



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK  
INSTITUT FÜR BIOMEDIZINISCHE OPTIK

Aus dem Institut für Biomedizinische Optik  
der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Robert Huber

*„Robotische, endoskopische und dynamische  
Megahertz-Optische Kohärenztomographie  
und deren Anwendungen in Klinik und Forschung“*

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck

Aus der Sektion Naturwissenschaften

vorgelegt von

Madita Göb

aus Minden

*Lübeck, 2025*



1. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Robert Huber

2. Berichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. Christian Hübner

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Oktober 2025

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 20. Oktober 2025



# KURZFASSUNG

Die Optische Kohärenztomographie (OCT, engl. *optical coherence tomography*) hat sich als leistungsstarke Technik zur dreidimensionalen Visualisierung von Gewebestrukturen etabliert. Forschungsergebnisse zeigen das enorme Potenzial dieser Technologie zwischen gesundem und pathologischem Gewebe zu unterscheiden. Im Gegensatz zur Biopsie ist OCT nicht-invasiv und liefert sofortige diagnostische Ergebnisse. Dennoch stoßen handelsübliche OCT-Systeme aufgrund langsamer Scangeschwindigkeiten und kleiner Bildfelder im klinischen Alltag an ihre Grenzen. Die MHz-OCT, eine Weiterentwicklung mit Linienraten im Megahertz-Bereich, überwindet diese Einschränkungen und ermöglicht ultraschnelle 3D-Bildgebung in Echtzeit. Um die hohe Geschwindigkeit der MHz-OCT gezielt nutzbar zu machen, wurden im Rahmen dieser Arbeit drei neuartige Systeme entwickelt und ihre Anwendungen in spezifischen medizinischen und wissenschaftlichen Bereichen erforscht:

## 1. Robotische MHz-OCT:

Eine robotergestützte Plattform wurde für die automatisierte Bildgebung großer Bereiche entwickelt. Mit zwei verschiedenen Robotersystemen wird eine präzise Abtastung ganzer Hautareale *in vivo* demonstriert sowie die Eignung als automatisiertes Hochdurchsatz-Messgerät für innovative *ex vivo* Forschungsansätze in der Dermatologie.

## 2. Endoskopische MHz-OCT:

Ein 4D-Echtzeit-OCT-Endoskop wurde konzipiert, das die Lumen-Topografie abbildet und mikroskopische Einblicke in die Gewebemorphologie liefert. Kolorektale Bildgebungsexperimente an Körperspendern zeigen die mögliche Anwendung zur Früherkennung gastrointestinaler Läsionen und der Beurteilung tiefer Gewebeschichten.

## 3. Dynamische MHz-OCT:

Zur Analyse physiologischer und metabolischer Prozesse wurde die MHz-OCT um ein Verfahren zur dynamischen Bildgebung erweitert. Diese Technologie bietet durch zusätzlichen funktionellen Kontrast detaillierte Einblicke in zelluläre Strukturen, ähnlich der Histologie, und deren Funktion. Die Methodik wird an *ex vivo* Gewebe demonstriert.

Diese Ansätze zeigen das Potenzial der MHz-OCT, diagnostische Verfahren nicht nur zu ergänzen, sondern auch neue Anwendungsfelder in der medizinischen Bildgebung zu erschließen. Die vorliegende Arbeit beschreibt die Entwicklung, Validierung und Anwendung dieser Methoden sowie deren Beitrag zur Integration der MHz-OCT in die klinische Praxis.



# ABSTRACT

Optical coherence tomography (OCT) has become a powerful technique for three-dimensional visualizations of tissue structures. In the last three decades, researchers have proven the immense potential of this technology to differentiate between healthy and pathological tissue. In contrast to biopsy, OCT is non-invasive, label-free and provides immediate diagnostic results. However, conventional OCT systems face limitations in clinical practice due to slow scanning speeds and a limited field of view, making them inadequate for scanning large areas in a reasonable time frame. MHz-OCT, an advanced version of OCT with line rates in the megahertz range, overcomes these limitations by enabling ultra-fast 3D imaging in real-time. This work presents three novel approaches developed to optimize MHz-OCT for specific medical and scientific applications:

## 1. Robotic MHz-OCT:

A robotic platform was developed for automated, large-area imaging. Using two different robotic systems, precise *in vivo* mapping of entire skin areas is demonstrated, along with its potential as an automated high-throughput measurement tool for innovative *ex vivo* research approaches in dermatology.

## 2. Endoscopic MHz-OCT:

A 4D real-time OCT endoscope was designed to image lumen topography and provide microscopic insights into tissue morphology. Colorectal imaging experiments on body donors demonstrate the potential application for early detection of gastrointestinal lesions and the assessment of deeper tissue layers.

## 3. Dynamic MHz-OCT:

To analyze physiological and metabolic processes, MHz-OCT was enhanced with an advanced dynamic imaging technique. This technology offers additional functional contrast, providing detailed insights into cellular structures, similar to histology, and their function. The methodology is demonstrated on *ex vivo* porcine kidney tissue.

These approaches demonstrate the potential of MHz-OCT to not only enhance existing diagnostic methods but also to open new avenues in medical imaging. This work describes the development, validation, and application of these methods, highlighting their contribution to the integration of MHz-OCT into clinical practice.



# INHALTSVERZEICHNIS

KURZFASSUNG .....	I
ABSTRACT .....	III
INHALTSVERZEICHNIS.....	V
1. EINLEITUNG.....	9
2. OPTISCHE KOHÄRENZTOMOGRAPHIE.....	13
2.1. BILDGEBUNGSPRINZIP .....	13
2.2. ENTWICKLUNG VERSCHIEDENER SYSTEMARCHITEKTUREN.....	14
2.3. OCT-SIGNALENTSTEHUNG UND WICHTIGE PARAMETER .....	16
2.3.1. Sensitivität und Roll-Off.....	18
2.3.2. Laterale und axiale Auflösung.....	19
2.3.3. Bildfeld und Bildbereich.....	20
2.4. MHZ-OCT.....	21
2.4.1. Funktionsprinzip des FDML-Lasers.....	21
2.4.2. MHZ-OCT-Prozessierung und Bildentstehung.....	23
2.4.3. Aufbau des verwendeten Systems.....	24
2.4.4. Systemcharakterisierung.....	26
3. ROBOTISCHE MHZ-OCT .....	31
3.1. HINTERGRUNDINFORMATIONEN.....	34
3.1.1. Anatomie der Haut.....	34
3.1.2. Aktueller Entwicklungsstand robotischer OCT.....	36
3.1.3. Entwicklungsprozess der Roboterintegration in die MHZ-OCT.....	38
3.2. LINEARROBOTER.....	39
3.2.1. Aufbau und Technische Details.....	40
3.2.2. Software und Betriebsmodi .....	41
3.2.2.1. <i>Mosaik-Modus</i> .....	43
3.2.2.2. <i>Interaktions-Modus</i> .....	50
3.2.2.3. <i>Interaktions-Modus-Plus</i> .....	54

<b>3.3.</b>	<b>ROBOTERARM .....</b>	<b>58</b>
3.3.1.	Abstands- und Orientierungsregelung.....	59
3.3.2.	Bildgebungsmodi .....	62
3.3.2.1.	<i>Mosaik-Modus</i> .....	64
3.3.2.2.	<i>Linear-Modus</i> .....	65
<b>3.4.</b>	<b>FAZIT UND DISKUSSION DER ROBOTERINTEGRATION .....</b>	<b>68</b>
<b>3.5.</b>	<b>ANWENDUNG IN DER DERMATOLOGIE.....</b>	<b>71</b>
3.5.1.	Hochdurchsatz-Wundscreening mittels robotischer MHz-OCT.....	71
3.5.1.1.	<i>Screening-Protokoll</i> .....	72
3.5.1.2.	<i>Automatische OCT-Bildgebung mittels Linearroboter</i> .....	73
3.5.1.3.	<i>Semi-Automatische Volumenquantifizierung</i> .....	74
3.5.1.4.	<i>Klinische Ergebnisse</i> .....	77
3.5.1.5.	<i>Bilanz , Diskussion und Optimierungsansätze</i> .....	77
3.5.2.	Entwicklung neuer OCT-basierter Biomarker.....	78
3.5.2.1.	<i>Gefäßanomalien bei Psoriasis und atopischer Dermatitis</i> .....	80
3.5.2.2.	<i>OCT-Bildgebungsprotokoll</i> .....	81
3.5.2.3.	<i>Algorithmus zur automatischen Gefäßanzahlbestimmung</i> .....	81
3.5.2.4.	<i>Anwendung auf klinischen Studiendatensatz</i> .....	84
3.5.2.5.	<i>Resümee</i> .....	85
3.5.3.	OCT-basierte Diagnostik blasenbildender Autoimmunkrankheiten.....	86
3.5.3.1.	<i>OCT-basierte Blasenerkennung – Systeme im Vergleich</i> .....	88
3.5.3.2.	<i>Diskussion und Ausblick</i> .....	90
<b>4.</b>	<b>ENDOSKOPISCHE MHz-OCT.....</b>	<b>93</b>
<b>4.1.</b>	<b>ZIELSETZUNG.....</b>	<b>95</b>
4.1.1.	Klinische Motivation.....	95
4.1.2.	Stand der Technik.....	97
4.1.3.	Angestrebte Innovation.....	100
4.1.4.	Anatomie des Dickdarms.....	100
<b>4.2.</b>	<b>ENTWICKLUNGSPROZESS .....</b>	<b>101</b>
4.2.1.	Prototypendesign.....	102
4.2.2.	Synchronisationskonzept mit regelbarem Primärtakt.....	103
4.2.3.	Systemtests und Trigger-Jitter.....	107

4.3.	BILDGEBUNGSEXPERIMENTE.....	111
4.3.1.	Darmmodell.....	112
4.3.2.	Schweinedarm.....	113
4.3.3.	Körperspender.....	116
4.4.	INTERPRETATION, DISKUSSION UND PERSPEKTIVEN .....	120
5.	DYNAMISCHE MHZ-OCT.....	125
5.1.	STAND DER TECHNIK.....	127
5.1.1.	Überblick über funktionelle Bildgebungsmethoden.....	127
5.1.2.	Prinzip der dynamischen OCT-Bildgebung.....	128
5.1.3.	Berechnung des dynamischen Kontrasts.....	130
5.2.	DYNAMISCHER KONTRAST IM VERGLEICH: MHZ-OCT vs. MOCT .....	131
5.2.1.	MHZ-OCT Scaneinheit mit Mikroskopobjektiven.....	131
5.2.2.	Aufbau des mOCT-Systems.....	134
5.2.3.	Mäuseorgane als Vergleichsproben.....	135
5.2.4.	Bildgebungsprotokoll der OCT-Vergleichsmessungen.....	135
5.2.5.	Dynamische Kontrastaufnahmen im Vergleich.....	137
5.3.	MHZ-OCT MIT INTERVOLUMETRISCHEM DYNAMISCHEN KONTRAST .....	139
5.3.1.	Intervolumetrisches Scanprotokoll.....	139
5.3.2.	Schweineniere als Gewebeprobe.....	141
5.3.3.	Anatomie der Niere.....	142
5.3.4.	Volumetrische dynamische OCT von Nierenrinde und Nierenmark.....	143
5.4.	DISKUSSION .....	146
6.	GESAMTFAZIT UND PERSPEKTIVEN .....	149
	LITERATURVERZEICHNIS.....	151
	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	162
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	164
	TABELLENVERZEICHNIS .....	165
	VIDEOS.....	166
	HILFSMITTEL .....	166

PROGRAMM-CODE.....	167
PUBLIKATIONSVERZEICHNIS.....	171
JOURNALBEITRÄGE (PEER REVIEW).....	171
KONFERENZBEITRÄGE MIT TAGUNGSBAND (PEER REVIEW).....	172
WEITERE KONFERENZBEITRÄGE OHNE TAGUNGSBAND (POSTER).....	174
BETREUTE ARBEITEN.....	175
DANKSAGUNG.....	176
LEBENS LAUF.....	179

# 1

## EINLEITUNG

Die optische Kohärenztomographie (OCT, engl. *optical coherence tomography*) hat sich in den vergangenen Jahrzehnten als eines der fortschrittlichsten optischen bildgebenden Verfahren etabliert. Ihre Grundlage bildet ein interferometrisches Messprinzip, das die Erzeugung tiefenaufgelöster Querschnittsbilder biologischer Gewebe mit einer räumlichen Auflösung von wenigen Mikrometern ermöglicht. Diese hohe Präzision erlaubt eine detaillierte Darstellung feinsten tiefliegender Gewebestrukturen, die bei anderen tomografischen Bildgebungsmethoden oftmals verborgen bleiben. Ein weiterer, zentraler Vorteil der OCT liegt in ihrer Fähigkeit, diese Informationen nicht-invasiv und in Echtzeit bereitzustellen.

Dank dieser Eigenschaften hat die OCT einen festen Platz in der medizinischen Bildgebung eingenommen und wird insbesondere in der Augenheilkunde breit eingesetzt, wo sie als Standardverfahren für Diagnostik und therapeutische Überwachung gilt. Doch auch in anderen medizinischen Fachbereichen wie der Dermatologie, der Gastroenterologie und der Kardiologie hat sich die OCT zunehmend als wertvolles diagnostisches Instrument erwiesen. Obwohl bereits einige kommerzielle Systeme existieren, weisen diese häufig erhebliche Einschränkungen in der klinischen Praxis auf. Insbesondere langsame Scangeschwindigkeiten limitieren ihren Einsatz, vor allem bei Anwendungen mit großen Bildbereichen oder dynamischen Prozessen. Hier setzt die MHz-OCT an – eine technologische Weiterentwicklung, die Linienraten im Megahertz-Bereich ermöglicht und so völlig neue Einsatzmöglichkeiten schafft.

Das MHz-OCT-System, das in dieser Arbeit erforscht wird, basiert auf der Verwendung einer speziellen Lichtquelle, dem sogenannten FDML-Laser (Fourier Domain Mode-Locked Laser), der extrem hohe Linienraten und damit ultraschnelle Bildaufnahmen erlaubt. Mit Bildgebungsgeschwindigkeiten im MHz-Bereich, die herkömmliche OCT-Systeme um ein

Vielfaches übertreffen, ermöglicht die MHz-OCT die Darstellung großer Gewebevolumen in Echtzeit und mit Live-Video-Updatezeiten. Ihre Vorteile liegen nicht nur in einer signifikanten Reduktion der Aufnahmezeiten, sondern auch in der Fähigkeit, dynamische Prozesse live sichtbar zu machen. Doch die Implementierung dieser Hochgeschwindigkeitstechnologie in die klinische Praxis erfordert innovative Ansätze, um technische Grenzen zu überwinden und die Anwendung auf spezifische medizinische Fragestellungen zu optimieren.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden drei grundlegende Ansätze entwickelt und untersucht, um das Potenzial der MHz-OCT weiter auszubauen und ihre klinische Anwendbarkeit zu verbessern:

### 1. ROBOTISCHE MHz-OCT

#### *Automatisierte Prozesse für präzise und großflächige Bildgebung*

Die Einbindung robotischer Systeme in die MHz-OCT zielt darauf ab, die Einschränkungen herkömmlicher händisch durchgeführter Aufnahmen zu überwinden. Insbesondere in der Dermatologie, wo großflächige Läsionen oft mehrere Quadratzentimeter umfassen, ermöglicht die Kombination von Robotik und MHz-OCT eine automatisierte und präzise Erfassung großer Hautareale. Diese Technologie reduziert nicht nur den Zeitaufwand für die Bildgebung, sondern minimiert auch das Risiko pathologische Veränderungen zu übersehen, die bei selektiven, manuell gesteuerten Scans unentdeckt bleiben könnten. Die robotergestützte Automatisierung der OCT eröffnet außerdem neue Perspektiven in der Grundlagenforschung, z.B. bei der Entwicklung und Validierung neuer OCT-basierter Biomarker.

### 2. ENDOSKOPISCHE MHz-OCT

#### *Hochauflösende 3D-Bildgebung für schwer zugängliche Bereiche*

Die Anwendung der MHz-OCT in endoskopischen Systemen schafft neue Möglichkeiten zur detaillierten Untersuchung innerer Organe wie des Gastrointestinaltrakts oder der Atemwege. Speziell entwickelte endoskopische Sonden erweitern den Einsatzbereich dieser Technologie und ermöglichen die Darstellung schwer zugänglicher oder tiefer gelegener Gewebeschichten. Dank ihrer hohen räumlichen Auflösung liefert die endoskopische MHz-OCT präzise Gewebedarstellungen und eröffnet in Kombination mit volumetrischer Echtzeit-Bildgebung völlig neue klinische Perspektiven. Insbesondere in der Gastroenterologie bildet sie eine vielversprechende Grundlage für die minimalinvasive Diagnostik, da sie eine frühzeitige Erkennung von Läsionen wie Polypen oder dysplastischem Gewebe ermöglicht.

### 3. DYNAMISCHE MHz-OCT

#### *Neuer Kontrast für die Darstellung zellulärer Strukturen*

Die dynamische MHz-OCT erweitert die Möglichkeiten der OCT, indem sie zeitliche Signalvariationen im Gewebe sichtbar macht, die durch physiologische oder metabolische Prozesse hervorgerufen werden. Diese Methode liefert zusätzlichen Kontrast, der über die rein strukturauflösende Bildgebung hinausgeht und ermöglicht damit eine Art „optische Biopsie“. Besonders in der Grundlagenforschung bietet diese Technik neue Perspektiven, um dynamische Vorgänge wie Durchblutung, Stoffwechselaktivität oder entzündliche Prozesse färbefrei und *in vivo* zu analysieren.

Diese drei Ansätze repräsentieren zukunftsweisende Entwicklungen, die nicht nur das technische Potenzial der MHz-OCT erweitern, sondern auch die Brücke zwischen innovativer Technologie und konkreten klinischen Anwendungen schlagen. Durch die Integration der drei Methoden hat die MHz-OCT das Potenzial, sowohl bestehende Diagnoseverfahren zu ergänzen als auch völlig neue Perspektiven in der medizinischen Bildgebung zu schaffen. Diese Arbeit widmet sich der detaillierten Beschreibung und Analyse der entwickelten Methoden, ihrer technischen Umsetzung sowie ihrer Bedeutung für die medizinische Praxis und Forschung.



# 2

## OPTISCHE KOHÄRENZTOMOGRAPHIE

Dieses Kapitel behandelt die theoretischen Grundlagen und die Entwicklung der OCT-Technologie. Neben der Erläuterung des grundlegenden Bildgebungsprinzips und der Signalentstehung werden verschiedene Systemarchitekturen vorgestellt. Es folgt eine Beschreibung der eingesetzten Lichtquelle, die Bildgebungsraten im MHz-Bereich ermöglicht sowie eine Darstellung und Charakterisierung des in dieser Arbeit verwendeten OCT-Systems.

### 2.1. BILDGEBUNGSPRINZIP

Die optische Kohärenztomographie ist ein nicht-invasives bildgebendes Verfahren, das vorwiegend Nahinfrarotlicht nutzt, um hochauflösende Bilder von biologischem Gewebe zu erzeugen. Ähnlich wie bei der Ultraschall-Bildgebung basiert das OCT-Prinzip auf der Detektion von Lichtwellen, die an Übergängen zwischen verschiedenen Brechungsindizes im Gewebe teilweise reflektiert, bzw. rückgestreut werden. Die verschiedenen Lichtlaufzeiten liefern dabei Informationen über die Tiefe der reflektierenden Grenzschichten. Da der Laufzeitunterschied des zurückgestreuten Lichts nicht direkt elektronisch gemessen werden kann, erfolgt die Detektion des Tiefenprofils interferometrisch – ein Verfahren, das erstmals 1991 von Huang et al. vorgestellt wurde [1].

Für eine hohe Eindringtiefe kommen bei der OCT-Bildgebung bevorzugt Lichtquellen im infraroten Bereich zum Einsatz. Die Streuung und Absorption von Licht im Gewebe begrenzt die Abbildungstiefe jedoch auf wenige Millimeter. Trotz dieser Einschränkung bietet die OCT eine außergewöhnlich hohe mikroskopische Auflösung im Bereich von wenigen Mikrometern. Dadurch besitzt sie das Potenzial neue Standards in der nicht-invasiven Diagnostik zu setzen.

**Abbildung 2.1** veranschaulicht das OCT-Bildgebungsprinzip anhand einer Aufnahme eines Fingers. Aus dem Licht, das aus verschiedenen Tiefen detektiert wird, lässt sich ein axiales Amplitudenprofil (A-Scan) erstellen. Aneinander gereihete Tiefenscans benachbarter Positionen ergeben zweidimensionale Tiefenschnitte (B-Scans). Durch laterales Scannen auf der Probe können vollständige dreidimensionale Tiefeninformationen (C-Scans) gewonnen werden. Diese lassen sich entweder als 3D-Darstellung oder als Schnittbilder senkrecht zur A-Scan-Richtung (*en face*-Bilder) visualisieren. Typischerweise werden jedoch über mehrere Tiefenschnitte gemittelte *en face*-Projektionen gezeigt, die kontrastreiche Tiefendetails bieten.

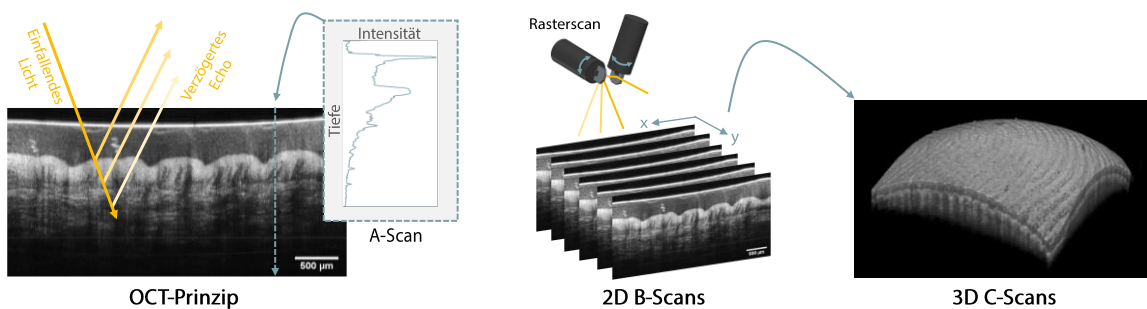


Abbildung 2.1 Bildgebungsprinzip und verschiedene OCT-Ansichten.

## 2.2. ENTWICKLUNG VERSCHIEDENER SYSTEMARCHITEKTUREN

Seit den frühen 1990er-Jahren wurden verschiedene Systemarchitekturen entwickelt, die eine OCT-Bildgebung ermöglichen. Grundsätzlich wird dabei zwischen zwei Methoden unterschieden: der Zeitdomänen-OCT (TD-OCT, engl. *time-domain OCT*) und der Frequenzdomänen-OCT (FD-OCT). Letztere lässt sich in Spektraldomänen-OCT (SD-OCT) und Swept-Source-OCT (SS-OCT) unterteilen. Die Prinzipien der drei Technologien sind schematisch in **Abbildung 2.2** dargestellt. Da in dieser Arbeit ein SS-OCT-System verwendet wurde, werden die anderen Verfahren nur kurz erläutert.

Bei der TD-OCT kommt ein Interferometer mit einem beweglichen Spiegel im Referenzarm zum Einsatz. Durch die Verschiebung des Spiegels erfährt das Licht einen Laufzeit- bzw. Weglängenunterschied gegenüber dem Probenarm. Anhand des Interferenzsignals der Lichtwellen aus der Probe und dem Referenzarm lässt sich dieser Unterschied und damit die Position der reflektierenden Schicht bestimmen. Eine kontinuierliche Spiegelverschiebung und gleichzeitiges Auslesen des Interferenzsignals ermöglichen die Bestimmung eines Tiefenprofils. Dabei ist die Wahl einer breitbandigen Lichtquelle mit kurzer zeitlicher Ko-

härenzlänge entscheidend, um benachbarte Grenzflächen präzise voneinander zu unterscheiden [1]. Die Bildgebungsgeschwindigkeit der TD-OCT ist durch mechanische Spiegelverschiebung im Referenzarm limitiert.

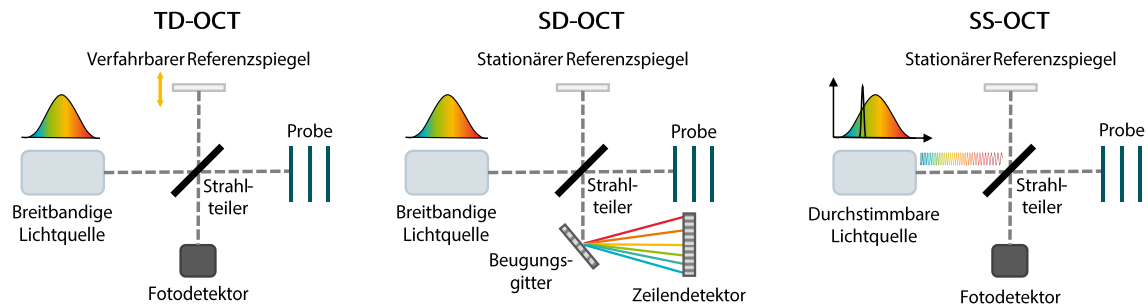


Abbildung 2.2 Schematischer Aufbau der verschiedenen OCT-Technologien.

Im Gegensatz dazu basiert die SD-OCT auf der Messung im Frequenzraum unter Verwendung eines stationären Referenzarms. Das Messprinzip beruht auf dem Fakt, dass bei der Beleuchtung mit einer breitbandigen Lichtquelle der Weglängenunterschied zwischen den Lichtwellen proportional zur Frequenz der Modulation des detektierten Interferenzsignals ist [2]. Das Interferenzsignal der beiden zurückgestreuten Strahlen wird spektral aufgespalten und mit Zeilenkameras detektiert. Mithilfe der schnellen Fourier-Transformation können die Amplituden der einzelnen Frequenzen berechnet werden, die das Tiefenprofil der Probe abbilden. So kann rückgestreutes Licht aus verschiedenen Tiefen der Probe gleichzeitig detektiert werden und die Geschwindigkeitslimitierung durch die mechanische Bewegung des Referenzarms entfällt. Deshalb zeichnet sich diese Methode durch eine höhere Aufnahmegeschwindigkeit und Sensitivität aus [3].

Die dritte Generation der OCT-Technologie, die SS-OCT, beruht auf dem gleichen Prinzip, allerdings werden die einzelnen Lichtwellenlängen nicht detektionsseitig aufgespalten, sondern bei der Beleuchtung [2]. Mit einer durchstimmbaren Lichtquelle (engl. *swept-source*) können Wellenzüge mit kontinuierlich variierender Frequenz, sogenannte „Sweeps“, erzeugt werden, die nacheinander auf die Probe treffen. Durch den Weglängenunterschied zwischen Proben- und Referenzarm und die kontinuierliche Änderung der Frequenz in den Sweeps unterscheidet sich der Frequenzverlauf der beiden interferierenden Wellenzüge. Dies führt zu einer Schwebung zwischen den elektromagnetischen Feldern, deren Einhüllende der Differenzfrequenz entspricht. Die Intensitätsmodulation dieser Einhüllenden kann mit einer Fotodiode detektiert werden, wobei die Frequenz der Modulation proportional zum Laufzeitunterschied ist [4]. Wie bei der SD-OCT kann schließlich auch hier die Fourier-

Analyse verwendet werden, um auf die Intensität des in verschiedenen Tiefen reflektierten Lichts zu schließen. Allerdings wird statt eines Spektrometers bei der SS-OCT lediglich eine Fotodiode für die Detektion des Interferenzsignals benötigt. Dies ist besonders vorteilhaft bei Wellenlängen um 1300 nm, da für diesen Bereich keine schnellen bzw. kostengünstigen Zeilensensoren verfügbar sind [5]. Durch die Entwicklung schnell abstimmbarer Laser mit schmalen instantanen Linienbreiten und hohen spektralen Bandbreiten sind mit dieser Technik OCT-Akquisitionsraten von mehreren MHz möglich [6, 7].

Abgesehen von den drei klassischen, scannenden OCT-Verfahren stellen die konfokale Linien- (LC-OCT, engl. *line-field confocal OCT*) und Vollbild-OCT (FF-OCT, engl. *full-field OCT*) weitere Varianten der OCT-Bildgebung dar [8-10]. Bei diesen Methoden wird nicht ein einzelner Punkt, sondern entweder eine Linie oder das gesamte Bildfeld beleuchtet, wobei das Interferenzsignal mit einer Kamera detektiert wird. Durch Fokussierung in verschiedenen Tiefen kann ebenfalls ein Volumen rekonstruiert werden. Der Einsatz hochauflösender Objektivs und Superkontinuum-Lichtquellen ermöglicht eine nahezu isotrope Auflösung von etwa einem Mikrometer. Die konfokale Detektion der LC-OCT bietet einen Sensitivitätsvorteil gegenüber der FF-OCT, da inkohärentes Streulicht effektiv unterdrückt wird [9]. Ein zentraler Vorteil der FF-OCT liegt in ihrer phasensensitiven Detektion der Bildfelder, die selbst kleinste Gewebeveränderungen in den *en face*-Bildern sichtbar machen kann. Zudem ist sie durch den Einsatz schneller Kameras weniger anfällig für Bewegungsartefakte. Die gemessene Phaseninformation des gestreuten Lichts kann auch zur numerischen Rekonstruktion eines 3D-Volumens verwendet werden [11]. Basierend auf dem Prinzip der digitalen Holografie ermöglicht die FF-OCT-Holoskopie sogar dreidimensionale „Single-Shot“-OCT-Aufnahmen mit Voxelraten von 10 GHz.

### 2.3. OCT-SIGNALENTSTEHUNG UND WICHTIGE PARAMETER

Wenn Licht in Gewebe eindringt, wird nur ein äußerst kleiner Anteil zurückgestreut. Um dennoch Informationen aus diesen minimalen Lichtsignalen zu gewinnen, nutzt die OCT das Prinzip der heterodynen Detektion, das durch Überlagerung eines starken Referenzsignals eine empfindliche Messung des rückgestreuten Lichtsignals ermöglicht. Hierfür wird, wie im vorigen Abschnitt beschrieben, das Licht in einem Interferometer in einen Referenzarm und einen Probenarm aufgeteilt und detektionsseitig überlagert.

Zur Herleitung des OCT-Signals wird zunächst ein einfaches Modell betrachtet, bei dem die Probe durch eine einzelne reflektierende Schicht wie die Oberfläche eines Spiegels dargestellt wird. Das elektrische Feld  $\mathbf{E}(t)$ , das auf dem Detektor entsteht, setzt sich dabei aus den Feldern des Referenzarms  $\mathbf{E}_R$  und des Probenarms  $\mathbf{E}_P$  zusammen:

$$\mathbf{E}(t) = \mathbf{E}_R(t) + \mathbf{E}_P(t - \tau), \quad (2.1)$$

wobei  $\tau$  den Laufzeitunterschied zwischen den beiden Armen angibt und angenommen wird, dass beide Felder die gleiche Polarisation aufweisen. Der Detektor selbst misst jedoch nicht das elektrische Feld, sondern die Intensität  $I(t)$ , die proportional zum Quadrat der elektrischen Feldstärke ist:

$$I(t) \propto |\mathbf{E}_R(t) + \mathbf{E}_P(t - \tau)|^2. \quad (2.2)$$

Durch Ausmultiplizieren des Betragsquadrats ergeben sich drei Terme:

$$I(t) \propto |\mathbf{E}_R(t)|^2 + |\mathbf{E}_P(t - \tau)|^2 + 2 \cdot \text{Re}\{\mathbf{E}_R(t) \cdot \mathbf{E}_P^*(t - \tau)\}. \quad (2.3)$$

$|\mathbf{E}_R(t)|^2$  beschreibt die Intensität des Referenzarms und enthält keine Information über die Probe. Dieser Signalteil wird durch die differenzielle Detektion mittels dual balancierten Fotodioden unterdrückt und kann bei der weiteren Betrachtung vernachlässigt werden. Auch der zweite Term,  $|\mathbf{E}_P(t - \tau)|^2$ , der die rückgestreute Intensität aus der Probe repräsentiert, ist vernachlässigbar klein, sodass der verbleibende Interferenzterm das eigentliche OCT-Signal darstellt. Er ergibt sich aus dem Produkt der beiden Felder, was die heterodyne Detektion darstellt. Damit können selbst kleinste Signale bis hinunter zur Energieskala einzelner Photonen detektiert werden.

Um von den gemessenen Intensitäten auf den Weglängenunterschied innerhalb der Probe zu schließen, kann der Wellenformcharakter der elektrischen Felder berücksichtigt werden. Das elektrische Feld  $\mathbf{E}(t)$  einer monochromatischen Lichtwelle zum Zeitpunkt  $t$  kann allgemein als:

$$\mathbf{E}(t) = A_0 \cdot e^{-i(\omega \cdot t + \phi)}, \quad (2.4)$$

dargestellt werden, wobei  $A_0$  die Amplitude,  $\omega$  die Kreisfrequenz und  $\phi$  die Phase ist. Durch Einsetzen dieser Darstellung in den Interferenzterm aus Gleichung (2.3), ergibt sich:

$$I(t) \propto 2 \cdot \text{Re}\{A_R \cdot A_P \cdot e^{i(\omega \cdot \tau + \Delta\phi)}\}, \quad (2.5)$$

wobei  $\Delta\phi = \phi_R - \phi_P$  den Phasenunterschied zwischen Referenz- und Probenarm beschreibt. Die Kreisfrequenz  $\omega$  hängt über die Dispersionsrelation  $\omega = c \times k$  mit der Wellenzahl  $k$  zusammen, wobei  $c$  die Lichtgeschwindigkeit ist. Der Laufzeitunterschied  $\tau$  lässt sich

durch die Weglängendifferenz  $\Delta l = l_R - l_P$  zwischen Referenz- und Probenarm ausdrücken ( $\tau = \frac{\Delta l}{c}$ ). Durch Einsetzen dieser Beziehungen und Lösen des Realteils des komplexen Exponenten kann das detektierte Intensitätssignal auch spektral aufgelöst im Wellenzahlraum ( $k$ -Raum) wie folgt beschrieben werden:

$$I(k) \propto 2 \cdot A_R \cdot A_P \cdot \cos(k \cdot \Delta l - \Delta \phi). \quad (2.6)$$

Der Kosinus-Term zeigt, dass das Interferenzsignal spektral moduliert ist. Die Frequenz hängt direkt vom Weglängenunterschied  $\Delta l$  zwischen den beiden Armen ab: Je größer der Weglängenunterschied, desto höher ist die spektrale Modulationsfrequenz.

In biologischem Gewebe wird Licht nicht nur von einer einzelnen Tiefe, sondern von vielen Schichten gleichzeitig zurückgestreut. Das resultierende Interferenzsignal enthält daher eine Überlagerung von Modulationsfrequenzen, wobei jede Frequenz eindeutig einer axialen Position in der Probe zugeordnet ist. Die Amplitude der Modulation ist proportional zur Reflektivität der jeweiligen Schicht. Um das Tiefenprofil der Probe, also die Verteilung der reflektierenden Schichten entlang der optischen Achse, zu rekonstruieren, wird eine Fouriertransformation des spektral aufgelösten Interferenzsignals durchgeführt. Da der Wellenzahlraum  $k$  und der Ortsraum  $l$  ein Fourierpaar bilden, gilt:

$$I(k) \stackrel{\mathcal{F}}{\leftrightarrow} I(l). \quad (2.7)$$

Auf diese Weise kann das Tiefenprofil (A-Scan) der Probe ermittelt werden, wobei jede Schicht  $l$  durch eine Frequenzkomponente im  $k$ -Raum repräsentiert wird.

### 2.3.1. Sensitivität und Roll-Off

Die kleinste noch messbare rückgestreute Lichtleistung aus der Probe  $P_{min}$  im Verhältnis zur eingestrahlten Leistung  $P$  wird durch die Sensitivität  $\Sigma$  in Dezibel angegeben:

$$\Sigma = 10 \cdot \log_{10} \left( \frac{P}{P_{min}} \right). \quad (2.8)$$

Das minimal detektierbare Signal entspricht der Standardabweichung des Rauschuntergrundes, der in der OCT durch drei Quellen dominiert wird: elektronischem Rauschen, Schrotrauschen und Intensitätsrauschen der Lichtquelle [12, 13]. Bei niedrigen detektierten Signalleistungen dominiert elektronisches Rauschen, das unabhängig von der Referenzarmleistung ist. Diese ist jedoch proportional zum Intensitätsrauschen der Lichtquelle, was bei hohen Leistungen ein Problem darstellt. Das Schrotrauschen wird durch die Quantisierung

des Lichts im Detektor verursacht. Es folgt einer Poissonverteilung und skaliert mit der Wurzel der Referenzarmleistung. Im Idealfall wird die Referenzarmleistung des OCT-Systems so eingestellt, dass das System am Schrotrauschlimit operiert. In diesem Fall lässt sich die Sensitivität eines SS-OCT-Systems anhand der Empfindlichkeit des Detektors  $\rho$ , der Dauer eines A-Scans  $T$ , der Elementarladung  $e$  und der von der Probe rückgestreuten Leistung  $P_P$  wie folgt berechnen [3]:

$$\Sigma_{SS-OCT} = 10 \cdot \log_{10} \left( \frac{\rho \cdot T}{e} \cdot P_P \right), \quad (2.9)$$

wobei ein rechteck-förmiges Spektrum der Lichtquelle und eine perfekte, verlustfreie Detektion des reflektierten Lichts angenommen wird.

