OCT-Systeme eine niedrige Numerische Apertur notwendig sind, um den Bildbereich innerhalb des Konfokalparameters abbilden zu können. Die für die fs-Laser notwendige starke Fokussierung konnte dabei durch eine Unterfüllung der verwendeten Objektive auf einen für die OCT-Systeme geeigneten Bereich verringert werden. Im Falle des Mikrochirurgiesystems konnte eine gemessene Rayleighlänge von $1,75 \text{ mm}$ erreicht werden, allerdings mit einer zusätzlichen Verschlechterung der lateralen Auflösung aufgrund von chromatischer Abberation durch das vorhandene Objektiv. Für das fs-Laser-Mikrotom wurde eine Rayleighlänge von $16,2 \mu\text{m}$ erzielt.

Die beiden Systeme unterscheiden sich dabei in erster Linie in der eingesetzten Scannertechnik. Während das System für die fs-Laser-Mikrotomie aufgrund des Lasers mit Repetitionsraten von 10 MHz einen schnellen Scanner in Form eines Polygonscanners benötigt, kann hier nur eine einzelne Scanlinie erzeugt werden. Zur Erzeugung von flächigen Schnitten wird die Probe dazu durch zwei mechanische Achsen verfahren. Dies ermöglicht die Verwendung eines Objektivs mit vergleichsweise kleiner Apertur. Für die OCT resultiert hieraus, dass die Probe relativ zum Strahl verfahren werden muss. Dies hat den Nachteil der Geschwindigkeitslimitierung durch die Trägheit der bewegten Massen. Zudem muss die Probe sicher fixiert werden, um ein Verrutschen während der Datenerfassung zu vermeiden. Das verwendete OCT-System weist eine feste A-Scanrate von 1 kHz auf.

Dem gegenüber verwendet das Mikrochirurgiesystem einen Laser mit einer Repetitionsrate von 100 kHz, wodurch der Einsatz von optischen Galvanometerscannern möglich ist. Der Strahl wird dabei durch ein Objektiv auf die unbewegte Probe gelenkt. Für die OCT resultiert in diesem System daraus eine gegenüber dem Mikrotomiesystem erhöhte Datenerfassungsrate von 2000 A-Scans pro Sekunde.

Die Datenerfassungsrate ist zur Zeit an Prozessierungszeit der Daten auf dem PC gebunden, um eine direkte Bildgebung zu erhalten. Schnellere Erfassungszeiten [Jun09] liessen sich durch die nachträgliche Berechnung erzielen, diese Daten dienen dann jedoch nur der Dokumentation. Eine schnellere Softwareprozessierung hingegen ließe sich durch Einsatz von Hardwarebeschleunigung erreichen, z.B. durch CUDA-Karten vom Hersteller NVIDIA [Pro09].

Im Bereich der dargestellten Anwendungen der fs-Laser-Mikrotomie, die Behandlung der Presbyopie mittels fs-Lentotomie sowie von arteriosklerotischen Arterien mittels ELAN konnte erstmals der Nutzen der OCT-Navigation der fs-Laser induzierten Photodisruption demonstriert werden. Im Bereich der Mikrotomie ist somit eine Auswahl der Schnittebene anhand der OCT möglich. Als Proben wurden sowohl transparente und streuende Weichgewebe (porcine Cornea und Stimmlippe) als auch streuendes Hartgewebe (humaner Zahn) verwendet. Bisher dauerte die für mechanische Mikrotomie notwendige Präparation der Proben wenige Stunden bis mehrere Tage. Diese Aufbereitung kann entfallen, sodass die lichtmikroskopische Beurteilung von Gewebeproben binnen weniger Minuten ermöglicht wird.

Bisher wurden fs-Laser u.a. innerhalb des klinischen Einsatzes zum Schneiden der Cornea innerhalb der fs-LASIK eingesetzt [Pal90], die Auswahl der Positionierung erfolgt hierbei über die Auflage einer Referenzfläche sowie eine Kamera. Die OCT dient dabei ausschließlich als getrenntes Gerät zur Vor- und Nachuntersuchung [Ust00, Li07]. Neuere Ansätze nutzen die Integration von OCT und fs-Laser für die OCT-geführte Kataraktbehandlung [Cul10]. Im Rahmen dieser Arbeit konnte daher erstmalig die OCT-Navigation eines fs-Lasers für die fs-Lentotomie demonstriert werden. Dabei konnte die navigierte Schnittapplikation an porcinen Linsen im extrahierten Zustand als auch an im Bulbus verbliebenen Linsen gezeigt werden. In beiden Fällen wurde das sog. *steering wheel* Muster appliziert, wobei eine Navigation der eingebrachten Schnitte erreicht werden konnte. Der Darstellbereich reicht dabei zur Zeit aus, um die humane Linse zur Hälfte darstellen zu können. Unter Verwendung der bereits vorbereiteten komplexen OCT kann hier eine vollständige Bildgebung erreicht werden. Eine Darstellung des gesamten vorderen Augenabschnittes wie in [Gor09] wurde nicht integriert, ist jedoch aufgrund der eingesetzten Referenzierungsmethoden nicht notwendig.

Bei der ELAN-Prozedur konnte die OCT erfolgreich zu Bestimmung der Schnittlage des fs-Lasers zur Arterienausseiwand und der in verschiedenen Schnitten eingebrachten Schnitttiefe genutzt werden. Die Anwendung der extraluminale Laser-Angioplastie sowie die Eignung der OCT zur Schnitttiefenkontrolle wurden bereits 2004 gezeigt [Wil04], allerdings ist im Rahmen dieser Arbeit erstmalig die Demonstration eines integrierten Systems für die ELAN-Prozedur mittels fs-Laser sowie deren Anwendung an Arterien ex-vivo gelungen. Die Eignung dieses Therapiekonzeptes wird in Kürze er-

folgen.

Wie an den Beispielen von Mikrotomie- und Presbyopiesystem gezeigt, können mit der OCT die erzeugten Schnitte dargestellt werden. Diese sind dabei bisher für die medizinische Anwendung mit Pulsenergien ausgeführt worden, die eine deutliche Gewebetrennung, d.h. die Entstehung einer kleinen Kavitationsblase, zur Folge hatten. Diese lässt sich aufgrund der Brechungsindexsprunges zwischen Gasvolumen und umgebendem Medium gut detektieren. In der Regel will man diese Art des Schnittes erreichen, um eine klare Gewebetrennung sicherzustellen. Im Falle von kaum oder nicht vorhandenen Gasvolumina, wie sie beim Schneideeffekt mittels Low-Density-Plasma hervorgerufen werden, nimmt das Detektionssignal zunehmends ab. Dieser Aufgabenbereich wurde bisher nicht untersucht, stellt jedoch einen wichtigen Punkt zur Minimierung der eingesetzten Pulsenergie und zur Überprüfung der Schnittqualität dar.

In allen Fällen der drei genannten Anwendungen konnte dies innerhalb der Auflösung der OCT-Systeme durchgeführt werden, für die Mikrotomie wurden zum Vergleich histopathologische Schnitte angefertigt. Allerdings können diese aufgrund der Schrumpfung des Gewebes [Hsi05] während deren Herstellung nicht als Methode zur Überprüfung der erreichten Referenzierung von fs-Laser und OCT dienen. Hier fehlt bislang eine geeignete Methode, die eine ausreichende Genauigkeit bei gleichzeitiger hoher Bildgebungstiefe aufweist.

Mit den realisierten Systemen ist zur Zeit eine alternierende Navigationskontrolle möglich. Inwieweit ein Onlinemonitoring bei gleichzeitigem Einsatz von OCT und fs-Laser möglich ist und das vom fs-Laser erzeugte Plasma bzw. die Gasblase mit der OCT dargestellt werden kann, muss im weiteren Aufbau des Systems verfolgt werden.

Weitere mögliche und bisher noch nicht realisierte Einsatzgebiete dieses System können kritische Bereiche sein, in denen bisher aufgrund der Nähe zu empfindlichen Strukturen keine Eingriffe durchgeführt werden konnten. Dies könnten die Entfernung von Tumoren in direkten Nähe zu Nerven sein, welche aufgrund der Bildgebung vor detektiert und nachfolgend präzise herausgeschnitten werden können. Dabei können mit dem System die Schnittparameter und -geometrie vorher definiert werden, sowie während der Behandlung überwacht und abschliessend dokumentiert werden. Je nach Zelldifferenzierbarkeit und Wiederholgenauigkeit von Bildgebung und Schnittapplikation kann auf diese Weise der Sicherheitsbereich erheblich verkleinert, mit dem „normalerweise“ Tumore oder tumorverdächtige Gewebe entfernt werden.

Durch die Zusammenführung von OCT und fs-Laser wird die präzise fs-Laser-Positionierung im Raum und die Ausrichtung an Gewebestrukturen möglich. Diese ist für die fs-Laser-Applikation der fs-Laser-Lentotomie sowie bei der Schnitttiefenkontrolle der extraluminalen fs-Laser-Angioplastie

unumgänglich. Der übliche notwendige Wechsel zwischen Bildgebung und Schnittapplikation entfällt. Im Rahmen dieser Arbeit konnte erfolgreich erstmalig die Integration von OCT- und fs-Laser-Systemen sowie deren Anwendung demonstriert werden.

Literaturverzeichnis

- [Agr07] AGRAWAL GP, *Nonlinear Fiber Optics*, Academic Press / Elsevier Inc., 2007, fourth edition Auflage.
- [Alf70] ALFANO RR, SHAPIRO SL, *Emission in the Region 4000 to 7000 Å Via Four-Photon Coupling in Glass*, Phys rev lett, **24**: 584, 1970.
- [Arn05] ARNOLD C, HEISTERKAMP A, ERTMER W, LUBATSCHOWSKI H, *Streak formation as side effect of optical breakdown during processing the bulk of transparent Kerr media with ultra-short laser pulses*, Appl Phys B: Lasers O, **80** (2): 247–253, 2005.
- [Arn07] ARNOLD C, HEISTERKAMP A, ERTMER W, LUBATSCHOWSKI H, *Computational model for nonlinear plasma formation in high NA micromachining of transparent materials and biological cells*, Opt Express, **15** (16): 10.303–10.317, 2007.
- [Atc02] ATCHISON DA, SMITH G, *Optics of the human eye*, Elsevier Science Limited, 2002.
- [Bag02] BAGAYEV SN, GELIKONOV VM, GELIKONOV GV, KARGAPOLTSEV ES, KURANOV RV, RAZHEV AM, TURCHIN IV, ZHUPIKOV AA, *Optical coherence tomography for in situ monitoring of laser corneal ablation.*, J Biomed Opt, **7** (4): 633–642, 2002.
- [Ben08] BENOZZI J, *Ophthalmic compositions of parasympathetic stimulants and antiinflammatories for the use in the treatment of presbyopia*, Patent: PCT/IB2007/003780, 2008.
- [Bir77] BIRNGRUBER R, HILLENKAMP F, STEFANI FH, GABEL VP, *Q-switched ruby laser damage of the rabbit eye lens.*, Adv Ophthalmol, **34**: 158–163, 1977.
- [Bop99] BOPPART SA, HERRMANN J, PITRIS C, STAMPER DL, BREZINSKI ME, FUJIMOTO JG, *High-resolution optical coherence tomography-guided laser ablation of surgical tissue.*, J Surg Res, **82** (2): 275–284, 1999.
- [Bou86] BOULNOIS J, *Physical processes in recent medical laser developments: A review*, Lasers Med Sci, **1** (1): 47–66, 1986.
- [Bre95] BRENNEN C, *Cavitation and Bubble dynamics*, Oxford University Press, New York, 1995.

