



Adaption eines Optischen Kohärenzmikroskopie-Aufbaus für die Multiphotonenmikroskopie

Diplomarbeit

Fachhochschule Lübeck
Fachbereich Angewandte Naturwissenschaften
Physikalische Technik

angefertigt am
Institut für Biomedizinische Optik der Universität zu
Lübeck

Verfasser: Sebastian Vogl
Erstprüfer: Prof. Dr. Joachim Brunn
Zweitprüfer: Dr. Gereon Hüttmann

6 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein faserbasiertes OCM Interferometer, entworfen und aufgebaut, das Messungen an dem Multiphotonenmikroskop ermöglicht. Ziel war es die Vorteile beider physikalisch unterschiedlichen Messverfahren, in eine multimodale Bildgebung zu vereinen. So erhoffte man sich eine verbesserte Darstellung von Strukturen in biologischen Geweben. Unter Verwendung des für beide Bildgebungsverfahren geeigneten Mikroskops (Achromplan IR 40x/0,8 W) von Zeiss sollte ein Bildfeld von mindestens 300 μm Durchmesser bei lateraler Auflösung von einem Mikrometer oder besser erzielt werden. Darüber hinaus sollte die Bildqualität des OCM-System anhand von ex-vivo Messungen an Retinaproben beurteilt werden. Die Ankopplung sollte über einen separaten Port erfolgen. Für die Auswahl der notwendigen Komponenten wurde in einer Software (*Zemax*) zur Berechnung optischer Systeme Simulationen der Strahlengänge für eine optimale Auslegung durchgeführt. Aufgrund der Geometrie der Strahlengänge im Multiphotonenmikroskop und dem für das Interferometer zur Verfügung stehenden Platzes musste sich gegen eine 4-f-Konfiguration der Scanoptik entschieden werden. Über das Karusell für die Fluoreszenzteilerwürfel des Mikroskops wurde zwischen beiden Bildgebungsverfahren manuell geschaltet. Mit dem Objektiv von Zeiss wurde für den Aufbau eine Sensitivität von 73 dB gemessen. Dabei betrug der tiefenabhängige Sensitivitätsverlust (Roll-Off) 29,5 dB. Das geforderte Bildfeld konnte bei einer lateralen Auflösung von < 780 nm übertroffen werden. Mit einem weiteren für die Messungen verwendeten Objektiv (Nikon 16X CFI LWD Plan Fluorite Objektiv, 0.8 NA, 3.0 mm WD) wurde eine laterale Auflösung von 1,38 μm bei einem Bildfeld von 1,1 mm erzielt. Die Sensitivität mit dieser Konfiguration betrug 80 dB bei einem Roll-Off von 24 dB. Nacheinander konnten Bilder von Proben mit Multiphotonenmikroskopie und OCM aufgenommen und aufeinander registriert werden. An einer gefärbten histologischen Probe und retinalem Gewebe von Schweinen konnten mit OCM zusätzliche Strukturen sichtbar gemacht werden. Dabei war die Bildgebung ca. dreimal schneller. An Retina wurden kleinste Strukturen bis auf subzellulärer Ebene aufgelöst. Dies macht das Messverfahren interessant für die Marker freie Intravitalmikroskopie oder später auch für die klinische Diagnostik. Dafür muss als nächster Schritt die Anwendbarkeit des Bildgebungs-verfahrens an lebenden Organismen überprüft werden. Zudem muss eine Ankopplung über einen Port realisiert werden, um so eine simultane Bildgebung durchführen zu können. In der Ophthalmologie werden bereits heute multimodale Fluoreszenz-OCT-Bildgebungsverfahren angewandt, in denen en-face-Ansichten mit Fluoreszenzbildern graphisch überlagert werden. Die OCM könnte eine wegweisende Funktion für die Entwicklung hochauflösender multimodaler Diagnoseverfahren übernehmen.