Die Sensitivität nimmt bei FD-OCT-Systemen über die Messtiefe stetig ab, was in der OCT-Bildgebung als „Roll-Off“ bezeichnet wird. In SD-OCT-Systemen entsteht der Roll-Off durch die begrenzte spektrale Auflösung. Mit zunehmendem Weglängenunterschied steigen die Modulationsfrequenzen, was eine höhere spektrale Auflösung erfordert. Dies führt dazu, dass die Amplitude bei höheren Frequenzen abnimmt [14]. Im Gegensatz dazu wird der Roll-Off in SS-OCT-Systemen durch die zeitlichen Kohärenzeigenschaften der Lichtquelle bestimmt. Die phasenstabilen Sweeps der Lichtquelle müssen überlagert werden können, um Interferenzen zu erzeugen. Mit zunehmender Messtiefe vergrößert sich jedoch der Weglängenunterschied im Interferometer, wodurch die Kohärenz zwischen den Lichtwellen abnimmt, bis schließlich keine Interferenz mehr möglich ist.

### 2.3.2. Laterale und axiale Auflösung

In der OCT-Bildgebung müssen laterale und axiale Auflösung unabhängig voneinander betrachtet werden. Die laterale Auflösung  $\Delta x$  wird durch den Gaußschen Bündelradius  $\omega_0$  des Laserlichts im Fokus bestimmt und kann mit der numerischen Apertur (NA) der Scanoptik sowie der Zentralwellenlänge  $\lambda_0$  wie folgt berechnet werden [4]:

$$\Delta x = 2 \cdot \omega_0 \cdot \sqrt{\frac{\ln(2)}{2}} \approx 0,37 \cdot \frac{\lambda_0}{NA}, \quad (2.10)$$

Es ist wichtig zu beachten, dass die Formel für die laterale Auflösung ausschließlich im Fokusbereich gilt und mit zunehmendem Abstand  $z$  von der Fokusebene um den Faktor  $\sqrt{1 + z^2/z_R^2}$  abnimmt. Daher spielt die Rayleigh-Länge  $z_R$  des Gaußschen Strahlbündels

ebenfalls eine zentrale Rolle in der OCT:

$$z_R = \frac{n \cdot \pi \cdot \omega_0^2}{\lambda_0}. \quad (2.11)$$

In Abhängigkeit vom Brechungsindex  $n$  des Mediums ist die laterale Auflösung innerhalb eines Tiefenbereichs von  $\pm z_R$  um die Fokusebene bereits auf  $\sqrt{2}$  abgefallen und somit über die gesamte Probentiefe nicht konstant.

Die axiale Auflösung  $\Delta z$  dagegen ist unabhängig von der Optik und ausschließlich durch das Spektrum der Lichtquelle definiert [4]:

$$\Delta z = \frac{2 \cdot \ln(2)}{\pi} \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} \approx 0,44 \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}, \quad (2.12)$$

wobei  $\Delta \lambda$  die spektrale Bandbreite der Lichtquelle repräsentiert und ein gaußförmiges Spektrum angenommen wird. Die axiale Auflösung variiert mit dem Brechungsindex der Probe. In biologischen Proben, die überwiegend aus Wasser bestehen, ist die axiale Auflösung beispielsweise höher als in Luft. Daher ist es wichtig, bei der Angabe der axialen Auflösung zu spezifizieren, für welche Umgebung – in der Regel Luft oder Gewebe – diese definiert wurde.

### 2.3.3. Bildfeld und Bildbereich

Wie bei der Auflösung ist auch das Bildfeld (FOV, engl. *field of view*) in axialer und lateraler Richtung unabhängig voneinander zu betrachten. Das laterale Bildfeld  $FOV_{lateral}$  ergibt sich aus der Brennweite der Scanoptik  $f$  und dem maximalen Scanwinkel  $\theta_{max}$ , der wiederum beim telezentrischen Scannen durch den Durchmesser der Scanlinse limitiert sein kann:

$$FOV_{lateral} = 2 \cdot f \cdot \tan\left(\frac{\theta_{max}}{2}\right). \quad (2.13)$$

Das axiale Bildfeld  $FOV_{axial}$ , auch als Tiefenbildbereich  $\Delta z_{max}$  bekannt, wird bei der SS-OCT durch die maximale Modulationsfrequenz des Interferenzsignals bestimmt. Diese hängt von der Dauer des Sweeps  $T$ , der zentralen Wellenlänge  $\lambda_0$  und der spektralen Bandbreite  $\Delta \lambda$  der Laserquelle ab. Die maximal erfassbare Frequenz wird durch die analoge Erfassungsbandbreite  $B$  des Detektors und der Datenerfassungskarte begrenzt. Unter Berücksichtigung des Nyquist-Kriteriums für die Detektionsrate ergibt sich die folgende Formel zur Berechnung

des maximalen Abbildungsbereichs eines SS-OCT-Systems:

$$FOV_{axial} = \Delta z_{max} \approx \frac{B}{2} \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda} \cdot T. \quad (2.14)$$

Bei konstanten Laserparametern ( $\lambda_0$ ,  $\Delta\lambda$  und  $T$ ) erfordert ein großer Tiefenbildbereich bei gleichbleibender axialer Auflösung eine hohe Detektionsbandbreite. Da die verfügbare Bandbreite jedoch oft bereits für hohe Bildgebungsgeschwindigkeiten ausgereizt wird, kann das axiale Bildfeld nur durch Verringerung der spektralen Bandbreite – und damit auf Kosten der axialen Auflösung – vergrößert werden [15, 16].

## 2.4. MHz-OCT

Mit der Entwicklung eines neuen abstimmbaren Laserprinzips, der Fourier-Domänen Modenkopplung (FDML, engl. *Fourier Domain Mode Locking*), wurden 2010 erstmals OCT-Bilder hoher Qualität mit Abstimmraten von über einem MHz erreicht [6]. In Kombination mit der Weiterentwicklung und der kommerziellen Verfügbarkeit schneller Detektoren und leistungsfähiger Datenerfassungskarten eröffnete dies das Feld der „MHz-OCT“. Die hohe Bildgebungsgeschwindigkeit bietet entscheidende Vorteile im klinischen Alltag: Aufnahmezeiten können verkürzt und dynamische Prozesse in Echtzeit dargestellt werden [7]. Das Potenzial der MHz-Technologie hat sich in den letzten Jahren bereits in verschiedenen Anwendungen gezeigt, darunter die Ultra-Weitfeld Retina-Bildgebung [17, 18], die intravaskuläre „Heartbeat“-Bildgebung [19], Videoraten-OCT mit großem Abstand (Langbildbereich-OCT) [16] und Live-3D-OCT in virtueller Umgebung [20].

### 2.4.1. Funktionsprinzip des FDML-Lasers

Die Basis der hohen A-Scanraten der MHz-OCT bildet der FDML-Laser. Dieser als Ring aufgebaute, faserbasierte Halbleiterlaser besteht aus drei zentralen Komponenten, die zusammen den Resonator bilden: einem abstimmbaren optischen Bandpassfilter, einem breitbandigen Verstärkungsmedium sowie einer Glasfaserspule, die als Verzögerungsstrecke dient. Die Besonderheit und der entscheidende Unterschied zu anderen abstimmbaren Lichtquellen liegt in der außergewöhnlichen Länge der Verzögerungsstrecke im Resonator, die invers zur Lichtumlaufzeit skaliert. Dadurch kann die Durchstimmgeschwindigkeit des Filters präzise mit der Umlaufzeit des Lichts im Resonator synchronisiert werden [21].

Dieses Prinzip ermöglicht die gleichzeitige Speicherung mehrerer Wellenlängen im Resonator, welche nacheinander den Filter und den Halbleiterverstärker passieren, sodass die

Laseraktivität über einen vollständigen Wellenzug (Sweep) aufgebaut werden kann. Im Gegensatz zu herkömmlichen durchstimmbaren Lasern ist für die hohe Durchstimmgeschwindigkeit nicht die Aufbauzeit des Laserbetriebs der einzelnen Wellenlängen entscheidend, sondern die Durchstimmrate des Bandpassfilters. Dazu wird ein speziell entwickelter, piezoelektrisch betriebener, faserbasierter Fabry-Pérot-Filter (FFP) verwendet, dessen Resonatorlänge mithilfe eines piezoelektrischen Elements über eine externe Ansteuerung modifiziert wird. Mittels eines sinusförmigen Signals nahe der Resonanzfrequenz und einem Betrieb im Vakuum lässt sich bei einer Zentralwellenlänge von 1300 nm ein Abstimmbereich von etwa 120 nm realisieren.

Entscheidend für das FDML-Kriterium und einen rauschfreien Betrieb ist die Dispersionskompensation des Lasers [22, 23]. Obwohl typischerweise Zentralwellenlängen nahe der Null-Dispersions-Wellenlänge gewählt werden, entsteht in der mehrere hundert Meter langen Glasfaser der Verzögerungsstrecke erhebliche chromatische Dispersion, die durch einen Mix aus verschiedenen Glasfasertypen und der Verwendung eines maßgefertigten, geschirpten Faser-Bragg-Gitters (CFBG, engl. *chirped fiber Bragg grating*) kompensiert werden kann [24, 25]. Für die Fertigung eines FDML-Lasers wird die Dispersion der Komponenten präzise vermessen [26], sodass die Dispersionselemente individuell angefertigt werden können. Zudem ist eine exakte Temperaturregelung essenziell, da selbst geringfügige Temperaturschwankungen zu Brechungsindexänderungen in der Verzögerungsstrecke führen können. Eine verbleibende Dispersion im Resonator und eine fehlerhafte Anpassung von Lichtumlaufzeit und Filterperiode führt zu Intensitätseinbrüchen bzw. -sprüngen (sogenannten „Löchern“) in den kontinuierlichen Wellenzügen.

Aus diesem Grund ist neben der Dispersionskompensation auch eine exakte Synchronisation des FFPs auf die sich kontinuierlich ändernde Lichtumlaufzeit notwendig. Da die Intensitätseinbrüche im Pikosekunden-Bereich nicht einfach detektiert werden können, wird ein Schwebungssignal des FDML-Lasers mit sich selbst in einem zusätzlichen Mach-Zehnder-Interferometer erzeugt. Darin detektierbare Phasenvariationen und Phasensprünge können mit einer Fotodiode detektiert werden, wodurch sich die Intensitätseinbrüche indirekt zählen lassen. Basierend auf diesen Messungen wurde ein Regelungsverfahren entwickelt, das kontinuierlich die Anzahl der Phasenvariationen im Schwebungssignal überwacht und die Modulationsfrequenz des Filtersignals so anpasst, dass die Intensitätseinbrüche minimiert werden [27].

Mit den derzeitigen Filtermodellen sind Durchstimmraten von etwa 400 kHz erreichbar. Um Aufnahmegeschwindigkeiten im MHz-Bereich zu realisieren, kommt ein spezielles optisches Pufferverfahren zum Einsatz [28]. Dabei wird der Strom für den Halbleiterverstärker des FDML-Lasers so moduliert, dass Licht nur während des linearen Teils der sinusförmigen Filterbewegung aus dem Laser austritt. Die Zeiträume ohne Lichtemission werden durch Kopien des linearen Segments gefüllt, welche mittels Aufspaltung und verzögerter Überlagerung des Lichts durch 50:50-Koppler und Verzögerungsstrecken erzeugt werden. Durch eine Kaskadierung von bis zu fünf Stufen lässt sich die A-Scanrate um einen Faktor von  $2^5 = 32$  auf über 13 MHz erhöhen [29]. Gemäß dem Energieerhaltungssatz wird bei diesem Pufferverfahren jedoch die Ausgangsleistung des eingehenden Sweeps proportional auf die entstehenden, duplizierten Sweeps verteilt. Um dennoch eine für die Bildgebung ausreichend hohe Ausgangsleistung zu gewährleisten, wird das Licht abschließend in einem zusätzlichen Halbleiterverstärker verstärkt.

#### 2.4.2. MHz-OCT-Prozessierung und Bildentstehung

Um aus dem digitalisierten OCT-Rohsignal ein Bild zu erzeugen, sind mehrere Verarbeitungsschritte erforderlich, die gemeinhin als „OCT-Prozessierung“ bezeichnet werden.

Wie bereits erläutert, ist in der SS-OCT das Spektrum, welches zur Berechnung des Tiefenprofils benötigt wird, im Zeitverlauf des OCT-Signals enkodiert. Dies liegt daran, dass sich die Wellenlänge der Lichtquelle kontinuierlich verändert. Der zeitliche Verlauf ist jedoch aufgrund des sinusförmigen Betriebs des FFP im FDML-Laser nicht linear in Bezug auf die optische Wellenzahl  $k$ . Um aus dem detektierten Spektrum auf die korrekte Tiefeninformation zu schließen, muss das abgetastete Signal zunächst interpoliert werden, sodass die Datenpunkte einen äquidistanten Abstand im Wellenzahlraum aufweisen.

In bestimmten Systemarchitekturen entfällt dieser Linearisierungsschritt durch die Verwendung des sogenannten „ $k$ -Clocking“. Dabei werden die Datenpunkte mittels eines externen Taktsignals direkt linear im Wellenzahlraum erfasst. Aufgrund der hohen erforderlichen Abtastraten und dem damit verbundenen zeitlichen Jitter ist dieses Verfahren jedoch für die MHz-OCT ungeeignet.

Der FDML-Laser zeichnet sich jedoch durch eine hohe Phasenstabilität aus, wodurch das zeitliche Abstimmverhalten der Wellenlänge über längere Zeiträume konstant bleibt. Daher kann der Phasenverlauf innerhalb der Sweeps zu Beginn einer jeden OCT-Messung be-

stimmt und für die  $k$ -Linearisierung der folgenden OCT-Daten verwendet werden. Zu diesem Zweck wird anstelle der Probe ein Spiegel im Probenarm positioniert (oder alternativ ein Kalibrierarm genutzt) und ein sogenannter Kalibriersweep aufgenommen. Der Phasenverlauf kann anschließend mittels Hilbert-Transformation oder durch die Bestimmung der Nulldurchgänge des Interferenzsignals berechnet werden.

Zusätzlich wird eine Fensterfunktion (typischerweise Hanning oder Rechteck) auf die Datenpunkte des Sweeps angewendet, um die spektrale Einhüllende zu modifizieren. Dies dient der Unterdrückung unerwünschter Seitenbänder, die durch die diskrete Abtastung des Signals nach der nachfolgenden Fourier-Transformation entstehen (Leck-Effekt).

Im Anschluss erfolgt eine inverse schnelle Fourier-Transformation, die die aufgenommenen spektralen Daten in den Ortsraum transformiert. Die resultierenden räumlichen Abtastpunkte entsprechen den Tiefeninformationen der Probe, während die Amplitude des Signals die rückgestreute Intensität repräsentiert.

Nebeneinanderliegende Tiefenprofile (A-Scans) werden in Form eines 2D-Tiefenschnitts als Graustufenbild dargestellt. Da das OCT-Signal aufgrund der heterodynen Detektion einen Dynamikbereich von über 40 dB aufweist, hat sich in der OCT-Forschung die Darstellung der Intensitätswerte auf einer logarithmischen Skala etabliert. Diese Darstellung ermöglicht es, auch Bildbereiche mit geringer Intensität für den Betrachter sichtbar zu machen. Der Signaluntergrund wird typischerweise zu Beginn der OCT-Messung bestimmt, indem über mehrere Zyklen ohne Probe ein gemitteltetes Hintergrund-Tiefenprofil erfasst und vom eigentlichen OCT-Signal subtrahiert wird. Zur Verbesserung der Darstellung bestimmter Signalbereiche können die Intensitätswerte durch Auswahl geeigneter „Cut-Level“ zugeschnitten und normiert werden.

### 2.4.3. Aufbau des verwendeten Systems

In dieser Arbeit kommt ein FDML-basiertes MHz-OCT-System mit einer Zentralwellenlänge von etwa 1300 nm zum Einsatz. Ein Foto des Laborsystems (ohne Scaneinheit), ergänzt durch eine detaillierte schematische Darstellung des Aufbaus, ist in **Abbildung 2.3** gezeigt. Herzstück des Systems bildet der FDML-Laser mit einem selbst gefertigten, abstimmbaren Bandpassfilter, einem Halbleiterverstärker (SOA, engl. *semiconductor optical amplifier*, Modell BOA1132S, Thorlabs Inc., USA) und einer 460 m langen Glasfaserspule. Diese setzt sich aus 364 m Corning HI1060-Faser und 96 m SMF28e+-Faser zusammen. Alle weiteren Glas-

faserkomponenten enthalten die Telekommunikationsfaser SMF28e+. Die Dispersionskompensation erfolgt durch eine Kombination aus Corning HI1060-, SMF28e+- und LEAF-Fasern sowie einem maßgefertigten CFBG (PSR170762, Teraxion Inc., Kanada) mit einer Reflektivität von etwa 35 %, worüber das Laserlicht ausgekoppelt wird.

Etwa 16 % des Laserlichts werden für die Regelung abgezweigt, um einen möglichst rauscharmen Betrieb zu gewährleisten. Die Regelung basiert auf einem Mach-Zehnder-Interferometer mit einer Arm-Längendifferenz von 5 cm und nutzt eine dual balancierte Fotodiode (WL-BPD1GA, Wieserlabs GmbH, Deutschland) zur Detektion des Schwebungssignals. Da die Signalränder aufgrund eines hohen Rauschanteils die Regelung beeinflussen können, wurde ein hochfrequenter Schaltmechanismus entwickelt. Dieser verwendet einen Schmitt-Trigger (74HC14, NPX Semiconductors, Niederlande), um ausschließlich den linearen Teil des Schwebungssignals für die Frequenzzählung zu extrahieren. Die Intensitätseinbrüche werden mit einem Frequenzzähler (53220A, Keysight Technologies, Inc., USA) detektiert und an die Regelungssoftware übermittelt. Weitere 4 % des Laserlichts dienen der Vermessung des Laserspektrums mit einem optischen Spektralanalysators (OSA).

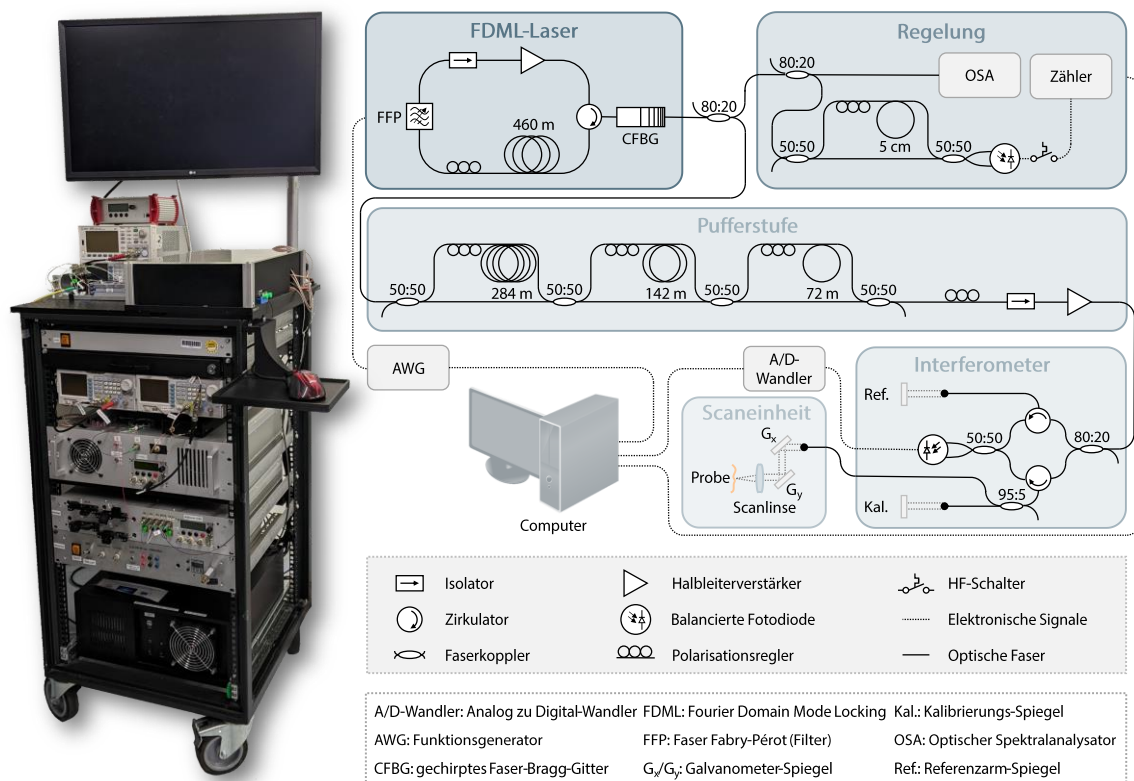


Abbildung 2.3 Foto des MHz-OCT-Systems und schematischer Aufbau.

Die verbleibenden 80 % des Laserlichts werden in eine Pufferstufe geleitet, in der der initiale Sweep achtfach dupliziert wird. Hierzu wird der Halbleiterverstärker des FDML-Lasers nur während eines Achtels der Umlaufzeit aktiviert, während die verbleibende Zeit durch duplizierte Kopien des Sweeps aufgefüllt wird. Am Ende der Pufferstufe wird das Laserlicht in einem weiteren Halbleiterverstärker (BOA1130S, Thorlabs Inc., USA) verstärkt und in das Interferometer eingespeist.

Über einen Zirkulator werden 20 % des Laserlichts auf einen Referenzarm-Spiegel geleitet, während der verbleibende Anteil durch einen weiteren Zirkulator mittels eines 95:5-Faserkopplers auf einen Kalibrierarm und einen Probenarm aufgeteilt wird. Im Probenarm werden 95 % des Lichts über eine Scaneinheit auf die Probe fokussiert. Diese Scaneinheit besteht aus zwei galvanometrisch betriebenen Spiegelscannern (dynAXIS 421, Scanlab GmbH, Deutschland) und einer 50-mm-Scanlinse, die im Folgenden als Standard-Scanoptik des Systems angenommen wird. Die Scanner werden typischerweise in einem unidirektionalen Scanmodus betrieben, synchron zur Frequenz des FDML-Lasers. Das hierzu verwendete Synchronisationskonzept wird ausführlich in den Abschnitten 3.2.2.2 und 4.2.2 beschrieben. Die Standardkonfiguration der Scanoptik ermöglicht ein telezentrisches Abrastern der Probe. Die optische Leistung, die die Probe erreicht, beträgt bis zu 40 mW.

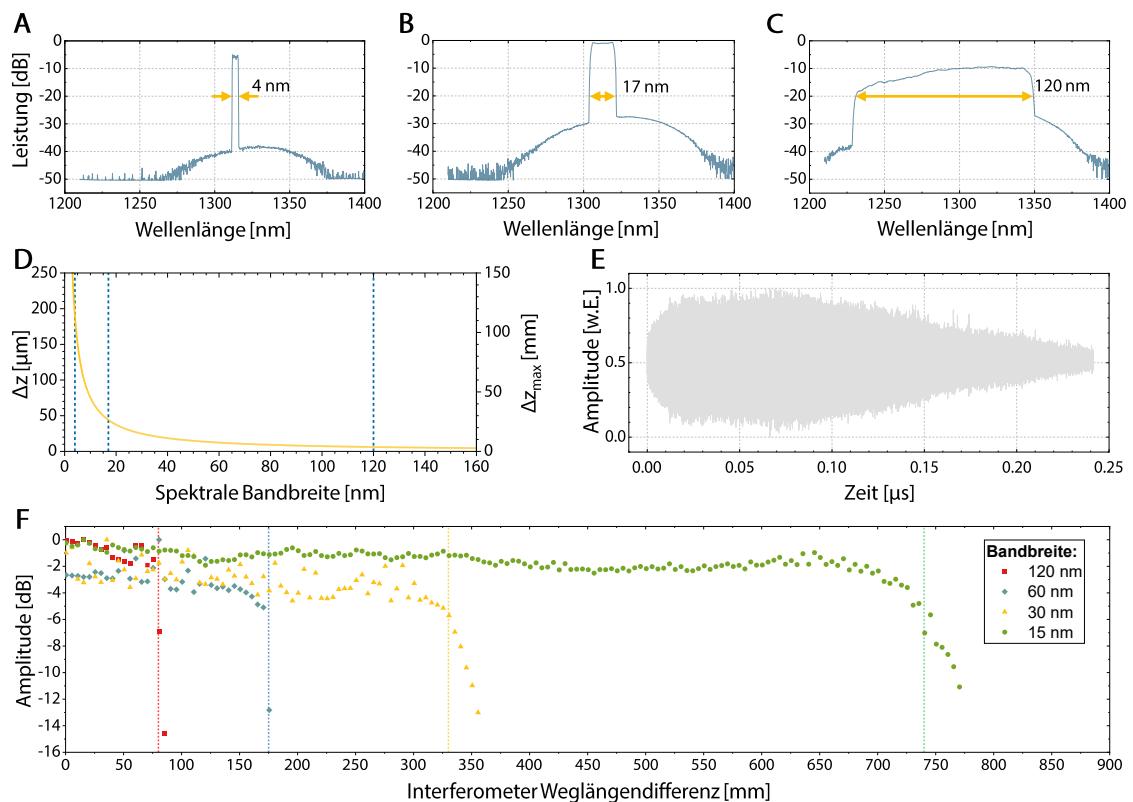
Das Interferenzsignal, das aus zurückgestreutem Probenlicht und Referenzlicht resultiert, wird von einer 1,6-GHz-dual balancierten Fotodiode (PDB480C-AC, Thorlabs Inc., USA) detektiert und mittels einer Datenerfassungskarte mit einer Abtastrate von 4 GS/s und einer Auflösung von 12 Bit (ATS9373, Alazar Technologies Inc., Kanada) digitalisiert.

#### 2.4.4. Systemcharakterisierung

Das eingesetzte MHz-OCT-System wurde im Hinblick auf die Anwendungen, die in den folgenden Kapiteln beschrieben werden, umfassend charakterisiert. Der FDML-Laser wurde ursprünglich von Tom Pfeiffer entwickelt [23]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Fabry-Perot-Filter (FFP) ersetzt, das gesamte Lasersystem gewartet und die Dispersionskompensation neu angepasst. Der FDML-Laser erzielt aktuell eine optimale Leistung bei einer Zentralwellenlänge von 1310 nm. Für einen nahezu rauschfreien Betrieb wird der FFP mit einer Frequenz von etwa 410 kHz betrieben und durch ein achtfaches Pufferverfahren wird eine effektive A-Scan-Rate von 3,28 MHz erreicht. Die spektrale Bandbreite kann durch die Signalamplitude des FFP auf bis zu 130 nm eingestellt werden, wobei ein regelbarer Betrieb im

Bereich von 4 nm bis 120 nm möglich ist. Die resultierenden Spektren sind in **Abbildung 2.4 A-C** dargestellt.

Bei einer Bandbreite von 120 nm ergibt sich gemäß Gleichung (2.10) eine theoretische axiale Auflösung von  $6,3 \mu\text{m}$  in Luft. Dies entspricht laut Gleichung (2.14) einem maximalen Tiefenbildbereich von  $3,5 \text{ mm}$ . Im Vergleich dazu beträgt bei einer spektralen Bandbreite von 17 nm die axiale Auflösung  $44 \mu\text{m}$ , wobei ein Tiefenbildbereich von  $25 \text{ mm}$  erreicht wird. Im sogenannten „Langbildbereich-Modus“ kann der Tiefenbildbereich auf bis zu  $10 \text{ cm}$  erweitert werden. Allerdings reduziert sich die axiale Auflösung bei einer Bandbreite von 4 nm auf  $190 \mu\text{m}$ . Die Abhängigkeit von spektraler Bandbreite  $\Delta\lambda$ , axialer Auflösung  $\Delta z$  und Tiefenbildbereich  $\Delta z_{max}$  ist in **Abbildung 2.4 D** veranschaulicht. Ein wesentlicher Vorteil des FDML-Lasers gegenüber anderen Lichtquellen liegt in der einfachen und schnellen Anpassung der spektralen Bandbreite, die einen axialen Zoom in Echtzeit ermöglicht [16].



**Abbildung 2.4** Eigenschaften des verwendeten FDML-Lasers und OCT-Systems. A-C) Laserspektren bei 4 nm, 17 nm und 120 nm. D) Die berechnete Korrelation zwischen spektraler Bandbreite, axialer Auflösung  $\Delta z$  und Tiefenbildbereich  $\Delta z_{max}$ . Die vertikalen gepunkteten Linien entsprechen drei Messungen bei 4 nm, 17 nm und 120 nm spektraler Bandbreite. E) Das balancierte Interferenzsignal von zwei Sweeps mit 120 nm spektraler Bandbreite, aufgenommen mit 36 GHz. F) Amplitudenabfall des in E) gezeigten Interferenzsignals bei verschiedenen spektralen Bandbreiten. Die gestrichelten Linien stellen die 36-GHz-Detektionsbandbreite des Oszilloskops dar. Angepasst aus [16].

**Abbildung 2.4 E** zeigt beispielhaft das balancierte Interferenzsignal zweier Sweeps bei einer spektralen Bandbreite von 120 nm, welches zur Bestimmung des Amplitudenabfalls verwendet wurde. Die Abhängigkeit der Signalamplitude von der Weglängendifferenz des Interferometers ist für verschiedene spektrale Bandbreiten in **Abbildung 2.4 F** dargestellt. Wie aus der grünen Kurve hervorgeht, konnte bei einer Bandbreite von 15 nm ein Interferenzsignal noch bei einer Weglängendifferenz von 735 mm detektiert werden. Schmalere Bandbreiten konnten mit dem verwendeten Interferometeraufbau nicht analysiert werden, da die maximale Weglängendifferenz bei 15 nm bereits vollständig ausgeschöpft wurde. Diese Ergebnisse unterstreichen die hohe Kohärenzlänge der FDML-Lichtquelle, die theoretisch Tiefenbildbereiche von über einem Meter ermöglicht.

In der Praxis wird die Detektionsbandbreite des OCT-Systems jedoch durch die Fotodiode auf 1,6 GHz limitiert. Es war jedoch nicht möglich, Sweeps für Tiefenbildbereiche über 10 cm mit der aktuellen Detektionsarchitektur zu linearisieren, obwohl die Ergebnisse in **Abbildung 2.4 F** auf deutlich größere Kohärenzlängen hinweisen. Die Signalamplitude des Interferenzsignals nimmt erst bei 36 GHz ab, was weit über der 1,6-GHz-Grenze des verwendeten Fotodetektors liegt.

Bei einer Leistung von 38,5 mW auf der Probe, beträgt die Sensitivität des OCT-Systems 101 dB und wurde wie folgt bestimmt: Ein Spiegel wurde im Fokus des Probenarms positioniert und so ausgerichtet, dass die rückgestreute Leistung maximiert wurde. Ein Graufilter mit bekanntem Abschwächungskoeffizienten wurde eingefügt, um Sättigungseffekte des Detektors zu vermeiden. Die optische Leistung auf dem Spiegel und auf dem Detektor wurde gemessen, um die Rückkopplungseffizienz zu berechnen. Anschließend wurden die Amplitude des Fourier-transformierten und kalibrierten OCT-Signals sowie die Standardabweichung des Rauschuntergrunds an der gleichen Position gemessen, um das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR, engl. *signal-to-noise ratio*) zu bestimmen. Unter Berücksichtigung der Reflektivität des Spiegels ( $R_p$ ) und des doppelten Abschwächungsfaktors ergibt sich die Sensitivität gemäß der folgenden Gleichung:

$$\Sigma = 10 \times \log_{10} \left( \frac{SNR}{R_p} \right). \quad (2.15)$$

Unter Berücksichtigung der Rückkopplungseffizienz von 32 % und Dioden-Responsivität von  $\rho = 0,95$ , liegt die gemessene Sensitivität nahe am theoretischen Wert von 103 dB, der gemäß Gleichung (2.9) berechnet wurde.

Die NA der in Abschnitt 2.4.3 beschriebenen Standard-Scanoptik des OCT-Systems beträgt 0,027, woraus sich gemäß Gleichung (2.10) eine theoretische laterale Auflösung von 18,0  $\mu\text{m}$  ergibt. Die praktische Messung erfolgte mit einer USAF-Auflösungstafel (USAF, engl. *United States Air Force*; R1DS1P, Thorlabs Inc., USA). Anhand dieser Tafel mit definierten Gruppen senkrechter und waagerechter Linien mit unterschiedlicher Breite und Abstand kann die Auflösungsgrenze ermittelt werden. Hierbei wurden zwei Linien als auflösbar betrachtet, wenn der Kontrast zwischen ihnen auf etwa 50 % absank. Die Breite dieses Linienpaars wird in dieser Arbeit als laterale Auflösung definiert. Die Messung ergab eine laterale Auflösung von 22,1  $\mu\text{m}$  für die Standard-Scanoptik des Systems (Gruppe 5, Element 4 der USAF-Auflösungstafel).

Die theoretische axiale Auflösung ergibt sich aus der Zentralwellenlänge  $\lambda_0$  und der spektralen Bandbreite  $\Delta\lambda$  der Lichtquelle. Da das Spektrum des FDML-Lasers jedoch eher rechteckförmig statt wie in Gleichung (2.12) angenommenen gaußförmig ist, gibt die folgende Formel eine bessere Näherung für die axiale Auflösung [30]:

$$\Delta z \approx 0,6 \cdot \frac{\lambda_0^2}{\Delta\lambda} \quad (2.16)$$

Bei einer Zentralwellenlänge  $\lambda_0$  von 1310 nm und einer spektralen Bandbreite  $\Delta\lambda$  von 110 nm beträgt die axiale Auflösung des MHz-OCT Systems nach dieser Gleichung 9,4  $\mu\text{m}$ . Im Gegensatz zu diesem theoretisch bestimmten Wert kann die axiale Auflösung anhand der Reflexion eines Spiegels experimentell ermittelt werden. Da hierbei im OCT nur eine Linie entsteht, wird die Breite dieser bestimmt bzw. konkret die Halbwertsbreite (FWHM, engl. *full width at half maximum*) der im A-Scan ersichtlichen Punktspreizfunktion ermittelt. Für eine spektrale Bandbreite von 110 nm wurde eine axiale Auflösung (FWHM) von 16  $\mu\text{m}$  in Luft gemessen.



# 3

## ROBOTISCHE MHZ-OCT

In den letzten Jahren hat die Optische Kohärenztomographie (OCT) in der Dermatologie erhebliche Fortschritte gemacht, sowohl in der technologischen Entwicklung als auch in der Interpretation der OCT-Daten. Mit der Markteinführung kommerzieller Systeme wie dem VivoSight Dx (Michelson Diagnostics Ltd., Großbritannien), das zusätzlich angiografischen Kontrast bietet, und dem deepLive™ (Damae Medical, Frankreich), das eine zelluläre Auflösung der oberen Hautschichten ermöglicht, wurden zahlreiche Studien veröffentlicht. Diese belegen das enorme Potenzial der Technologie, gesundes von pathologischem Gewebe zu unterscheiden [31-34]. Ein großer Vorteil der OCT ist ihre Nicht-Invasivität: Sie ermöglicht regelmäßige Verlaufskontrollen und verhindert gleichzeitig die Entstehung von Narben, die durch Gewebeentnahmen bei herkömmlichen Diagnoseverfahren verursacht werden [35]. Dies ist insbesondere bei pathologischen Veränderungen im Gesicht von ästhetischer Bedeutung.

Trotz des Potenzials weisen die oben genannten OCT-Systeme im klinischen Alltag jedoch auch erhebliche Einschränkungen auf [36]. Aufgrund langsamer Scangeschwindigkeiten und kleiner Bildfelder sind sie in der Regel unzureichend, um große Bereiche in angemessener Zeit zu scannen. Besonders bei Läsionen der Haut, die sich über mehrere Quadratzentimeter erstrecken können, würde die vollständige Abbildung dieser Bereiche unverhältnismäßig viel Zeit in Anspruch nehmen und für die Patient\*innen erhebliche Unannehmlichkeiten bedeuten. Eine selektive Bildgebung lediglich repräsentativer Bereiche birgt zudem das Risiko, potenzielle entzündliche Infiltrate oder pathologische Veränderungen zu übersehen.

Obwohl MHZ-OCT die erforderliche Geschwindigkeit für Aufnahmen großer Bereiche aufweist, kann das Bildfeld nicht ohne Weiteres erweitert werden. Daher ergibt sich die Notwendigkeit, die gesamte optische Scaneinheit über den Interessensbereich zu bewegen. In

diesem Kontext erlangt die Integration robotischer Positioniereinheiten in die OCT-Bildgebung besondere Relevanz, worauf der Fokus dieses Kapitels der Arbeit liegt.

Neben dem Argument des großflächigen Scanbereichs rechtfertigt auch die Automatisierung des Scanprozesses die Integration von Robotik in die OCT. Die manuelle Positionierung der Sonde über große Flächen ist ungenau, zeitaufwändig und kostenintensiv, da sie geschultes Personal erfordert. Eine robotergestützte Automatisierung steigert neben der Bildqualität die Bildgebungsgeschwindigkeit und spart Ressourcen, da repetitive Aufgaben ohne manuelle Eingriffe durchgeführt werden können [37]. Über den unmittelbaren klinischen Nutzen hinaus eröffnet die robotergestützte Automatisierung der OCT auch neue Perspektiven für die Grundlagenforschung, insbesondere bei der Ermittlung neuer OCT-basierter Biomarker. Sie gewährleistet eine präzise und reproduzierbare Positionierung der Sonde und verbessert so die Qualität und Vergleichbarkeit der erhobenen Daten – ein klarer Vorteil für neue diagnostische Ansätze.