- [Che07] CHEERS, G (HRSG), *Anatomica: Körper und Gesundheit.*, h.f.ullmann, 2007.
- [Chi97] CHINN SR, SWANSON EA, FUJIMOTO JG, *Optical coherence tomography using a frequency-tunable optical source.*, Opt Lett, **22** (5): 340–342, 1997.
- [Chu09] CHUNG SH, MAZUR E, *Surgical applications of femtosecond lasers*, J Biophoton, **2** (10): 557–572, 2009.
- [Cul10] CULBERTSON WW, SCHUELE G, WILTBERGER MW, GOODING P, ANGELEY D, FRIEDMAN NJ, SEIBEL B, TALAMO JH, PALANKER DV, BLUMENKRANZ MS, OCT-Guided Femtosecond Laser System for Cataract Surgery, in: *Cataract Surgery and Resident Training*, 2010.
- [Die06] DIELS JC, RUDOLPH W, *Ultrashort laser pulse phenomena: fundamentals, techniques, and applications on a femtosecond time scale*, Academic Press / Elsevier Inc., 2006, second edition Auflage.
- [Dre08] DREXLER W, FUJIMOTO JG, *Optical Coherence Tomography - Technology and Applications*, Springer-Verlag, 2008.
- [Dua22] DUANE A, *Studies in Monocular and Binocular Accommodation, with Their Clinical Application.*, Trans Am Ophthalmol Soc, **20**: 132–157, 1922.
- [Fer88] FERCHER AF, MENGEDOHT K, WERNER W, *Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light.*, Opt Lett, **13** (3): 186–188, 1988.
- [Fer95] FERCHER AF, HITZENBERGER CK, KAMP G, EL-ZAIAT SY, *Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry*, Optics Communications, **117**: 43–48, 1995.
- [Gla08] GLASSER A, *Restoration of accommodation: surgical options for correction of presbyopia.*, Clin Exp Optom, **91** (3): 279–295, 2008.
- [GM31] GÖPPERT-MAYER M, *Über Elementarakte mit zwei Quantensprüngen*, Dissertation, Universität Göttingen, 1931.
- [Gor09] GORA M, KARNOWSKI K, SZKULMOWSKI M, KALUZNY BJ, HUBER R, KOWALCZYK A, WOJTKOWSKI M, *Ultra high-speed swept source OCT imaging of the anterior segment of human eye at 200 kHz with adjustable imaging range.*, Opt Express, **17** (17): 14.880–14.894, 2009.
- [Hei02] HEISTERKAMP A, *Einsatz ultrakurzer Laserpulse in der refraktiven Laserchirurgie*, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2002.

- [Hei05] HEISTERKAMP A, MAXWELL I, MAZUR E, UNDERWOOD J, NICKERSON J, KUMAR S, INGBER D, *Pulse energy dependence of subcellular dissection by femtosecond laser pulses*, Opt Express, **13** (10): 3690–3696, 2005.
- [Hei09] HEIDRICH M, *Entwicklung eines 3D-OCT-Systems im Spektralbereich*, Diplomarbeit, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2009.
- [Hel55] VON HELMHOLTZ H, *Über die Akkomodation des Auges*, Graefe's Arch Clin Ophthalmol, **1**: 1–74, 1855.
- [Her02] HERRMANN J, GRIEBNER U, ZHAVORONKOV N, HUSAKOU A, NICKEL D, KNIGHT JC, WADSWORTH WJ, RUSSELL PSJ, KORN G, *Experimental evidence for supercontinuum generation by fission of higher-order solitons in photonic fibers.*, Phys Rev Lett, **88** (17): 173.901, 2002.
- [Hsi05] HSIUNG PL, NAMBIAR PR, FUJIMOTO JG, *Effect of tissue preservation on imaging using ultrahigh resolution optical coherence tomography.*, J Biomed Opt, **10** (6): 064.033, 2005.
- [Häu98] HÄUSLER G, LINDNER MW, „Coherence Radar“ and „Spectral Radar“ - New Tools for Dermatological Diagnosis, Journal of Biomedical Optics, **3** (1): 21–31, 1998.
- [Hu07] HU Z, ROLLINS AM, *Fourier domain optical coherence tomography with a linear-in-wavenumber spectrometer.*, Opt Lett, **32** (24): 3525–3527, 2007.
- [Hua91] HUANG D, SWANSON EA, LIN CP, SCHUMAN JS, STINSON WG, CHANG W, HEE MR, FLOTTE T, GREGORY K, PULIAFITO CA, *Optical coherence tomography.*, Science, **254** (5035): 1178–1181, 1991.
- [Hub06] HUBER R, WOJTKOWSKI M, FUJIMOTO JG, *Fourier Domain Mode Locking (FDML): A new laser operating regime and applications for optical coherence tomography*, Opt Express, **14** (8): 3225–3237, 2006.
- [Hus01] HUSAKOU AV, HERRMANN J, *Supercontinuum Generation of Higher-Order Solitons by Fission in Photonic Crystal Fibers*, Phys Rev Lett, **87** (20): 203.901, 2001.
- [Hus02] HUSAKOU A, *Nonlinear phenomena of ultrabroadband radiation in photonic crystal fibers and hollow waveguides*, Dissertation, Freie Universität Berlin, 2002.
- [Jun09] JUNGWIRTH J, BAUMANN B, PIRCHER M, GÖTZINGER E, HITZENBERGER CK, *Extended in vivo anterior eye-segment imaging with full-range complex spectral domain optical coherence tomography.*, J Biomed Opt, **14** (5): 050.501, 2009.
- [Kal06] KALENDER WA, *Computertomographie: Grundlagen, Gerätetechnologie, Bildqualität*,

- Anwendungen*, Publicis Corporate Publishing, Erlangen, 2006, 2. Auflage.
- [Kam99] KAMENSKY V, FELDCHEIN F, GELIKONOV V, SNOPOVA L, MURAVIOV S, MALYSHEV A, BITYURIN N, SERGEEV A, *In situ Monitoring of Laser Modification Process in Human Cataractous Lens and Porcine Cornea Using Coherence Tomography*, Journal of Biomedical Optics, **4** (1): 137–143, 1999.
- [Ken97] KENNEDY P, HAMMER D, ROCKWELL B, *Laser-induced breakdown in aqueous media*, Prog Quant Electr, **21** (3): 155–248, 1997.
- [Kue09] KUETEMEYER K, BAUMGART J, H LUBATSCHOWSKI H, HEISTERKAMP A, *Repetition rate dependency of low-density plasma effects during femtosecond-laser-based surgery of biological tissue*, Applied Physics B: Lasers and Optics, **97** (3): 695–699, 2009.
- [Kur98] KURTZ R, HORVATH H, KRUEGER R, JUHASZ T, *Lamellar Refractive Surgery with Scanned Intrastromal Picosecond and Femtosecond Laser Pulses in Animal Eyes*, J Ref Surg, **14**: 541ff, 1998.
- [Lan02] LANKENAU EM, *Optische Kohärenztomographie: Dispersive Einflüsse und Anwendungen in der medizinischen Diagnostik*, Dissertation, Medizinische Universität zu Lübeck, 2002.
- [Lau74] LAUTERBORN W, *Kavitation durch Laserlicht*, Acustica, **31** (2): 51–78, 1974.
- [Lau85] LAUTERBORN W, HENTSCHEL W, *Cavitation bubble dynamics studied by high speed photography and holography: part one*, Ultrasonics, Seiten 260–268, 1985.
- [Lei03] LEITGEB R, HITZENBERGER C, FERCHER A, *Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography*, Opt Express, **11** (8): 889–894, 2003.
- [Li07] LI Y, NETTO MV, SHEKHAR R, KRUEGER RR, HUANG D, *A Longitudinal Study of LASIK Flap and Stromal Thickness with High-speed Optical Coherence Tomography*, Ophthalmology, **114** (6): 1124–1132, 2007.
- [Liu97] LIU X, DU D, MOUROU G, *Laser ablation and micromachining with ultrashort laser pulses*, IEEE J Quantum Electron, **33** (10): 1706–1716, 1997.
- [Liu98] LIU X, KURTZ RM, BRAUN A, LIU HH, SACKS Z, JUHASZ T, *Intrastromal Corneal Surgery with Femtosecond Laser Pulses*, Conference on Lasers and Electrooptics, CLEO, **11**: 169ff, 1998.
- [Liu07] LIU B, BREZINSKI ME, *Theoretical and practical considerations on detection performance of time domain, Fourier domain, and swept source optical coherence tomography.*, J Biomed Opt, **12** (4): 044.007, 2007.