In den nachfolgenden Abschnitten erfolgt eine eingehende Erörterung der Integration von Robotik in der MHz-OCT. Ein mehrstufiger Entwicklungsprozess erstreckte sich von einem eigenkonstruierten, motorisierten, dreiachsigen Linearroboter bis hin zur Implementierung eines siebenachsigen Roboterarms. Während dieses Entwicklungsverlaufs wurde das Potenzial der robotergestützten MHz-OCT sorgfältig analysiert. Im Anschluss werden drei klinische Kooperationsprojekte mit der Dermatologie vorgestellt, um die Leistungsfähigkeit und Anwendbarkeit der Bildgebungstechnologie in einem medizinischen Kontext zu demonstrieren und somit neue Perspektiven für die Diagnostik und Forschung in der Dermatologie aufzuzeigen.

Die in diesem Kapitel präsentierten Ergebnisse wurden zum Teil bereits veröffentlicht und entstanden in enger arbeitsgruppeninterner Zusammenarbeit bzw. im Rahmen verschiedener Kooperationsprojekte. Besonders hervorzuheben sind die Beiträge von Sazgar Burhan und Simon Lotz im Bereich der Inbetriebnahme und Ansteuerung des Linearroboters, die in dieser Arbeit nicht näher beschrieben werden. Der Beitrag dieser Arbeit zur technischen Integration der Robotereinheiten liegt hauptsächlich in der Einbindung der Systeme und ihrer Synchronisierung mit dem OCT-System. Im klinischen Kontext ist die Zusammenarbeit mit Caren Jacobi vom Lübecker Institut für Experimentelle Dermatologie (LIED) mit einem Forschungsschwerpunkt auf Wundheilungsprozessen hervorzuheben. Ein weiterer Fokus der anwendungsbezogenen Experimente liegt auf der Diagnose entzündlicher

Hautkrankheiten, die in enger Zusammenarbeit mit Linh Ha-Wissel der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein geplant und durchgeführt wurden. Der Beitrag dieser Arbeit zu den klinischen Bildgebungsexperimenten konzentrierte sich auf die OCT-gestützte Quantifizierung und Analyse. Biologischen Laborproben wurden von den Kooperationspartnerinnen bereitgestellt und OCT-Aufnahmen an Patient\*innen erfolgten ausschließlich in der Klinik. Der Vollständigkeit halber wird in dieser Arbeit auch der Methodenteil der biologischen bzw. klinischen Vor- und Nachbereitungsprozesse geschildert.

Darüber hinaus lieferten die weiteren genannten Ko-Autor\*innen wertvolle beratende Unterstützung in Bezug auf praktische Aspekte im Labor (Wolfgang Draxinger, Jan Philip Kolb und Robert Huber), die Umsetzung im klinischen Kontext (Jennifer Hundt) und im Bereich der Robotik (Sven Böttger und Floris Ernst). Die Inhalte der folgenden Abschnitte finden sich in den entsprechenden wissenschaftlichen Publikationen wieder, auf die hier verwiesen wird:

- S. Burhan, **M. Göb**, W. Draxinger, und R. Huber, *Design and construction of a motorized XYZ positioning stage for large field of view optical coherence tomography imaging*, in *10th Conference on Medical Engineering Science*, (Infinite Science Publishing, Lübeck University Press and Academic Printing, 2021).
- **M. Göb**, S. Burhan, W. Draxinger, J. P. Kolb, und R. Huber, *Towards densely sampled ultra-large area multi-MHz-OCT for in vivo skin measurements beyond 1 cm<sup>2</sup>/sec*, in *European Conferences on Biomedical Optics 2021 (ECBO)*, OSA Technical Digest (Optical Society of America, 2021), EW3C.4. DOI: 10.1117/12.2616054.
- **M. Göb**, S. Burhan, S. Lotz, und R. Huber, *Towards ultra-large area vascular contrast skin imaging using multi-MHz-OCT*, SPIE BiOS (SPIE, 2022), Vol. 11948. DOI: 10.1117/ 12.2612171.
- **M. Göb**, S. Lotz, L. Ha-Wissel, S. Burhan, S. Böttger, F. Ernst, J. Hundt, und R. Huber, *Large area robotically assisted optical coherence tomography (LARA-OCT) for skin imaging with MHz-OCT surface tracking*, SPIE BiOS (SPIE, 2023), Vol. 12367. DOI: 10.1117/12.2652616.
- **M. Göb**, S. Lotz, L. Ha-Wissel, S. Burhan, S. Böttger, F. Ernst, J. Hundt, und R. Huber, *Advances in large area robotically assisted OCT (LARA-OCT): towards drive-by continuous motion imaging*, European Conferences on Biomedical Optics (SPIE, 2023), Vol. 12632. DOI: 10.1117/12.2670950.
- S. Lotz, **M. Göb**, S. Böttger, L. Ha-Wissel, J. Hundt, F. Ernst, und R. Huber, *Large area robotically assisted optical coherence tomography (LARA-OCT)*, Biomed. Opt. Express **15**, 3993-4009 (2024). DOI: 10.1364/BOE.525524.

- L. Ha-Wissel, H. Graßhoff, **M. Göb**, B. Mustafa, R. Huber, H. Zirpel, H. Yasak, D. Thaçi, und J. E. Hundt, *Optical coherence tomography-based imaging biomarkers for disease activity monitoring in plaque psoriasis*, Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology (2024). DOI: 10.1111/jdv.20097.

Noch zu veröffentlichen:

- T. M. Sturmheit, N. Nissen, C. Jacobi, **M. Göb**, R. Pfündl, S. K. Landt, T. Pfeiffer, W. Draxinger, C. Kren, D. Wendt, R. J. Ludwig, N. Koop, R. Huber, R. Paus, M. Brandenburger, C. Kruse, und J. E. Hundt, *Sweat gland derived stem cells promote re-epithelialization in a newly standardized human skin wound healing assay*.
- **M. Göb**, B. Mustafa, L. Ha-Wissel, J. E. Hundt, und R. Huber, *Automated OCTA vessel count algorithm for quantitative analysis of skin disease activity*.

### 3.1. HINTERGRUNDINFORMATIONEN

Die robotische MHz-OCT zielt darauf ab, großflächige Hautareale abzutasten und die Einschränkungen herkömmlicher händisch durchgeführter Aufnahmen in der Dermatologie zu überwinden.

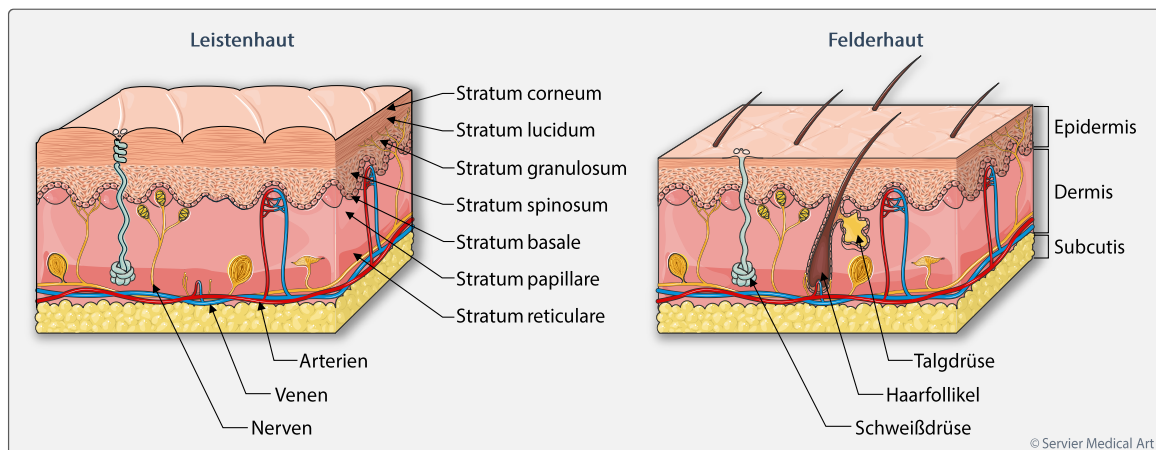
#### 3.1.1. Anatomie der Haut

Die Haut bildet die äußere Schutzbarriere des menschlichen Körpers und ist das größte Organ mit einer Oberfläche von etwa 1,8 m<sup>2</sup>. Sie erfüllt lebenswichtige Funktionen wie den Schutz vor Umwelteinflüssen, die Regulation der Körpertemperatur, die Abwehr von Krankheitserregern sowie die Wahrnehmung von Sinnesreizen.

Anatomisch lässt sich die Haut anhand ihrer Oberflächenstruktur in zwei Typen unterteilen: die Leistenhaut und die Felderhaut. Die Leistenhaut befindet sich ausschließlich auf der Handinnenfläche (Palmarseite) und Fußsohle (Plantarseite). Ihre charakteristische Oberflächenstruktur aus Papillarleisten bildet die Grundlage für den Fingerabdruck. Im Gegensatz dazu bedeckt die Felderhaut den Großteil des Körpers und zeigt ein rhombisches Muster (Hautfelder). Sie enthält Haare und Talgdrüsen, die bei der Leistenhaut fehlen. Unabhängig vom Hauttyp setzt sich die Haut aus drei funktionell und strukturell unterschiedlichen Schichten zusammen, die von außen nach innen in Epidermis, Dermis und Subcutis gegliedert und in **Abbildung 3.1** schematisch dargestellt sind [38].

Die Epidermis (Oberhaut) stellt die äußerste Schicht der Haut dar und besteht aus mehrschichtigem, verhorntem Plattenepithel. Sie ist gefäßfrei und wird über Diffusion aus der Dermis versorgt. Innerhalb der Epidermis differenzieren sich die Keratinozyten und wandern

zur Hautoberfläche, wodurch eine kontinuierliche Hauterneuerung gewährleistet wird. Die unterste Schicht, das Stratum basale (Basalschicht), besteht aus einer einzelnen Zellschicht aus undifferenzierten, teilungsfähigen Keratinozyten. Durch Zellteilung bilden sie kontinuierlich neue Keratinozyten, die nach oben in das Stratum spinosum wandern. Hier bilden sie durch Desmosome feste Zellverbindungen aus, die der Haut Stabilität verleihen. Diese Zellen behalten ihre Fähigkeit zur Zellteilung bei, aber die Teilung nimmt ab, je weiter sie in die oberen Schichten wandern. Im Stratum granulosum produzieren die Keratinozyten Keratohyalin-Granula, die die Keratinfilamente miteinander verbinden und eine Schlüsselrolle bei der Bildung der Hautbarriere spielen. Gleichzeitig verlieren die Zellen ihre Zellkerne und andere Organellen, was ein Zeichen der fortschreitenden Differenzierung und der Vorbereitung auf den programmierten Zelltod ist. Es folgt das Stratum lucidum (nur in Leistenhaut), in der die Zellen fast vollständig mit Keratin gefüllt sind und ihre organischen Bestandteile verloren haben. Diese Schicht dient als zusätzliche Schutzbarriere. In der obersten Schicht, dem Stratum corneum (Hornschicht) haben sich die Keratinozyten vollständig zu hornartigen, abgestorbenen Zellen entwickelt, die als Korneozyten bezeichnet werden. Sie sind voll mit Keratin und bilden eine robuste, widerstandsfähige Barriere gegen mechanische Belastung und äußere Einflüsse. Diese Zellen werden schließlich abgetragen und durch neue Zellen ersetzt, die aus den unteren Schichten nachrücken.



**Abbildung 3.1** Anatomie der Haut.

Die schematische Darstellung wurde adaptiert von Servier Medical Art [39].

Direkt unter der Epidermis liegt die Dermis (Lederhaut). Die Verbindung zwischen Epidermis und Dermis erfolgt über eine enge Verzahnung, die für mechanische Stabilität sorgt und die Kontaktfläche vergrößert. Fortsätze der Epidermis, die in die Dermis ragen, werden als Reteleisten bezeichnet, während die dazwischenliegenden Ausstülpungen der Dermis

Papillen genannt werden. Die Dermis besteht aus straffem Bindegewebe, das der Haut Festigkeit sowie Elastizität verleiht. In dieser Schicht verlaufen Blutgefäße, Nervenfasern und Sinnesrezeptoren, die Reize wie Druck, Schmerz oder Temperatur wahrnehmen. Je nach Hauttyp befinden sich hier außerdem Haarfollikel, Talgdrüsen und Schweißdrüsen, die gemeinsam dazu beitragen, die Haut geschmeidig zu halten und die Temperatur zu regulieren. Die Dermis setzt sich aus zwei Bereichen zusammen, dem Stratum papillare, einer oberflächlichen Papillarschicht aus lockerem Bindegewebe und dem Stratum reticulare, einer tieferliegenden Netzschrift, die aus dichtem, geflechtartigem Bindegewebe besteht.

Unterhalb der Dermis befindet sich die Subcutis, die vorwiegend aus Fettgewebe besteht und der Haut als Polster, Wärmespeicher und Energiespeicher dient. Gleichzeitig stellt sie die Verbindung zu tieferliegenden Körperfazien her.

Je nach Position und Hauttyp variiert die Dicke der einzelnen Hautschichten, was sich auch auf das OCT-Signal auswirkt. Die Epidermis ist typischerweise 30  $\mu\text{m}$ -2 mm dick, die Dermis 0,5-1,5 mm und die Subcutis 0,5-30 mm.

### 3.1.2. Aktueller Entwicklungsstand robotischer OCT

Dank der hochauflösenden Echtzeit-Visualisierung von Gewebestrukturen gewinnt die OCT zunehmend an Bedeutung als Sensorik- und Navigationssystem für Roboter, sowohl im biomedizinischen Bereich als auch in der modernen Automatisierungstechnik [40, 41]. Im Vergleich zu herkömmlichen, kamerabasierten robotischen Sensoriksystemen, die lediglich Oberflächentopografien erfassen, ermöglicht OCT den Zugang zur volumetrischen Tiefeninformation. Diese Fähigkeit macht die Technologie zu einer innovativen Messtechnik mit vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten.

Während die OCT in der Roboterindustrie bereits erfolgreich in Produktlösungen wie der Qualitätssicherung von Schweißprozessen (OCTSCAN 2.5, Lessmüller Lasertechnik GmbH, Deutschland) oder der Lasermaterialbearbeitung (Flying Spot Scanner 3310, Precitec GmbH & Co. KG, Deutschland) eingesetzt wird, wird ihr Potenzial als roboterunterstütztes Diagnose- und Navigationswerkzeug für klinische Anwendungen aktuell intensiv erforscht. Dieser Abschnitt gibt einen Überblick über den aktuellen Stand der Forschung zu robotergestützten OCT-Systemen für biomedizinische Anwendungen und beleuchtet den wachsenden Forschungstrend in der Kombination von OCT und Robotik. Die Entwicklung im Rahmen dieser Arbeit trägt maßgeblich zu diesem innovativen Forschungsbereich bei und stellt einen wichtigen Beitrag zu robotergestützten OCT-Systemen dar.

Je nach Anwendung und Konfigurationen sind verschiedene geometrische Beziehungen zwischen Roboter- und OCT-System zu berücksichtigen [42]. Erste Forschungsansätze zur Integration von Robotik in OCT konzentrierten sich auf *roboterunterstützte OCT-Systeme* [43-45]. In diesen Ansätzen blieb die OCT-Scaneinheit stationär, während der Roboter die Probe oder das Instrument manipulierte und als präzise Positioniereinheit diente. Anhand dieser roboterunterstützten OCT-Konzepte konnte das Potenzial der OCT-Bildgebung als Sensor zur Steuerung robotischer Bewegungen aufgezeigt werden [46, 47]. Ein wesentlicher Vorteil liegt in der hohen räumlichen Auflösung der OCT, die die detaillierte Visualisierung von Gewebemikrostrukturen ermöglicht und eine präzise Analyse der Interaktion zwischen Werkzeug und Gewebe unterstützt. Darüber hinaus liefert die 3D-Bildgebung wertvolle Informationen, die eine genaue Instrumentenverfolgung und Positionierungsvorhersage ermöglichen und somit die Wahrnehmungsprobleme konventioneller robotischer Sensorik-Systeme lösen [48, 49]. Die Echtzeitfähigkeit der OCT-Systeme spielt ebenfalls eine entscheidende Rolle, da sie ein kontinuierliches Live-Feedback bietet und somit eine dynamische Anpassung der Roboterbewegung erlaubt. Die Kombination aus hoher Auflösung und Echtzeitfähigkeit fördert nicht nur eine präzise robotische Positionierung, sondern erhöht auch die Sicherheit in der Mensch-Roboter-Interaktion [50]. Diese Konfiguration mit einer stationären mikroskopischen OCT-Scaneinheit ist besonders für die Mikrochirurgie geeignet, etwa zur Steuerung der Bewegung von medizinischen Instrumenten wie Nadeln, Sonden oder Laserskalpellen während operativer Eingriffe. Erste Forschungssysteme in der Ophthalmologie demonstrieren beispielsweise OCT-gesteuerte, robotische Systeme für automatisierte Hornhauttransplantationen, Netzhautpunktionen und subretinale Injektionen [51-53].

In der umgekehrten Konfiguration, der *robotergeführten OCT*, ist die OCT-Scaneinheit an einem robotischem System befestigt, typischerweise an dem Endeffektor eines Roboterarms. Die dadurch bedingte höhere Mobilität und Scanflexibilität bieten entscheidende Vorteile, insbesondere für die medizinische Bildgebung und Diagnostik. Wie bereits beschrieben, ist das Bildfeld von OCT-Systemen begrenzt. Die Montage der OCT-Scaneinheit an einem Roboterarm überwindet diese Einschränkung und ermöglicht das Abscannen großer Probenbereiche, bis hin zu ganzen Organen [54-58]. Ma et al. präsentierten beispielsweise ein robotisches OCT-System für die Vitalitätsanalyse von Transplantationsnieren [57]. Der Roboterarm ermöglicht eine flexible Positionierung und Ausrichtung der OCT-Scaneinheit,

sodass Bilder aus verschiedenen Blickwinkeln aufgenommen werden können. Dies ist besonders wertvoll für die Abbildung komplexer Strukturen oder den Zugang zu schwer zugänglichen Bereichen. **Tabelle 1** gibt einen kurzen Überblick über bestehende robotergeführte OCT-Systeme, deren Konfiguration und Anwendung.

Robotische OCT-Systeme sind auch für die Bildgebung beweglicher Strukturen von großem Nutzen. Durch dynamische Echtzeit-Verfolgung können Körperbewegungen während der Messung ausgeglichen werden. Draelos et al. entwickelten ein robotergeführtes OCT-System zur Retinabildgebung freistehender Patient\*innen [54]. In diesem System ist die OCT-Scaneinheit an einem Roboterarm montiert und mit speziellen Stereo- und Pupillenkameras ausgestattet, um die Kopf- bzw. sogar die Augenbewegung der Patient\*innen während der OCT-Aufnahmen auszugleichen. Auch in der Neurochirurgie wird an robotischen OCT-Systemen geforscht, etwa für minimal-invasive, bewegungsunempfindliche Bildgebung des Gehirns [59]. Die flexiblen Einsatzmöglichkeiten, die präzise Bildgebung und die Echtzeitfähigkeit machen robotische OCT-Systeme zu einer Schlüsseltechnologie für zukünftige medizinische Anwendungen.

**Tabelle 1** Relevante veröffentlichte robotergeführte OCT-Systeme

OCT-System	Roboter-System	Zusatzsensoren	Anwendung	Referenz
100 kHz SS-OCT @ 1050 nm	6-achsiger Roboterarm (UR3, Universal Robots, Dänemark)	zwei 3D-Kameras, Pupillenkamera	Retinabildgebung freistehender Personen	Draelos et al. 2021 [54]
76 kHz SD-OCT @ 1300 nm	7-achsiger Roboterarm (xArm7, UFACTORY, China)	Tiefenkamera	Großflächige OCT-Aufnahmen	Huang et al. 2021 [55]
120 kHz SD-OCT @ 850 nm	6-achsiger Roboterarm (Aubo i3, Aubo Robotics, China)	-	Mikrovaskuläre Bildgebung des Gehirns	He et al. 2023 [56]
28 kHz SD-OCT @ 1325 nm	7-achsiger Roboterarm (Panda, Franka Emika GmbH, Deutschland)	-	Vitalitätsanalyse von Transplan- tationsnieren	Ma et al. 2024 [57]
100 kHz SS-OCT @ 1060 nm	7-achsiger Roboterarm (LBR med, Kuka-AG, Deutschland)	3D-Kamera	Laparoskopische Darmanastomose	Wang et al. 2024 [58]

### 3.1.3. Entwicklungsprozess der Roboterintegration in die MHz-OCT

Parallel zu den in **Tabelle 1** gezeigten Entwicklungen robotergeführter OCT-Systeme erfolgte die robotische Integration des in dieser Arbeit präsentierten MHz-OCT-Systems. Zunächst wurde im Rahmen einer Studienarbeit der Übergang von der herkömmlichen OCT-Scaneinheit zu einer beweglichen Positioniereinheit erforscht. Wie im folgenden Abschnitt

detailliert beschrieben, entstand hierbei ein motorisierter Linearroboter, der zwei grundlegende Zwecke erfüllte. Zum einen diente er als Prototyp und Vorstufe für die Entwicklung eines Roboterarms für großflächige Bildgebungsexperimente. Zum anderen bewährte er sich aufgrund seiner außerordentlichen Präzision als eine stabile Positioniereinheit für diverse Forschungsanforderungen.

In einem weiteren Entwicklungsschritt erfolgte die Integration eines siebenachsigen Roboterarms in das MHz-OCT-System sowie dessen Charakterisierung. Im Unterschied zum Linearroboter, kann mit dem Roboterarm auch der Winkel der Scaneinheit angepasst werden und er ist mit Kraftsensoren in allen Gelenken ausgestattet, was ihn zu einem „kollaborierenden System“ macht. Diese Art von Roboterarmen wurde für die Zusammenarbeit von Mensch und Maschine entwickelt, denn das System erkennt Kollisionen mit dem Roboterarm und stoppt sofort. Um während der Bildgebungsexperimente eine sichere Arbeitsumgebung zu gewährleisten, wurden zusätzliche redundante Sicherheitseinrichtungen wie externe Not-Halt-Schalter oder Geschwindigkeitsüberwachung implementiert.

### 3.2. LINEARROBOTER

Im Gegensatz zu kommerziell erhältlichen motorisierten XYZ-Verschiebetischen, die typischerweise die Bewegung von Proben bei der Bildgebung mit starren Optiken ermöglichen, zeichnet sich der hier entwickelte Linearroboter durch seine Fähigkeit aus, dass nicht die Proben, sondern die Scaneinheit in drei Dimensionen verschoben werden kann. Dies ermöglicht nicht nur eine höhere Flexibilität und reduziert Bewegungsartefakte bei *in vivo* Messungen oder speziell fixierten Proben, sondern eröffnet auch die Möglichkeit, Proben in flüssigen Medien abzutasten, ohne diese zu bewegen. Wie im nächsten Abschnitt beschrieben, besteht der Linearroboter aus drei individuell ansteuerbaren Linearachsen, die in Form eines Auslegers angeordnet sind. Dieses Design wurde sorgfältig gewählt, um ein möglichst großes Bildfeld oder -volumen abdecken zu können. In einem späteren Entwicklungsstadium wurde das Design weiter optimiert und um eine zweite höhenverstellbare Z-Achse ergänzt, um die Stabilität des Linearroboters zu verbessern (siehe **Abbildung 5.3**).

Jede Achse verfügt über einen Schrittmotor und für eine möglichst hohe Präzision des Linearroboters wurde ein Spindeltrieb gewählt. Die Positionierungsgenauigkeit sowie Geschwindigkeit lassen sich flexibel und individuell für jede Achse durch austauschbare Zahnriemengetriebe anpassen. Die Ansteuerung der Motoren erfolgt über eine selbstentwickelte Software, die in die OCT-Bildgebungssoftware integriert wurde, um synchronisierte

Aufnahmen und Positionierungen zu ermöglichen. Die speziell entwickelte Steuersoftware zeichnet sich durch hohe Anpassungsfähigkeit aus und lässt sich leicht um neue Scanprotokolle erweitern, um den Anforderungen verschiedener Anwendungsszenarien gerecht zu werden. Infolgedessen wurden diverse Betriebsmodi entwickelt, um eine Vielzahl von Einsatzmöglichkeiten zu unterstützen. Diese umfassen nicht nur die schnelle und effiziente OCT-Bildgebung mit Aufnahmegeschwindigkeiten von bis zu  $1 \text{ cm}^2/\text{s}$ , sondern ermöglichen auch die Erprobung neuer funktionaler Bildgebungsmodalitäten, die auf wiederholtem, positionsgenauem Abtasten basieren.

### 3.2.1. Aufbau und Technische Details

Der Aufbau des Linearroboters ist in **Abbildung 3.2** dargestellt. Im Wesentlichen handelt es sich um eine Kombination dreier Linearführungssysteme, die eine Verschiebung der in Abschnitt 2.4.3 beschriebenen OCT-Scaneinheit in drei Dimensionen ermöglicht. Die Höhenverschiebung in Z-Richtung erfolgt über eine vertikal an einem optischen Tisch angebrachte Z-Achse. An dem Laufwagen der Z-Achse ist horizontal die Y-Achse befestigt, an dessen Laufwagen wiederum eine weitere horizontal verlaufende X-Achse befestigt ist, so dass laterale Verschiebungen in X- und Y-Richtung ermöglicht werden.

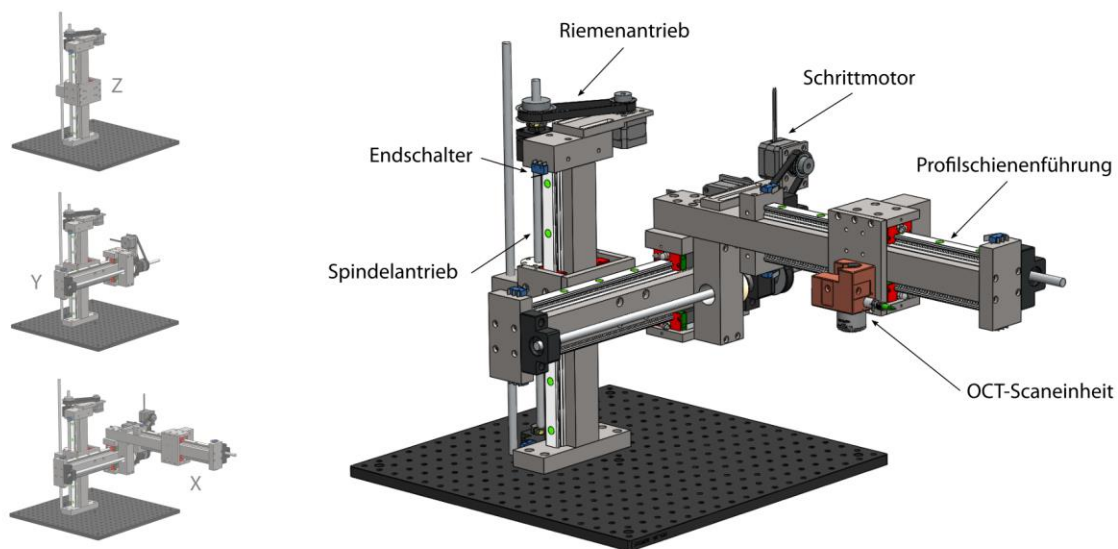


Abbildung 3.2 Aufbau des Linearroboters

Jede der drei Linearführungssysteme besteht aus einer Aluminiumachse, an der an zwei gegenüberliegenden Seiten Profilschienenführungen (EGR20R340H, QE20CAZ0H, HIWIN GmbH, Deutschland) angebracht sind. An den Laufwagen sind Halterungskonstruktionen aus Aluminium angebracht für die Verknüpfung weiterer Achsen bzw. der OCT-Scaneinheit sowie die Verbindung mit dem jeweiligen Spindeltrieb. Die Linearführungen werden mit

Schrittmotoren (QSH4218-51-10-049-10000-AT, TRINAMIC Motion Control GmbH, Deutschland) über eine Trapezgewindespindel (PTGSG-10X2-01-R, igus GmbH, Deutschland) mit Zahnriemenübersetzung (Mädler GmbH, Deutschland) angetrieben. Die Kraft des Motors wird dabei über zwei Zahnräder, die mit einem Zahnriemen verbunden sind, auf die Spindel und über eine Gewindemutter (JFRMAB-2525-TR10X2, igus GmbH, Deutschland) auf die Laufwagen für eine translatorische Linearbewegung übertragen. Für jede Achse wurden unterschiedliche Übersetzungsverhältnisse, aufgelistet in **Tabelle 2**, für die bestmögliche Geschwindigkeit bzw. Präzision gewählt. Am Ende jeder Achse befinden sich Lager (64200310, 64200412, Mädler GmbH, Deutschland) für die Spindelhalterung sowie Endschalter (01050.5202-00, Marquardt GmbH, Deutschland) zur Kollisionsvermeidung und präzisen Endlagenbestimmung der automatischen Ansteuerung. Zusätzlich zu den elektronischen Endschaltern wurde an der Z-Achse eine Gewindestange als mechanische Höhenbarriere installiert, die manuell eingestellt werden kann.

Mit dieser ansteuerbaren Positioniereinheit können Linearbewegungen mit einer inkrementellen Schrittgenauigkeit von bis zu 3  $\mu\text{m}$  bei einer Geschwindigkeit von etwa 30 mm/s realisiert werden. Weitere technische Details sind dem Konferenzbeitrag von Sazgar Burhan et al. zu entnehmen [60].

**Tabelle 2** Technische Daten des Linearroboters

<b>Merkmal</b>	<b>X-Achse</b>	<b>Y-Achse</b>	<b>Z-Achse</b>
Übersetzung (Zähnezahl Motor / Spindel)	28 / 44	28 / 48	30 / 40
Arbeitsweg	217 mm	211 mm	224 mm
Geschwindigkeit	29,73 mm/s	33,08 mm/s	14,58 mm/s
Mikroschrittweite	491 nm	535 nm	234 nm
Inkrementell ansteuerbare Schrittweite	3 $\mu\text{m}$	3 $\mu\text{m}$	3 $\mu\text{m}$
Repositionierungsfehler (nach Kalibrierfahrt)	8,9 $\mu\text{m}$	8,7 $\mu\text{m}$	36 $\mu\text{m}$

### 3.2.2. Software und Betriebsmodi

Zur elektronischen Ansteuerung der Motoren und der dadurch induzierten Bewegung der OCT-Scaneinheit wurde eine Software in LabVIEW 2017 (National Instruments Austin, Texas, USA) entwickelt. Die Software ist in diverse Sub-Module (sogenannte *virtuelle Instrumente*, VI) untergliedert, die zum einen die Steuerung der einzelnen Achsen ermöglichen, zum anderen das gezielte Abfahren von definierten Positionen.

Die Ansteuerung der Motoren und das Auslesen der eingebauten Positionencoders erfolgt via USB und *Virtual Instrument Software Architecture* (VISA)-Befehle mit dem dreiachsigen Steuermodul der Schrittmotoren (TMCM-3110-TMCL, TRINAMIC Motion Control GmbH & Co. KG, Deutschland). Nach Start der Software ist eine automatische Kalibrierfahrt vorgesehen, bei der alle Achsen bis zu ihren Maximalstellungen ausgefahren werden. Die jeweiligen Endpositionen werden durch Endschalter-Sensoren und der ausgelesenen Encoder-Position bestimmt. Danach kann jede beliebige Position im definierten Arbeitsraum durch einfache Positionseingabe und automatische Motoransteuerung des Steuermoduls angefahren werden. Es ist jedoch auch möglich, die Schrittmotoren über externe Steuersignale bzw. Trigger direkt anzusteuern [61]. In diesem getriggerten Modus können einzelne Schritte und die Drehrichtung des Motors über externe, analoge Signale gesteuert werden, was für die positionsgenaue Synchronisation mit der OCT-Bildgebungssoftware genutzt werden kann und im Abschnitt 3.2.2.2 genauer beschrieben wird.

Für viele Anwendungsszenarien ist die simultane, präzise Bewegung des Linearroboters während der Aufnahme von OCT-Daten jedoch nicht erforderlich, sondern lediglich die Positionierung der OCT-Scaneinheit über der Probe und nachfolgendem Auslösen eines OCT-Scans. Um möglichst viele Positionen über eine Probe nacheinander anzufahren und entsprechende OCT-Aufnahmen auszulösen, kann in der Steuersoftware individuell ein Raster aus verschiedenen Positionen definiert und entsprechend sequenziell abgefahren werden. In jeder definierten Position wird ein OCT-Scan in der parallellaufenden OCT-Bildgebungssoftware gestartet. Die OCT-Bildgebungssoftware basiert ebenfalls auf einem LabVIEW-Programm und die Kommunikation zwischen OCT- und Steuersoftware des Linearroboters erfolgt über LabVIEW-interne *Notifier*-Funktionen. Die Kommunikation der beiden Programme wurde auf möglichst geringe Totzeiten optimiert. So kann z. B. nach einer OCT-Aufnahme direkt eine neue Position angefahren werden, während die OCT-Daten noch vom Arbeitsspeicher auf die Festplatte geschrieben werden.

Der modulare Aufbau der LabVIEW-Software ermöglicht ebenso schnelle Änderungen an der Software und eine leichte Implementierung neuer Schnittstellen. Basierend auf den zwei Ansteuerungsmöglichkeiten der Schrittmotoren wurden drei verschiedene Betriebsmodi des Linearroboters entwickelt, die in den folgenden Abschnitten genauer beschrieben werden. **Tabelle 3** bietet eine Übersicht über die verschiedenen Eigenschaften der jeweiligen Modi.

Tabelle 3 Betriebsmodi des Linearroboters

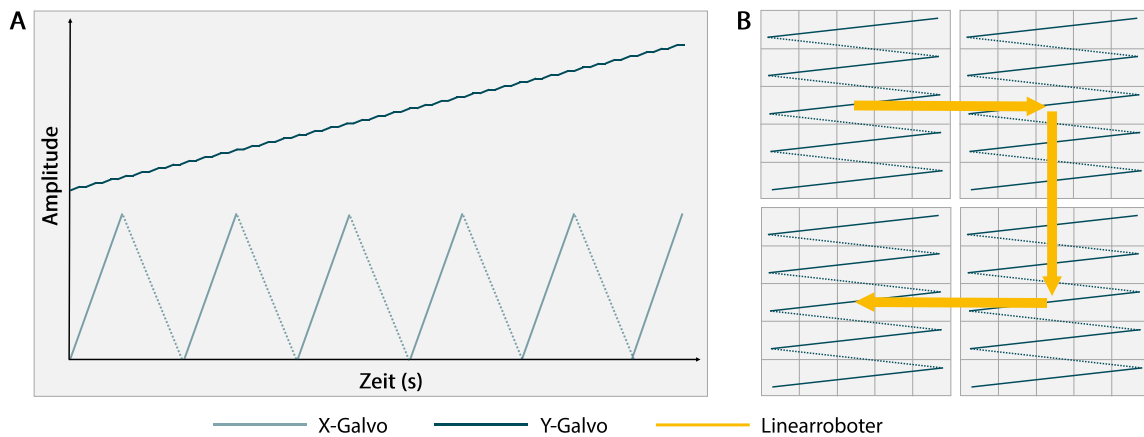
	Mosaik	Interaktion	Interaktion Plus
Prinzip	<ul style="list-style-type: none"> <li>• mehrere Einzelscans</li> <li>• späteres Zusammenfügen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• einzelner langer, kohärenter Scan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• einzelner langer, kohärenter Scan</li> <li>• wiederholte Abtastung</li> </ul>
Scanverfahren	<ul style="list-style-type: none"> <li>• XY-Galvanometer-Raster-Scan</li> <li>• separate Robotertranslation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• X-Galvanometer-Linienscan</li> <li>• simultane Y-Achsen-Robotertranslation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• XY-Galvanometer-Raster-Scan mit Rücksprüngen</li> <li>• simultane Y-Achsen-Robotertranslation</li> </ul>
Interaktion	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Software Trigger</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hardware Trigger</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hardware Trigger</li> </ul>
Vorteile	<ul style="list-style-type: none"> <li>+ einfache Anwendung komplexer Scanprotokolle</li> <li>+ Automatisierung vieler Einzelscans (hoher Durchsatz)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>+ schnelle großflächige Scans</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>+ großflächige Scans mit funktionellem Kontrast</li> </ul>
Nachteile	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Totzeiten</li> <li>– nachträgliches Bild-Stitching</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– limitiertes Scanfeld in Y-Richtung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– limitiertes Scanfeld in Y-Richtung</li> <li>– vibrationsanfällig</li> </ul>

### 3.2.2.1. Mosaik-Modus

Der Mosaik-Modus ermöglicht die Aufnahme vieler kleiner Einzelaufnahmen, die im Nachhinein wie ein klassisches Mosaik zu einem Gesamtbild zusammengefügt werden können. In diesem Modus erfolgen die Positionierung der OCT-Scaneinheit und die Aufnahme eines OCT-Volumens separat. **Abbildung 3.3** visualisiert das Prinzip des Mosaik-Modus. Die Aufnahme eines einzelnen OCT-Volumens erfolgt mithilfe von zwei Galvanometerscannern. Hierbei wird der optische Strahl in X- und Y-Richtung abgelenkt und ermöglicht so eine präzise und schnelle Abtastung zweidimensionaler Flächen. Der Drehwinkel des Galvanometerspiegels sowie die Drehgeschwindigkeit kann dabei direkt über das Ansteuerungssignal eingestellt werden. Das resultierende Scanmuster wird entsprechend durch die Scanfunktion der beiden Galvanometerscanner definiert. Typischerweise erfolgt die schnelle Abtastung sinus- oder dreiecksförmig parallel zur X-Achse des Linearroboters, während der zweite Galvanometerscanner langsam in Y-Richtung ein Rampenmuster abfährt. Im Folgenden werden die beiden Galvanometerscanner häufig auch als X-Galvo und Y-Galvo abgekürzt. In **Abbildung 3.3 A** sind die Standard-Scanfunktionen der X- und Y-Galvos schematisch dargestellt, die für den Mosaik-Modus verwendet wurden.