- [Mah01] MAHLSTEDT K, NETZ U, SCHÄDEL D, EBERLE HG, GROSS M, *An initial assessment of the optical properties of human laryngeal tissue.*, ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, **63** (6): 372–378, 2001.
- [Nie07] NIEMZ MH, *Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications*, Springer, 2007, 2. Auflage.
- [NKT] NKT PHOTONICS GMBH, *LMA-5: Endlessly Single-Mode 5 μm Core Fibre*, Schanzenstr. 39, 51063 Köln, lma-5-081010 Auflage.
- [Noa98] NOACK J, HAMMER D, NOOJIN G, ROCKWELL B, VOGEL A, *Influence of pulse duration on mechanical effects after laser-induced breakdown in water*, J Appl Phys, **83** (12): 7488–7495, 1998.
- [Noa99] NOACK J, VOGEL A, *Laser-induced plasma formation in water at nanosecond to femtosecond time scales: calculation of thresholds, absorption coefficients, and energy density*, IEEE J Quantum Electron, **35** (8): 1156–1167, 1999.
- [Nut81] NUTTALL AH, *Some windows with very good sidelobe behavior*, IEEE Transactions on acoustics, speech, and signal processing, **ASSP-29** (1): 84–91, 1981.
- [Oet08] OETTLIN A, *Analyse und Entwicklung von optischen Kohärenztomographen im Frequenzbereich*, Diplomarbeit, Technische Universität Hamburg-Harburg, 2008.
- [Oh06] OH WY, YUN SH, VAKOC BJ, TEARNEY GJ, BOUMA BE, *Ultra-high-speed optical frequency domain imaging and application to laser ablation monitoring*, Applied Physics Letters, **88** (10): 103902, 2006.
- [Pal90] PALLIKARIS IG, PAPTANAKI ME, STATHI EZ, FRENSCHOCK O, GEORGIADIS A, *Laser in situ keratomileusis.*, Lasers Surg Med, **10** (5): 463–468, 1990.
- [Pal99] PALTAUF G, SCHMIDT-KLOIBER H, *Photoacoustic cavitation in spherical and cylindrical absorbers*, Appl Phys A: Mater Sci Process, **68** (5): 525–531, 1999.
- [Pas08] PASCHOTTA R, *Encyclopedia of Laser Physics and Technology*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2008.
- [Pro09] PROBST J, KOCH P, HÜTTMANN G, *Real-time 3D rendering of optical coherence tomography volumetric data*, in: ANDERSEN PE, BOUMA BE (Hg.), *Optical Coherence Tomography and Coherence Techniques IV*, SPIE, 2009, Band 7372, Seite 73720Q.
- [Rip07] RIPKEN T, *Anwendung von MHz-fs-Lasern in der Ophthalmologie und Erarbeitung eines Therapiekonzeptes für die laserassistierte Behandlung der Alterweitsichtigkeit*, Dissertation,

- Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2007.
- [Rip08a] RIPKEN T, *Regaining presbyopic lens accommodation - Approaching the last frontier in ophthalmology*, *Ophthalmology Times Europe*, **4** (1): 18–21, 2008.
- [Rip08b] RIPKEN T, OBERHEIDE U, FROMM M, SCHUMACHER S, GERTEN G, LUBATSCHOWSKI H, *fs-Laser induced elasticity changes to improve presbyopic lens accommodation.*, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, **246** (6): 897–906, 2008.
- [Roh09] ROHRBECK N, *Entwicklung eines OCT-gestützten Laryngoskops zur kontaktfreien Untersuchung von Kehlkopferkrankungen*, Diplomarbeit, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2009.
- [Say06] SAYINC H, *Superkontinuumerzeugung mit einem Ultrakurzpuls Ytterbium-Faserlaser*, Diplomarbeit, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2006.
- [Sch96] SCHEGGI AM, MARTELLUCCI S, CHESTER AN, *Biomedical Optical Instrumentation And Laser-assisted Biotechnology*, Kluwer Academic Publishers, 1996.
- [Sch99] SCHMITT J, *Optical coherence tomography (OCT): a review*, *Selected Topics in Quantum Electronics*, *IEEE Journal of*, **5** (4): 1205–1215, 1999.
- [Sch01] SCHAFFER C, BRODEUR A, MAZUR E, *Laser-induced breakdown and damage in bulk transparent materials induced by tightly focused femtosecond laser pulses*, *Meas Sci Technol*, **12**: 1784–1794, 2001.
- [Sch06] SCHÜNKE M, SCHULTE E, SCHUMACHER U, VOLL M, *PROMETHEUS Lernatlas der Anatomie, Band: Kopf und Neuroanatomie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2006.
- [Sch09] SCHUMACHER S, *Entwicklung einer Ultrakurzpuls-Laserapplikationseinheit zur Behandlung der Alterweitsichtigkeit*, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2009.
- [Sha01] SHAKHOV AV, TERENTJEVA AB, KAMENSKY VA, SNOPOVA LB, GELIKONOV VM, FELDCHTEIN FI, SERGEEV AM, *Optical coherence tomography monitoring for laser surgery of laryngeal carcinoma.*, *J Surg Oncol*, **77** (4): 253–258, 2001.
- [Sie91] SIEGMAN A, SASNETT M, JOHNSON T, *Choice of clip levels for beam width measurement using knife-edge techniques*, *IEEE J Quantum Electron*, **27**: 1089ff, 1991.
- [Spö08] SPÖLER F, *Neue Methoden und Applikationen für die hochauflösende optische Kohärenztomographie*, Dissertation, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, 2008.

- [Sta09] STATISTISCHES BUNDESAMT DEUTSCHLAND, 12. koordinierte Bevölkerungsvorausbe-
rechnung, <http://www.destatis.de/bevoelkerungspyramide> [04.03.2010], 2009.
- [Sud02] SUDRIE L, COUAIRON A, FRANCO M, LAMOUREUX B, PRADE B, TZORTZAKIS S, MY-
SYROWICZ A, *Femtosecond laser-induced damage and filamentary propagation in fused
silica*, Phys rev lett, **89** (18): 186.601, 2002.
- [Til06] TILL J, BLUM R, *Presbyopia treatment by lens alteration*, Patent: PCT/US2005/036434,
2006.
- [Tin09] TINNE N, SCHUMACHER S, NUZZ V, RIPKEN T, LUBATSCHOWSKI H, Dynamic and
interaction of fs-laser induced cavitation bubbles for analyzing the cutting effect, in: SRO-
KA R, LILGE LD (Hg.), *Therapeutic Laser Applications and Laser-Tissue Interactions IV*,
2009.
- [Tin10] TINNE N, RIPKEN T, LUBATSCHOWSKI H, Interaction dynamics of temporal and spatial
separated cavitation bubbles in water, in: JANSEN ED, THOMAS RJ (Hg.), *Optical Interac-
tions with Tissues and Cells XXI*, 2010.
- [Tro83] TROKEL S, SRINIVASAN R, BRAREN B, *Excimer laser surgery of the cornea*, Am J Oph-
thalmol, **96** (6): 710–5, 1983.
- [Ust00] USTUNDAG C, BAHCECIOGLU H, OZDAMAR A, ARAS C, YILDIRIM R, OZKAN S, *Op-
tical coherence tomography for evaluation of anatomical changes in the cornea after laser
in situ keratomileusis*, Journal of Cataract and Refractive Surgery, **26** (10), 2000.
- [Vog96] VOGEL J, NAHEN K, THEISEN D, NOACK J, *Plasma formation in water by picosecond and
nanosecond Nd:YAG laser pulses - Part I: Optical breakdown at threshold and superthres-
hold irradiance*, IEEE J Quantum Electron, **2** (4): 847–860, 1996.
- [Vog98] VOGEL A, NOACK J, NAHEN K, THEISEN D, BIRNGRUBER R, HAMMER DX, NOOJIN
GD, ROCKWELL BA, Laser-induced breakdown in the eye at pulse durations from 80 ns to
100 fs, in: NEEV J (Hg.), *Applications of Ultrashort-Pulse Lasers in Medicine and Biology*,
3255, 1998, Seiten 34–49.
- [Vog99] VOGEL A, NOACK J, NAHEN K, THEISEN D, BUSCH S, PARLITZ U, HAMMER D, NOO-
JIN G, ROCKWELL B, BIRNGRUBER R, *Energy balance of optical breakdown in water at
nanosecond to femtosecond time scales*, Appl Phys B, **68** (2): 271–280, 1999.
- [Vog03] VOGEL A, VENUGOPALAN V, *Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues*,
Chemical Reviews, **103** (2): 577–644, 2003.

- [Vog05] VOGEL A, NOACK J, HÜTTMANN G, PALTAUF G, *Mechanisms of femtosecond laser nanosurgery of cells and tissues*, Applied Physics B: Lasers and Optics, **81** (8): 1015–1047, 2005.
- [Vog08] VOGEL A, LINZ N, FREIDANK S, PALTAUF G, *Femtosecond-laser-induced nanocavitation in water: Implications for optical breakdown threshold and cell surgery*, Phys rev lett, **100** (3): 038.102, 2008.
- [Wil76] WILLIAMS F, VARMA S, HILLENUS S, *Liquid water as a lone-pair amorphous semiconductor*, J Chem Phys, **64**: 1549ff, 1976.
- [Wil04] WILL F, *Untersuchungen zur extraluminale Laserangioplastie und Entwicklung von Methoden zur Therapiekontrolle*, Dissertation, Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2004.
- [Wil07] WILL FG, BLOCK T, MENNE P, LUBATSCHOWSKI H, Laser microtome: all optical preparation of thin tissue samples, in: NEEV J, NOLTE S, HEISTERKAMP A, SCHAFFER CB (Hg.), *Commercial and Biomedical Applications of Ultrafast Lasers VII*, 2007, Proc. SPIE, Band 6460.
- [Woj02] WOJTKOWSKI M, KOWALCZYK A, LEITGEB R, FERCHER AF, *Full range complex spectral optical coherence tomography technique in eye imaging*, Opt Lett, **27** (16): 1415–1417, 2002.

A. Spezifikationen der dichroidischen Strahlteiler

Mikrochirurgie-System

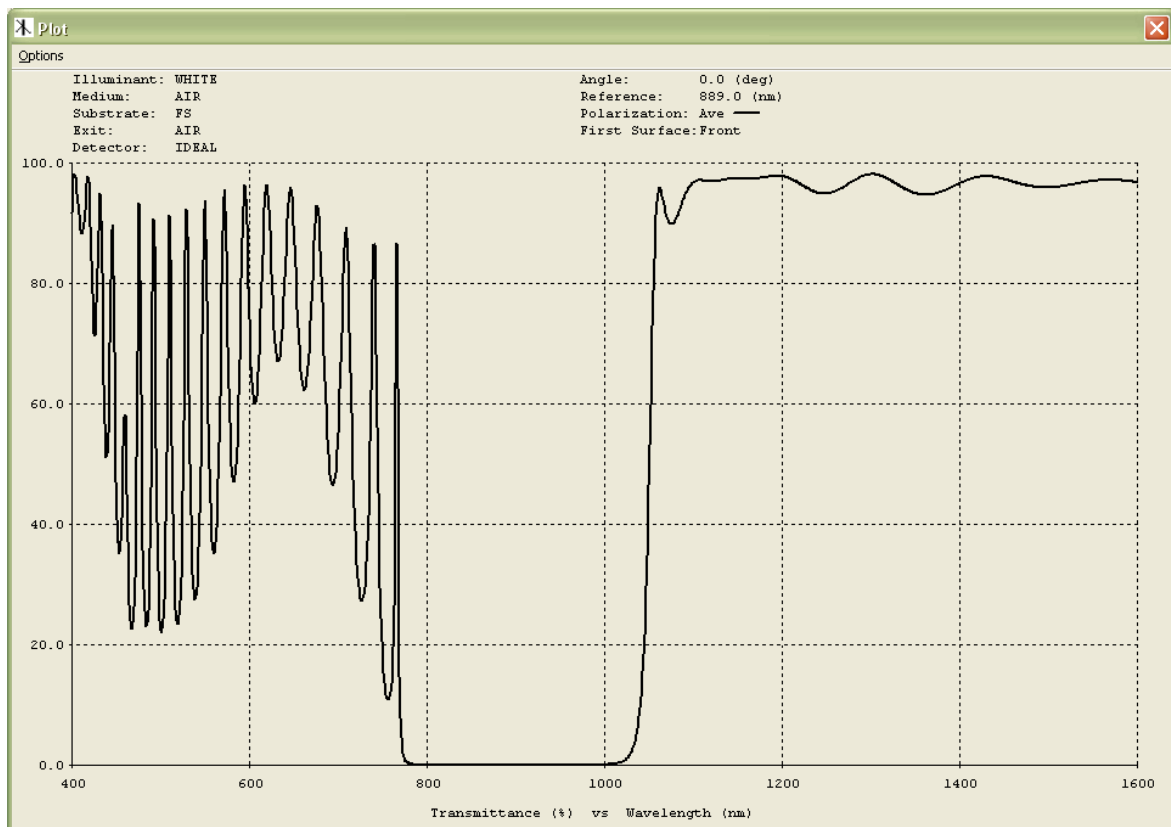


ABBILDUNG A.1.: Transmissionsdiagramm unter 0° Strahleinfall

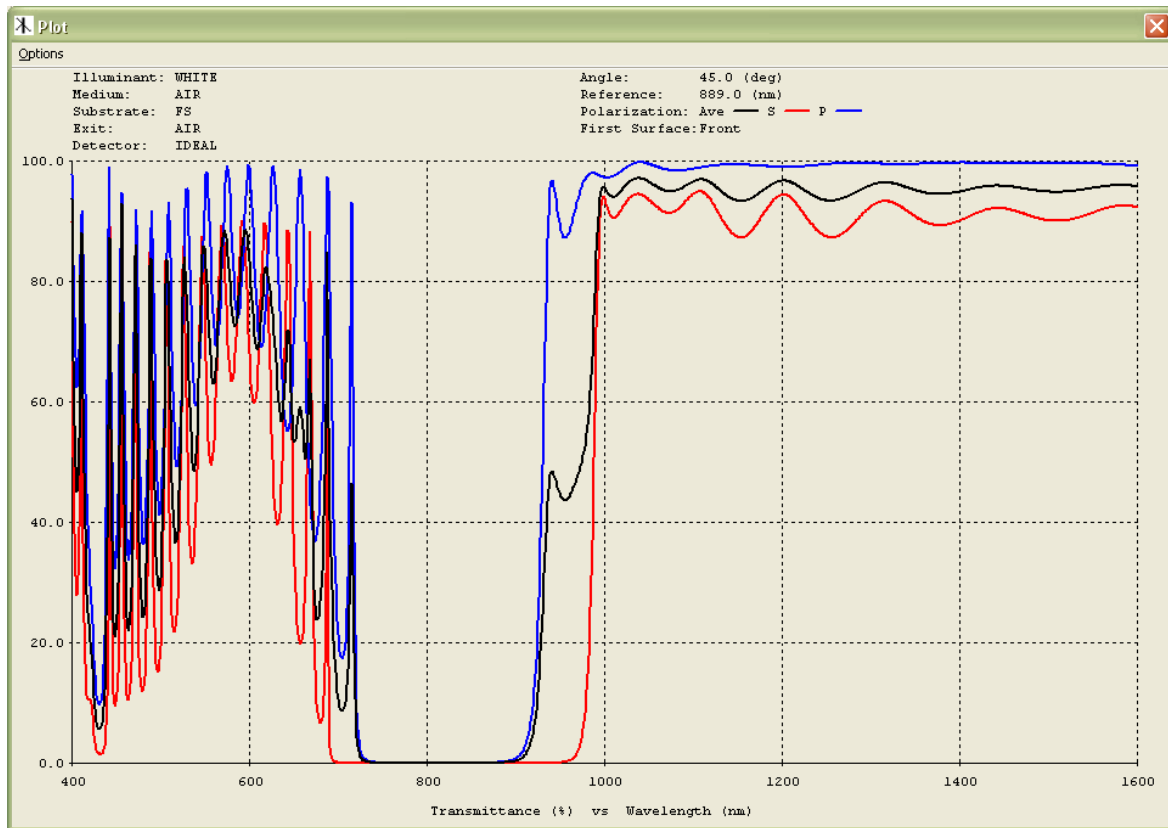


ABBILDUNG A.2.: Transmissionsdiagramm der S- und P-Polarisation unter 45° Strahleinfall