Wie in **Abbildung 3.3 B** visualisiert, wird dabei eine zweidimensionale Fläche unidirektional abgescannt, die durch gezielte Bewegung des Linearroboters in X- und Y-Richtung er-

weitert werden kann. Die Anzahl an Aufnahmen und die entsprechende Schrittweite zwischen den Positionen kann dafür in der Steuersoftware zu Beginn einer Mosaik-Aufnahme beliebig festgelegt werden. Somit erlaubt der Mosaik-Modus eine hohe Flexibilität hinsichtlich der Dimension des resultierenden Gesamt-OCT-Volumens und die Abtastdichte ist nicht von der Größe des Gesamtvolumens abhängig. Die Auflösung eines Einzelvolumens wird durch die verwendete Scanoptik bestimmt und die Abtastdichte kann durch den Scanwinkel der Galvanometerscanner eingestellt werden.



**Abbildung 3.3** Prinzip des Mosaik-Modus. A) Scanfunktionen der Galvanometer-Scanner der OCT-Scaneinheit. B) Resultierendes Rasterabtastschema inklusive Bewegungsmuster des Linearroboters (ohne Überlapp). Bei den gestrichelten Linien (X-Rückweg) erfolgt keine Datenaufnahme.

Um kleinste Abweichungen und Lücken zwischen den Einzelvolumen zu vermeiden, wird in der Regel ein Überlapp gewählt. Nach der Aufnahme der Daten können die prozessierten OCT-Volumen zu einem Gesamtvolumen zusammengefügt werden. Das Zusammenfügen von überlappenden Einzelbildern wird häufig in der Fotografie zur Erstellung von Panoramabildern angewandt und als *Stitching* (engl. für zusammennähen) bezeichnet. Für diesen Prozess müssen die Einzelbilder zunächst zueinander ausgerichtet und ggf. entzerrt werden. Danach wird der überlappende Bildbereich bestimmt und die gemeinsame Bildinformation miteinander verrechnet. Je nach Aufnahme und Qualität der Einzelbilder kann dieser *Stitching*-Prozess komplex werden und zu Artefakten führen. Typische *Stitching*-Fehler sind Parallaxenfehler durch die fehlerhafte Zusammensetzung von Bildern aus unterschiedlicher Perspektive oder Aufnahmewinkel, Helligkeitsfehler aufgrund von Vignettierung oder unterschiedlichem Kontrast der Einzelbilder sowie Bildsprünge oder Doppelbilder (Klone) typischerweise durch Bewegung. Es gibt jedoch einige Softwarelösungen am

Markt, die zum Teil automatisch und KI-basiert (KI, künstliche Intelligenz) qualitativ hochwertige Panoramabilder erstellen.

In dieser Arbeit wurde sich aufgrund der großen OCT-Datenmengen von mehreren Gigabyte (GB) und damit verbundener Komplexität des 3D-Verarbeitungsprozesses auf das Zusammenfügen einzelner 2D-Schnittbilder fokussiert. Alle im Mosaik-Modus aufgenommenen, großflächigen OCT-Bilder wurden mithilfe der Microsoft Image Composite Editor Software (Microsoft ICE Version 2.0.3.0, Microsoft Research, USA) zusammengesetzt.

Für OCT-Aufnahmen von Haut wurden drei verschiedene Galvanometer-Scanprotokolle mit verschiedenen Schwerpunkten evaluiert: Das großflächige Bildfeld-Protokoll (GBP) ermöglicht das Abscannen großer Flächen in kurzer Zeit; das OCT-Angiografie-Protokoll (OAP) ermöglicht schnelle Volumenwiederholraten für die Erzeugung von Gefäßkontrast und das Hochauflösungsprotokoll (HAP) wurde für die Verwendung von Mikroskopobjektiven für hochauflösende Aufnahmen erstellt. Für alle drei Protokolle wurde sowohl das Bildfeld (FOV) mithilfe eines Punktgitter-Verzeichnungstestbilds (R1L3S3PR, Thorlabs Inc., USA) als auch die laterale Auflösung mit einer USAF-Auflösungstafel (R1DS1P, Thorlabs Inc., USA) vermessen. **Tabelle 4** gibt eine Übersicht mit den Eigenschaften der drei Scanprotokolle; die Kennzahlen der Schwerpunkte Fläche, Geschwindigkeit und Auflösung sind unterstrichen.

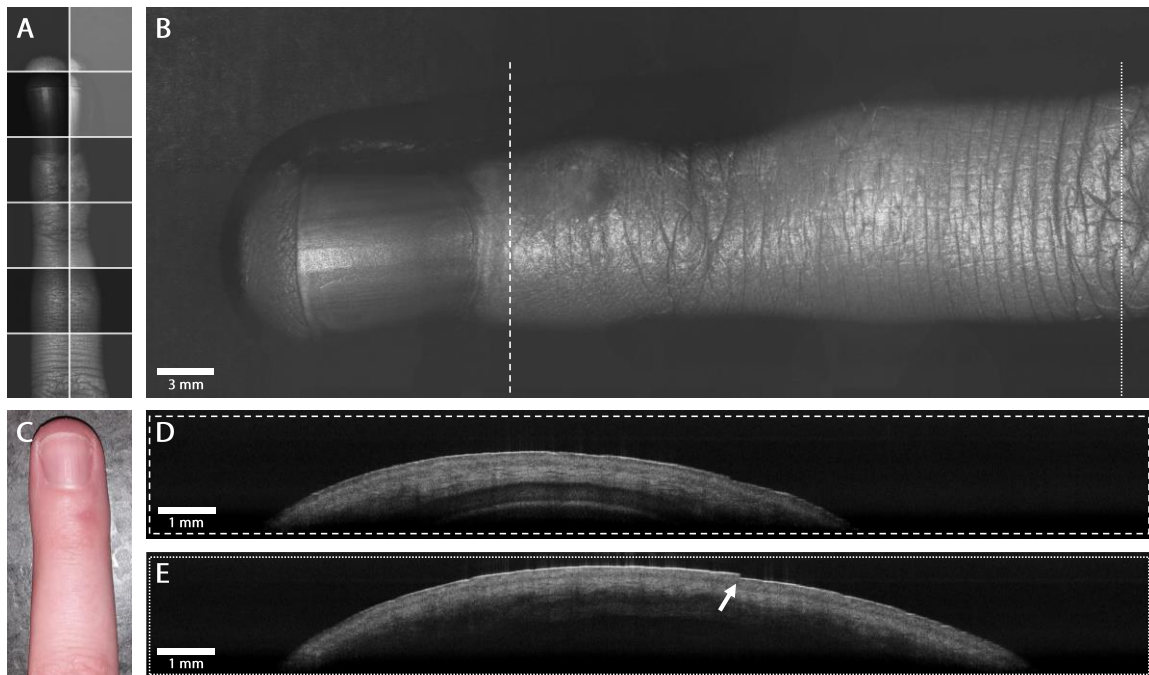
**Tabelle 4** Verwendete Scanprotokolle des Mosaik-Modus

Scanprotokolle	GBP	OAP	HAP
Transversales FOV	<u>11,9×11,9 mm</u>	2,2×2,2 mm	1,4×1,4 mm
A-Scans × B-Scans	2048×2048	256×256	1024×1024
Pixelgröße	5,8 µm/pix	8,9 µm/pix	1,4 µm/pix
Laterale Auflösung	22,08 µm	24,81 µm	<u>~ 4 µm</u>
B-Scan Bildrate	1,01 kHz	2,25 kHz	1,47 kHz
Aufnahmedauer (Scan)	2,028 s	<u>0,111 s</u>	0,694 s
Signal-Akquisitionszeit	1,258 s	0,019 s	0,315 s

#### *Großflächige OCT-Mosaikaufnahmen (GBP)*

Das GBP wurde für die Standard-OCT-Scaneinheit des MHz-OCT-Systems entwickelt, das mit einer 50 mm Scanlinse eine laterale Auflösung von 22,08 µm ermöglicht. In diesem Modus wurde eine großflächige OCT-Aufnahme eines Fingers (**Abbildung 3.4**) erstellt. Dafür wurden 6 × 2 OCT-Datensätze (**Abbildung 3.4 A**) mit einem FOV von 12 × 12 mm<sup>2</sup> und 23 %

Überlapp aufgenommen, was eine Gesamtfläche von  $58,2 \times 21,2 \text{ mm}^2$  abdeckt. Die Gesamt-Akquisitionszeit inklusive aller Totzeiten betrug etwa vier Minuten, wobei die reine Datenaufnahme nur 15,1 Sekunden dauerte. Die Verzögerungen der Gesamtaufnahme werden zum Teil durch Scantotzeiten (da bei unidirektionellem Scannen auf dem X-Rückweg keine Datenaufnahme erfolgt) und die Dauer der Bewegung des Linearroboters verursacht. Der Großteil der Totzeit ist jedoch auf langsame Speichergeschwindigkeiten der OCT-Daten zurückzuführen. **Abbildung 3.4 B** zeigt die zusammengefügte *en face*-Projektion (Standardabweichung über alle *en face*-Ebenen) des Fingers, der zum Vergleich in einem Foto in **Abbildung 3.4 C** abgebildet ist. Trotz unterschiedlichem Kontrast in den Einzelaufnahmen zeigt das Gesamtbild keine Helligkeitsfehler auf. Ebenso sind die Übergänge der Einzelbilder in dem Gesamtbild nicht zu erkennen. In den zusammengefügten B-Scans (**Abbildung 3.4 D-E**) sind jedoch kleine Stitching-Artefakte sichtbar.



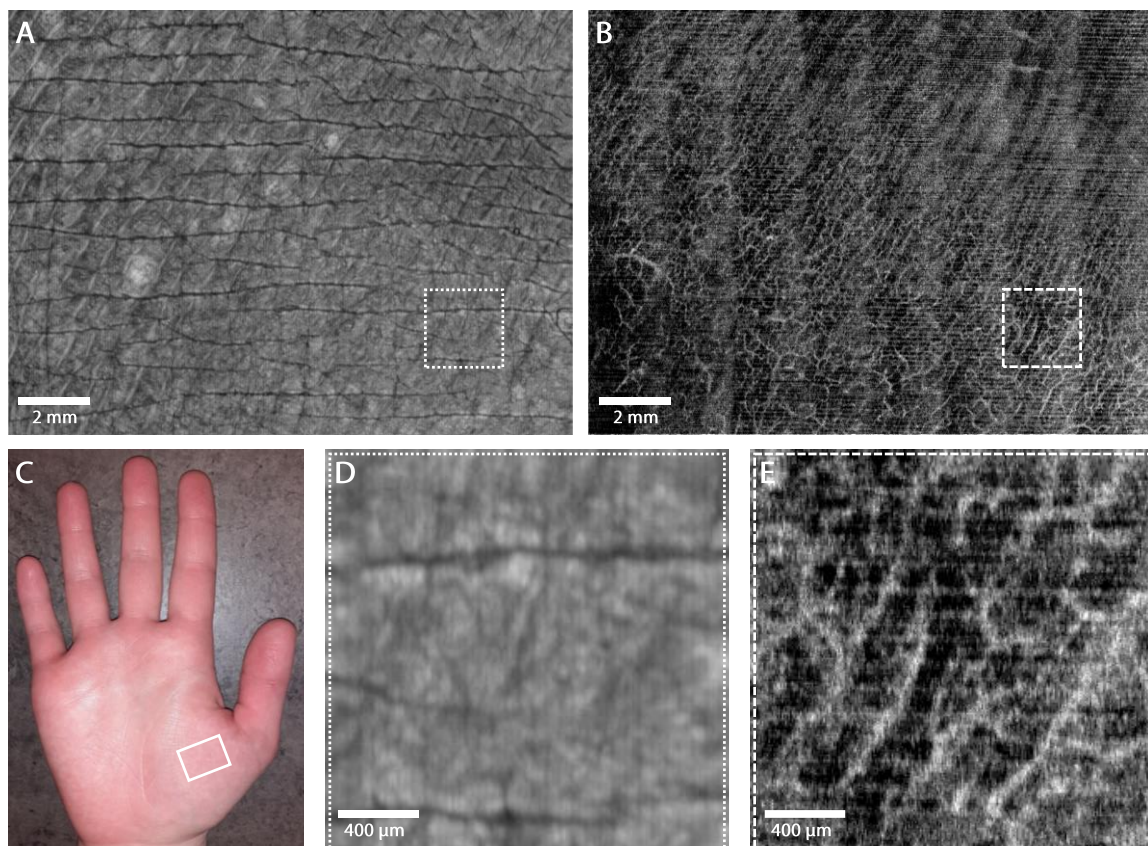
**Abbildung 3.4** Großflächige OCT-Mosaik Aufnahme eines Fingers. A) *En face*-Projektionen der einzelnen OCT-Aufnahmen und B) deren zusammengefügtes Gesamtbild. C) Foto des Fingers. D-E) OCT-Schnittbilder an den in B) gekennzeichneten Positionen. Für beide Tiefenschnitte wurden zwei 10-fach gemittelte B-Scans zusammengefügt. Ein Bildartefakt durch das Zusammenfügen der B-Scans ist in E) zu erkennen und mit einem Pfeil markiert.

#### *OCT-Angiografie Mosaikaufnahmen (OAP)*

Wie detailliert in Kapitel 5 beschrieben, kann OCT neben der klassischen Gewebemorphologie auch dynamische Prozesse visualisieren. So können beispielsweise Blutgefäße durch die Berechnung von Speckle-Varianzen sichtbar gemacht werden, eine Methode der OCT-Angiografie (OCTA) [62, 63]. Hierfür ist jedoch das wiederholte Scannen der gleichen Position

notwendig. Um möglichst effizient zu scannen, jedoch ein gewisses Zeitintervall für ausreichenden Gefäßkontrast zwischen den Wiederholungen zu gewährleisten, wurde das OAP entwickelt. Dieses Scanprotokoll ermöglicht, im Vergleich zum GBP, höhere Volumenraten von 9 Hz, deckt jedoch auch nur ein FOV von  $2,2 \times 2,2 \text{ mm}^2$  ab.

Um entsprechend eine große Hautfläche am Daumenballen abzutasten, wurde ein Mosaik aus  $8 \times 6$  Einzelvolumen gewählt und jede Position mit 5-facher Wiederholung für die nachfolgende Kontrastberechnung aufgenommen. Durch die Einberechnung von 16% Überlappung beträgt die Gesamtfläche  $15 \times 11 \text{ mm}^2$  (Abbildung 3.5 C).



**Abbildung 3.5** OCT-Angiografie-Mosaikaufnahme der Hand. A) Zusammengeführte *en face*-Projektion der OCT-Intensitätsdaten aus  $8 \times 6$  Einzelvolumen und B) das Pendant basierend auf den OCTA-Daten. C) Foto der Hand mit eingezeichnetem Scanbereich am Daumenballen. D) *En face*-Projektion eines Einzelvolumens markiert in A) und E) entsprechend die OCTA *en face*-Projektion der gleichen Daten.

Um Bewegungsartefakte und starke Oberflächenreflexe an der Haut zu vermeiden, wurde die Handfläche für die Aufnahme gegen eine Glasplatte gepresst und Ultraschallgel zur Anpassung des Brechungsindizes verwendet. Nach der Aufnahme wurde die Standardabweichung der 5-fach wiederholt aufgenommenen Einzelvolumen berechnet, um einen Gefäßkontrast darzustellen. Aus diesen Signalwerten wurden OCTA *en face*-Projektionen (Abbildung 3.5 B) erstellt, wobei nur die Hautschichten mit Gefäßen berücksichtigt

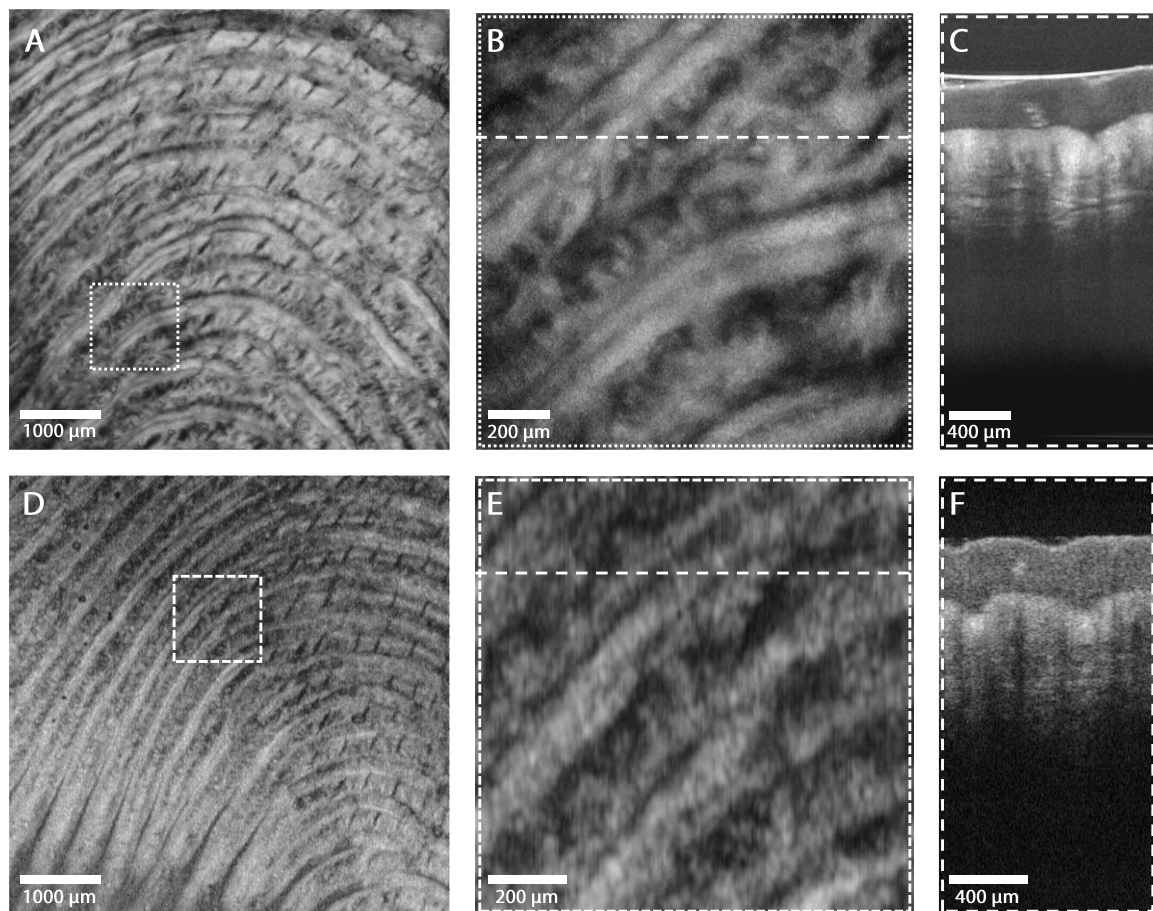
wurden. Im Vergleich zu der en face-Projektion der OCT-Intensitätsdaten (**Abbildung 3.5 A**) sind in dem zusammengeführten OCTA-Bild deutliche Artefakte erkennbar. Zum einen sind repetitive vertikale Helligkeitsänderungen sichtbar, die auf eine Neigung der Glasplatte hinweisen. Zum anderen enthalten die Einzelbilder (**Abbildung 3.5 E**) viele horizontale helle Linien, die auf Bewegungsartefakte zurückzuführen sind. Besonders die OCTA-Bildgebung ist sehr anfällig für Bewegungsartefakte, da jede Bewegung fälschlicherweise als Signal dargestellt wird. Dennoch wird besonders im Vergleich der Einzelprojektionen (**Abbildung 3.5 D-E**) der Unterschied der OCT- bzw. OCTA-Signale deutlich und das Blutgefäßnetz der Haut ist über einen großen Bereich sehr gut differenzierbar.

#### *Hochauflösende OCT-Mosaikaufnahmen (HAP)*

Für eine höhere laterale Auflösung können Mikroskopobjektive anstelle der Standardscanlinse des OCT-Systems verwendet werden. In dem hier vorgestellten HAP-Modus wurde ein 10x Objektiv (M Plan Apo NIR 10x, Mitutoyo, Japan) mit einer NA von 0.26 und einem Arbeitsabstand von 31 mm verwendet. Um das Objektiv jedoch voll auszuleuchten und sich somit die maximal mögliche Auflösung zu Nutze zu machen, wurde eine Relaisoptik entwickelt, die in Abschnitt 5.2.1 abgebildet und im Detail beschrieben wird. Denn der Strahldurchmesser des OCT-Lichts ist durch den Kollimator und die Spiegelgröße der schnellen Galvo-Scanner auf 2,8 mm limitiert, das Objektiv hat jedoch eine Eintrittspupille mit einem Durchmesser von 10,4 mm. Die Optiken sind mit zwei Ablenkspiegeln auf eine Metallplatte montiert, die wiederum an der X-Achse des Linearroboters befestigt ist. Dadurch ist der Arbeitsraum des Linearroboters eingeschränkt, durch die höhere Auflösung und dem damit verbundenen FOV von  $1,4 \times 1,4 \text{ mm}^2$  sind jedoch Schrittweiten weniger Millimeter ausreichend.

**Abbildung 3.6** zeigt exemplarisch am Finger den Auflösungsunterschied zwischen dem HAP-Modus (**Abbildung 3.6 A**) mit einer lateralen Auflösung von  $\sim 4 \mu\text{m}$  im Vergleich zu der Standard-Auflösung von  $\sim 22 \mu\text{m}$  im GBP-Modus (**Abbildung 3.6 D**). Es wurde eine Fläche von  $5,5 \times 5,5 \text{ mm}^2$  der Fingerspitze in  $5 \times 5$  Einzelaufnahmen mit 26 % Überlappung aufgenommen und einzelne Tiefenschnitte zusammengefügt. In beiden Aufnahmen sind deutlich das typische Fingerabdruck-Muster und Abschattungen der Schweißdrüsenkanäle zu erkennen. Beim Hineinzoomen in die Einzelaufnahmen (**Abbildung 3.6 B**) und dem Vergleich mit den entsprechend großen Flächen der Standardaufnahmen (**Abbildung 3.6 E**),

werden deutlich feinere Strukturen zwischen den Papillarleisten erkennbar. Auch im Tiefenschnitt (**Abbildung 3.6 C**) sind kleine Strukturen wie Schweißdrüsenkanäle, Gefäße oder die feine Verzahnung zwischen Epidermis und Dermis ersichtlich, die in der Standardaufnahme (**Abbildung 3.6 F**) nur zu erahnen sind. Ein wesentlicher Vorteil des HAP ist die geringe Specklegröße. Obwohl die typische körnige Specklestruktur auch in den hochauflösenden OCT-Aufnahmen noch erkennbar ist (vgl. **Abbildung 3.6 B**), ist die Körnung deutlich feiner als in den Standardaufnahmen, was mehr Details sichtbar macht. Außerdem ist trotz der kürzeren Rayleigh-Länge des stärker fokussierten OCT-Lichtstrahls ein OCT-Signal noch bis zu 1 mm Tiefe erkennbar.



**Abbildung 3.6** Hochauflöste OCT-Mosaikaufnahme vs. Standard OCT am Finger. A-C) OCT-Aufnahmen mit hoher Auflösung und D-F) mit Standard-Scanoptiken des gleichen Fingers. A) Mosaik aus  $5 \times 5$  Tiefenschnitten, die in etwa den gleichen Ausschnitt zeigen wie die Einzelaufnahme in D). Für beide wurden 10 Tiefenschnitte gemittelt und zeigen die Epidermis in 220  $\mu\text{m}$  Tiefe. B) Zeigt einen Tiefenschnitt einer einzelnen hochauflösten OCT-Aufnahme, während E) einen entsprechend großen Bildausschnitt aus dem Standard-OCT zeigt. C) und F) stellen B-Scans mit 10-facher Mittelung an den in B) und E) gekennzeichneten Positionen dar.

Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass für die Aufnahmen der Finger gegen eine Glasplatte gepresst und Ultraschallgel zur Anpassung des Brechungsindex verwendet

wurde. So wurde eine höhere Eindringtiefe erzielt und Bewegungsartefakte minimiert. Dieses Vorgehen ist jedoch nicht für alle *in vivo* Messungen anwendbar.

### 3.2.2.2. Interaktions-Modus

Um anstelle von einzelnen Mosaiken große, zusammenhängende Flächen abzuscanen, wurde der Interaktions-Modus entwickelt. Dieser basiert darauf, dass die Bewegung entlang der langsamen Scanachse (typischerweise Y-Achse) anstelle des Galvos durch den Linearroboter erfolgt. Die schnelle Bildscanachse wird jedoch weiterhin galvanometrisch betrieben. So bleibt die hohe Abtastgeschwindigkeit in X-Richtung erhalten. Das Bildfeld ist in Y-Richtung jedoch nicht mehr durch die Scanoptik limitiert, wodurch in Y-Richtung längere Scans ohne Zwischensprünge ermöglicht werden. Damit die Proben gleichbleibend symmetrisch abgescannet werden und keine Verzerrungen im Bild entstehen, müssen beide Systeme – Linearroboter und MHz-OCT – perfekt interagieren, was dem Modus seinen Namen verleiht.

Dies erfordert eine stabile Echtzeitverbindung und insbesondere unter Berücksichtigung der hohen OCT-Linienrate ein spezielles Synchronisationskonzept, das in **Abbildung 3.7** dargestellt ist. Die Schnittstelle zwischen OCT-Bildgebungssoftware und Scanner-Treiber wurde erweitert, um den Linearroboter synchron ansteuern zu können und ist in der Abbildung mit „Trigger Steuerung“ gekennzeichnet.

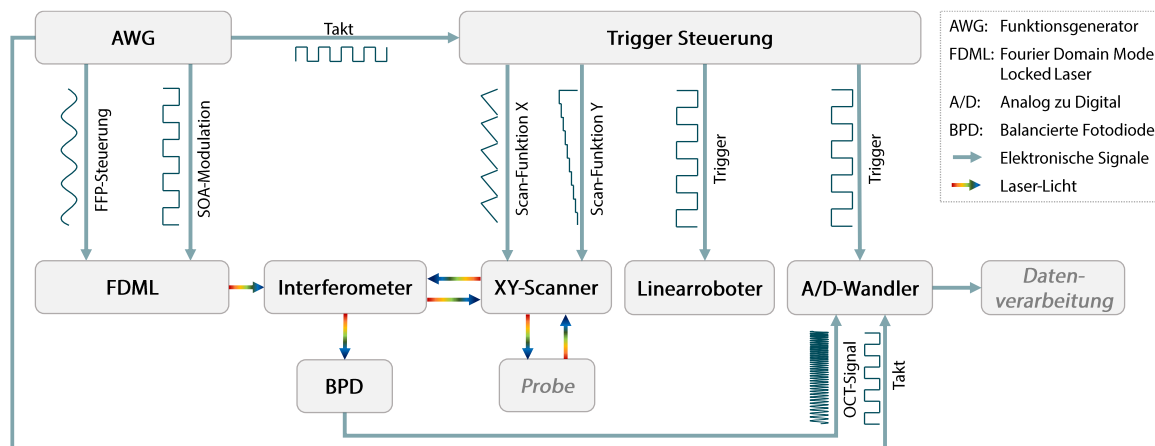
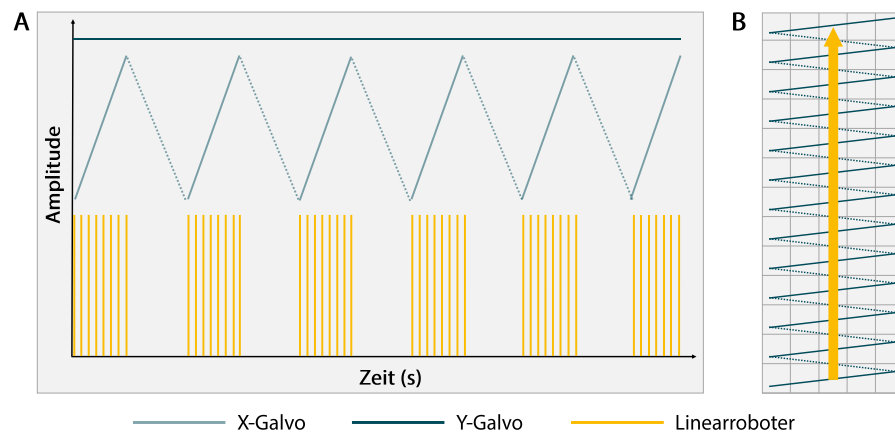


Abbildung 3.7 Synchronisationskonzept von OCT-System und Linearroboter.

Es gibt einen Funktionsgenerator als zentralen Taktgeber, der sowohl die Durchstimmfrequenz des FDML-Lasers und damit die OCT-A-Scanrate vorgibt als auch den Takt der Trigger Steuerung. Die Trigger Steuerung ist in die Bildgebungssoftware integriert und nutzt ein PXI-Multifunktions-I/O-Modul (PXIe-6363, National Instruments, USA). Hier werden die Scanfunktionen der Galvos vorgegeben sowie Hardware Trigger für das Schrittmotor-Treiber-Board generiert, die den Linearroboter im extern gesteuerten Modus antreiben. Durch den

zentralen Taktgeber kann diese Bewegung synchron zur OCT-Linienrate erfolgen. In der Trigger Steuerung werden außerdem die Startsignale für die einzelnen Bildaufnahmen der Erfassungskarte (Analog zu Digital-Wandler) generiert. Da dieser ebenfalls den zentralen Takt des Funktionsgenerators erhält, ermöglicht dieses Synchronisierungskonzept nicht nur die symmetrische Abtastung der Probe, sondern ebenso die perfekt synchrone Aufnahme der OCT-Rohdaten, was eine schnelle Datenverarbeitung im Rekonstruktionsprozess der OCT-Bilder ermöglicht.

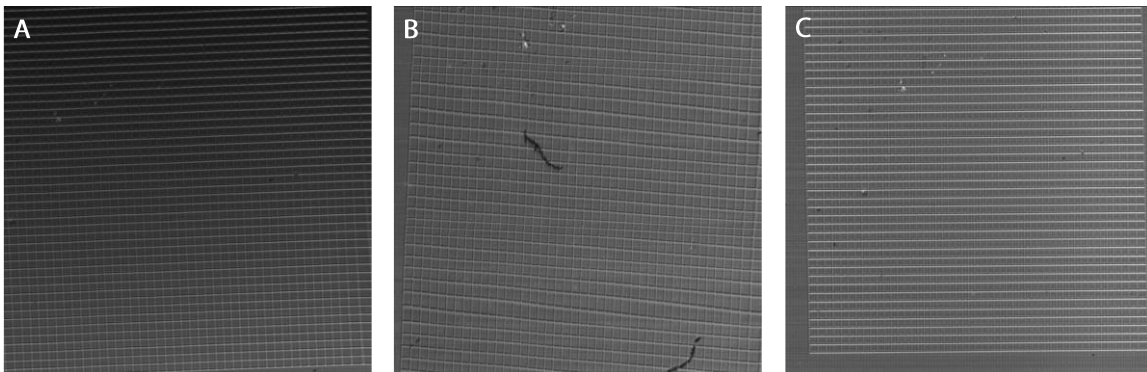
Mit dem derzeit implementierten Übersetzungsverhältnis kann die Y-Achse des Linearroboters in 535 nm Schritten genau positioniert werden. Die Geschwindigkeit wird durch die Anzahl und Frequenz der Hardware Trigger bestimmt, die in der Bildgebungssoftware einstellbar sind. Die Scanfunktion des X-Galvos und Trigger der Y-Achse sowie das resultierende Rasterabtastschema sind in **Abbildung 3.8** dargestellt. Während der X-Galvo in einer Sägezahn-Wellenfunktion angesteuert wird, erhält der Linearroboter eine bestimmte Anzahl an Trigger und bewegt sich dadurch effektiv gleichförmig über die Probe. Der Y-Galvo ist in diesem Modus deaktiviert.



**Abbildung 3.8** Prinzip des Interaktions-Modus. A) Scanfunktionen der Galvanometer-Scanner der OCT-Scaneinheit und Trigger des Linearroboters. B) Resultierendes Rasterabtastschema inklusive Bewegungsmuster des Linearroboters.

Um die Präzision des Interaktions-Modus zu analysieren, wurde ein Punktgitter-Verzeichnungstestbild (R1L3S3P, Thorlabs Inc., USA) als Probe verwendet und die Bilder mit Aufnahmen der Standardanordnung mit zwei Galvo-Scannern verglichen (**Abbildung 3.9**). Dabei wurden zunächst mehrere Bildartefakte festgestellt, die in **Abbildung 3.9 B** dargestellt sind. Sowohl in X- als auch in Y-Richtung sind Verzerrungen erkennbar. Nach einigen Vergleichstests mit dem Standard Zweiscanner-System konnten die Unregelmäßigkeiten in X-Rich-

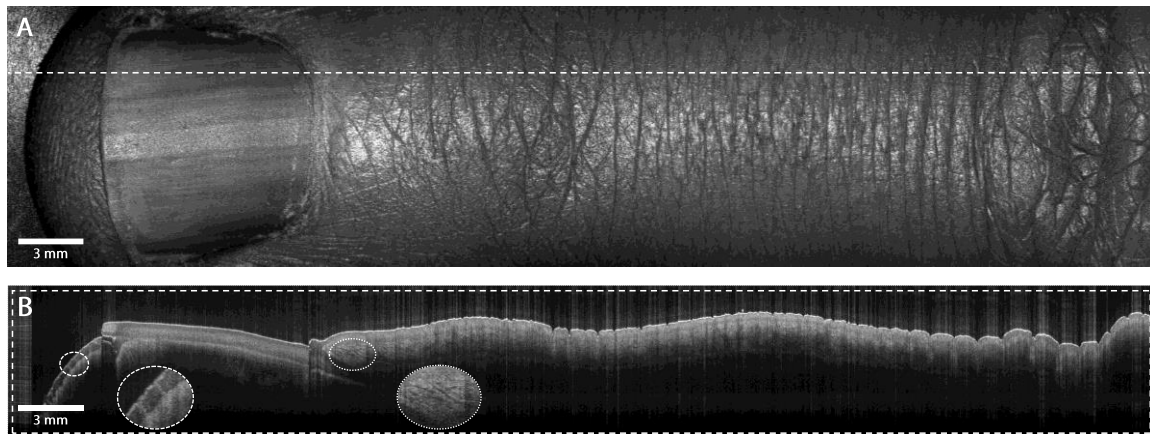
tung auf Nichtlinearitäten in der Sprungantwort des Treibersignals des X-Galvos zurückgeführt werden. Das Problem wurde durch die Ansteuerung des Galvos mit einer sinusförmigen anstelle einer Rampenwellenform gelöst. Hinsichtlich der nichtlinearen Bewegungsmuster in Y-Richtung (erkennbar in der verzerrten Höhe der Quadrate in **Abbildung 3.9 B**) konnten nach intensiver Prüfung des Linearroboters Software- und Triggerprobleme ausgeschlossen werden.



**Abbildung 3.9** Vergleich verschiedener Bildgebungsmodi mit einem 100 µm Punktgitter-Verzeichnungstestbild. A) Standard OCT-Scan mit XY-Galvos. B) Interaktions-Modus-OCT mit Verzerrungen. C) Interaktions-Modus-OCT mit optimierter Montage des Linearroboters, perfekter mechanischer Ausrichtung und sinusförmiger Galvo-Scanfunktion.

Durch gründliche Nachjustage des Roboteraufbaus und perfekt mechanischer Ausrichtung der Scaneinheit konnten jedoch auch diese Artefakte behoben werden und symmetrische OCT-Bilder in X- und Y-Richtung (**Abbildung 3.9 C**) vergleichbar mit den Standard OCT-Scans (**Abbildung 3.9 A**) erzielt werden. Nach perfekter Ausrichtung der Koordinatensysteme von Scanner und Linearroboter wurden erneut OCT-Aufnahmen von dem Finger, wie in **Abbildung 3.4** gezeigt, durchgeführt, jedoch nun im Interaktions-Modus. So konnte statt mit 12 Einzelaufnahmen in vier Minuten ein großer, zusammenhängender OCT-Datensatz bestehend aus 10.000 B-Scans mit jeweils 2048 A-Scans innerhalb von ~15 Sekunden erfasst werden. Der Linearroboter erhielt 11 Trigger pro B-Scan, bei einer B-Scanrate von 880 Hz. Die Gesamtgeschwindigkeit des Interaktions-Modus ist durch die Scangeschwindigkeit des schnellen Galvanometerscanners limitiert. Da bei der verwendeten Bildgebungssoftware der Datentransfer vom Arbeitsspeicher auf den Massenspeicher nicht echtzeitfähig ist, ist die Datensatzgröße und somit die Länge des FOV im Interaktions-Modus durch die Größe des Speichers begrenzt (bei diesem System auf ca. 56 GB). Das laterale FOV in X-Richtung wird durch die Scanoptik begrenzt – hier auf 12 mm. Insgesamt entstand eine 12 × 58 mm<sup>2</sup> große Aufnahme, die in **Abbildung 3.10** dargestellt ist. Gezeigt ist sowohl die

en face-Projektion (**Abbildung 3.10 A**) als auch ein exemplarischen Tiefenschnitt in Y-Richtung (**Abbildung 3.10 B**) der aufgenommenen OCT-Daten.