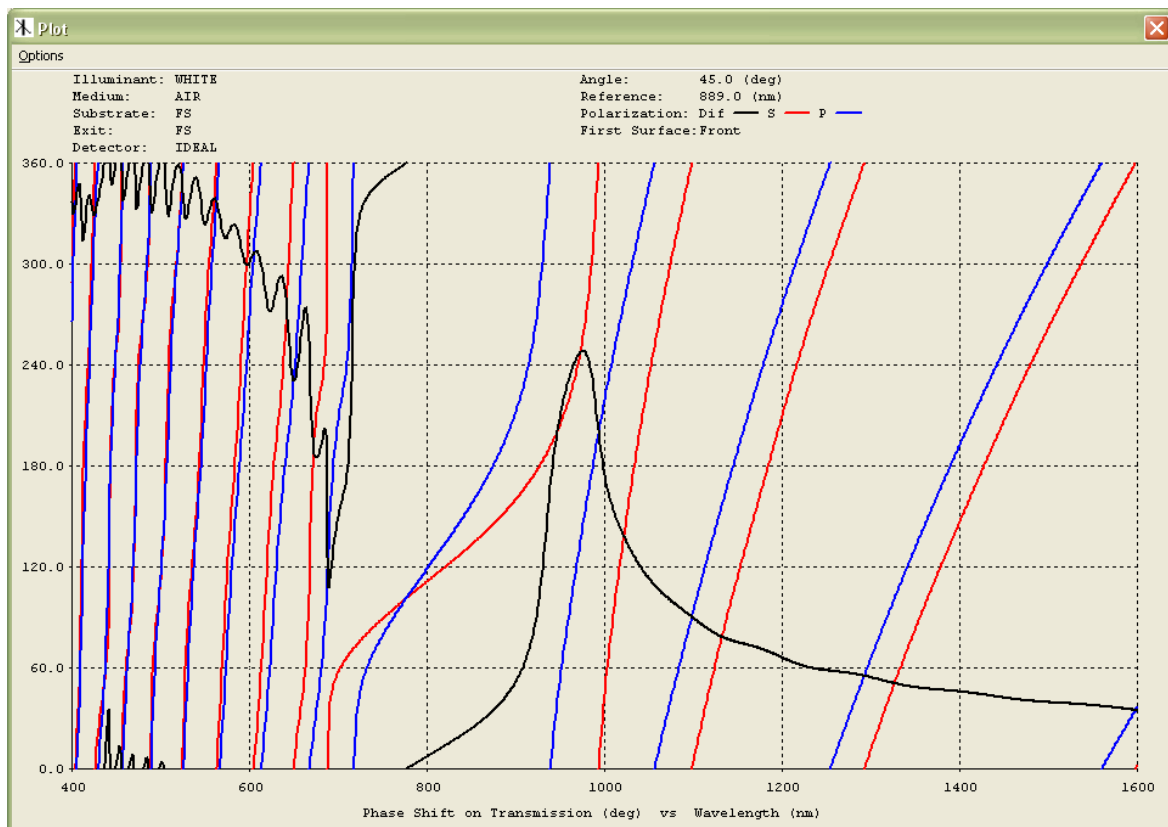


ABBILDUNG A.3.: Phasengang in Transmission unter 45° Strahleinfall

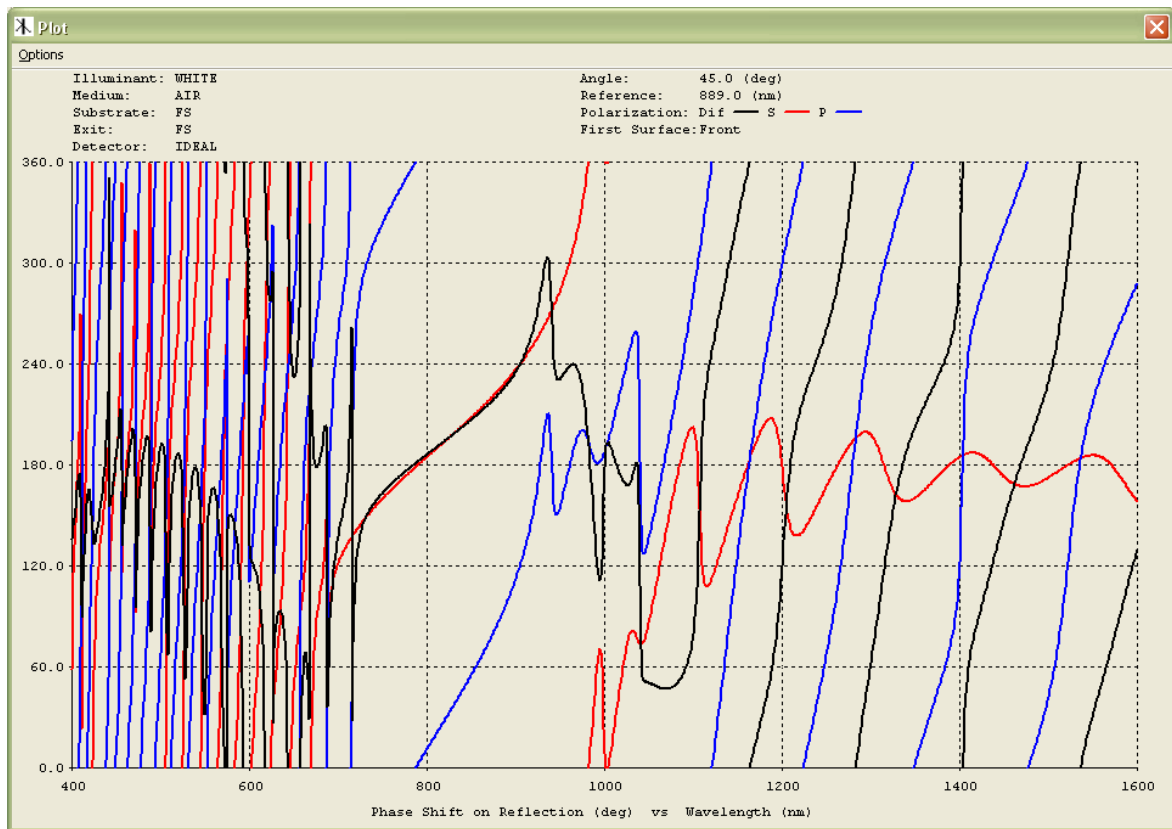


ABBILDUNG A.4.: Phasengang in Reflexion unter 45° Strahleinfall

Mikrotomie-System

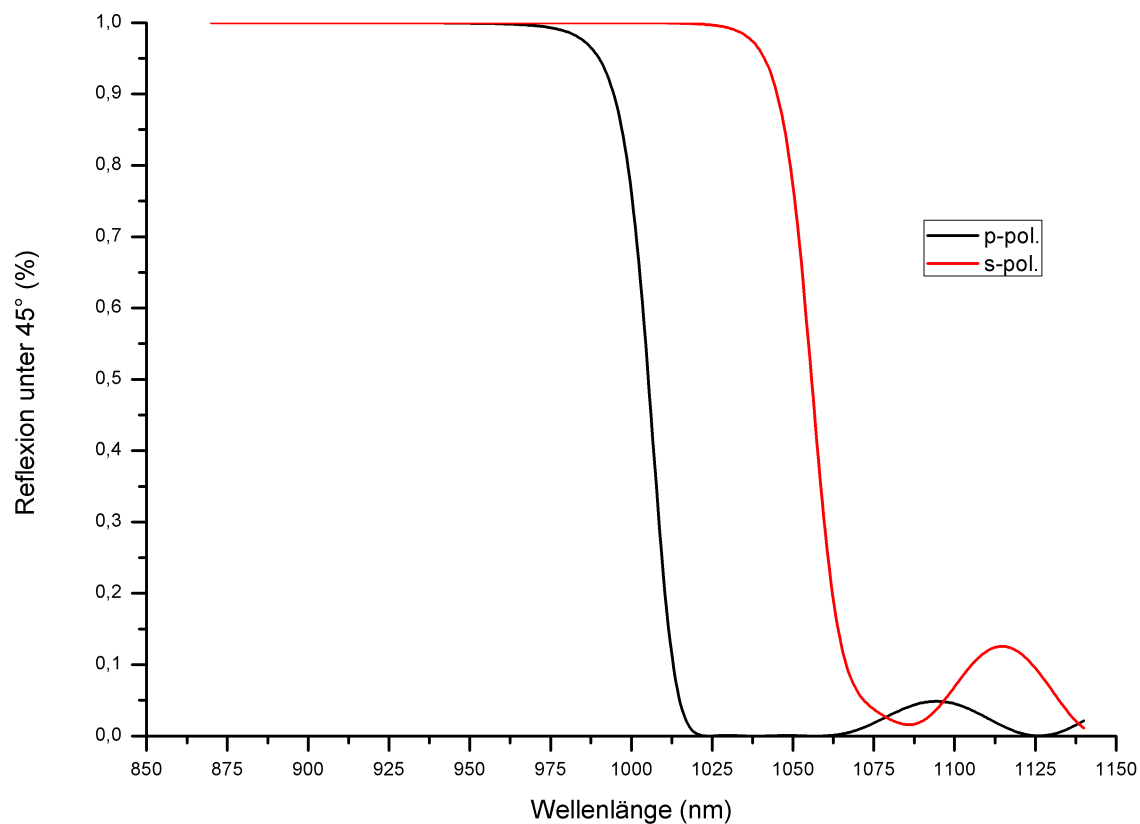


ABBILDUNG A.5.: Reflexionsverlauf für den dichroidischen Filter des fs-Laser-Mikrotoms

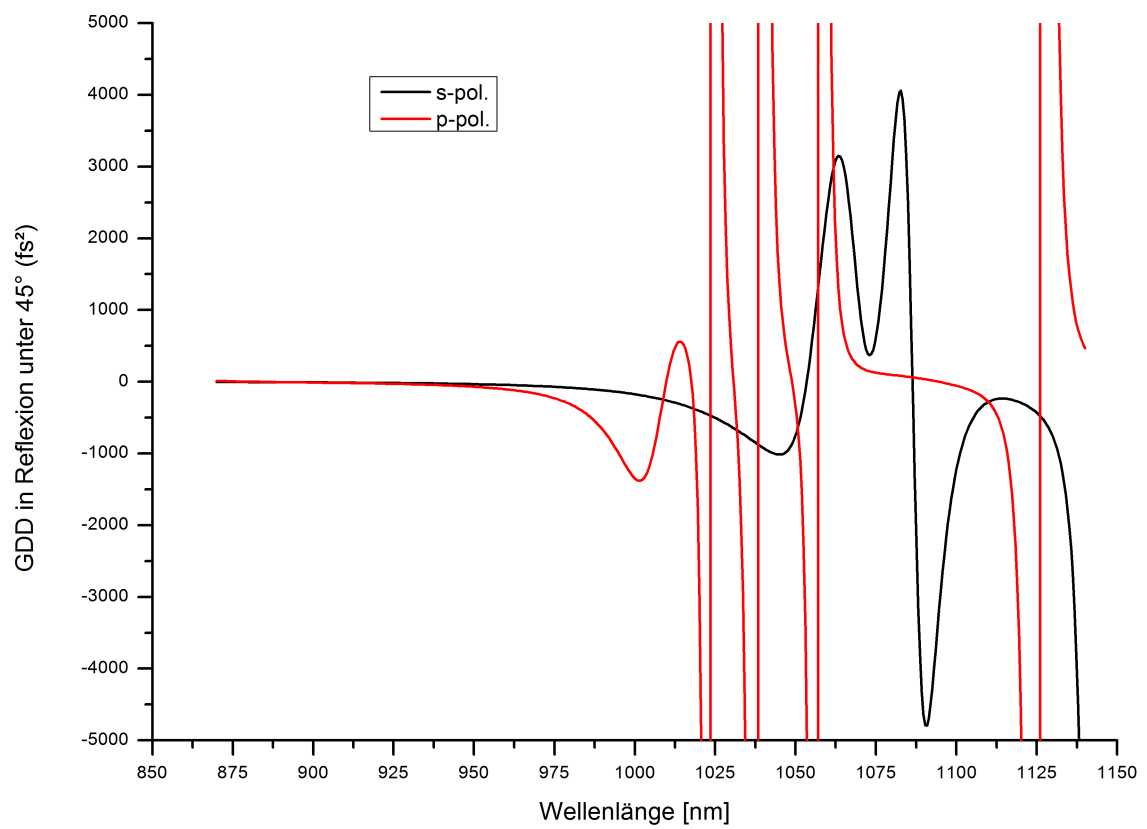


ABBILDUNG A.6.: Verlauf der Gruppengeschwindigkeitsdispersion für den dichroidischen Filter des fs-Laser-Mikrotoms

B. Parameter des Positioniersystems

TABELLE B.1.: Technische Parameter des Positioniersystems für Mikrotomie.

Parameter	X-Y-Achse	Z-Achse
Verfahrweg [mm]	50 x 50	10
Genauigkeit [μm]	-	3
Wiederholgenauigkeit [counts]	± 2	± 2
Rel. Geradheits-/ Ebenheitsabweichung [μm]	± 1	$\pm 0,5$
Max. Geschwindigkeit [mm/s]	200	5
Max. Beschleunigung [m/s^2]	10	-
Max. Belastung [N]	10	5
Öffnung [mm]	40	-

C. Datenblatt der PCF



Nonlinear Photonic Crystal Fibers for 1060 nm Pumping

Description

Photonic crystal fibers use a microstructured cladding region with air holes to guide light in a pure silica core, giving rise to novel functionalities. These nonlinear photonic crystal fibers combine a very small effective mode field area and zero dispersion to allow efficient supercontinuum generation with 1060 nm pump sources. The fibers are available with hermetically sealed ends and FC/PC connectors or could be spliced to standard single mode fiber or large mode area PCF on a custom order basis.

Fiber Properties

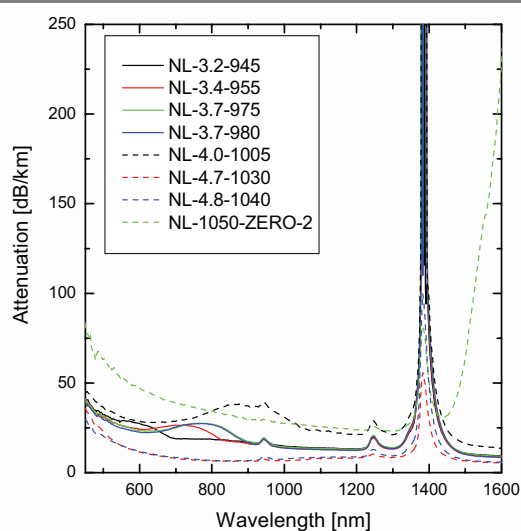
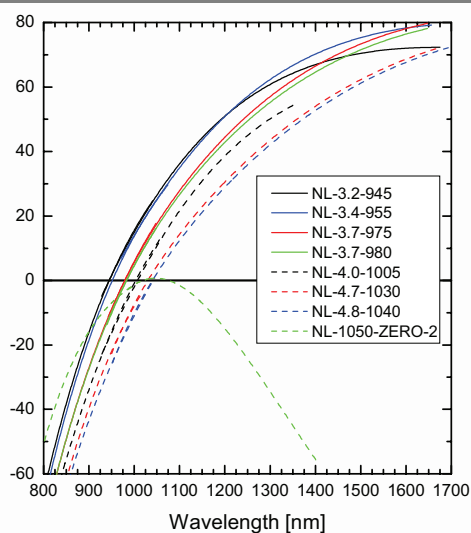
Item Name	C,S	Core Diameter [μm]	Cladding Diameter [μm]	Estimated Zero Dispersion Wavelength [nm]	Attenuation @ 1060 nm [dB/km]	Cut-off Wavelength [nm]	Mode Field Diameter [μm]	NA @ 1060 nm [5 %]	γ @ 1060 nm [Wkm ⁻¹]
NL-3.2-945		3.2	137	945	<20	730	2.8	0.29	23
NL-3.4-955		3.4	145	955	<20	775	2.9	0.28	22
NL-3.7-975		3.7	158	975	<20	845	3.1	0.27	19
NL-3.7-980		3.7	158	980	<20	930	3.1	0.26	18
NL-4.0-1005		4.0	173	1005	<35	1015	3.4	0.24	16
NL-4.7-1030	S	4.7	124	1030	<15	1024	3.8	0.21	12
NL-4.8-1040	S	4.8	125	1040	<15	880	4.0	0.20	11
NL-1050-ZERO-2		2.3	127	1050	<30	300	2.2	0.37	37

C: Available with hermetically sealed ends and Connectors

S: Available with Splicing to standard fiber

All fibers can be provided with connectors and standard fiber pigtails on a custom order basis.

Dispersion and attenuation

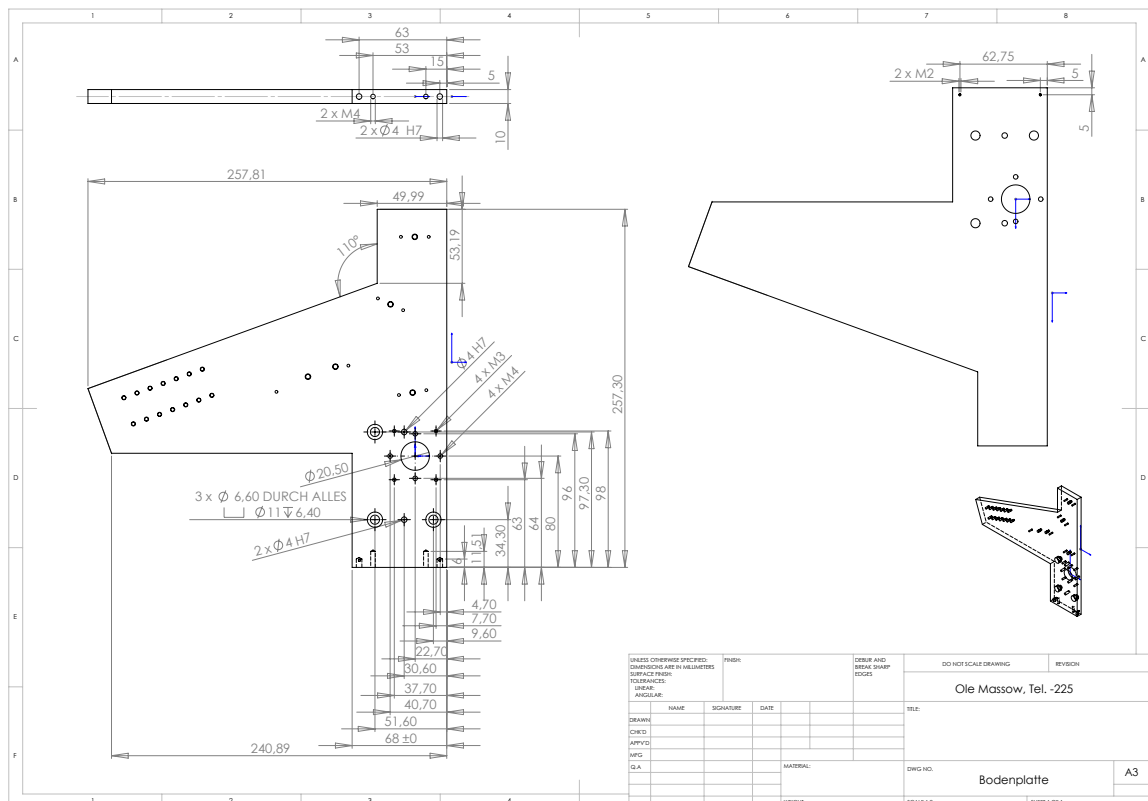


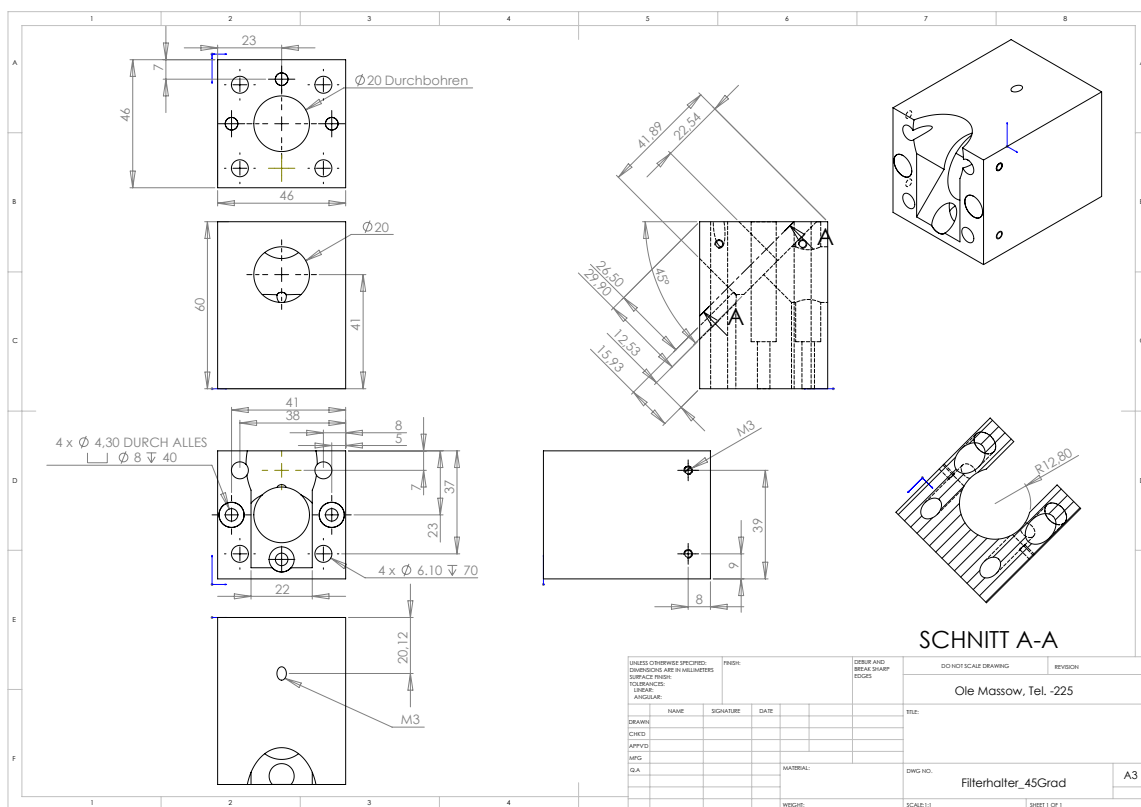
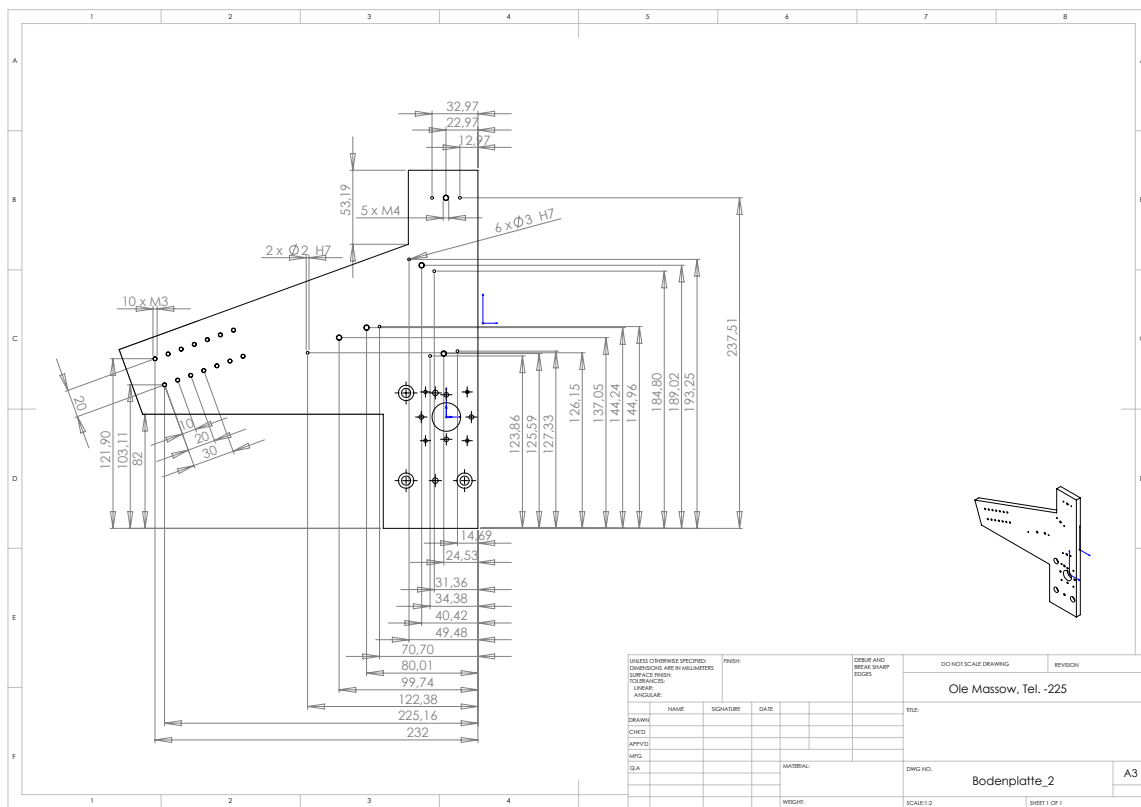
D. Konstruktionszeichnungen