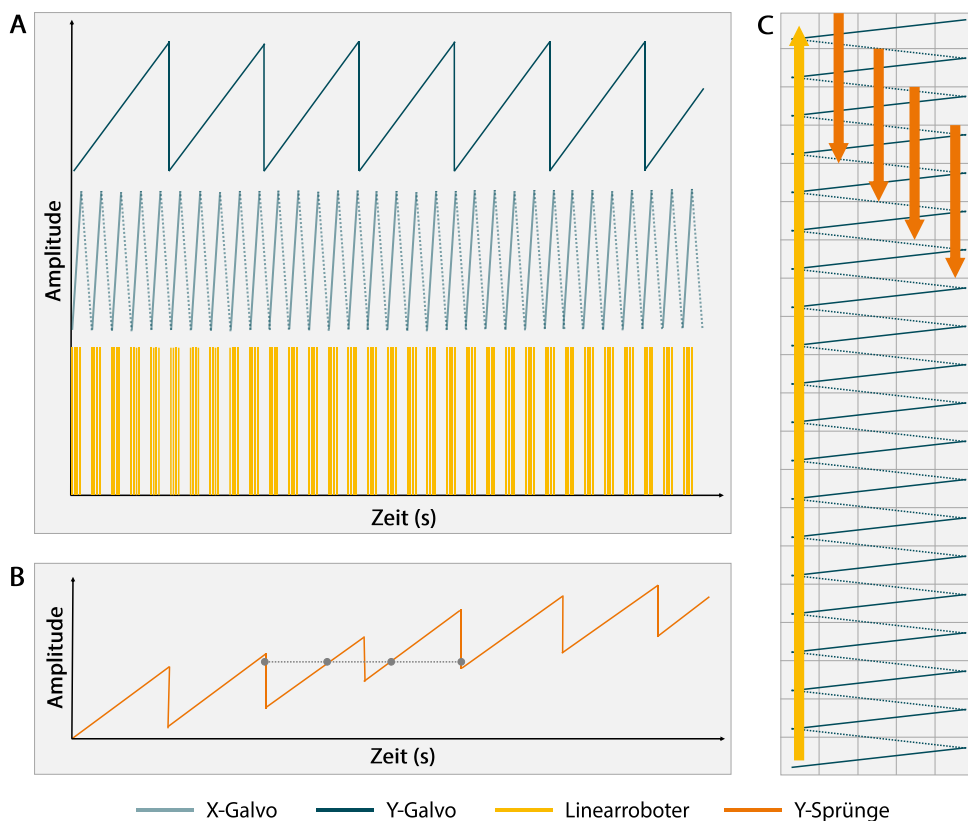
**Abbildung 3.10** Interaktions-Modus OCT Aufnahme eines Fingers. A) *En face*-Projektion der großen, zusammenhängenden OCT-Aufnahme. B) OCT-Schnittbild in Längsrichtung an der in A) gekennzeichneten Position mit 10-facher Mittelung. In den Zoom-Ansichten sind Schweißdrüsenkanäle an der Fingerspitze und Gefäßstrukturen im Nagelbett vergrößert dargestellt.

Die typischen Hautoberflächenstrukturen und Fingernagel sind sehr prägnant und die *en face*-Projektion weist einen hohen Kontrast auf. Es sind keine Bewegungsartefakte oder Verzerrungen ersichtlich. In den Tiefenschnitten sind lediglich einige Reflexionsartefakte an der Hautoberfläche erkennbar, detailreiche Tiefenstrukturen sind jedoch weiterhin deutlich erkennbar. Wie in **Abbildung 3.10 B** in den Zoom-Ansichten hervorgehoben, sind typische Tiefenstrukturen wie Schweißdrüsenkanäle oder Gefäße im Nagelbett gut aufgelöst, sodass die Bildqualität des Interaktions-Modus im Vergleich zu Standard OCT-Scans unverändert ist. Durch das große Bildfeld hingegen bietet der Interaktions-Modus eine bessere Übersicht über die Zusammenhänge der zu untersuchenden Strukturen in der Probe bei gleichbleibend hoher Auflösung. Da die OCT-Daten als zusammenhängender Datensatz erfasst werden, ist die Verarbeitung und Anzeige des dreidimensionalen Volumens in verschiedenen Ansichten im Vergleich zum Mosaik-Modus einfacher, weil rechenintensive Stitching-Prozesse wegfallen. Nachteil des Interaktions-Modus hingegen ist, dass dieser nur in eine Richtung vergrößerte Bildfelder ermöglicht. Um größere Flächen zu erfassen, sind mehrere Aufnahmen erforderlich, die im Mosaik-Modus aufgenommen und anschließend zusammengefügt werden müssen. Außerdem ist die Synchronisation von Linearroboter und OCT-Scanner relativ aufwendig, da Geschwindigkeit und Schrittweite für verzerrungsfreie Bilder exakt aufeinander angepasst werden müssen. Eine Anpassung der Auflösung, Abtastdichte oder des Bildfeldes ist mit mehr Aufwand verbunden als im Mosaik-Modus. Auch komplexe

Scanmuster wie beispielsweise für die Angiografie-Bildgebung sind in diesem Modus nicht umsetzbar.

### 3.2.2.3. Interaktions-Modus-Plus

Für großflächige und schnelle OCTA-Bildgebung wurde daher der Interaktions-Modus-Plus entwickelt. Dieser Modus ähnelt dem Interaktions-Modus, bindet jedoch auch den langsamen Y-Galvanometerscanner ein. Der Y-Scanner ist so programmiert, dass er sich in die gleiche Richtung wie der Linearroboter bewegt und nach einem bestimmten Zeitintervall zu einer bestimmten Position zurückkehrt. Da sich der Linearroboter stetig weiterbewegt, wird jede Position häufiger abgescannt und ermöglicht somit im Nachgang die bildweise Berechnung von Gefäßkontrast auf den aufgenommenen OCT-Daten. Ähnlich dem effektiven Scan-Protokoll von Ju et al. ermöglicht dies eine effizientere Nutzung von MHz-OCT für die Gefäßkontrastbildgebung [64, 65] mit deutlich kürzeren Totzeitintervallen. Das Prinzip des Interaktions-Modus-Plus ist in **Abbildung 3.11** veranschaulicht.

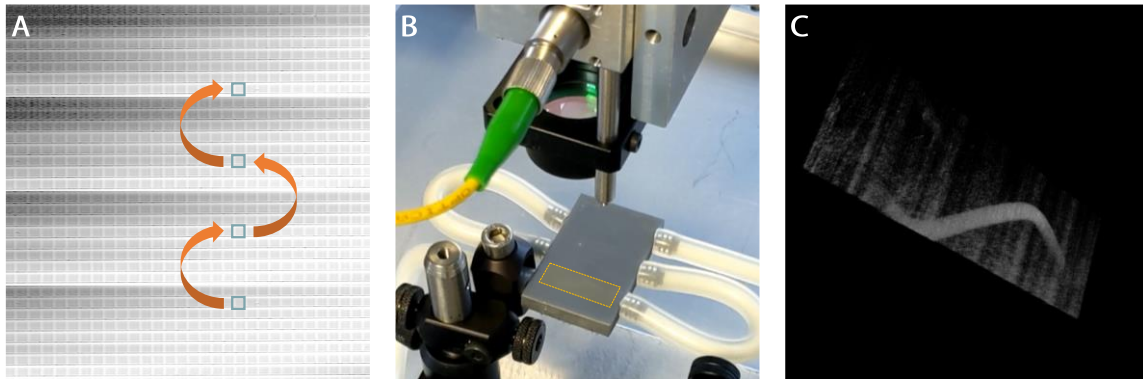


**Abbildung 3.11** Prinzip des Interaktions-Modus-Plus. A) Scanfunktionen der Galvanometer-Scanner der OCT-Scaneinheit und Trigger des Linearroboters. B) Resultierende Y-Bewegung durch das Zusammenspiel von zurückspringendem Y-Galvanometerscanner und kontinuierlich bewegtem Linearroboter. Gleiche Positionen und dazwischenliegende Zeitintervalle sind in grau markiert. C) Resultierendes Rasterabtastschema inklusive Bewegungsmustern des Linearroboters und Y-Rücksprünge.

Scanmuster und -frequenz des X-Galvos bleiben unverändert wie im Interaktionsmodus, das Scanmuster des Y-Galvos folgt einer Rampe, sodass schnelle Rücksprünge entgegen der Fahrtrichtung des Linearroboters ermöglicht werden (**Abbildung 3.11 A**). Die Frequenz ist jedoch exakt auf die Geschwindigkeit des Roboters angepasst, sodass jeder Punkt auf der Probe wiederholt nach definiertem Zeitintervall angefahren wird (veranschaulicht in **Abbildung 3.11 B**). Die Geschwindigkeit des Linearroboters wird dabei auf einen Teiler der Y-Galvo-Geschwindigkeit eingestellt. Effektiv bewegt sich das System jedoch mit gleichbleibend hoher Geschwindigkeit über die Probe, ohne dass Totzeiten bei den Sprüngen entstehen wie beispielsweise im OCTA-Mosaik-Modus. Bei den OCT-Aufnahmen in diesem Modus entstehen entsprechend gestückelte Bilder, die erst nach Zuschneiden, Sortieren und Übereinanderschichten der wiederholt abgerasterten Positionen ein zusammenhängendes Bild ergeben (**Abbildung 3.11 C**). Die Zeitintervalle zwischen den Sprüngen können durch Anpassung der Wellenfunktion des Y-Galvos beliebig gewählt werden.

Um die einzelnen Parameter optimal einzustellen und entsprechend ein gutes OCTA-Signal bei hohen Aufnahmegeschwindigkeiten zu erhalten, wurden zunächst Testmessungen an einem Punktgitter-Verzeichnungstestbild und einem 3D-gedruckten Durchflussphantom gemacht. Tests zur Anzahl und zum Zeitintervall zwischen den Scanwiederholungen erfolgten vorab mit Standard-Scanoptiken, um Bewegungsartefakte durch den Linearroboter oder Synchronisationsfehler auszuschließen. Die Messungen ergaben, dass jede Position mindestens zu vier verschiedenen Zeitpunkten mit 100 ms Verzögerung abgescannt werden sollte. Bei dieser Wahl ist die berechnete Speckle-Varianz ausreichend hoch, um Gefäße zu visualisieren, das Zeitintervall jedoch noch so kurz, dass kaum Bewegungsartefakte entstehen.

Basierend auf diesen Testergebnissen wurde die Rampe des Y-Galvos auf 128 Schritte und eine Amplitude von 8,4 % im Vergleich zum X-Galvo eingestellt. Die Geschwindigkeit des Linearroboters wurde auf ein Viertel der Galvogeschwindigkeit, was zwei Triggern pro Bild entspricht, festgelegt. Anhand des Punktgitter-Verzeichnungstestbildes konnte die resultierende Scangeschwindigkeit und Schrittweite in Y-Richtung analysiert werden, was in **Abbildung 3.12 A** gezeigt ist. In der *en face*-Projektion des Gitters kann erkannt werden, dass durch den dreifachen Rücksprung des Y-Galvos jeder Punkt genau viermal nach 96 B-Scans ( $128 \cdot \frac{3}{4} = 96$ ) wiederholt abgescannt wurde (entsprechend 96 Pixel in vertikaler Richtung oder  $\sim 100$  ms Zeitverzögerung).



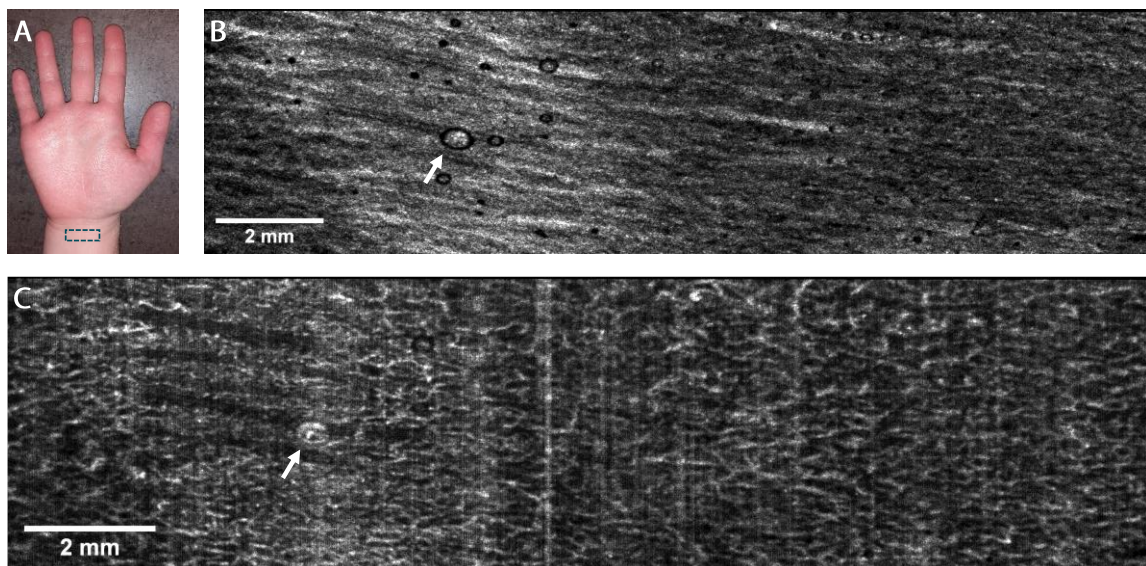
**Abbildung 3.12** Anwendungen des Interaktions-Modus-Plus an Testmodellen. A) OCT en face-Projektion eines 100 µm Punktgitter-Verzeichnungstestbildes der direkt prozessierten Daten ohne Zuschnitt. Identische Positionen auf dem Testbild sind mit blauen Kästchen markiert und orange Pfeile zeigen symbolisch den Sprung des scannenden OCT-Lichtstrahls. B) Foto des Versuchsaufbaus mit einem 3D-gedruckten Durchflussphantom mit Milch und eingezeichnetem Aufnahmebereich. C) 3D Darstellung der resultierenden OCTA-Daten der Phantomaufnahme basierend auf Speckle-Kontrastberechnungen.

Mit gleichen Einstellungen wurde im Anschluss das mit Milch gefüllte Durchflussphantom abgescannt (**Abbildung 3.12 B**) und anschließend ein Speckle-Kontrastbild (basierend auf der Standardabweichung der vier entsprechenden OCT B-Scans) generiert (**Abbildung 3.12 C**). Der gefüllte Kanal des Phantoms ist im Speckle-Kontrastbild deutlich sichtbar, während das umgebende Material transparent erscheint. Es sind jedoch einige repetitive Artefakte sichtbar, die auf Nichtlinearitäten der Motoren und Ausrichtungsfehler der Koordinatensysteme von Scaneinheit und Linearroboter zurückgeführt werden konnten. Daran zeigt sich erneut, dass für ein hohes Angiographiesignal genaue Wiederholungen und eine präzise Positionssteuerung auf Submikrometer-Genauigkeit erforderlich sind.

Für *in vivo* Experimente, dargestellt in **Abbildung 3.13** wurde die Schrittweite der Y-Galvo-Rampe auf 32 reduziert. Diese Einstellung resultierte in Sprüngen von 24 B-Scans mit einem Zeitintervall von 25 ms. Da bei ersten Tests trotz des verkürzten Zeitintervalls noch vermehrt Positionsungenauigkeiten und somit Streifenartefakte im Bild auftraten, wurde der OCTA-Algorithmus um eine Nachbarschaftssuche erweitert. Diese beinhaltet einen Sortierschritt, in dem die vier überlagerten B-Scans gesucht werden. Neben den fixen  $n$ -ten B-Scans (*hier  $n=24$* ) werden auch die benachbarten B-Scans hierbei in Betracht gezogen. Der B-Scan, der der Startposition am ähnlichsten ist, wird für die weiteren OCTA-Schritte genutzt; als Ähnlichkeitsmaß dient das STD-Signal.

Mit beschriebenen Scaneinstellungen wurde ein OCT-Scan des Handgelenks bestehend aus 1024 A-Scans und 16.000 B-Scans mit vierfacher Wiederholung jeder Position durchgeführt. Dabei wurde eine Fläche von  $4,5 \times 18 \text{ mm}^2$  innerhalb von 18 Sekunden erfasst. Das

Handgelenk wurde während der Messung mit Ultraschallgel zur Brechungsindexanpassung an eine Glasplatte gepresst. **Abbildung 3.13 A** zeigt den vergleichsweise großen Scanbereich am Handgelenk. In **Abbildung 3.13 B** ist die *en face*-Projektion basierend auf den Intensitätsdaten dargestellt. Es sind lediglich grobe Hautstrukturen wie Falten erkennbar und Abschattungsartefakte von Luftblasen im Ultraschallgel (mit Pfeil markiert). In der entsprechenden OCTA *en face*-Projektion (**Abbildung 3.13 C**) ist hingegen die Gefäßstruktur innerhalb der Haut erkennbar. Auch hier sind Luftblasenartefakte sichtbar, die eine Verwechslungsgefahr mit dem Kontrastsignal der Gefäßschleifen bergen. Ebenso sind Bewegungsartefakte in Form von unregelmäßigen vertikalen Streifen erkennbar, die durch die Immobilisierung des Handgelenks nicht vollständig unterdrückt werden konnten. Dennoch ist das Gefäßnetz im *en face* deutlich differenzierbar und die Aufnahme von ca. 1 cm<sup>2</sup> konnte von drei Minuten im Mosaikmodus auf 18 Sekunden bei gleichbleibender lateraler Auflösung beschleunigt werden.



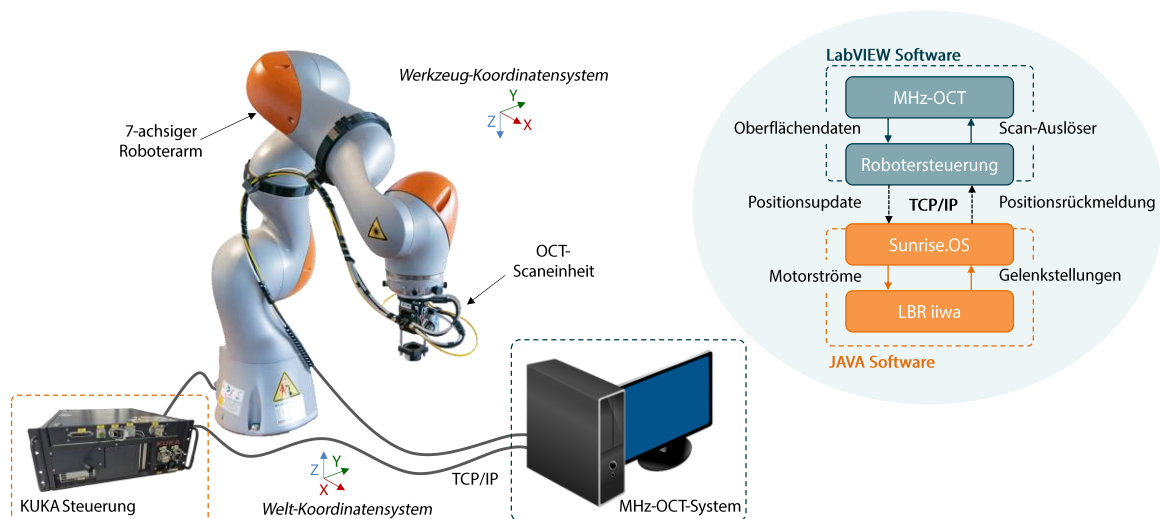
**Abbildung 3.13** OCT-Resultate des Interaktions-Modus-Plus am Handgelenk. A) Foto der Hand mit eingezeichnetem Aufnahmebereich. B) OCT *en face*-Projektion der vierfach gemittelten Intensitätsdaten. C) OCTA *en face*-Projektion basierend auf der Standardabweichung der vier aufeinanderliegenden B-Scans. Beide Projektionen wurden in der gleichen Tiefe von etwa 100  $\mu\text{m}$  aus 10 aufeinanderfolgenden Tiefenschnitten generiert. Pfeile markieren Abschattungsartefakte von einer Luftblase im Ultraschallgel.

Insgesamt zeigen die Resultate der in den letzten Abschnitten demonstrierten Bildgebungsexperimente, dass die Integration eines Linearroboters in ein MHz-OCT-System eine automatische und effiziente Erfassung von großen Bildbereichen ermöglicht. Durch die direkte Ansteuerung der Motoren und ihre Synchronisation mit dem Bildgebungssystem - in

Verbindung mit der Vielfalt an wählbaren Scanoptiken - bietet diese Konfiguration eine beträchtliche Flexibilität bei der Anwendung verschiedener Scanprotokolle. Dies wiederum eröffnet eine breite Palette klinischer Anwendungsmöglichkeiten. Somit kann die hohe Scangeschwindigkeit des OCT-Systems effektiv für die Erfassung großer Flächen genutzt werden, anstatt sich auf manuelle Abtastung kleinerer Bereiche zu beschränken. Es ist jedoch zu beachten, dass der Linearroboter starr und der Aufnahmebereich begrenzt ist. Große, runde Objekte wie beispielsweise ein Arm können entsprechend nicht vollständig abgescannt werden, da der Winkel der Scaneinheit nicht orthogonal auf die abzubildende Oberfläche angepasst werden kann.

### 3.3. ROBOTERARM

Aus diesem Grund wurde ein 7-achsiger Roboterarm (LBR iiwa 14 R820, Kuka-AG, Deutschland) anstelle des Linearroboters in das MHz-OCT-System integriert (**Abbildung 3.14**). Der Arm hat eine maximale Reichweite von 82 cm und somit können theoretisch Flächen von etwa  $2 \times 2 \text{ m}^2$  und durch die Nutzung aller Gelenke auch Rundungen mit über  $180^\circ$  abgescannt werden [66]. Als Sicherheitsmaßnahme wurden in dieser Arbeit Schutzräume definiert, was die nutzbare Fläche auf  $0,6 \times 0,6 \text{ m}^2$  limitiert.



**Abbildung 3.14** Aufbau des LARA-OCT-Systems. Links: Foto des Roboterarms mit OCT-Scaneinheit am Endeffektor und schematisch gezeigten Bildgebungs- und Steuerungssystemen. Rechts: Schaubild des systemübergreifenden Kommunikationskonzepts.

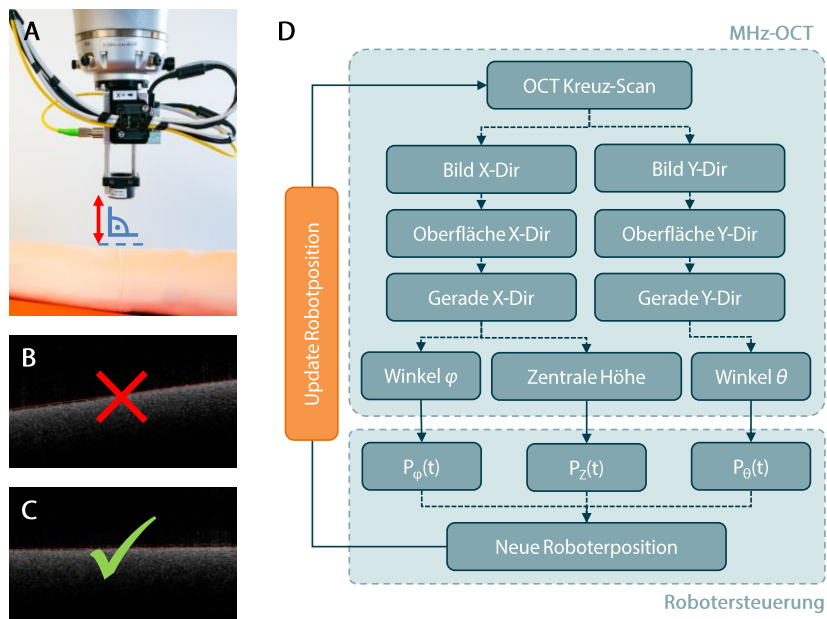
Die OCT-Scaneinheit wurde koaxial an den Endeffektor des Roboters montiert, sodass die aufgenommenen OCT-Daten mit dem Werkzeug-Koordinatensystem beschrieben werden können. Das Werkzeug-Koordinatensystem ist eine Transformation aus dem Flansch-Koordinatensystem. Die Transformation ist eine einfache Translation entlang der Z-Achse

mit einer 180°-Drehung um die Y-Achse, sodass in der Standardausrichtung (Knickstellung) des Roboters die Orientierung der Achsen dem Welt-Koordinatensystem entsprechen. Da bei dieser Anordnung die OCT-Scaneinheit in Stoßrichtung des Roboters ausgerichtet ist, vereinfachen sich die Berechnungen für die Positionierung. Die Ansteuerung der Motoren in den einzelnen Gelenken erfolgt mit der KUKA-Steuerung (Sunrise Cabinet V10, Kuka-AG, Deutschland), die ihre eigene Entwicklungsumgebung (Sunrise.OS 1.17, Kuka-AG, Deutschland) verwendet und auf einer JAVA-Software basiert. Die Kommunikation mit dem OCT-Bildgebungssystem erfolgt via Transmission Control Protocol/Internet Protocol (TCP/IP) und ermöglicht eine Neupositionierung des Roboters mit einer Updaterate von 1 ms sowie Feedback über die aktuelle Position und weiterer Systemzustandsinformationen. Für die Roboterpositionierung wurde eine Steuerungssoftware in LabVIEW erstellt, die die aktuellen Oberflächendaten von der OCT-Bildgebungssoftware erhält und aus diesen die neue Position des Roboters berechnet bzw. der OCT-Bildgebungssoftware signalisiert, wenn der Roboter die gewünschte Position erreicht hat und einen Scan auslöst. Gleichzeitig dient die Robotersteuerung als Schnittstelle zum TCP/IP-Server, um die Positionsdaten auszutauschen. Ein Schaubild des systemübergreifenden Kommunikationskonzepts ist in **Abbildung 3.14** dargestellt.

### 3.3.1. Abstands- und Orientierungsregelung

Innerhalb der Robotersteuerung wurde eine automatische Abstands- und Orientierungsregelung für den Roboterarm entwickelt, die eine automatische Ausrichtung der Scaneinheit über der Probe ermöglicht. Diese basiert rein auf den OCT-Bilddaten und nicht wie bei vielen anderen Systemen auf zusätzlichen Abstandssensoren. Dies hat den Vorteil, dass keine zusätzlichen Schnittstellen implementiert oder aufwändige Kalibrierungen der individuellen Koordinatensysteme für die Positionssteuerung berücksichtigt werden müssen. Allerdings muss die gewünschte Oberfläche in der jetzigen Version bereits vor Regelbeginn im OCT-Bildbereich liegen und der Roboterarm entsprechend vor der Aufnahme manuell in Startposition gebracht werden. Sobald diese Bedingung erfüllt ist, kann sowohl der Abstand (Z-Richtung) als auch der Winkel (in X- oder Y-Richtung) zwischen OCT-Scaneinheit und Probe automatisch geregelt werden. In **Abbildung 3.15 A** ist ein Foto der „Soll-Position“ abgebildet und in **Abbildung 3.15 B-C** OCT B-Scans von der abgetasteten Oberfläche. Um möglichst große Flächen ohne Sprünge abscannen zu können, sollte die OCT-Scaneinheit orthogonal über der Oberfläche ausgerichtet und der Arbeitsabstand an

die Brennweite der Scanoptiken angepasst sein. So liegt die Oberfläche waagrecht im OCT B-Scan und Tiefenstrukturen darunter sind gut erkennbar (**Abbildung 3.15 C**). Liegt die abzutastende Probe schief im Bildbereich, können Tiefenstrukturen möglicherweise nicht richtig dargestellt werden und späteres Zusammenfügen von Einzelaufnahmen ist erschwert (**Abbildung 3.15 B**). Ein vereinfachtes Schaubild des geschlossenen Regelkreises ist in **Abbildung 3.15 D** dargestellt. Als Führungsgrößen werden die Oberflächenparameter zentrale Höhe und zwei Winkel, die die Ebene aufspannen, benötigt und wie im folgenden Absatz beschrieben in der OCT-Bildgebungssoftware extrahiert.



**Abbildung 3.15** Konzept der OCT-gestützten Abstands- und Orientierungsregelung. A) Foto des gewünschten Bildgebungszustands: die OCT-Scaneinheit ist orthogonal und im definierten Abstand zur Oberfläche der Armnachbildung ausgerichtet. OCT B-Scans der erfassten Oberfläche mit B) falscher Ausrichtung und C) korrekt orthogonaler Ausrichtung des Roboters. D) Schaubild des vereinfachten Regelkreises.

Damit die OCT-Scaneinheit im dreidimensionalen Raum orthogonal über der Probe ausgerichtet werden kann, wurde ein Kreuz-Scanverfahren im OCT-Vorschaumodus anstelle des Standard Linien-Scans implementiert. Dafür wurden die Scanfunktionen der Galvanometerscanner so angepasst, dass abwechselnd in X- und in Y-Richtung ein schneller Linien-Scan durchgeführt wird. Dieser Kreuz-Scan bildet nur einen Teil der Oberfläche ab, hat jedoch den Vorteil, dass die Daten schneller aufgenommen und segmentiert werden können als bei gesamten 3D-Scans. Direkt nach der Aufnahme der Daten wird je ein OCT B-Scan prozessiert und die Oberfläche segmentiert. Nach diversen Tests hat sich für die Oberflächensegmentierung die Kantendetektions-Funktion von LabVIEW „Find Edge 2“ (National

Instruments Corp., LabVIEW IMAQ 17.0, USA) als zuverlässige und schnelle Lösung herausgestellt. Die im OCT hell erscheinende Oberfläche wird hierbei A-Scanweise mittels Gradientensuche von oben nach unten segmentiert. Um den Segmentierungsprozess zu beschleunigen, kann die Anzahl an zu berücksichtigenden A-Scans gewählt werden. Für diese Anwendung hat sich die Wahl jedes 32-ten A-Scans bewährt, um die Oberfläche zuverlässig zu detektieren. Die segmentierten Oberflächenpixel werden im Bild mit gelben Punkten markiert (siehe **Abbildung 3.15 B-C**). Im Nachhinein wird die geschlossene Oberfläche bilinear interpoliert und eine Ausgleichsgerade berechnet, wobei Toleranzen vorgegeben werden können. Im Vorschaubild der OCT-Bildgebungssoftware wird die Oberfläche mit der detektierten Gerade in rot überlagert. Die LabVIEW-Funktion gibt am Ende den Winkel in Grad und die Lage der Gerade anhand von zwei Koordinatenpunkten in Pixeln aus, woraus die zentrale Höhe berechnet wird.

Um aus den Pixelwerten entsprechend die Position des Roboterarms zu berechnen, muss die Pixelgröße vor der Messung kalibriert werden. Dies erfolgt mit einem Punktgitter-Verzeichnungsbildes. Der Tiefenbildbereich und somit die Pixelgröße in Z-Richtung ist abhängig von der gewählten spektralen Bandbreite der OCT-Lichtquelle und muss ebenfalls vor jeder Messung festgelegt werden.

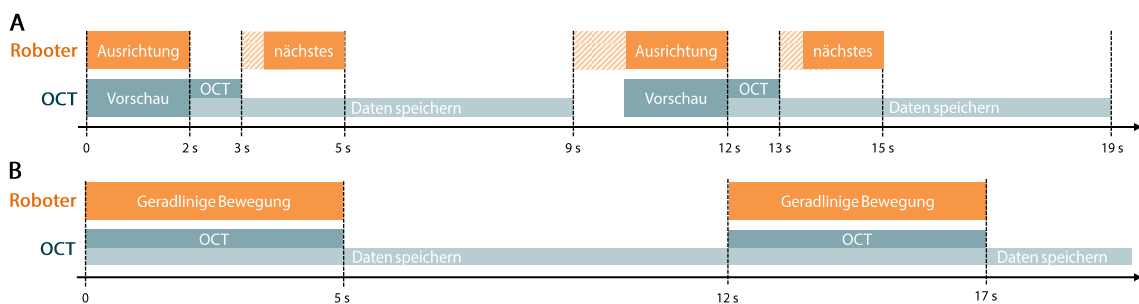
Die Bildgebungssoftware übermittelt über LabVIEW-interne Kommunikation (*Notifier*) die drei Parameter: Winkel  $\varphi$  (X-Richtung), Winkel  $\theta$  (Y-Richtung) und zentrale Höhe aus dem B-Scan in X-Richtung (Abstand vom oberen Bildrand zur Probenoberfläche) an die Robotersteuerung. Hier wird basierend auf den drei Führungsgrößen in drei parallelaufenden Proportionalreglern die neue Roboterposition berechnet und an die KUKA-Steuerung gesendet. Die Geschwindigkeit und Genauigkeit der Regelung lässt sich über die Einstellung der Reglerverstärkung (Kp-Wert) beliebig einstellen. Ebenso werden in der Robotersteuerung Toleranzbereiche definiert, in denen die OCT-Scaneinheit als orthogonal ausgerichtet gilt und entsprechend ein OCT-Scan ausgelöst werden kann, während die Regelung pausiert und die Gelenke des Roboterarms blockiert sind.

Mit dieser Abstands- und Orientierungsregelung kann die OCT-Scaneinheit auf  $15\ \mu\text{m}$  und  $1^\circ$  Genauigkeit positioniert werden. Die Zyklusdauer der Regelung ist einerseits abhängig von der Größe des OCT-Bildes und andererseits von der Genauigkeit der Oberflächensegmentierung, den Kp-Werten und Toleranzen der Regelung sowie roboterseitig von den Geschwindigkeitseinstellungen der Motoren. Für die Bildgebungsexperimente dieser Arbeit

hat sich eine Updaterate von 10 Hz ergeben, mit der eine zuverlässige Oberflächenverfolgung ermöglicht wurde. **Video 1** zeigt die Abstands- und Orientierungsregelung in Aktion. Die robotisch geführte OCT-Scaneinheit richtet sich dabei stets orthogonal zur Papieroberfläche aus, die auf einem Kugelgelenk befestigt ist und manuell dynamisch bewegt wird. Durch die eingeblendete OCT-Information lässt sich das Zusammenspiel der Regelung gut nachvollziehen.

### 3.3.2. Bildgebungsmodi

Für das LARA-OCT-System wurden wie bei dem Linearroboter verschiedene Bildgebungsmodi implementiert. Im Mosaik-Modus wird die OCT-Scaneinheit mosaikartig in vordefinierten Mustern (Serpentinen oder Spiralen) über die Probe bewegt. Die Anzahl an Mosaikaufnahmen kann in der Robotersteuerung beliebig gewählt und somit die Dimension des Aufnahmebereichs in jeder Messung individuell angepasst werden. Mit der Robotersteuerung wird auch vor der Aufnahme die OCT-Scaneinheit grob über der Probe in Startposition gebracht, sodass die Oberfläche im OCT-Bildbereich liegt. Dies kann entweder im Handführmodus erfolgen, in dem alle Gelenke des Roboters beweglich sind und die OCT-Scaneinheit manuell verschoben wird, oder die Position wird direkt durch Koordinateneingaben angefahren. Der zeitliche Ablauf des Mosaikmodus ist in **Abbildung 3.16 A** visualisiert.



**Abbildung 3.16** Zeitdiagramme der LARA-OCT Modi. A) Zeitliche Abläufe des Mosaik-Modus. B) Zeitliche Abläufe des Linear-Modus.

Vor dem ersten OCT-Scan wird die OCT-Scaneinheit automatisch mit der Abstands- und Orientierungsregelung über der Probenoberfläche ausgerichtet. In dieser Zeit ist die OCT-Bildgebungssoftware im Vorschaumodus und es werden permanent Kreuz-Scans durchgeführt. Sobald der Roboterarm korrekt ausgerichtet ist, wird ein OCT-Scan ausgelöst, woraufhin die OCT-Bildgebungssoftware in den Aufnahmemodus wechselt und ein 3D-Volumen fein abgerastert wird. Die OCT-Bilder werden nicht unmittelbar prozessiert, sondern die Rohdaten zunächst auf dem Systemrechner gespeichert, bevor die nächste Position abgescannt werden kann.

Trotz Software- und Hardwareoptimierung ist der Speicherprozess im Vergleich zur Ausrichtung des Roboters und Aufnahme der OCT-Daten der längste und generiert Totzeiten, die die Gesamtaufnahmedauer drastisch erhöhen. Die Einführung von Parallelisierungen in einer neuen LabVIEW-Bildgebungssoftware konnte den Speicherprozess eines 2,4 GB großen Datensatzes bereits von 6,7 s auf 1,5 s beschleunigen. Ebenso erlaubt der verwendete Datenspeicher (Samsung Electronics Co., Ltd., Samsung 980 PRO NVMe M.2 SSD, Südkorea) eine Schreibgeschwindigkeit von bis zu 5 GB/s. Allerdings konnte in der aktuell verwendeten Bildgebungssoftware kein Datenstreaming der Datenerfassungskarte direkt in den Speicher implementiert werden. Während des Speicherprozesses kommt es zu Stapelüberlaufproblemen, da die Übertragungsgeschwindigkeit in LabVIEW nicht ausreicht, die Rohdaten aus dem Speicher des AD-Wandlers zu übertragen. Somit ist die Datensatzgröße in diesem schnellen Speichermodus auf ca. 12 GB begrenzt (abhängig von den Hintergrundprozessen auf dem System). Um große Datensätze aufzunehmen, müssen die Daten statt in einer parallelaufenden Acquisitions- und Speicherschleife zunächst in den Arbeitsspeicher geladen und erst nach Aufnahme gespeichert werden. Die Datensatzgröße ist entsprechend abhängig von der Speicherkapazität des Arbeitsspeichers und in dem hier verwendeten System auf ca. 56 GB limitiert. Dieser Speicherprozess ist in der aktuell verwendeten OCT-Bildgebungssoftware implementiert und entsprechend groß sind, wie in **Abbildung 3.16** erkennbar, die Totzeiten. Da die Bildgebungssoftware weiterhin im Aufnahmemodus verbleibt, kann während der Datenspeicherung kein OCT-Vorschaubild zur Neuausrichtung des Roboters generiert werden und lediglich die nächste Position angefahren werden. Die Aufnahme eines Mosaiks mit den unten genannten Scanprotokollen dauert 9 Sekunden.

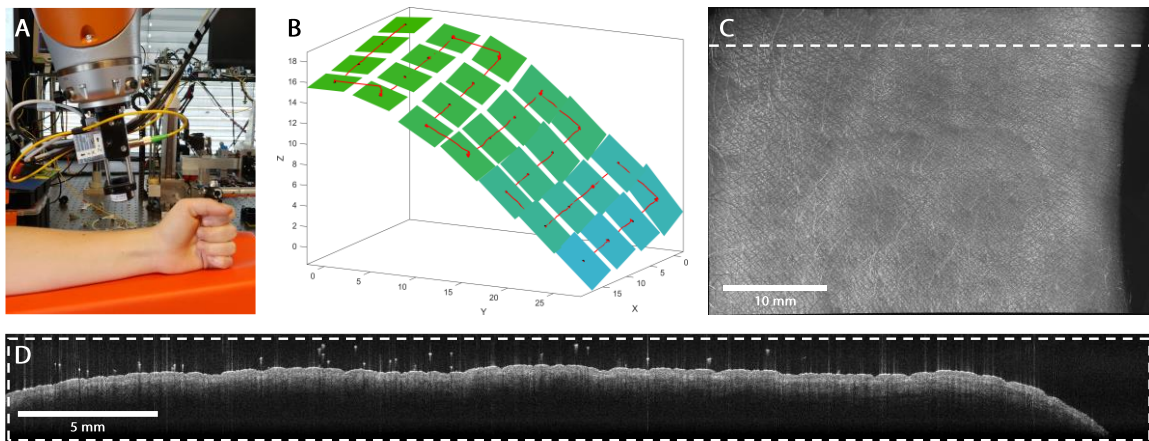
Um effektiver große Flächen abzuscannen, wurde neben dem Mosaik-Modus auch ein Linear-Modus implementiert (**Abbildung 3.16 B**). Genau wie im Interaktions-Modus des Linearroboters wird in diesem Modus der langsame Y-Galvanometerscanner deaktiviert und stattdessen während der OCT-Aufnahme die gesamte OCT-Scaneinheit mit dem Roboterarm geradlinig in Y-Richtung bewegt. Vorteil dieses Systems ist die schnelle Anpassung der Geschwindigkeit von über 1 m/s durch einfache Parametereingabe in der Robotersteuerung statt Anpassung des Übersetzungsverhältnisses bei dem Linearroboter. Außerdem ist die Ausgangs-Orientierung des Roboterarms abhängig von der Probe individuell einstellbar, wodurch auch schräge Oberflächen abgescannt werden können.

Wie in **Abbildung 3.16 B** erkennbar, können deutlich größere Datensätze in kürzerer Zeit abgescannt werden, ohne dass der Roboter neu positioniert werden muss. Die Effizienz,

also das Verhältnis der Aufnahmezeit zum Datenspeicherungsprozess, kann von 11 % auf 42 % erhöht werden. Allerdings kann aus den gleichen Gründen, wie oben genannt, keine Parallelisierung von OCT-Aufnahme und Roboterausrichtung erfolgen. Somit ist im Linear-Modus lediglich die Aufnahme vordefinierter Pfade möglich ohne gleichzeitige Abstands- und Orientierungsregelung.

### 3.3.2.1. Mosaik-Modus

Um das LARA-OCT-System für die Aufnahme gekrümmter Oberflächen zu testen, wurde ein Handgelenk abgescannt. Dafür wurde eine Fläche von  $43 \times 30 \text{ mm}^2$  mosaikartig in  $4 \times 7$  Teilaufnahmen erfasst. Ein Foto des Experiments sowie das rekonstruierte 3D-Raster sind in **Abbildung 3.17 A-B** dargestellt.



**Abbildung 3.17** LARA-OCT-Mosaik-Modus von gekrümmter Arm-Oberfläche. A) Foto des Bildgebungsexperiments am Handgelenk. B) 3D-Diagramm der aufgezeichneten Roboterposition und des abgescannten Bewegungsmusters. Die überlappenden Bereiche sind zur besseren Visualisierung des Bewegungsmusters nicht dargestellt. C) Zusammengefügte OCT *en face*-Projektion der Hautoberfläche. D) Zusammengesetzter OCT-B-Scan an der in C) markierten Position.

Wie in der Grafik zu erkennen, erfolgte während der Mosaikaufnahme eine Gesamtrota-tion der Scaneinheit von etwa  $50^\circ$ . Diese Rotation entlang der Oberfläche resultierte auto-matisch aus der Abstands- und Orientierungsregelung und wurde nicht vor Aufnahme vor-gegeben. Wie in der Aufzeichnung der Roboterpositionen (**Abbildung 3.17 B**) erkennbar, hat die Oberflächenverfolgung zuverlässig funktioniert, da die OCT-Scaneinheit stets ortho-gonal ausgerichtet und die Fläche kohärent abgescannt wurde. Es ist jedoch zu beachten, dass für das Experiment eine relativ kleine Schrittweite von 5 mm gewählt wurde. So konnte sichergestellt werden, dass die stark gekrümmte Oberfläche stets im OCT-Bildbereich liegt und die einzelnen  $13 \times 13 \times 5 \text{ mm}^3$  großen Aufnahmen überlappen – je nach Winkel teil-weise zu 60 %. Die reine Acquisitionszeit des 275 GB großen Datensatzes betrug 36 s, wobei

die Aufnahme inklusive Totzeiten insgesamt 6 Minuten dauerte und damit die Bildgebungsgeschwindigkeit effektiv  $0,04 \text{ cm}^2/\text{s}$  beträgt.

Im Nachhinein wurden die OCT-Daten prozessiert und mit Microsoft Image Composite Editor zusammengefügt. In **Abbildung 3.17 C** ist eine zusammengefügte *en face*-Projektion der Hautoberfläche gezeigt. Bis auf wenige Helligkeitsfehler in überlappenden Bildbereichen sind kaum Stitching-Artefakte erkennbar. Im Vergleich zu einer festen Perspektive erlaubt die geglättete Darstellung der Haut aus stets orthogonalem Aufsichtswinkel einen schnellen, kohärenten Überblick. Gleiches gilt für die B-Scan-Ansicht (**Abbildung 3.17 D**): Durch die kohärente Darstellung der einzelnen Hautpartien können große Strukturen wie komplexe Gefäßsysteme oder möglicherweise große Läsionen zusammenhängend dargestellt werden. Die Bildqualität wird durch die Roboterintegration und Stitching-Prozesse nicht beeinträchtigt. Wie in der ungemittelten B-Scan-Ansicht (**Abbildung 3.17 D**) zu sehen, können die typischen Tiefenstrukturen in der Haut aufgelöst werden. Die Überlagerung von gleichen Bildbereichen aus verschiedenen Winkeln ist sogar zum Teil vorteilhaft. So können beispielsweise Details in Abschattungsbereichen (verursacht durch überstehende Härchen) rekonstruiert werden.

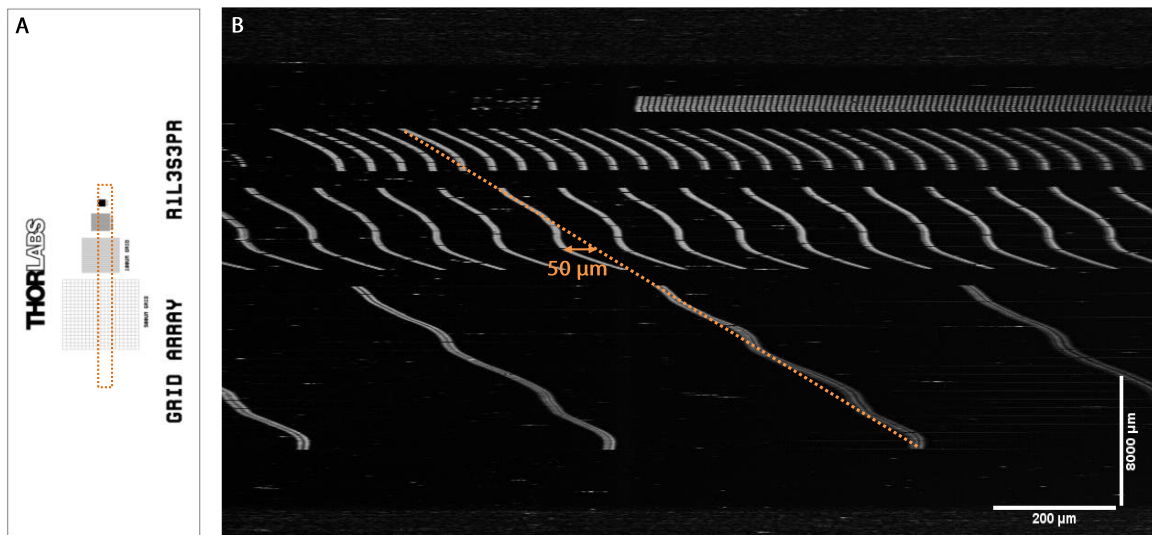
Nach weiteren erfolgreichen Bildgebungsexperimenten an Testphantomen und Händen (Bilder nicht gezeigt) lässt sich insgesamt festhalten, dass sich der Roboterarm gut für das Abscannen großer Flächen mit unterschiedlicher Oberflächenstruktur eignet.

### 3.3.2.2. Linear-Modus

Da im Mosaik-Modus keine Bewegungsartefakte durch Robotervibrationen oder Bewegungsungenauigkeiten festgestellt werden konnten, war der nächste Schritt die Entwicklung des Linear-Modus. Hier wird die Bewegung des Y-Galvos durch die Roboterarmbewegung ersetzt. Zu Synchronisationszwecken wurde in der Bildgebungssoftware ein Verzögerungsfenster eingebaut, um erst nach der Beschleunigungsphase des Roboterarms die Datenaufnahme zu starten. Wie auch im Mosaik-Modus des LARA-OCT-Systems, wird die Bewegung des Roboters in der Steuerungssoftware vorgegeben und von dort einzelne, große OCT-Scans ausgelöst. Die Größe des Datensatzes wird dabei manuell für jedes Experiment je nach Robotergeschwindigkeit und Distanz in der Bildgebungssoftware eingestellt.

In diesem Linear-Modus wurden zunächst Bildgebungsexperimente an starren Proben mit symmetrischen Mustern durchgeführt, um vermeintliche Bewegungsartefakte auszuschließen und die Bewegungsstabilität und -genauigkeit des Roboterarms zu analysieren.

Für eine möglichst hohe Messgenauigkeit wurde die Standard-Scanlinse durch ein Scanobjektiv (LSM02, Thorlabs Inc., USA) ersetzt, was die laterale Auflösung des OCT-Systems auf  $8,8\ \mu\text{m}$  erhöht und Aufnahmen eines Punktgitter-Verzeichnungstestbildes (R1L3S3P, Thorlabs Inc., USA) (Abbildung 3.18 A) durchgeführt. Da die Punkte des Verzeichnungsbildes symmetrisch angeordnet sind, eignet es sich gut für die Analyse von Bewegungsungenauigkeiten.



**Abbildung 3.18** Bewegungsanalyse des LARA-OCT-Linear-Modus mittels Punktgitter-Verzeichnungstestbild. A) Zeichnung des Testbildes [67] mit markiertem Scanbereich. Die OCT-Daten wurden mit einer Robotergeschwindigkeit von  $90\ \text{mm/s}$  in vertikaler Richtung aufgenommen. Bewegungsungenauigkeiten lassen sich anhand des symmetrisch angeordneten Punktgitters analysieren. B) *En face*-Projektion der OCT-Aufnahme. In orange ist der geplante Aufnahmeplan und die maximale Abweichung der Aufnahme nachträglich eingezeichnet.

Für den X-Galvo wurden Standard-Scaneinstellungen gewählt und entsprechend  $1024\ \text{A-Scans}$  über eine Linie von  $1,5\ \text{mm}$  in X-Richtung abgescannt. Für den Roboter wurde eine Geschwindigkeit von  $90\ \text{mm/s}$  und Beschleunigung von  $500\ \text{mm/s}^2$  gewählt. Diese äußerst hohe OCT-Bildgebungsgeschwindigkeit (ca. 40-mal höher als Standard-Scan-Systeme) grenzt an die maximal benötigte Scangeschwindigkeit, die für großflächige Aufnahmen in Zukunft benötigt werden. Außerdem wurde die Robotergeschwindigkeit so hoch gewählt, da hier maximale Instabilitäten erwartet wurden. Insgesamt wurde eine Fläche von  $1,5 \times 32 \times 0,5\ \text{mm}^3$  (Scanbereich in **Abbildung 3.18 A** in orange markiert) in entsprechend  $1024 \times 512 \times 1200$  Datenpunkten aufgenommen. **Abbildung 3.18 B** zeigt das Resultat der OCT-Messung in Form einer *en face*-Projektion. Es ist zu beachten, dass die Pixelgröße, wie durch die verschiedenen Maßstabsbalken angezeigt, nicht symmetrisch ist. Bewegungsungenauigkeiten sind deutlich anhand der wellenförmig erscheinenden, reflektierenden

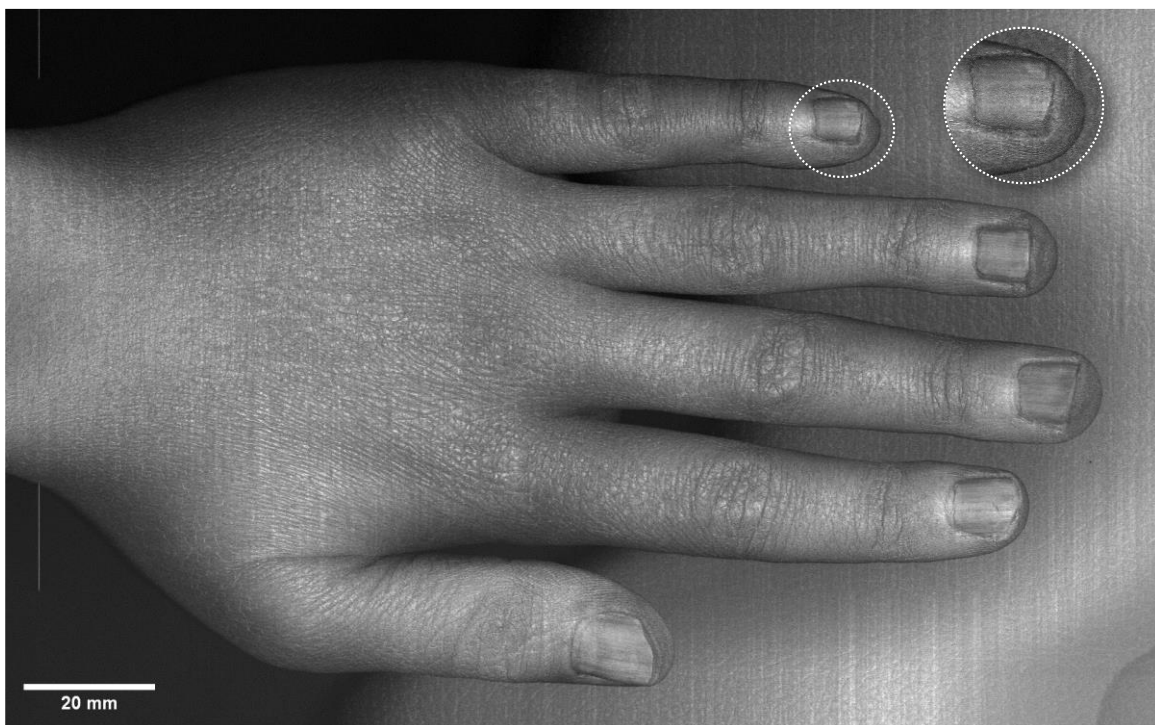
Punkte des Verzeichnungstestbildes ersichtlich. In orange wurde der geplante Aufnahme-pfad den Bilddaten überlagert und eine maximale Abweichung in X-Richtung von  $50\ \mu\text{m}$  ermittelt. Auch in Fahrtrichtung des Roboterarms konnten in weiteren Bildgebungsexperimenten Nichtlinearitäten festgestellt werden. Diese Abweichungen lassen sich auf Bewegungsungenauigkeiten des Roboterarms zurückführen. Bei tiefergehenden Stabilitätsmessungen wurden die Roboterpositionen während unterschiedlich schneller Linearbewegungen in alle drei Raumrichtungen aufgezeichnet und analysiert [68, 69]. Bei diesen Messungen konnte ein Übersprechen auf die jeweils nicht bewegten Achsen festgestellt werden. Unabhängig von der Geschwindigkeit betrug hierbei die Bewegungsabweichung in X- und Z-Richtung bei geradliniger Y-Bewegung etwa  $50\ \mu\text{m}$ . Geradlinige Bewegung in X-Richtung führte sogar zu Abweichungen von bis zu  $300\ \mu\text{m}$  in der Z-Achse, wohingegen die Y-Achse weitgehend ruhig blieb. Dieses Verhalten ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf das unterschiedliche Ansprechen der Gelenkmotoren bei verschiedenen Bewegungen zurückzuführen, wurde in dieser Arbeit jedoch nicht nähergehend analysiert.

Die festgestellten Bewegungsungenauigkeiten stellen ein Problem für hochauflösende oder funktionelle OCT-Bildgebung im Linear-Modus dar. Es ist jedoch zu beachten, dass hierbei auch andere Vibrationen im Raum oder leichte Berührungen des Aufbaus bereits zu Bewegungsartefakten führen, was die Verwendung des LARA-OCTs hierfür generell einschränkt. Im Hinblick auf die typische laterale Auflösung des MHz-OCT-Systems von  $22\ \mu\text{m}$  sind Bewegungsungenauigkeiten von  $50\ \mu\text{m}$  zwar größer, aber in den meisten Fällen unkritisch, insbesondere wenn der Linear-Modus für bildgestützte, chirurgische Navigation verwendet wird. Gegebenenfalls können diese Abweichungen durch geeignete Korrekturverfahren kompensiert werden.

Wie in **Abbildung 3.19** ersichtlich und in **Video 2** veranschaulicht, ist mit dem Linear-Modus die Aufnahme einer gesamten Hand möglich. Für diese Messung wurde die spektrale Bandbreite der OCT-Lichtquelle auf  $22\ \text{nm}$  begrenzt, um den OCT-Tiefenbildbereich zu erhöhen. So ist auch ohne automatische Abstands- und Orientierungsregelung die gesamte Handoberfläche abbildbar. Außerdem wurde eine 2" Scanlinse mit  $125\ \text{mm}$  Brennweite verwendet, um sowohl das Bildfeld als auch den Fokusbereich gegenüber den Standardeinstellungen zu erweitern. Um die gesamte Hand abzutasten, wurden sechs lange, horizontale Streifen von  $3 \times 21 \times 2\ \text{cm}^3$  serpentinenförmig mit  $35\ \%$  Überlappung abgescannet. Die Geschwindigkeit des Roboters betrug in dieser Messung  $70\ \text{mm/s}$  bei einer Beschleunigung von  $500\ \text{m/s}^2$  und die sechs  $3.200 \times 1.600 \times 1.200$  Voxel großen Datensätze wurden

innerhalb von 150 s aufgenommen. Wie im Mosaik-Modus wurden die OCT-Daten nach der Aufnahme prozessiert, *en face*-Projektionen über alle Tiefenpunkte erstellt und mit Microsoft Image Composite Editor zusammengefügt. Das zusammengefügte FOV beträgt etwa  $14 \times 17 \times 2 \text{ cm}^3$ . Effektiv wurde die Hand mit einer Geschwindigkeit von  $1,59 \text{ cm}^2/\text{s}$  abgescannt, was im Vergleich zur gleichen Fläche im zuvor gezeigten Mosaik-Modus etwa 44x schneller ist. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Abtastdichte in Y-Richtung in dieser Messung um einen Faktor 14 reduziert wurde. Während in X-Richtung weiterhin  $9,4 \mu\text{m}$  dicht abgerastert wurde, betrug die Abtastdichte in Y-Richtung durch die hohe Roboterarmgeschwindigkeit  $130 \mu\text{m}$ . Dennoch sind in der *en face*-Projektion (**Abbildung 3.19**) viele Details erkennbar und lediglich vereinzelt Stitching-Artefakte (vgl. Zoom-Ansicht) ersichtlich.

Es ist anzumerken, dass für dieses Bildgebungsexperiment ein anderer FDML-Laser als im Rest der Arbeit verwendet wurde, da dieser im „Langbildbereich-Modus“ weniger rauschanfällig ist.



**Abbildung 3.19** OCT-Aufnahme einer Hand im LARA-OCT-Linear-Modus. Gezeigt ist die zusammengesetzte OCT *en face*-Projektion bestehend aus 6 einzelnen, horizontalen OCT-Scans. Marginale Stitching-Artefakte sind in der Zoom-Ansicht des kleinen Fingers erkennbar.

### 3.4. FAZIT UND DISKUSSION DER ROBOTERINTEGRATION

Insgesamt konnte mit den Ergebnissen der verschiedenen großflächigen Bildgebungsexperimente erfolgreich demonstriert werden, dass durch die Integration von Robotik in das

OCT-System große Bildbereiche zuverlässig abgescannt werden können. Die OCT-Bildqualität wird durch die Integration nicht beeinträchtigt und diverse Bildgebungsmodalitäten erlauben einen hohen Grad an Flexibilität hinsichtlich der Aufnahmeparameter und Bildinformation. Während sich der Linearroboter eher für die Analyse unbewegter *in vitro* Laborproben eignet, erlaubt der Roboterarm mit der automatischen Abstands- und Orientierungsregelung Aufnahmen großer Flächen *in vivo*. Ohne starke Bewegungsartefakte sind Aufnahmen großer Hautläsionen möglich, unabhängig von der Position am Körper und davon, ob die Patient\*innen bequem stehen oder liegen. Die hohe Scangeschwindigkeit ist in diesem Fall von besonderem Interesse und übertrifft dank der MHz-Lichtquelle des OCT-Systems die anderer Systeme [54-58] um bis zu zwei Größenordnungen. Somit wären in der Dermatologie Langzeit-Vergleichsstudien mit wiederholten Aufnahmen der gleichen Hautläsion oder Kontrollaufnahmen nach Medikation ohne großen geschulten Personalaufwand möglich. Auch Hautscreenings mit dem LARA-OCT-System sind vorstellbar, da keine Beschränkung auf kleine Aufnahmebereiche mehr besteht und somit möglicherweise Entzündungsherde, die klinisch noch nicht auffällig sind, detektiert und frühzeitig behandelt werden können. Insgesamt kommen die Ergebnisse dieser Arbeit der Vision, die gesamte menschliche Hautoberfläche abzuscannen, einen deutlichen Schritt näher. Durch die Eliminierung der verbleibenden Totzeiten, etwa durch effizientere Scanprotokolle und optimierte Datenverarbeitung, wäre mit dem vorgestellten LARA-OCT-System ein Komplettkörperscan in 3 Minuten möglich (bei einer Abtastung von  $50\ \mu\text{m}$  und  $80\ \text{cm}^2/\text{s}$  Geschwindigkeit).

Dafür müsste außerdem das Ansteuerungskonzept der Galvanometerscanner angepasst werden. In der derzeitigen Version des LARA-OCT-Systems wurde die OCT-Scaneinheit am Endeffektor des Roboterarms montiert. Die analogen Ansteuerungssignale der Galvanometerscanner wurden in den Treibern nahe des OCT-Systems generiert und über 3 m lange Kabel zu den Scannern geleitet. Dieser Aufbau hat in manchen Fällen zu Problemen geführt, da die außen am Roboter geführten Kabel sehr anfällig für äußere Störsignale und extreme Biegeradien sind. Die Stecksysteme des Scannerherstellers sind nicht für starke Zugbelastungen ausgelegt. Daher bietet sich in einer optimierten Version an, die Treiber ebenfalls mit an den Endeffektor des Roboterarms zu montieren und festverbaute, kurze Galvokabel zu verwenden.

Aktuell ist der Betrieb des LARA-OCT-Systems noch auf viele manuelle Abläufe und Einstellungen angewiesen, die sich jedoch weiter automatisieren lassen. So bietet sich in Zukunft die Integration von einem spektralem, axialen Zoomverfahren [16] für die automatische Ausrichtung der Startposition an. Die automatische Anpassung der OCT-Bildtiefe bei großem Abstand könnte dabei als Sicherheitsmerkmal des Systems dienen und erlaubt ein Heranführen der OCT-Scaneinheit über die Probe ohne manuellen Eingriff. Unabhängig von automatisierten Scanprozessen großer Flächen, kann die entwickelte Abstands- und Orientierungsregelung außerdem für OCT-gestützte Navigation als Abstandssensor in chirurgischen Eingriffen genutzt werden. Es gibt bereits Studien für den Einsatz von OCT zur Erkennung von Tumorrändern im Gehirn [70]. Hierfür ist die exakte Ausrichtung der OCT-Scaneinheit mit definiertem Abstand und Orientierung wichtig und könnte durch das LARA-OCT-System automatisiert werden. Dieses Konzept der Abstandssensorik bietet auch abseits der Medizin in der Industrie potentielle Anwendungsfelder. Vorteil der OCT-Bildgebung gegenüber kamerabasierten Systemen ist die Genauigkeit der Oberflächendetektion auf sub-mikrometer Level. Auch Reflexionen an stark spiegelnden Oberflächen sind weniger problematisch und die koaxiale Ausrichtung des Systems auf dem Roboterarm ist in einigen Anwendungen wie z. B. Schweißprozessen vorteilhaft.

Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass robotische OCT nur mit hohen A-Scanraten - wie sie bei MHz-OCT-Systemen erreicht werden - zuverlässig funktioniert, da die hohe Bildgebungsgeschwindigkeit essenziell ist. Allerdings birgt die Verwendung von MHz-OCT auch einige Herausforderungen, die in den vorherigen Abschnitten bereits angesprochen wurden. Die größte Herausforderung ist der Umgang mit den anfallenden enormen Datenmengen von mehreren hundert Gigabytes. Bereits bei der Datenaufnahme führt der langsame Speicherprozess zu Totzeiten, die die Gesamtaufnahme extrem verlangsamen. Eine Echtzeitimplementierung mit Datenstreaming ist daher für zukünftige Implementierungen essenziell. Auch der nachgelagerte Prozess der OCT-Bildprozessierung und Darstellung der großen OCT-Volumen ist rechen- und zeitintensiv. Vorstellbar wäre deshalb in Zukunft potentielle Pathologien mittels künstlicher Intelligenz während einer robotergeführten Übersichtsaufnahme zu lokalisieren. Im Nachgang könnten die auffälligen Bereiche dann gezielt und ggf. mit höherer Auflösung abgescannt werden und nur anfallenden kleinen OCT-Datenmengen gespeichert und weiterverarbeitet werden.

Um die einzelnen OCT-Volumen, die im Mosaik-Modus aufgenommen wurden, zusammenhängend darzustellen, müssen diese zunächst in allen drei Dimensionen zusammengefügt werden. Herkömmliche Methoden für dreidimensionales Stitching haben sich aufgrund der großen Datensätze und typischer OCT-Eigenschaften wie Speckle als nicht anwendbar erwiesen und daher wurden in dieser Arbeit lediglich zweidimensionale Mosaik erstellt. Die dreidimensionale Registrierung und Stitching der OCT-Daten werden jedoch aktuell in der Arbeitsgruppe erforscht, um dieses Problem in Zukunft zu lösen.

### 3.5. ANWENDUNG IN DER DERMATOLOGIE

Für die Anwendung des LARA-OCT-Systems an Patient\*innen sind noch regulatorische Maßnahmen ausstehend. Allerdings konnten bereits wichtige Vorarbeiten in Kooperation mit dem Lübecker Institut für Experimentelle Dermatologie (LIED) durchgeführt werden, die in den kommenden Abschnitten näher erläutert werden.

#### 3.5.1. Hochdurchsatz-Wundscreening mittels robotischer MHz-OCT

Chronische, nichtheilende Wunden stellen ein beträchtliches Gesundheitsproblem in der modernen Gesellschaft dar. Sie sind häufig Begleiterscheinung von typischen, altersbedingten Krankheiten wie Diabetes mellitus Typ 2 oder Hypertonie, bei denen aufgrund von Nervenschädigungen oder Durchblutungsstörungen die Wundheilungsfunktion stark eingeschränkt ist. Aufgrund der gestörten Integrität der Haut als Schutzbarriere bergen diese Wunden ein erhöhtes Infektionsrisiko und beeinträchtigen die Lebensqualität der Betroffenen erheblich. In vielen Fällen sind Amputationen notwendig, was mit einem hohen Sterberisiko verbunden ist. Auch aus ökonomischer Sicht sind chronische Wunden nicht zu vernachlässigen. Da zum einen in der alternden Bevölkerung immer mehr Menschen unter chronischen Wunden leiden und sich zum anderen der Heilungsprozess über Jahre erstrecken kann, fallen jährlich Versorgungskosten in Milliardenhöhe an [71]. Schätzungen zufolge machen die anfallenden Kosten der Wundversorgung aktuell ca. 3 % der Gesamtausgaben des Gesundheitswesens aus [72, 73]. Aus diesem Grund und angesichts der unbefriedigenden Ergebnisse aktueller Behandlungsmethoden besteht ein dringender Bedarf an modernen, wirksamen Wundheilungstherapien.

Am LIED wird daher an speziellen Wundheilungsmodellen geforscht. Dabei wurde ein Verfahren entwickelt, das die *ex vivo* Kultivierung menschlicher Haut für bis zu acht Tage

ermöglicht. An diesem Wundheilungs-Organkultur Modell (WHOC, engl. *woundhealing organ culture*) wurde eine Bibliothek von 136 möglichen Inhibitoren auf ihre Fähigkeit, die *ex vivo* Wundheilung zu unterstützen, analysiert. Neben makroskopischen und histologischen Analysen der Proben wurde dabei erstmalig MHz-OCT als Instrument zur Quantifizierung der Wundvolumen herangezogen. Im Gegensatz zur makroskopischen Bildgebung mittels Auflichtmikroskopie bietet OCT direkten Zugang zu der dreidimensionalen Tiefeninformation der Gewebsstrukturen. So kann das Volumen der Wunde quantifiziert werden statt lediglich die Wundfläche. Da es sich darüber hinaus um ein nicht-invasives Verfahren handelt, kann es zur Verlaufskontrolle über mehrere Tage eingesetzt werden und schließt somit die Lücke zwischen nicht-invasiver zweidimensionaler makroskopischer Bildgebung und histologischen Verfahren zur Quantifizierung des Wundheilprozesses.

Nach einer erfolgreichen Machbarkeitsstudie [74] war Ziel dieser Arbeit den OCT-Quantifizierungsprozess zu automatisieren, um ein Hochdurchsatz-Screening der Inhibitorbibliothek zu ermöglichen.

#### 3.5.1.1. Screening-Protokoll

Die Haut der WHOCs stammt von augenscheinlich gesunden Patient\*innen aus elektiven Eingriffen der ästhetischen Chirurgie. Die Patient\*innen gaben ihre schriftliche Einwilligung zur Spende und alle Experimente wurden gemäß den Helsinki-Richtlinien durchgeführt und vorab von der Ethikkommission der Universität Lübeck (06-109, 21-191) genehmigt. Für das Modell wurden Stanzbiopsien mit 4 mm Durchmesser entnommen, wobei alle Hautschichten intakt blieben. Vorab wurden der Haut manuell 2 mm große Wunden mittels Biopsiestanzen zugefügt. Damit wie bei echten Wunden nur die Epidermis und obere Dermis beschädigt werden und Wunden mit definierter Tiefe entstehen, wurde ein Abstandshalter verwendet. Die so entstandenen Organkulturen wurden dann in speziell angefertigten Halterungen fixiert und mit William's E Medium in Titerplatten für sieben Tage bei 37° C und 5 % CO<sub>2</sub> kultiviert. Dadurch wurde sichergestellt, dass die Epidermis Kontakt mit der Umgebungsluft hatte und die Haut von unten mit Nährstoffen versorgt wurde. Dies ermöglichte eine korrekte Differenzierung der Keratinozyten, ähnlich wie in der *in vivo* Situation.

An Tag 1 wurden die Wunden mittels Auflichtmikroskop (SteREO Discovery.V8, Zeiss, Deutschland; SZX7, Olympus, Japan) und OCT festgehalten. Anschließend wurden die Wunden für 24 h bei 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Wunden entweder mit einem der 136 Inhibitoren oder mit Kontrollmittel behandelt. Dazu wurde der Inhibitor

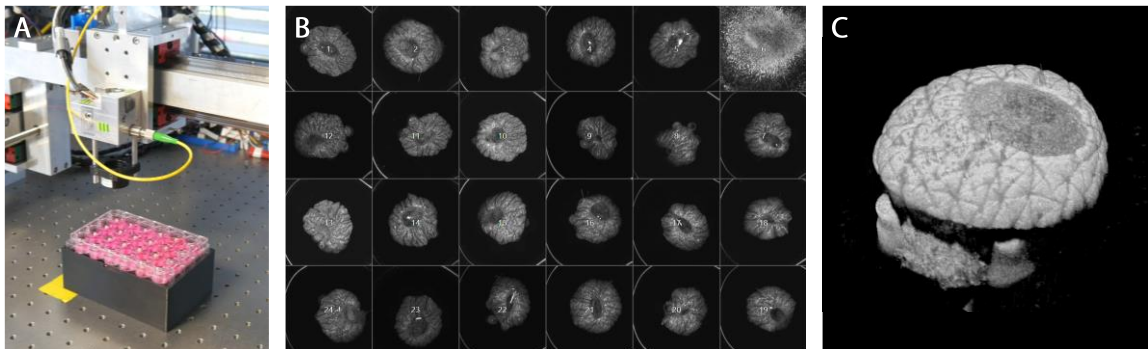
in die Wunde sowie in das Kulturmedium gegeben, welches die Biopsie umgab. Als Lösemittelkontrolle diente 0,1 % Dimethylsulfoxid, da die Inhibitoren hierin gelöst waren. Laut Herstellerangaben unterstützt Natriumgualenat die Wundheilung, sodass dieses als Kontrollmittel ebenfalls getestet wurde. Für das initiale Screening wurden die Inhibitoren in einer Konzentration von 1  $\mu\text{M}$  mit einem  $N=2$  (2 Wunden pro Inhibitor) getestet. Da die Präparation der Haut sehr zeitaufwendig ist und die Haut nicht unbegrenzt außerhalb des Inkubators behandelt werden konnte, wurde das Screening in 15 WHOCs aufgeteilt. Alle zwei Tage erfolgten makroskopische Aufnahmen der Wunden sowie an Tag 6 abschließend OCT-Aufnahmen. Nach weiteren 24 h Kultivierung wurden die WHOCs für die anschließende histologische Analyse zum Teil mittels HistoFix<sup>®</sup> fixiert, in Paraffin sowie zum Teil in Cryomatrix eingebettet und anschließend bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Nach unterschiedlichen Färbungen erfolgte die Quantifizierung der Wundfläche und -durchmesser anhand der Makroskopbilder mittels ImageJ (Fiji ImageJ 2.3.0, National Institutes of Health, USA).

#### 3.5.1.2. Automatische OCT-Bildgebung mittels Linearroboter

Alle OCT-Aufnahmen erfolgten mit dem robotischen MHz-OCT-System mit integriertem Linearroboter bei einer A-Scanrate von 3,28 MHz, einer Zentralwellenlänge von 1310 nm und spektralen Bandbreite von 100 nm bis 110 nm. Für jede Probe wurde ein OCT-Datensatz aufgenommen. Die dabei abgerasterte Fläche betrug  $6,4 \times 6,8\text{ mm}^2$ . Es wurde die Standard 50 mm Scanlinse des MHz-OCT-Systems verwendet, die eine laterale Auflösung von 22  $\mu\text{m}$  ermöglicht. Der Bildbereich in Z-Richtung betrug etwa 5 mm in Luft bei einer axialen Auflösung von  $\sim 16\text{ }\mu\text{m}$ . Jeder dreidimensionale OCT-Datensatz bestand aus  $1024 \times 1024 \times 1200$  Datenpunkten. Da sich die Aufnahmeparameter über den gesamten Studienverlauf von 3 Jahren leicht variierten, wurde an jedem Messtag zu Beginn eine Mattglas-Lochblende (DG10-1500-H1, Thorlabs Inc., USA) mit 1 mm Lochdurchmesser und 2 mm Dicke aufgenommen, um daran die Pixelgröße in X- Y- und Z-Richtung zu kalibrieren. In **Abbildung 3.20 A** ist ein Foto des automatisierten Bildgebungsprozesses gezeigt.