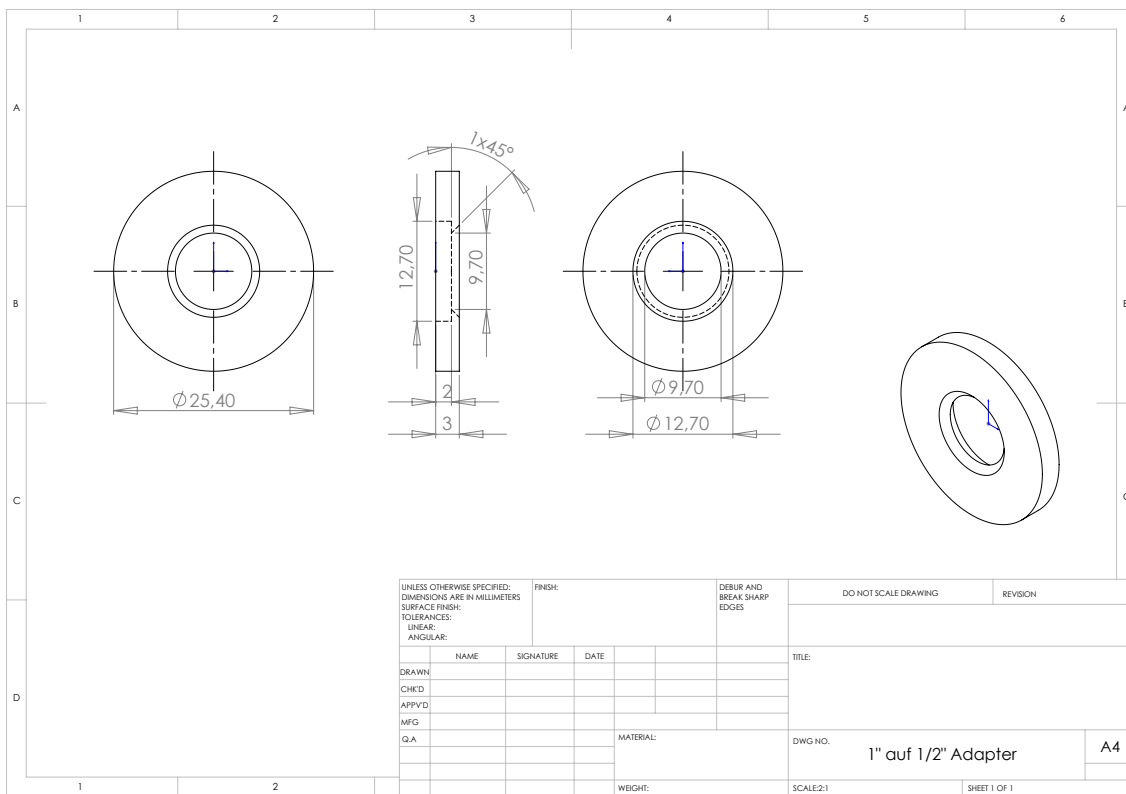
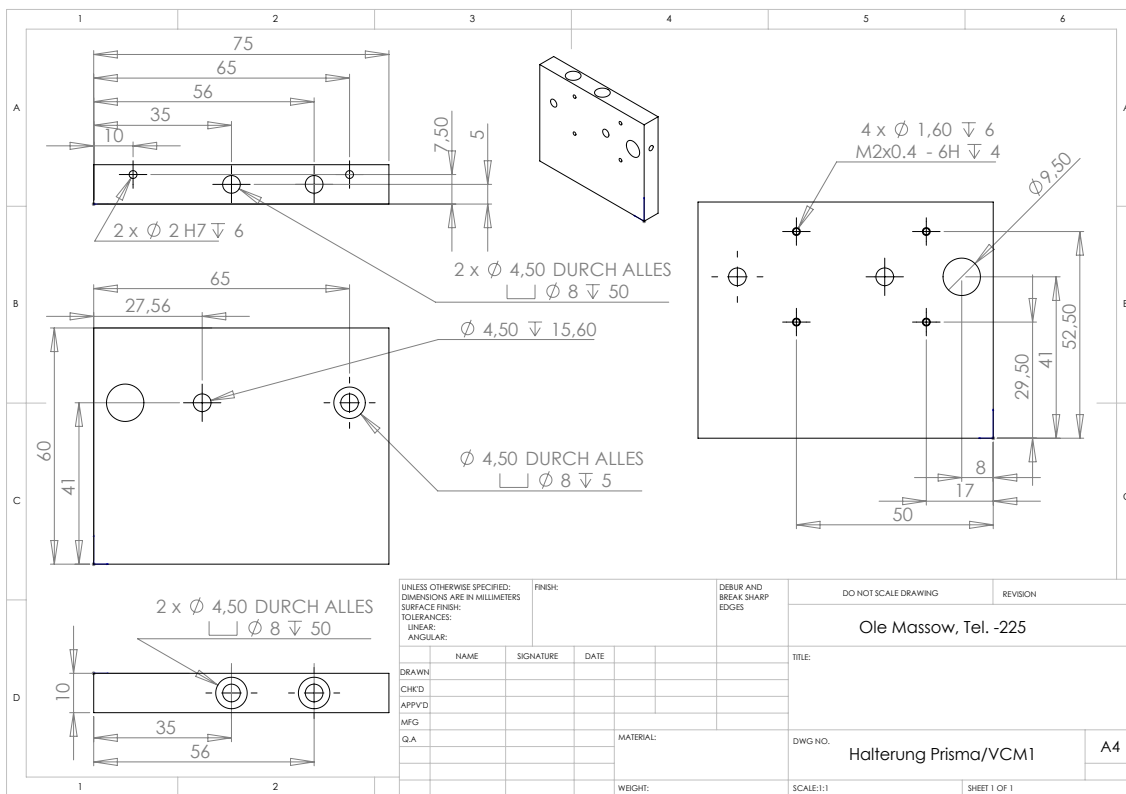
OCT-Modul des Mikrotoms

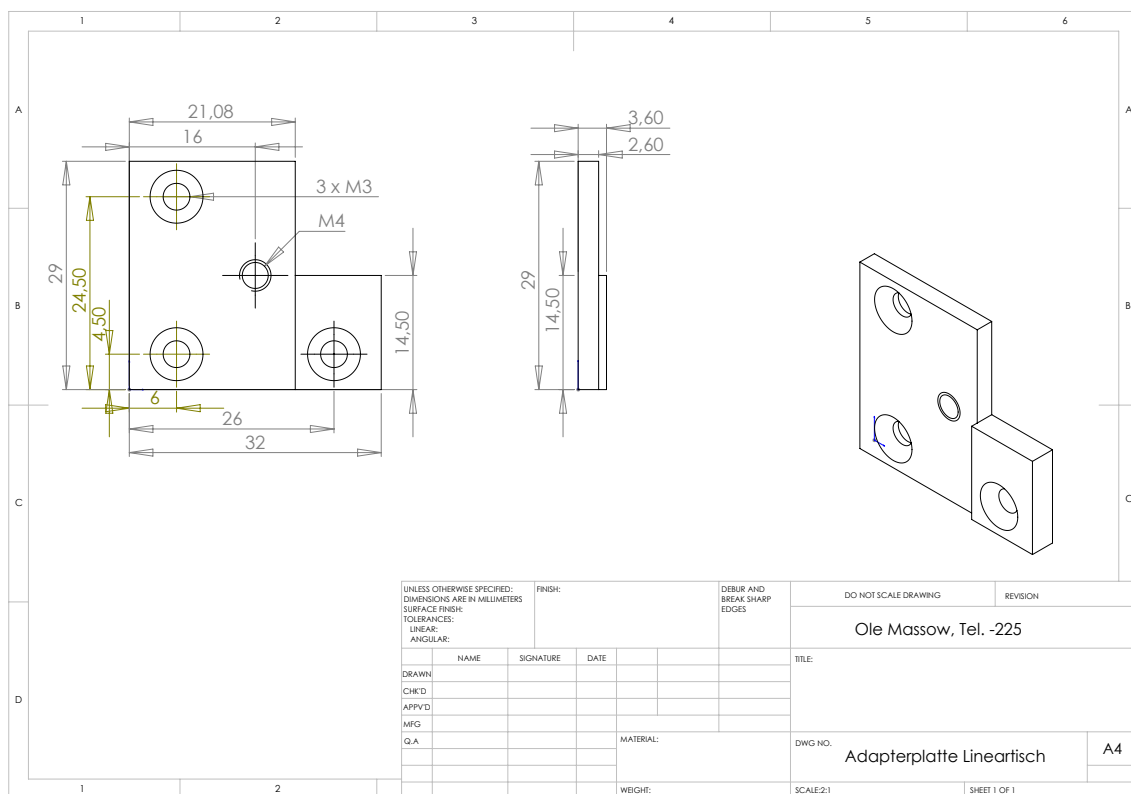
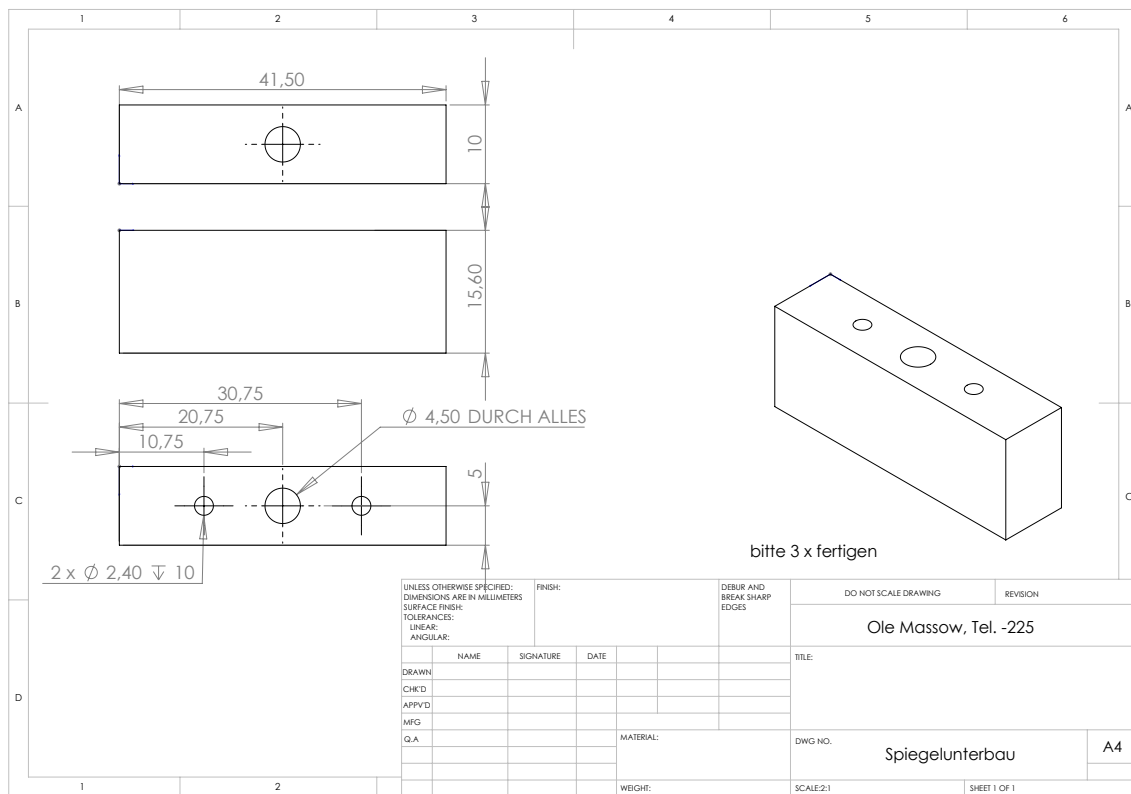
Das hier dargestellte OCT-Modul stellt das erste Modell dar, mittlerweile ist eine vollständig überarbeitete Variante in Verwendung.

OCT-Modul des Presbyopiesystems

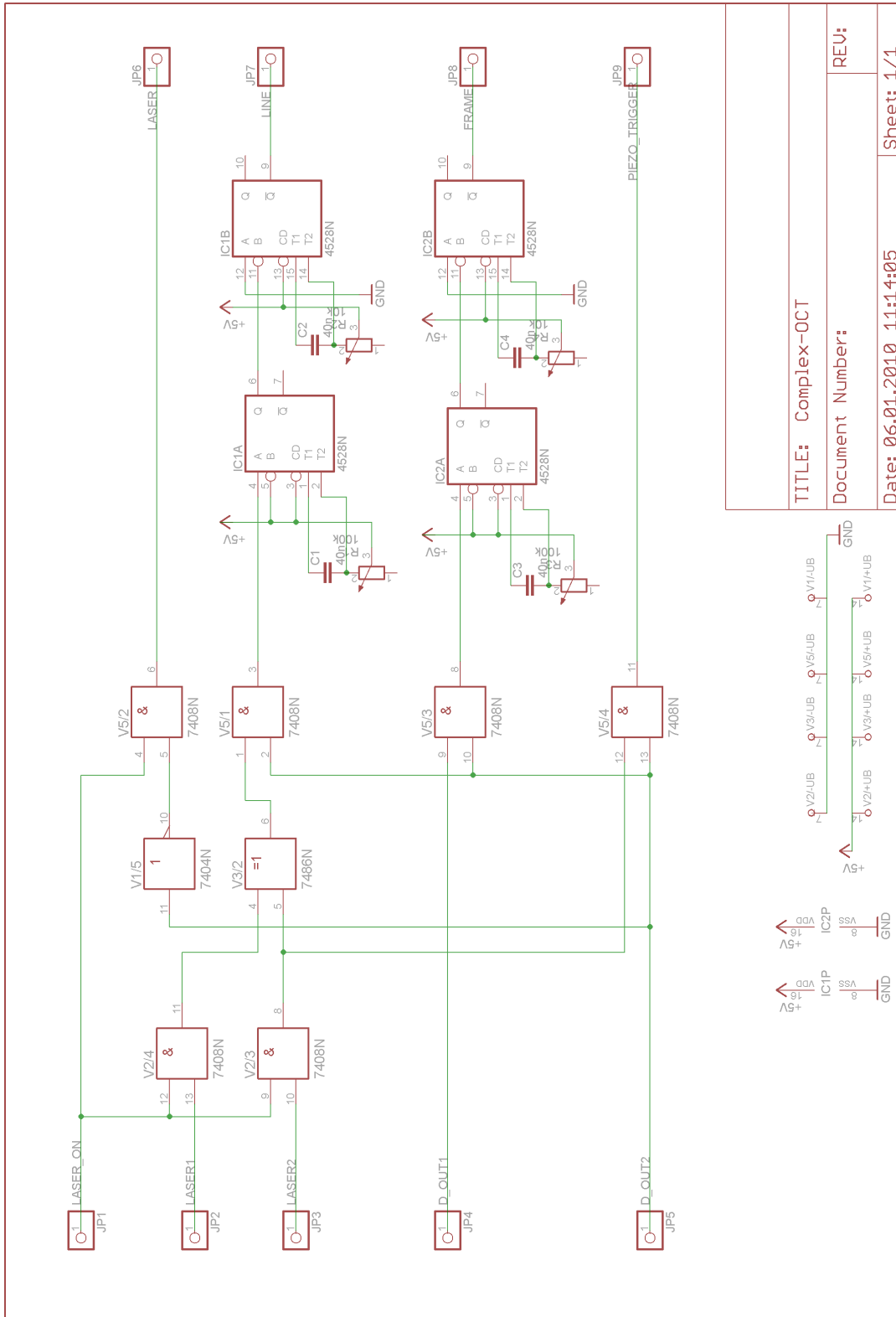








E. Schaltpläne



TITLE: Complex-OCT	
Document Number:	
Date: 06.01.2010 11:14:05	Sheet: 1/1

ABBILDUNG E.1.: Elektrischer Schaltplan der zusätzlichen Elektronik für die Synchronisation von der Ansteuerungskarte RTC5 und der CCD-Kamera.

F. Liste der Veröffentlichungen

O. MASSOW, F. WILL, H. LUBATSCHOWSKI

OCT-aided femtosecond laser micromachining device,

Proc. SPIE Commercial and Biomedical Applications of Ultrafast Lasers IX, Vol. 7203, 720307,
DOI: 10.1117/12.808754, 2009

O. MASSOW, F. WILL, H. LUBATSCHOWSKI

Femtosecond laser microsurgery system controlled by optical coherence tomography,

Proc. SPIE Commercial and Biomedical Applications of Ultrafast Lasers VIII, Vol. 6881, 688106,
DOI: 10.1117/12.761714, 2008

O. MASSOW, F. WILL, H. LUBATSCHOWSKI

Optical coherence tomography controlled femtosecond laser microsurgery system,

Proc. SPIE Optical Coherence Tomography and Coherence Techniques III, Vol. 6627, 662717, DOI:
10.1117/12.728348, 2007

O. KERMANI, F. WILL, O. MASSOW, U. OBERHEIDE, H. LUBATSCHOWSKI,

Control of Femtosecond Thin-flap LASIK Using OCT in Human Donor Eyes,

J. Refractive Surgery, Vol. 26, No. 1, 2010

O. KERMANI, U. OBERHEIDE, F. WILL, O. MASSOW, H. LUBATSCHOWSKI,

Echtzeitsteuerung einer Femtosekundenlaser Sub-Bowman-Keratomektomie an humanen Spenderaugen mittels optischer Kohärenztomographie,

Klin. Monatsblätter Augenheilkunde, Vol. 226, S. 965-969, DOI: 10.1055/s-0028-1109682, 2009

S. DONNER, F. WITTE, I. BARTSCH, F. PETRAGLIA, O. MASSOW, M. HEIDRICH, H. LUBATSCHOWSKI, A. HEISTERKAMP, A. KRUGER,

In vivo optical coherence tomography of percutaneous implants in hairless mice,

Proc. SPIE Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XIV, Vol. 7554, No. 1, DOI: 10.1117/12.841640, 2010

G. I. WENZEL, S. BALSTER, K. ZHANG, H. H. LIM, U. REICH, O. MASSOW, H. LUBATSCHOW-

SKI, W. ERTMER, T. LENARZ, G. REUTER,

Cochlear activation using green laser light stimulation,

Journal of Biomedical Optics, Vol. 14, 044007, doi:10.1117/1.3174389, 2009

G. I. WENZEL, S. BALSTER, K. ZHANG, H. H. LIM, U. REICH, H. LUBATSCHOWSKI, W. ERTMER, O. MASSOW, T. LENARZ, G. REUTER,

Stimulation of the cochlea using green laser light,

Proc. SPIE Photonic Therapeutics and Diagnostics V, Vol. 7161, 71611Z, 2008

Anmerkung: Ein Teil der in dieser Arbeit vorgestellten Ergebnisse wurden aus Prioritätsgründen bereits vorveröffentlicht und ist in der Liste der Veröffentlichungen enthalten.

G. Lebenslauf

Zur Person:

Name:	Ole Massow
Geburtsdatum:	22. November 1980
Geburtsort:	Münster
Eltern:	Jochen Massow Margret Massow geb. Kannenbrock
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Familienstand:	ledig
Kinder:	keine

Ausbildung und beruflicher Werdegang:

Beruflicher Werdegang

seit 02/2006	Wissenschaftlicher Mitarbeiter des Laser Zentrum Hannover e.V.
04/2005 bis 09/2005	Diplomarbeit bei LINOS Photonics GmbH & Co. KG, Göttingen
08/2003 bis 12/2003	Praxissemester am Laser Zentrum Hannover e.V., Hannover
02/2002 bis 02/2003	Mitarbeiter im PhotonicNet, Göttingen

Ausbildung

seit 02/2006	Promotionsstudium an der Universität Hannover im Bereich Lasermedizin
05/2009	Zulassung zur Promotion an der Universität Hannover
09/2001 bis 09/2005	Studium der Fachrichtung Physiktechnik an der Fachhochschule Hildesheim/Holzminde/Göttingen in Göttingen mit Abschluss „Dipl.-Ing. (FH) Physiktechnik“
2000 bis 2001	Zivildienst im Mutter-Kind-Kurheim Müden
1993 bis 2000	Christian-Gymnasium Hermannsburg, Hermannsburg

Danke...

sage ich all denen, die ihren Einfluss auf das Gelingen dieser Arbeit hatten, sei es fachlich oder freundschaftlich.

Beginnen möchte ich mit Prof. Dr. Holger Lubatschowski für die Vergabe des Themas zur Promotion sowie für den Rückhalt während meiner Zeiten in der Abteilung Biomedizinische Optik am Laser Zentrum Hannover e.V.. Dabei schließe ich auch besonders den Zeitraum meines Praktikums während des Studiums und das Angebot für nachfolgende Arbeiten nach der externen Diplomarbeit sowie den Freiraum für die Zulassungsprüfungen mit ein.

Für die Übernahme des Korreferats möchte ich Prof. Dr. Uwe Morgner sowie Prof. Dr. Michael Oestreich für den Prüfungsvorsitz danken.

Bedanken möchte ich mich auch bei Dr. Tammo Ripken für die Leitung der Gruppe Lasermedizin (worauf er am Telefon häufig großen Wert legte ;). Viel gelernt habe ich vor allem innerhalb der gemeinsamen Projekte, unter anderem auch abseits der Wissenschaft.

Die vielen interessanten fachlichen Gespräche mit Dr. Alexander Krüger haben ganz wesentlich zu meinem Verständnis im Bereich der OCT beigetragen.

Henning Wisweh danke ich für die gute Kooperation während sowie für der Promotion, sei es beim Austausch über die thematisch verwandten Themen oder die Organisation und Motivation zum Erreichen unserer Titel. Die guten fachlichen Gespräche und der ganze Spaß bei und abseits der Arbeit haben da nur ihren Rest dazu beigetragen.

Den Kollegen danke ich für angenehme Zusammenarbeit im Bereich der Mikrotomie, besonders Dr. Fabian Will, Dr. Sabine Przemec, Thomas Block und Peggy Menne. Auf der Seite des Mikrochirurgie-Systems sind da gleichermaßen die „Presbyopen“ Heike Hoffmann, Dr. Silvia Schumacher und Mario Simons zu nennen. Es gibt noch viel tun, aber wir haben auch vieles erreicht.

Meinen Praktikanten, Hiwis und Diplomanden sage ich Danke für die tolle Zu- und Zusammenarbeit. Es hat Spaß gemacht, mit euch zusammen zu arbeiten.

Unser Büromaskottchen Emma war zwar für jeden Unfug zu haben, konnte uns aber hervorragend mit ihren Blicken bei der Arbeit aufmuntern.

Allen Bekannten und Freunden, speziell denen vom Paddeln und Klettern: Ihr habt einen tollen Aus-

gleich zur Arbeit dargestellt, besonders dann, wenn die Frustrationsgrenze erreicht war.

Meiner Familie danke ich ganz besonders für die Unterstützung und den Rückhalt. Schön, daß ihr mich in solch einer Phase ein zweites Mal, nach der Diplomarbeit, unterstützt habt.