Für die automatischen Aufnahmen der Titerplatten wurde mittels 3D-Druck eine Halterung erstellt, anhand derer die gleichbleibende Startposition zwischen verschiedenen Mess Tagen gewährleistet wurde. In der Steuerungssoftware des Linearroboters wurde lediglich vor jeder Messung das Bewegungsraster festgelegt, da nicht in jeder Messung alle 24 Mulden der Titerplatten belegt waren. Im Anschluss erfolgte die vollständig automatisierte Auf-

nahme der WHOCs in einzeln abgespeicherten Datensätzen. Der Dateiname der Aufnahmeserie enthält jeweils das Rastermuster, was in der nachträglichen Analyse die Zuordnung der Aufnahmen ermöglicht. Durch die Automatisierung konnte der Scan- und Speicherprozess einer gesamten Titerplatte auf unter vier Minuten beschleunigt werden. Aufgrund der großen Datenmengen wurden die OCT-Daten über Nacht serienweise prozessiert. **Abbildung 3.20 B** zeigt beispielhaft die *en face*-Projektionen der OCT-Aufnahmen in der Anordnung wie in der Titerplatte und **Abbildung 3.20 C** die OCT 3D-Darstellung einer einzelnen Probe.



**Abbildung 3.20** Automatisierte *in vitro* OCT-Bildgebung mittels Linearroboter. A) Foto des Aufbaus mit Hautproben in einer Titerplatte. B) Collage der korrespondierenden OCT *en face*-Projektionen. C) OCT-Aufnahme einer einzelnen WHOC als 3D-Darstellung.

Es ist zu erwähnen, dass während der lateralen Verschiebung der Scaneinheit die Höhe nicht angepasst wurde. Da die Hautproben in ihrer Dicke zum Teil stark variierten, kam es zum Teil zu OCT-typischen „Flipping-Artefakten“, bei denen Strukturen oberhalb des eigentlichen OCT-Bildbereichs umgeklappt und über den darunter gelegenen Strukturen dargestellt wurden. Um nachfolgende Segmentierungsprobleme zu vermeiden, wurde die automatische OCT-Bildgebung beaufsichtigt und einzelne Hautproben im Nachgang wiederholt mit veränderten Höheneinstellungen aufgenommen.

### 3.5.1.3. Semi-Automatische Volumenquantifizierung

Um die Wundvolumen automatisch zu quantifizieren, wurde ein LabVIEW-Programm entwickelt, mit dem serienweise OCT-Datensätze eingelesen, die Wundvolumen bestimmt und die Messwerte in einer Tabelle abgespeichert werden können. Ein vereinfachtes Schaubild des Prozessablaufs ist in **Abbildung 3.21** dargestellt.

Für das Programm müssen die OCT-Daten bereits als prozessierte (10-fach gemittelte) B-Scans vorliegen, inklusive einer *en face*-Projektion, anhand derer die Wunde lokalisiert und entsprechend der zu segmentierende Bereich (ROI, engl. *region of interest*) definiert wird.

Die Wunden sind, wie in **Abbildung 3.20 B** zu erkennen, typischerweise mittig auf den Proben und erscheinen dunkel in den *en face*-Projektionen. Da die Wunden manuell gestanzt und in den Halterungen fixiert wurden, kann die Form und Position der ROI stark variieren. Teilweise sind die Wunden sogar eingefallen oder zusammengefaltet, was die Definition der ROI erschwert. Für eine zuverlässige Segmentierung erfolgte daher dieser Schritt innerhalb des automatischen Quantifizierungsprozesses noch manuell. Ebenfalls manuell muss die Voxelgröße mithilfe des Kalibrierbildes bestimmt werden. Beide Schritte können jedoch vor dem automatischen Durchlauf aller Datensätze erfolgen, sodass der Segmentierungsprozess als „semi-automatisch“ bezeichnet wird.

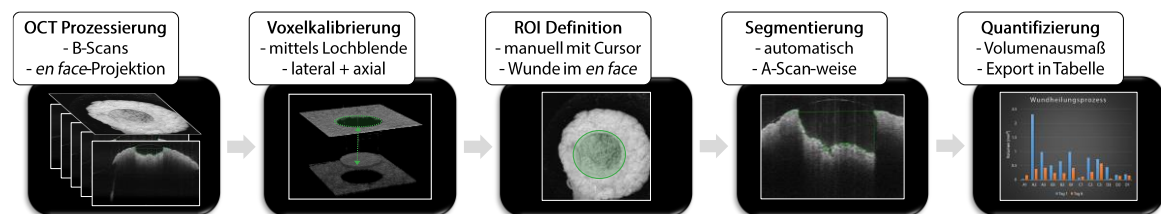


Abbildung 3.21 Semi-automatischer Wundvolumenquantifizierungsprozess.

Die Benutzeroberfläche des Programms ist so gestaltet, dass in verschiedenen Reitern die einzelnen Schritte nacheinander erfolgen. Nach Start des Programms wird der Ordner gewählt, in dem sich die zu segmentierenden Datensätze befinden. Die OCT-Bilddaten werden dann automatisch und sukzessive für die Verarbeitung in das Programm geladen. Im nächsten Reiter erfolgt die Kalibrierung der Voxelgröße mittels Lochblende. Die Dimension in Z-Richtung wird anhand der definierten Dicke der Blende (2 mm) und unter Berücksichtigung des Brechungsindizes anhand eines B-Scans bestimmt. Die X- und Y-Dimensionen werden mit dem 1 mm Lochdurchmesser der Blende in der *en face*-Projektion festgelegt. Danach folgt die Definition der ROIs, bei der mithilfe des Cursors eine Kontur beliebiger Form um die Wunde gezogen und in einem Array gespeichert wird. Diese ROI dient im folgenden automatischen Segmentierungsprozess als Maske für den Segmentierbereich. Nacheinander werden hier die entsprechenden B-Scans der einzelnen OCT-Datensätze geladen und die Wundfläche segmentiert. Das Wundvolumen wird dabei aufsummiert und am Ende für jeden Datensatz in einer Excel-Tabelle abgespeichert. Außerdem wird der segmentierte Bereich (markiert mit einer grünen Linie) zur späteren, visuellen Überprüfung in einem komprimierten Video abgespeichert.

Für die Segmentierung der Wundfläche wird die Eigenschaft genutzt, dass die Wundränder, genau wie die normale Hautoberfläche, als Grenzfläche zwischen Luft und Gewebe

im OCT B-Scan hell erscheinen. Der hellste Pixel eines A-Scans markiert typischerweise die Oberfläche. Daher wird von oben nach unten durch alle A-Scans innerhalb der zuvor definierten ROI iteriert und die Position des hellsten Pixels mittels Maximumsuche bestimmt. Da sich in einigen Wunden Kulturmedium (bzw. an Tag 6 inklusive Inhibitor) gesammelt hat und die Oberfläche dieser Flüssigkeit fälschlicherweise als Wundrand detektiert werden könnte, wurde bei der Maximumsuche ein gleitender Mittelwert-Kernel von 20 Pixeln verwendet. Nach vollständiger Segmentierung innerhalb der ROI werden alle Oberflächenvoxel durch eine grüne Linie visualisiert verbunden und alle Volumenvoxel aufsummiert. Die Anzahl an Voxel sowie das Gesamtausmaß des Volumens in  $\text{mm}^3$  wird in eine Tabelle exportiert.

Vor der Anwendung des Algorithmus für das Inhibitorenscreening wurde dessen Zuverlässigkeit analysiert. Die Korrektheit konnte anhand von augmentierten Daten bestätigt werden und auch die qualitative Bewertung mittels visueller Überprüfung der exportierten Videos ergab nur eine minimale Fehlerquote. Dennoch führten starke Reflexionen an Flüssigkeitsansammlungen in den Wunden zum Teil zu stark abweichenden Messwerten. Außerdem muss aufgrund der unterschiedlichen optischen Eigenschaften von Wasser und Luft das Flüssigkeitslevel in der Wunde bei der Volumenmessung berücksichtigt werden. Idealerweise sind diese daher komplett mit Kulturmedium und unter Ausnutzung der Oberflächenspannung noch darüber hinaus gefüllt. So werden starke Reflexionsartefakte minimiert und bei der Volumenberechnung muss nur der Brechungsindex von Wasser angewandt werden. Da dies jedoch während des Screenings transportbedingt nicht immer umsetzbar war, wurde sicherheitshalber nach jeder Messung anhand der exportierten Videos das Flüssigkeitslevel abgeschätzt und für die Volumenkorrektur manuell in der Tabelle nachgetragen. Das tatsächliche Volumen  $V_{ges}$  ergibt sich aus der Anzahl an segmentierten Voxel  $N$ , den Voxeldimensionen  $d_x$ ,  $d_y$  und  $d_z$  und den Anteilen des luft- bzw. flüssigkeitsgefüllten Wundvolumens  $x_{Luft}$  und  $x_{Lösung}$  unter Berücksichtigung des jeweiligen Brechungsindex  $n_{Luft} = 1$  und  $n_{H_2O} = 1,33$  anhand folgender Formel:

$$V_{ges} = \left( \frac{x_{Luft}}{n_{Luft}} + \frac{x_{Lösung}}{n_{H_2O}} \right) \cdot N \cdot d_x d_y d_z \quad (3.1)$$

#### 3.5.1.4. *Klinische Ergebnisse*

Bei dem Screening haben sich zehn Inhibitoren als vielversprechend herausgestellt, da sie die Wundheilung um mindestens 15 % im Vergleich zu unbehandelten Wunden beschleunigten. Dies konnte sowohl mit den makroskopisch gemessenen als auch durch die OCT-basierten Quantifizierungsergebnisse bestätigt werden. Die zehn Inhibitoren wurden im Nachhinein mit dem gleichen Verfahren und bei gleichen Parametern validiert. Dabei stellten sich drei Inhibitoren als geeignet heraus, wobei ein Inhibitor die Wundheilung signifikant beschleunigte. Diese drei Inhibitoren wurden in verschiedenen Konzentrationen und unter diversen pathologischen Konditionen wie oxidativem Stress oder Insulinmangel erneut analysiert. Am Ende konnte mit dem *ex vivo* WHOC-Modell eine positive Wundheilungswirkung von mindestens einem Inhibitor nachgewiesen werden.

#### 3.5.1.5. *Bilanz, Diskussion und Optimierungsansätze*

Insgesamt wurden bei dem Hochdurchsatz-Screening 3125 OCT-Messungen durchgeführt, wobei OCT-Rohdaten von 7,5 Terabyte (inklusive der Datenauswertung sogar über 11 TB) entstanden. Der Segmentierungsalgorithmus funktioniert zuverlässig und robust und der Linearroboter ermöglicht automatische Bildgebungsabläufe. Durch den Automatisierungsprozess konnten in dem Screening mindestens 40 Stunden Arbeitszeit eingespart werden. Das Anwendungsbeispiel zeigt ein mögliches Zukunftsszenario, in dem MHz-OCT Arbeitsabläufe im Labor automatisiert und genaue, dreidimensionale Messdaten liefert. Die mit den makroskopisch und histologisch bestimmten, korrelierenden Ergebnisse haben gezeigt, dass in Zukunft zeitaufwendige, klassische Auswertungsmethoden durch automatisierte OCT abgelöst werden könnten. Auch wenn der Mehrwert der dreidimensionalen im Vergleich zu der zweidimensionalen, makroskopischen Analyse der Wundvolumen diskutabel ist, ist die morphologische Quantifizierung und vor allem dreidimensionale Bildgebung besonders in Anbetracht der zunehmenden Forschung an Sphäroiden statt klassischer Zellkulturen nicht zu vernachlässigen. Es ist zu erwarten, dass die OCT-Technik in Zukunft neben dem typischen klinischen Diagnoseinstrument vermehrt auch als Quantifizierungsinstrument Einzug im Laboralltag der *in vitro* Forschung erhält.

Im Unterschied zu ähnlichen Forschungsansätzen, in denen OCT bereits als Quantifizierungsinstrument für Hochdurchsatzmessungen angewandt wurde [75-77], ermöglicht der hier entwickelte Linearroboter die Verschiebung der Scaneinheit anstelle der Titerplatten,

was die Entwicklung von entsprechenden Registrierungsmethoden erspart. Auch die enorme Geschwindigkeit der MHz-OCT ist hier als Vorteil hervorzugeben.

Allerdings ist auch zu betonen, dass die semi-automatische Datenverarbeitung des hier vorgestellten Screenings, insbesondere die manuelle ROI-Definition und nachträgliche qualitative Bewertung durch visuelle Inspektion, sehr zeitintensiv ist. Die Definition der Wundränder im *en face* könnte beispielsweise mit Hilfe von klassischen kantenorientierten Segmentierungsmethoden wie dem Dijkstra-Algorithmus oder Life-Wire-Segmentierung beschleunigt werden. In Anbetracht der großen bereits gelabelten Datenmengen ist auch die Anwendung neuronaler Netze für den Segmentierungsprozess denkbar. Insbesondere die Erkennung des Flüssigkeitslevels und qualitative Bewertung des Segmentierungsergebnisses sollte mit KI-basierten Methoden möglich sein. Auch wenn die Kosten für Speicherplatten stetig sinken, könnte es langfristig effizienter sein, die OCT-Rohdaten für den Quantifizierungsprozess nur bei Bedarf zu speichern, da eine vollständig automatisierte Datenanalyse bereits während der OCT-Aufnahme realisierbar erscheint. Zur Vermeidung von „Flipping-Artefakten“ sollte in Zukunft die parallel entwickelte Abstands- und Orientierungsregelung des LARA-OCT-Systems auch in der Steuerungssoftware des Linearroboters implementiert werden.

### 3.5.2. Entwicklung neuer OCT-basierter Biomarker

Ein weiterer Forschungsschwerpunkt des LIEDs sowie der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein liegt auf der Untersuchung entzündlicher Hautkrankheiten, darunter Psoriasis (PSO) und atopische Dermatitis (AD). Sowohl PSO als auch AD beeinträchtigen die Lebensqualität der Betroffenen erheblich. Patient\*innen mit schwerer Krankheitsaktivität benötigen sogar eine systemische Therapie. Psoriasis ist durch eine beschleunigte Hautzellproduktion gekennzeichnet. Dies führt zu dicken, roten, schuppigen Plaques auf der Haut, die jucken und schmerzhaft sein können. Atopische Dermatitis, auch als atopisches Ekzem bekannt, ist eine chronische Hauterkrankung, die durch trockene, juckende und entzündete Hautstellen gekennzeichnet ist. Sie tritt häufig bei Menschen mit einer familiären Neigung zu Allergien, Asthma oder Heuschnupfen auf und kann durch Umweltfaktoren und Stress ausgelöst werden. Obwohl beide Erkranken-

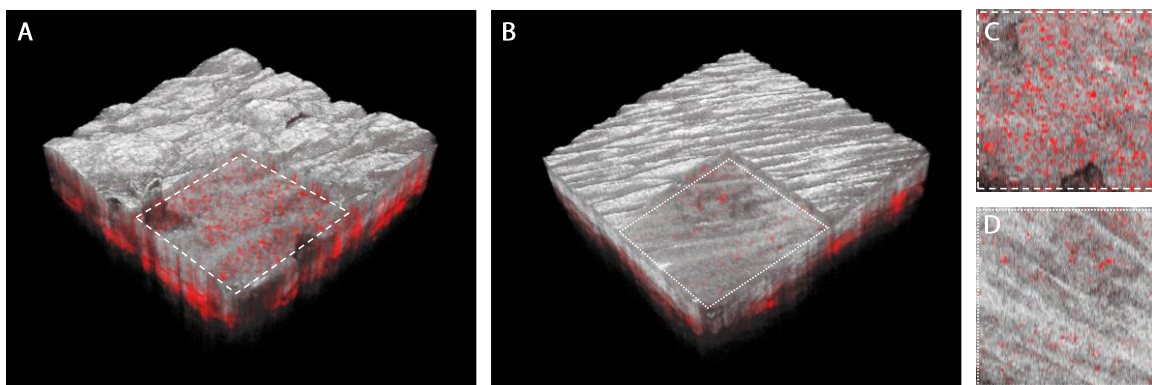
kungen ähnliche Symptome aufweisen können, sind ihre Ursachen und Behandlungen unterschiedlich. Daher ist eine genaue Diagnose durch Dermatolog\*innen wichtig, um die richtige Therapie zu finden.

Derzeit werden klinische Scores auf der Grundlage visueller Untersuchungen für Behandlungsentscheidungen verwendet. Für die Bewertung des Schweregrades von Psoriasis wird beispielsweise der Psoriasis Area and Severity Index (PASI) herangezogen. Dieser Index berücksichtigt die Ausdehnung und Schwere der Plaques und bewertet dabei die Fläche, Rötung, Dicke und Schuppung der Hautläsionen. Jeder dieser Faktoren wird auf einer Skala von 0 bis 4 bewertet, wobei der Gesamtscore (eine Zahl zwischen 0 und 72) den Schweregrad der Erkrankung widerspiegelt. Allerdings können die visuellen Einschätzungen stark variieren, da sie von der persönlichen Wahrnehmung und Erfahrung der jeweiligen untersuchenden Ärzt\*innen abhängen. Verschiedene Untersuchende können zu unterschiedlichen Bewertungen derselben Patient\*innen kommen und den Anteil der betroffenen Körperfläche anders einschätzen. Deshalb besteht ein Bedarf an objektiven Biomarkern, die unabhängig von den behandelnden Ärzt\*innen eine quantitative Bewertung des Krankheitsausmaßes ermöglichen und frühzeitig auf den Therapieerfolg hinweisen können.

Aufgrund seiner nicht-invasiven Natur und der Fähigkeit, sofortige diagnostische Ergebnisse zu liefern, könnte OCT als neuartiges, diagnostisches Instrument diese Lücke schließen. In einer prospektiven klinischen Studie der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie des Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH) mit über 100 Teilnehmenden (Ethik-Referenznummer: 20-096) werden diverse OCT-basierte Biomarker für eine frühzeitige Vorhersage des Therapieerfolgs bei Psoriasis und atopischer Dermatitis erforscht. Erste Ergebnisse zeigen, dass Parameter wie Epidermisdicke und Gefäßanzahl gute Prädiktoren für ein Therapieansprechen sind [78, 79]. Während von den analysierten Kenngrößen einige bereits mit der integrierten Auswertesoftware des verwendeten OCT-Systems bestimmt werden können, wurde erstmals der Parameter *Gefäßanzahl* als möglicher neuer Biomarker ermittelt. Die Auswertung der Gefäßanzahl erfolgte zunächst anhand von Einzelaufnahmen mittels Open Source Bildbearbeitungsprogramm ImageJ. Da dieses manuelle Auswertungsverfahren aufwendig ist, lag der Fokus dieser Arbeit nicht auf der OCT-Bildgebung, sondern auf der vollautomatisierten Auswertung der bereits aufgenommenen klinischen Daten. Es wurde ein Algorithmus entwickelt, der das Gefäßnetz in den dreidimensionalen OCT-Volumen extrahiert und einzelne Kapillarschlingen quantifiziert, um zwischen gesunder und entzündeter Haut zu unterscheiden.

### 3.5.2.1. Gefäßanomalien bei Psoriasis und atopischer Dermatitis

Die Gefäße in Haut, die von Psoriasis oder atopischer Dermatitis betroffen ist, unterscheiden sich in mehreren Aspekten von den Gefäßen in normaler Haut. In beiden Fällen treten in akuten Entzündungsphasen eine verstärkte Vaskularisierung und Gefäßdilatation auf. Diese Erweiterung der Gefäße führt zu einer stärkeren Durchblutung, was zu der typischen Rötung und Schwellung der Haut beiträgt. Im Gegensatz zu normaler Haut weist psoriatische Haut punktförmige oder stecknadelkopffartige Gefäße auf, die auf eine Gefäßerweiterung in den dermalen Papillen zurückzuführen sind [78]. Außerdem befinden sich die elongierten Gefäße oberflächlicher als bei gesunder Haut, da der gesamte Gefäßplexus verschoben ist. Bei AD werden kommaähnliche Gefäße beobachtet, was höchstwahrscheinlich durch eine Richtungsänderung der Kapillarschlingen aufgrund der Lichenifikation verursacht wird [78]. Gesunde Haut weist in der Regel ein lineares oder netzförmiges Gefäßnetzwerk mit nur sporadischen Verlängerungen auf. Im OCT sind die verlängerten Gefäße mittels angiographischen Kontrasts gut ersichtlich und erscheinen in den *en face*-Projektionen punktförmig (siehe **Abbildung 3.22**). Während gängige Open-Source-Toolboxen für OCT-Gefäßanalysen die oberflächliche Papillenregion explizit ausschließen und sich auf das darunterliegende Gefäßnetz konzentrieren, liegt der Fokus des hier vorgestellten Algorithmus auf ebendieser Hautschicht, um mittels Quantifizierung und Lokalisierung der elongierten Gefäße einen zuverlässigen Biomarker für die Unterscheidung von gesundem und entzündetem Gewebe zu erhalten.



**Abbildung 3.22** OCTA-Unterschiede der Gefäßstruktur in Haut. A) 3D-OCTA einer Psoriasis-Plaue-Region und B) nicht betroffener Haut derselben Person.  $3 \times 3 \text{ mm}^2$ -Fenster zeigen den angiographischen Kontrast innerhalb der Epidermis. C) *En face*-Projektion in  $200 \mu\text{m}$  Gewebetiefe aus dem Fenster in A) mit einer großen Anzahl punktförmiger Gefäßstrukturen. D) entsprechendes Pendant mit gesunder Haut aus B).

### 3.5.2.2. OCT-Bildgebungsprotokoll

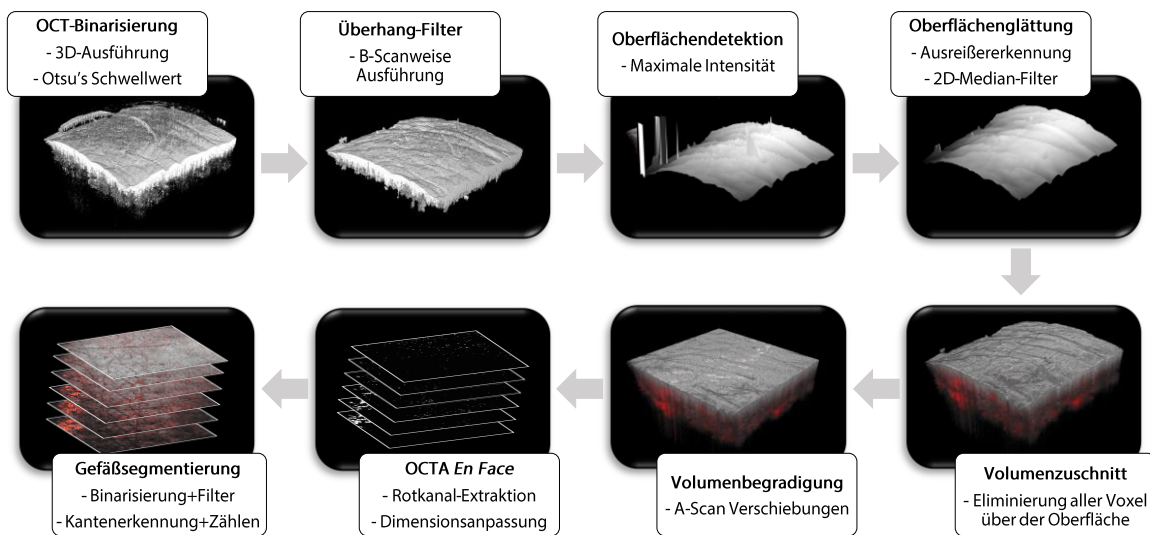
Für die Entwicklung des Algorithmus wurde ein Testdatensatz von 30 OCT-Scans aus oben genannter Studie verwendet, der 10 PSO-Läsionen, 10 AD-Läsionen und 10 gesunde Hautbereiche umfasste. Die OCT-Bilder wurden mit einem klinisch zugelassenen VivoSight Dx-OCT-System erstellt. Es handelt sich um ein SS-OCT-System mit einer A-Scan-Rate von 20 kHz und einer zentralen Wellenlänge von 1305 nm. Dank Multi-Beam-Technologie beträgt die laterale Auflösung weniger als 7,5  $\mu\text{m}$  und die axiale Auflösung weniger als 5  $\mu\text{m}$ . Der laterale Aufnahmebereich ist 6 mm  $\times$  6 mm groß und die Bildtiefe liegt bei etwa 2 mm, abhängig vom Brechungsindex des Gewebes. Die optische Eindringtiefe in Haut beträgt typischerweise nur 1,2 mm. Ein B-Scan besteht aus 1342 A-Scans mit jeweils 460 Punkten und jeder 3D-OCTA-Datensatz umfasst 120 B-Scans. Mit einem Abstand von 50  $\mu\text{m}$  zwischen einzelnen B-Scans ist der Pixelabstand in Y-Richtung größer als in X-Richtung mit 4,5  $\mu\text{m}$ . Im dynamischen OCT-Modus des Systems wird angiographischer Kontrast durch die Aufnahme mehrerer OCT-Bilder an derselben Stelle und anschließender Berechnung der Speckle-Varianz erzeugt. Die Gesamtdauer eines Scans beträgt 30 Sekunden.

Die OCT-Aufnahmen erfolgten bei konstanten Messbedingungen wie Ort, Position und Raumtemperatur und um Bewegungsartefakte zu vermeiden, ruhten die Patient\*innen während der Scans. Es wurden immer drei Bereiche derselben Zielläsion und drei Bereiche der periläsionalen, klinisch unauffälligen Haut wiederholt abgescannt. Die Zielläsion befand sich an den oberen Extremitäten oder am Rumpf. Systemintegrierte Übersichtsaufnahmen des Körpers und der Hautbereiche gewährleisteten konsistente Messungen. Ein Kunststoffaufsatz diente als Abstandshalter zwischen der OCT-Optik innerhalb des Handstücks und der Hautoberfläche. Für die Aufnahmen wurde das Handstück sanft auf die Haut gesetzt, um Druck- oder Schereffekte auf das Gefäßnetz zu vermeiden und Terminalhaar wurde vorab sorgfältig getrimmt, Schuppen jedoch nicht entfernt. Laut Feedback der Patient\*innen verursachten die OCT-Aufnahmen keine Unannehmlichkeiten.

### 3.5.2.3. Algorithmus zur automatischen Gefäßanzahlbestimmung

Der Algorithmus für die automatische Bestimmung der oberflächlichen Gefäßzahl wurde in MATLAB (MATLAB 2023a, The MathWorks, Inc., USA) entwickelt und die Ausführung auf einem 12-Kern-AMD-Rechner mit 64 GB Arbeitsspeicher (AMD, AMD Ryzen Threadripper 1920X, USA) und 8 GB NVIDIA-Grafikkarte (NVIDIA, GeForce GTX 2080, USA) getestet. Der Programm-Code ist am Ende dieser Arbeit beigefügt (S. 167). Die dreidimensionalen OCTA-

Datensätze des VivoSight Dx-Systems liegen im DICOM-Format vor und ein automatischer Batch-Prozess ermöglicht es, alle Datensätze eines gesamten Speicherordners in einem Programm durchlauf zu verarbeiten. Der eigentliche Bildverarbeitungsprozess nutzt, wie in **Abbildung 3.23** dargestellt, vollständige 3D-Datensätze und umfasst im Wesentlichen zwei Hauptsegmentierungsschritte: Oberflächendetektion und Gefäßsegmentierung. Zunächst wird die Hautoberfläche detektiert, um darunter parallel verlaufende Hautschichten gleicher Tiefe zu identifizieren. In einem zweiten Schritt werden in jeder Tiefenschicht die Gefäße segmentiert und die entsprechende Anzahl bestimmt. Die Ergebnisse werden in einer Tabelle gespeichert, um sie im nachfolgenden Schritt, der statistischen Analyse der klinischen Studie, auswerten zu können.



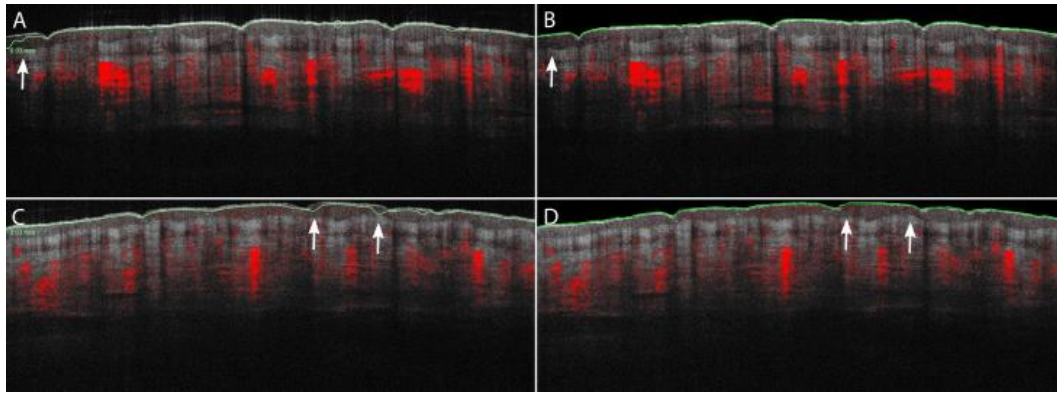
**Abbildung 3.23** Automatischer OCTA-Bildverarbeitungsprozess zur Gefäßzahlbestimmung.

Für eine zuverlässige Oberflächendetektion müssen einige Vor- und Nachbearbeitungsschritte hinzugezogen werden. Ein initialer Vorverarbeitungsschritt beinhaltet die Isolation des 3D-Hautgewebewolumens als eine einzige verbundene Komponente durch Binarisierung. Da der Datensatz als dreidimensionaler RGB-Bildstapel vorliegt, der angiografische Kontrast für die Oberflächensegmentierung jedoch nicht relevant ist, wird dafür nur der grüne Kanal (entsprechend nur strukturelle OCT-Informationen) extrahiert. Für die Bestimmung des Schwellenwerts der Binarisierung wird das Verfahren von Otsu verwendet [80]. Wie in **Abbildung 3.23** zu sehen ist, können überhängende Strukturen wie Haare fälschlicherweise als Teil der Oberfläche erkannt werden. Um dies zu korrigieren, wird im nächsten Schritt ein speziell entwickelter „Überhangfilter“ angewendet. Dieser nutzt B-Scanweise sogenannte Flächenöffnungsoperationen, um kleine Strukturen zu entfernen, die nicht zur Hauptkomponente – dem Hautvolumen – gehören. Erst danach erfolgt die eigentliche

Oberflächensegmentierung basierend auf der maximalen Intensität, da die Oberfläche aufgrund des großen optischen Brechungsindexsprungs typischerweise den hellsten Pixel eines A-Scans ausmacht. Anschließend wird die detektierte Fläche jedoch nochmals mithilfe von Medianfilterung und Ausreißerentfernung weiterverarbeitet, um eine möglichst homogene Oberfläche zu erhalten. Alle Voxel oberhalb dieser Oberfläche werden danach eliminiert und das gesamte Volumen begradigt. Dafür wird eine parallellaufende Verschiebeoperation verwendet, bei der basierend auf den zuvor bestimmten Oberflächenindizes einzelne A-Scans des RGB-Volumens verschoben werden. So entsteht ein begradigtes 3D-Volumen, in dem die Hautschichten parallel verlaufen, die räumlichen Zusammenhänge des aufgenommenen Volumens jedoch intakt bleiben.

Für den folgenden Schritt, der Gefäßsegmentierung, wird der rote Kanal, der den angiografischen Kontrast darstellt, extrahiert und die Dimensionen des 3D-Bildstapels so angepasst, dass parallel und für jede Tiefenschicht unabhängig die Gefäße segmentiert und gezählt werden können. Für jede Tiefenschicht wird zuerst der Bildkontrast zwischen 0,2 und 0,75 angepasst, um die Gefäßstrukturen zu verstärken, gefolgt von einem Binarisierungsschritt mit einem festen globalen Schwellenwert von 25 % der maximalen Intensität. Zusätzlich werden kleine helle Bereiche durch eine Flächenöffnungsoperation entfernt um Rauschen zu eliminieren. Es entstehen kreis- oder längsförmige Konturen, die die Gefäßverlängerungen im Querschnitt darstellen. Diese werden gezählt und für die nachfolgende visuelle Inspektion gelb markiert.

Zur Optimierung der Ausführungszeit wurde der Einsatz von GPU-Verarbeitung und parallelen Verarbeitungsschleifen untersucht. Während die Parallelisierung den Prozess der Gefäßsegmentierung beschleunigte, dauerte interessanterweise die Ausführung der Oberflächendetektion mit beiden Ansätzen länger als mit der einfacheren for-Schleifen-Methode und wurde daher nicht weiter berücksichtigt. Die Detektionsgenauigkeit wurde durch visuelle Inspektion beurteilt und mit ähnlichen Ergebnissen der integrierten VivoSight-Software verglichen. Beide Ansätze zeigten Einschränkungen bei der Erkennung überhängender Strukturen. Allerdings ist hervorzuheben, dass die integrierte Software des VivoSight-Systems häufiger Segmentierungsfehler aufweist als der neu vorgestellte Algorithmus (vgl. **Abbildung 3.24**). Offensichtliche überhängende Strukturen wie Haare wurden falsch segmentiert, während der Algorithmus dieser Arbeit zur Oberflächenerkennung teilweise in der Lage war, nicht verbundene überhängende Strukturen von der Oberfläche zu unterscheiden.



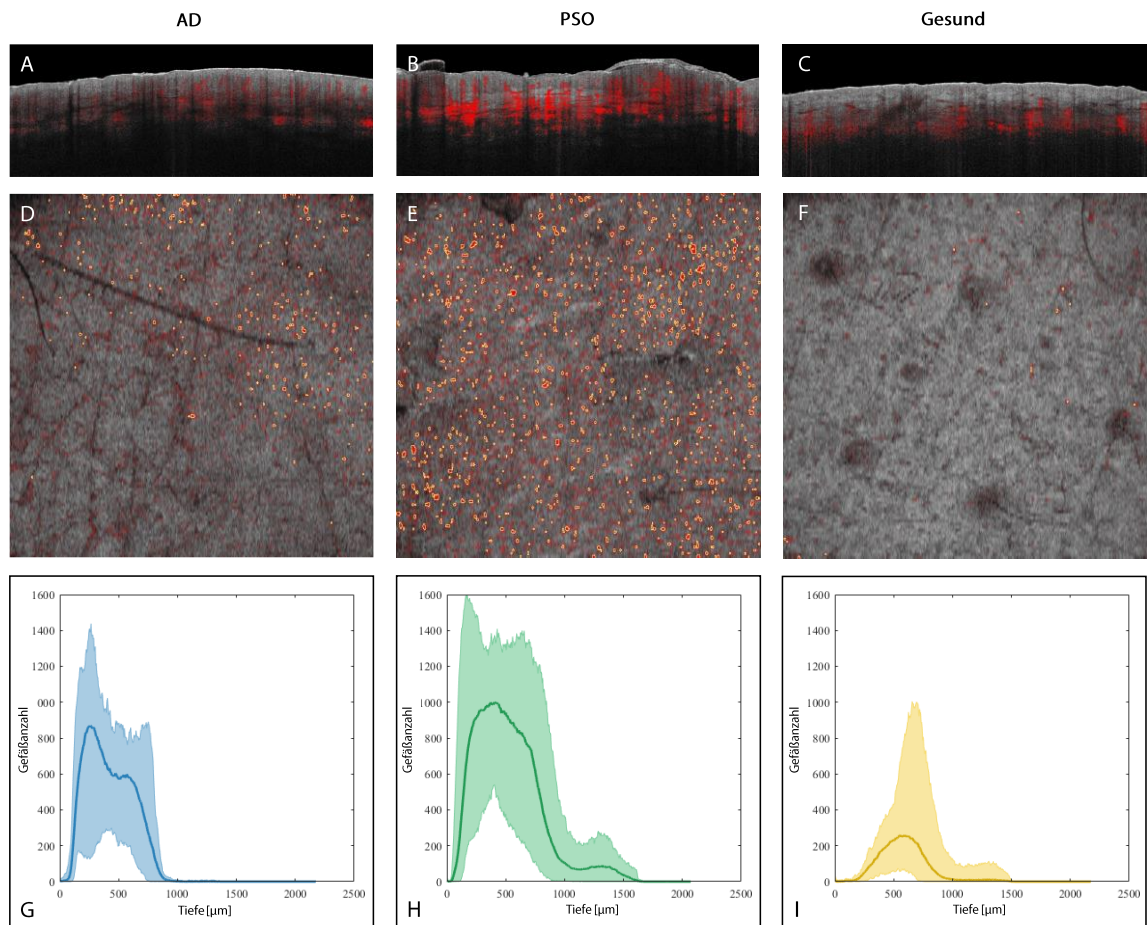
**Abbildung 3.24** Vergleich zweier Oberflächensegmentierungsverfahren. A-B) und C-D) stellen identische OCTA-B-Scans dar mit den in grün gekennzeichneten Segmentierungsergebnissen der integrierten VivoSight Software (A, C) und des neu vorgestellten Algorithmus (B, D). Pfeile markieren unterschiedliche Segmentierungen.

#### 3.5.2.4. Anwendung auf klinischen Studiendatensatz

Nach erfolgreicher Testung wurde der Algorithmus auf den oben beschriebenen Studiendatensatz angewandt. **Abbildung 3.25** zeigt exemplarisch jeweils einen OCT-B-Scan (**Abbildung 3.25 A-C**) sowie ein *en face*-Schnittbild in 200  $\mu\text{m}$  Tiefe mit markierten segmentierten Gefäßen (**Abbildung 3.25 D-F**). Die Anzahl an erkannten Gefäßen aller 10 Datensätze sind in den Diagrammen **Abbildung 3.25 G-I** aufgezeichnet. Sowohl die OCTA-Bilder von AD- als auch PSO-Läsionen zeigen eine erhöhte Anzahl oberflächlicher Gefäße in einer Tiefe von 200  $\mu\text{m}$  mit einer Anzahl von bis zu  $\sim 900$ , während in den Kontrollscans der gesunden Haut keine verlängerten Gefäße beobachtet werden. Folglich lässt sich das entzündete Gewebe klar von gesundem unterscheiden.

Der Unterschied zwischen PSO und AD ist hingegen nicht so eindeutig. Beide weisen eine erhöhte Anzahl an Gefäßen ab einer Tiefe von ca. 200  $\mu\text{m}$  auf (**Abbildung 3.25 D, E**). Beim Vergleich der Verteilung der durchschnittlichen Anzahl an gezählten Gefäßen von AD und PSO über die gesamte Messtiefe (**Abbildung 3.25 G, H**) ist ein signifikanter Unterschied zu sehen. Die Verteilungskurve der mittleren Gefäßanzahl bei AD weist zwei Spitzen in einer Gewebetiefe von etwa 200  $\mu\text{m}$  und 600  $\mu\text{m}$  auf (**Abbildung 3.25 G**), während bei der Verteilung von der Gefäßanzahl bei PSO ein Plateau zwischen 200  $\mu\text{m}$  und 800  $\mu\text{m}$  erkennbar ist (**Abbildung 3.25 H**). Eine mögliche Begründung hierfür ist, dass PSO durch eine gleichmäßige Verlängerung der Reteleisten in die Dermis mit deutlichen Gefäßverlängerungen gekennzeichnet [81] ist, was ein symmetrisches Plateau im Tiefenprofil erzeugt. AD weist im chronischen Stadium eine irreguläre Akanthose mit leichter Gefäßverlängerung auf [81],

was mehrere Spitzen mit asymmetrischer Verteilung im Gefäßzählungs-Tiefenprofil verursachen könnte.



**Abbildung 3.25** Automatische Gefäßanzahlbestimmung der klinischen Studiendaten: A, D, G) Atopische Dermatitis (AD); B, E, H) Psoriasis (PSO) und C, F, I) gesunde Haut als Kontrolle. In der oberen Zeile ist ein repräsentativer B-Scan jedes Datensatzes dargestellt. Darunter ein Schnittbild in 200 µm Tiefe. In den folgenden Diagrammen ist die Anzahl der erkannten Gefäße als Funktion der Tiefe aufgetragen. Die Kurven zeigen die mittlere Gefäßzahl von 10 Datensätzen und die maximalen Abweichungen für jede Gewebegruppe. Die Bildgröße der OCT-B-Scans beträgt  $6 \times 2 \text{ mm}^2$  und die der OCT-Tiefenschnitte  $6 \times 6 \text{ mm}^2$ .

### 3.5.2.5. Resümee

Insgesamt ermöglicht der neu vorgestellte Algorithmus eine automatische Erkennung und Quantifizierung der Gefäßanzahl in OCTA-Datensätzen verschiedener Hautzustände und damit eine Unterscheidung von gesunder und pathologischer Haut. Da die Krankheitsbilder von AD und PSO im OCT sehr ähnlich aussehen, könnte die Verteilungskurve der mittleren Gefäßanzahl in Zukunft als Biomarker genutzt werden, um AD von PSO zu unterscheiden und eine benutzerunabhängige Schweregradbestimmung zu ermöglichen, ohne eine Hautbiopsie durchführen zu müssen. Außerdem können Ärzt\*innen anhand dieses Biomarkers Veränderungen der Haut im Laufe der vermehrt personalisierten Behandlung verfolgen

und die Wirksamkeit verschiedener Biologika bewerten bzw. möglicherweise einen langfristigen Therapieerfolg frühzeitig vorhersagen. Dies wird in der oben genannten klinischen OCT-Studie an einer großen Kohorte weiter bewertet und tiefergehend analysiert, ab welchem Zeitpunkt nach der Behandlung bereits ein Therapieansprechen mit diesem Biomarker vorhergesagt werden kann [79].

Der vorgestellte Programmcode ermöglicht die vollautomatische Extraktion der Gefäßmerkmale aus den OCTA-Datensätzen, anstatt einer manuellen Auswahl in der VivoSight-Software. Die durchschnittliche Ausführungszeit für einen 3D-Datensatz liegt unter 3 Sekunden ( $\sim 2,2$  s für die Oberflächenbegradigung;  $\sim 0,6$  s für die Gefäßzählung), was die nachfolgende statistische Analyse erheblich vereinfacht.

Grundsätzlich lässt sich der Algorithmus aufgrund seines modularen Aufbaus um weitere Funktionen erweitern, um beispielsweise zusätzliche Merkmale aus den OCT-Bildern zu extrahieren oder ihn auf andere Krankheitsbilder anzupassen. Durch den Batch-Prozess eignet er sich gut, um große Sammlungen an OCT-Datensätzen automatisch zu analysieren. Im Hinblick auf zukünftige klinische Anwendungen des LARA-OCT-Systems ist das von Vorteil, da bei der Aufnahme großflächiger Hautläsionen große Datenmengen anfallen. Denkbar wäre auch die direkte Auswertung der Daten während der Messung. Im klinischen Alltag wäre eine Auswertungszeit von wenigen Sekunden vertretbar. Idealerweise sollte jedoch eine Live-OCT-Bildgebung mit sofortiger Diagnose ermöglicht werden, was eine erhebliche Optimierung der Algorithmuslaufzeit erfordert.

### 3.5.3. OCT-basierte Diagnostik blasenbildender Autoimmunkrankheiten

Auch bullöse Autoimmundermatosen sind chronische, entzündliche Hautkrankheiten, deren zugrundeliegende Pathomechanismen noch erforscht werden. Es handelt sich dabei um eine Gruppe verschiedener Erkrankungen, die sich durch Blasen an der Haut oder den Schleimhäuten auszeichnen, darunter Pemphigus vulgaris (PV). Mit einer Inzidenz von etwa 0,1 bis 0,5 Neuerkrankungen pro 100.000 Einwohner im Jahr ist PV eine seltene, aber gravierende Autoimmunerkrankung, die durch intraepidermale Blasenbildung der Haut und Schleimhäute gekennzeichnet ist [82]. Im Rahmen der Autoimmunreaktion greifen Autoantikörper körpereigene Bindeproteine der Keratinozyten (Desmoglein 3 und 1) an, was zur Auflösung der Zellverbindungen innerhalb der Epidermis führt. Die genaue Entstehungsursache der Autoantikörper ist bisher noch nicht vollständig verstanden. Der Adhäsionsverlust

zwischen den Keratinozyten verursacht schmerzhafte Blasen, die leicht aufplatzen. Aufgrund der damit verbundenen erhöhten Infektionsgefahr, dem möglichen Flüssigkeits- und Elektrolytverlust sowie Nebenwirkungen unter Therapie mit hochdosierten Immunsuppressiva kann PV ohne angemessene Behandlung und Therapiekontrolle zu schweren gesundheitlichen Komplikationen und im schlimmsten Fall zum Tod führen. Deshalb sind eine schnelle Diagnose und konsequente medizinische Behandlung für die Lebensqualität der Betroffenen entscheidend.

PV tritt oft in wiederkehrenden Schüben auf, was eine kontinuierliche medizinische Überwachung und Anpassung der Therapie erforderlich macht. Um bei wiederkehrenden Schüben gezielt eingreifen zu können, ist eine frühe, möglichst präsymptomatische Erkennung der Symptome unabdingbar. Derzeit basiert der Standard bei der Diagnostik von PV auf immunfluoreszenzoptischen Verfahren, bei denen die Entnahmen von Hautbiopsien und Serumproben erforderlich sind. Typischerweise erfolgt dieser Schritt erst nach Auftreten neuer Symptome und Blasenbildungen. Außerdem sind die Untersuchungen zeitaufwendig und können eine unmittelbare Behandlung verzögern. Daher bedarf es neuer dreidimensionaler *in vivo* Bildgebungsmethoden wie OCT, die eine schnelle Diagnose am Krankenbett ermöglichen. In ersten Forschungsarbeiten konnte bereits erfolgreich gezeigt werden, dass sich OCT als Instrument für optische Biopsien und die Überwachung therapeutischer Effekte in der Haut eignet [83, 84]. Die OCT-Aufnahmen in den genannten klinischen Studien wurden mit einem kommerziell erhältlichen VivoSight Dx-OCT-System durchgeführt, welches ursprünglich für die Diagnose von Hautkrebs entwickelt wurde. Mit diesem System können allerdings nur relativ kleine Flächen von 6 mm × 6 mm mit einer manuell bedienbaren Sonde aufgenommen werden, wobei ein Scan bis zu 30 s dauert. Da sich die Entzündungsherde von PV jedoch über mehrere Quadratzentimeter erstrecken können, würde die Aufnahme größerer Hautläsionen in ihrer Gesamtheit mehrere Stunden dauern, was für die Patient\*innen eine unzumutbare Belastung darstellt. Durch die Beschränkung der Aufnahmefläche auf wenige, repräsentative Regionen wäre das VivoSight Dx-System im Vergleich zu etablierten klinischen Scores wie dem pemphigus disease area index (PDAI) voraussichtlich nicht überlegen, weil das Ausmaß bzw. der Schweregrad der Krankheit nicht vollständig erfasst werden kann. Auch die präsymptomatische Erkennung neuer Läsionen gestaltet sich mit dem VivoSight Dx-System schwierig, da auch hierfür große Flächen abgescannt werden müssen.

Daher liegt der Fokus dieser Arbeit auf der Fragestellung, ob robotische MHz-OCT durch automatische, großflächige Aufnahmebereiche eine verbesserte klinische Diagnostik und Hautscreenings für die präsymptomatische Erkennung von PV ermöglicht. Anhand eines Bildgebungsvergleichs dreier verschiedener OCT-Systeme soll analysiert werden, ob sich die MHz-OCT aufgrund ihrer typischerweise geringeren Auflösungseigenschaften für die Erkennung von Blasen eignet.

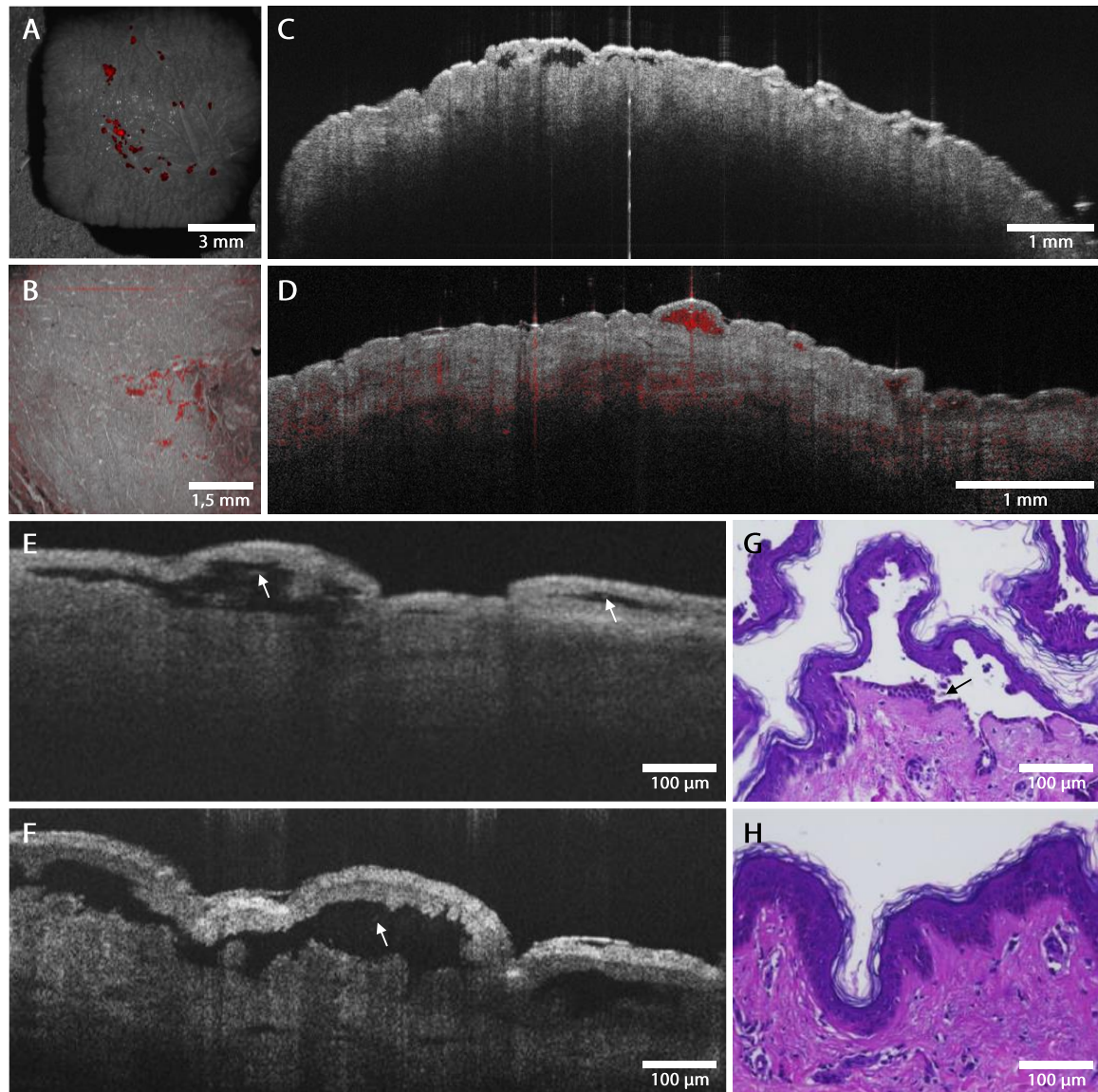
### 3.5.3.1. OCT-basierte Blasenerkennung – Systeme im Vergleich

Für den Bildgebungsvergleich wurde die Pathogenese von PV an einem menschlichen *ex vivo* Hautmodell untersucht. Wie beim Wundheilungs-Organkultur-Modell stammen die Hautspenden von gesunden Patient\*innen aus elektiven Eingriffen. Für das Modell wurden drei  $1 \times 1 \text{ cm}^2$  große Hautproben in voller Dicke verwendet. Um die phänotypischen Mechanismen von PV zu imitieren, wurden einkettige, variable Fragmente (SCVF, engl. *single chain variable fragments*) in die Haut injiziert. Die verwendeten SCVF enthalten Antikörper, die gegen die Bindeproteine der Keratinozyten, Desmoglein 3 und 1, gerichtet sind und zur Auflösung der Zell-Zell-Verbindungen der Keratinozyten und somit zu intraepidermalen Blasen führen. Zur Kontrolle wurden drei weitere Hautproben mit SCVFs mit Antikörpern injiziert, die nicht gegen epidermale Strukturen gerichtet sind. 24 Stunden nach Injektion wurde die Haut mit verschiedenen OCT-Systemen analysiert: einem kommerziell erhältlichen VivoSight Dx-System, einem hochauflösenden, mikroskopischen OCT-System (mOCT) [85] und einem MHz-OCT-System mit zwei verschiedenen Scanoptiken (Standard-Scanlinse für 10 mm große Scanareale und LSM02 Objektiv für eine höhere laterale Auflösung). Die unterschiedlichen Eigenschaften der Systeme sind in **Tabelle 5** gegenübergestellt.

**Tabelle 5** Eigenschaften der verglichenen OCT-Systeme

Merkmal	VivoSight Dx	mOCT	MHz-OCT
OCT-Technik	SS-OCT	SD-OCT	SS-OCT
A-Scan Rate	20 kHz	100 kHz	3,28 MHz
Laterale Auflösung	7,5 $\mu\text{m}$	1,3 $\mu\text{m}$	22 $\mu\text{m}$ / 8,8 $\mu\text{m}$
Aximale Auflösung	5 $\mu\text{m}$	1,3 $\mu\text{m}$	16 $\mu\text{m}$
Transversales FOV	6x6 mm <sup>2</sup>	2x2 mm <sup>2</sup>	10x10 / 2x2 mm <sup>2</sup>
Aufnahmedauer	30 s	1,6 s	0,7 s
Immersion	kontaktlos	H <sub>2</sub> O	kontaktlos

Nach den OCT-Aufnahmen wurden die Hautproben in Formaldehyd 4% eingelegt und in Paraffin eingebettet. Anschließend wurden die histologischen Schnitte mit Hämatoxylin und Eosin (HE) eingefärbt und mikroskopisch begutachtet. Wie in **Abbildung 3.26** gezeigt, können mit allen drei Systemen intraepidermale Blasen diagnostiziert werden.



**Abbildung 3.26** OCT-Systeme zur Erkennung von Pemphigus vulgaris im Vergleich. A, C, E) Aufnahmen mittels MHz-OCT; B, D) Aufnahmen mittels VivoSight Dx; F) Aufnahme mittels mOCT und G, H) Paraffinschnitte mit H&E-Färbung. A-B) OCT *en face*-Aufnahmen mit rot markierten Blasen im horizontalen Anschnitt und C-F) OCT B-Scans (10-fach gemittelt) der diversen Systeme. In allen OCT-Aufnahmen sind typische intraepidermale Spaltbildungen erkennbar. In den OCT-Schnittbildern mit hoher lateraler Auflösung sind außerdem neben der suprabasalen Lokalisation der Spaltbildungen auch hyperintense Strukturen innerhalb der Spaltbildungen erkennbar (weiße Pfeile). G) Suprabasale Spaltbildung mit tombstone pattern (schwarzer Pfeil) und H) Negativ-Kontrolle ohne Blasen.

Im Gegensatz zum VivoSight Dx-System ermöglicht das MHz-OCT-System Aufnahmen größerer Bildbereiche (vgl. **Abbildung 3.26 A-D**) bei deutlich höheren Scangeschwindigkeiten. Trotz schlechterer Auflösung sind mit den Standard-Scanoptiken des MHz-OCT-Systems intraepidermale Spaltbildungen ersichtlich, wobei eine sichere Abgrenzung von PV gegenüber anderen blasenbildenden Autoimmunerkrankungen mit subepidermaler Spaltbildung (Bullöses Pemphigoid, Dermatitis herpetiformis Duhring, Epidermolysis bullosa acquisita) nicht immer gelingt. Bei der Verwendung von Mikroskopobjektiven mit einer höheren lateralen Auflösung, ist die Lokalisation der Spaltbildung innerhalb der Epidermis besser erkennbar. In den OCT-Aufnahmen des mOCT-Systems sind suprabasale Spaltbildung zu sehen (**Abbildung 3.26 F**).

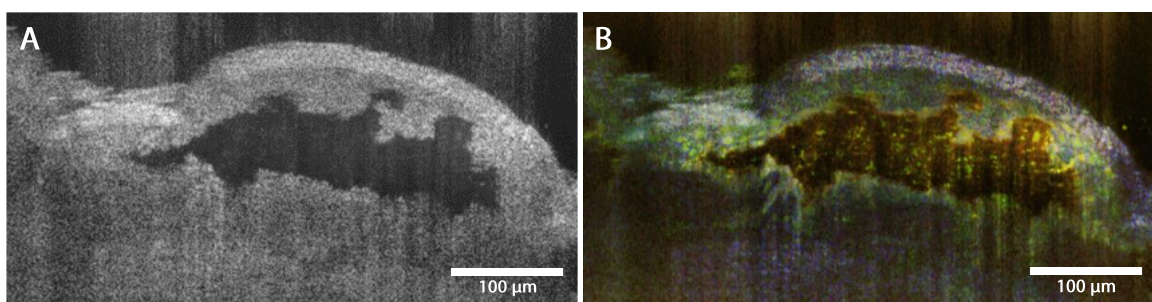
Diese Form der Blasenbildung ist typisch für PV und tritt direkt oberhalb der Basalschicht auf. Das sogenannte tombstone pattern (grabsteinartig nebeneinander angeordnete Basalzellen) ist ein histologisches Merkmal für PV und lässt sich hier in **Abbildung 3.26 G** nachweisen. Zudem sind durch die höhere laterale Auflösung in den MHz-OCT-Aufnahmen sogar hyperintensive Strukturen in der Blasenflüssigkeit erkennbar, was durch weiße Pfeile in **Abbildung 3.26 E** gekennzeichnet ist, ähnlich wie in den Aufnahmen des mOCT-Systems (**Abbildung 3.26 F**). Bei diesen Strukturen handelt es sich am ehesten um akantholytische Keratinozyten, die im Rahmen des Adhäsionsverlustes der Keratinozyten entstehen. Die deutlich höhere axiale Auflösung des mOCT-Systems ermöglicht eine bessere Differenzierung der Blasenlokalisierung innerhalb der Epidermis und Detektion besonders dünner Spaltbildungen. Die zur Kontrolle angefertigten HE-gefärbten Paraffinschnitte zeigen, dass sich wie antizipiert nur in den mit Antikörper behandelten Hautstücken Blasen (markiert in schwarz) gebildet haben (vgl. **Abbildung 3.26 G-H**).

### 3.5.3.2. Diskussion und Ausblick

Der Bildgebungsvergleich am Haut-Organkultur-Modell demonstriert, dass MHz-OCT zur Erkennung intraepidermaler Blasen verwendet werden kann. Trotz schlechterer Auflösungseigenschaften sind Blasen ab schätzungsweise 100 µm Größe mit dem System differenzierbar, die mit einem Dermatoskop, wie es klassischerweise in der klinischen Untersuchung zur Diagnose von PV benutzt wird, nicht erkennbar wären. Der Vergleich mit dem VivoSight Dx-System zeigt, dass die optischen Eigenschaften des LARA-OCT-Systems für die Erkennung subklinischer Blasen ausreichen und somit dessen Einsatz für Hautscreenings zur präsym-

tomatischen Erkennung von PV durchaus denkbar ist. Die OCT-Aufnahmen mit dem Objektiv statt der Standard-Scanlinse zeigen, dass das System sogar Strukturen in der Größenordnung von 10-15  $\mu\text{m}$  detektieren kann. Dabei handelt es sich vermutlich um akantholytische Keratinozyten, also Zellen des Stratum spinosum, die ihre Adhäsion zu benachbarten Keratinozyten verloren haben.

Zur genauen Erforschung der Pathogenese von PV eignet sich das mOCT-System besser, da es sowohl ein höheres, laterales als auch axiales Auflösungsvermögen bietet. Dadurch lassen sich die Blasen deutlicher differenzieren und besser in den verschiedenen Hautschichten lokalisieren. Das System erlaubt außerdem die Anwendung zusätzlicher Kontrastmechanismen, die im letzten Kapitel dieser Arbeit detailliert erläutert werden [86]. Mit dem sogenannten dynamischen Kontrast (dOCT), der auf Frequenzanalysen der Signalfluktuationen aufeinanderfolgender B-Scans basiert, werden unterschiedliche intrazelluläre Bewegungen farbkodiert dargestellt. Es ermöglicht dadurch die Unterscheidung verschiedener Zelltypen und wird als vielversprechendes Instrument für nicht-invasive, histologische Analysen der Zukunft gehandelt. Für die Behandlung von PV könnte das bedeuten, dass die Blasenflüssigkeit und deren Bestandteile mit dOCT untersucht und somit in Zukunft die Zahl an Hautbiopsien und aufwendige Laboruntersuchungen verringert werden können. Im Rahmen des Systemvergleichs wurde daher bei der Aufnahme einer auffälligen intraepidermalen Blase das dOCT-Kontrastverfahren angewandt. Wie in **Abbildung 3.27** dargestellt, können durch den zusätzlichen Kontrast kleinste Partikel der Blasenflüssigkeit visualisiert werden.



**Abbildung 3.27** OCT-Aufnahme einer intraepidermalen Blase mit dynamischem Kontrast. A) Standard mOCT B-Scan. B) Korrespondierender B-Scan mit zusätzlichem dynamischem Kontrast.

Es stellt sich die Frage, ob es sich dabei um abgelöste Keratinozyten oder Immunzellen handelt. Ist die Auflösung der Zusammensetzung dieser Strukturen mit dOCT möglich, insbesondere der Anteil an Neutrophilen und Lymphozyten, die an der Autoimmunreaktion maßgeblich beteiligt sind, wäre dies ein Meilenstein in der nicht-invasiven Diagnose und

Behandlungsstrategien von PV. Dies wäre außerdem ein wichtiger Vorteil gegenüber der hochauflösenden, konfokalen Linien-OCT Technologie (LC-OCT), die ebenfalls vielversprechende Ergebnisse für die nicht-invasive Diagnose und Überwachung diverser blasenbildender Autoimmunkrankheiten lieferte [87].

Für eine solche diagnostische Genauigkeit reicht die axiale Auflösung des MHz-OCT-Systems nicht aus. Dennoch ist die Nutzung dynamischer Kontrastmechanismen auch hierfür sinnvoll. Es ist anzunehmen, dass auch in den MHz-OCT Bildern die intraepidermalen Blasen, insbesondere deren suprabasale Lokalisation, durch den zusätzlichen Kontrast besser zu erkennen sind. In Zukunft ist daher eine Kombination aus robotischer MHz-OCT und hochauflösender OCT-Verfahren mit zusätzlichen Kontrastmechanismen zur Unterstützung der klinischen Diagnose denkbar. An dieser Stelle sei angemerkt, dass die gezeigten Experimente an *ex vivo* Haut mit geringer Stichprobengröße (N=3) durchgeführt wurden. Daher sind für die Entwicklung eines klinischen MHz-OCT-gestützten Diagnoseinstruments weitere Untersuchungen an Patient\*innen und klinische Studien mit größeren Kohorten notwendig.

# 4

## ENDOSKOPISCHE MHZ-OCT

Im vorherigen Kapitel dieser Arbeit lag der Fokus auf großflächigen Aufnahmen von Geweben, hauptsächlich von Haut – einem Organ, das nicht nur eine beträchtliche Ausdehnung besitzt, sondern auch leicht zugänglich ist. Doch um diese Technologie auch für die Bildgebung tiefer gelegener Körperstrukturen oder innerer Organe nutzbar zu machen, steht eine wesentliche Herausforderung im Fokus: Die Scaneinheit muss direkt an die entsprechende Zielregion im Körper gebracht werden.

An dieser Stelle kommt die Integration der OCT in Endoskope ins Spiel. Endoskopische OCT-Systeme (eOCT) ermöglichen es, Auflösungsvorteile der OCT auch in schwer zugänglichen Bereichen wie den Atemwegen Gefäßen oder dem Magen-Darm-Trakt zu nutzen. Dadurch wird eine präzise, minimalinvasive Untersuchung innerer Organe *in vivo* möglich und eröffnet neue diagnostische Möglichkeiten, die in den letzten Jahren intensiv erforscht wurden und in zahlreiche innovative Entwicklungen mündeten. Die Lösungsansätze reichen abhängig von den Anwendungsfeldern von starren, vorwärtsscannenden Konstruktionen über seitwärtsscannende, rotierende Kapseln bis zu Fasersonden in Nadelgröße, die vorwiegend in kardiovaskulärer Bildgebung zur Anwendung kommen. Mehr Details zu den genannten Entwicklungen und deren klinischen Anwendungen sind im Abschnitt 4.1.2 zu finden. Ein Schwerpunkt der aktuellen Forschung zu endoskopischer OCT liegt auf hohen Bildraten, um volumetrische OCT-Bildgebung in Echtzeit zu ermöglichen. Dies ist für den Einsatz von OCT in der Klinik, z. B. als Navigationsinstrument bei chirurgischen Eingriffen von entscheidender Bedeutung.

In einer arbeitsgruppenübergreifenden Zusammenarbeit wurden verschiedene Prototypen eines MHZ-OCT-Rektoskops zur Bildgebung des Enddarmes, der Rektoskopie, entwickelt und in Kooperation mit dem Team der Interdisziplinären Endoskopie (Klinik für Innere

Medizin I) des UKSH, Standort Kiel, und dem Zentrum für Klinische Anatomie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel im klinischen Setting getestet. Der Entwicklungsprozess sowie die Ergebnisse der anatomischen Bildgebungsversuche werden in den folgenden Abschnitten dargestellt, wobei die Inhalte teilweise bereits veröffentlicht wurden und sich in folgenden wissenschaftlichen Publikationen wiederfinden:

- A. P. Singh, **M. Göb**, M. Ahrens, T. Eixmann, H. Schulz-Hildebrandt, G. Hüttmann, R. Huber, und M. Rahlves, *Synchronous high-speed OCT imaging with sensorless brushless DC motor and FDML laser in a phase-locked loop*, *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXVII*, SPIE BiOS, Vol. 12367, (2023). DOI: 10.1117/12.2652955.
- A. P. Singh, **M. Göb**, M. Ahrens, T. Eixmann, B. Schulte, H. Schulz-Hildebrandt, G. Hüttmann, M. Ellrichmann, R. Huber, und M. Rahlves, *Virtual Hall sensor triggered multi-MHz endoscopic OCT imaging for stable real-time visualization*, *Opt. Express* 32, 5809-5825 (2024). DOI: 10.1364/OE.514636.
- B. Schulte, **M. Göb**, A. P. Singh, S. Lotz, W. Draxinger, M. Heimke, M. Pieper, T. Heinze, T. Wedel, M. Rahlves, R. Huber, und M. Ellrichmann, *High-resolution rectoscopy using MHz optical coherence tomography: a step towards real time 3D endoscopy*, *Scientific Reports* 14, 4672 (2024). DOI: 10.1038/s41598-024-55338-5.
- S. Burhan, B. Schulte, **M. Göb**, A. P. Singh, B. Mustafa, S. Lotz, W. Draxinger, P. Lammingner, Y. Saker, T. Eixmann, M. Ahrens, M. Heimke, M. Pieper, T. Heinze, T. Wedel, M. Rahlves, M. Ellrichmann und R. Huber, *Switchable lateral resolution real-time MHz-OCT rectoscopy for enhanced colorectal disease diagnosis*, *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXIX*, SPIE BiOS, Vol. 13305, (2025). DOI: 10.1117/12.3046222.

*Noch zu veröffentlichen:*

- S. Burhan, B. Schulte, **M. Göb**, A. P. Singh, B. Mustafa, S. Lotz, W. Draxinger, P. Lammingner, Y. Saker, T. Eixmann, M. Ahrens, M. Heimke, T. Heinze, T. Wedel, M. Rahlves, M. Ellrichmann, und R. Huber, *Dual-resolution MHz-OCT prototype rectoscope for enhanced visualization and diagnosis of colorectal pathologies*.

Es ist hervorzuheben, dass die technische Entwicklung und der Bau der Prototypen durch Awanish Pratap Singh erfolgte. Der Fokus dieser Arbeit lag in diesem Projekt auf der Planung und Umsetzung der OCT-Bildgebung mit den Prototypen, was unter anderem auch die Kompatibilität der Sonde mit dem MHz-OCT-System und deren Synchronisation beinhaltet sowie die Auswertung der neuartigen OCT-Bilddaten. Sazgar Burhan führte diese Aufgaben während meiner Elternzeit weiter. Des Weiteren ist die Unterstützung von Simon Lotz und Wolfgang Draxinger bei der Entwicklung und Optimierung der OCT-Hardware zu nennen sowie Bayan Mustafa, Yasmeine Saker und Philipp Lammingner für die Entwicklung

der Faseroptik. Martin Ahrens, Tim Eixmann, Hinnerk Schulz-Hildebrandt und Gereon Hüttmann lieferten wichtige Vorkenntnisse für die Entwicklung des Endoskops. Marvin Heimke, Mario Pieper, Tillmann Heinze und Thilo Wedel ergänzten die Kooperation um wichtige anatomische Expertise und fertigten histologische Schnitte der Proben an. Auf der medizinischen Seite sorgten Berenice Schulte und Mark Ellrichmann für die medizinische Fragestellung und der Anwendung des Rektoskops im klinischen Kontext.

## 4.1. ZIELSETZUNG

Der Fokus dieser Arbeit liegt nicht auf der Miniaturisierung der Bildgebungssonde, sondern auf neuen Scanmethoden, um von den hohen Bildgebungsgeschwindigkeiten der MHz-OCT für die Endoskopie Gebrauch zu machen. Ziel ist die Realisierung eines 4D-Echtzeit-OCT-Endoskops, das zum einen eine volumetrische Darstellung des gesamten Rektums für die Navigation, zum anderen gleichzeitig auch eine mikroskopische, zelluläre Auflösung für die optische Biopsie fokussierter Bereiche ermöglicht. Die Gastroenterologie eignet sich besonders für die technische Entwicklung der endoskopischen OCT, da sie auf Grund der hohen Inzidenz von gastrointestinalen Pathologien, dem erheblichen klinischen Nutzen einer frühzeitigen Diagnose und der Notwendigkeit einer genauen Beurteilung vor und nach therapeutischen Maßnahmen besonders relevante Einsatzmöglichkeiten bietet.

### 4.1.1. Klinische Motivation

Darmkrebs zählt weltweit zu den häufigsten Krebserkrankungen. Jährlich werden über 1,8 Millionen neue Fälle diagnostiziert und laut dem Zentrum für Krebsregisterdaten am Robert Koch-Institut erkranken allein in Deutschland etwa 60.000 Menschen pro Jahr an kolorektalem Karzinom [88]. Früherkennung spielt eine entscheidende Rolle für die Prognose, da Darmkrebs im Frühstadium gut behandelbar ist. Doch trotz der Fortschritte in der Endoskopie bleibt die frühzeitige Erkennung von präkanzerösen Veränderungen wie Polypen oder dysplastischem Gewebe eine große Herausforderung. Herkömmliche, am Markt verfügbare endoskopische Systeme wie das Weißlicht-Koloskop bieten zwar ein topografisches Abbild des Darms und der Schleimhäute, erreichen jedoch nicht die notwendige Tiefenauflösung, um kleinste Läsionen zuverlässig zu identifizieren, was eine hohe Adenom-Fehlrate erklärt [89].

Ähnlich verhält es sich bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa. Diese chronischen Erkrankungen gehen mit diffusen Veränderungen der Darmschleimhaut einher, die schwer zu diagnostizieren und in ihrer Schwere einzuschätzen sind. Bei der Beurteilung von Entzündungen bei CED-Patient\*innen kommt es immer wieder zu erheblichen Unterschieden zwischen den Untersuchenden. Dabei ist die transmurale Heilung, also die Wiederherstellung und Gesundheit aller Schleimhautschichten der Darmwand, ein wichtiges therapeutisches Ziel, verhindert Krankheitsrückfälle und trägt entscheidend zur langfristigen Lebensqualität der Patient\*innen bei [90].

Neue Forschungsansätze nutzen endoskopische Ultraschallgeräte (EUS) zur Visualisierung der verschiedenen Wandschichten und angrenzender Gewebestrukturen [91, 92]. Dies ermöglicht den Entzündungsgrad bei CED anhand der Darmwanddicke benutzerunabhängig zu quantifizieren und beispielsweise für die Kontrolle eines frühzeitigen Therapieansprechens zu nutzen [93]. Allerdings reicht das Auflösungsvermögen nicht aus, um kleine Entzündungsherde in den Schleimhäuten zu erkennen. Auch bei der Bildgebung von Rektumkarzinomen spielt EUS eine entscheidende Rolle. Neben dem anfänglichen Tumor-Staging bei der Diagnose, kann es auch im Verlauf der Behandlung genutzt werden, um das Ansprechen der jeweiligen Therapieverfahren zu beurteilen. Diese Beurteilung ist jedoch oft mit Komplikationen verbunden, da therapiebedingte Veränderungen wie Entzündungen Vernarbung oder Fibrosen auftreten können, die falsch-positiv eingeschätzt werden, während weiterhin krankhaftes Gewebe in den einzelnen Schichten der Darmwand aufgrund des geringen Auflösungsvermögens möglicherweise unentdeckt bleibt [94].

Ein deutlich höheres Auflösungsvermögen bietet die konfokale Laserendomikroskopie (CLE, engl. *confocal laser endomicroscopy*), die zur mikroskopischen Beurteilung der Schleimhautoberfläche *in vivo* genutzt werden kann. In Routineuntersuchungen wird die CLE zur Definition verdächtiger Läsionen und für gezielte Biopsien bzw. Resektionen bei Tumordiagnose genutzt, spielt aber auch bei der Therapiekontrolle von CED eine Rolle [95]. Nachteil dieser Bildgebungstechnik ist jedoch die fehlende Tiefenauflösung, was die Bewertung von Entzündungen oder Stadieneinteilung von Tumoren aufgrund ihrer Zweidimensionalität deutlich einschränkt.

Es zeichnet sich also insgesamt ein klarer Bedarf an einer präzisen, dreidimensionalen Bildgebungstechnik ab, die die verschiedenen Schichten der Darmwand detailliert auflöst - sowohl für die Diagnose und Beurteilung von Darmkrebs bzw. CED als auch für die frühzei-

tige Erkennung des Therapieansprechens während des Heilungsprozesses. Eine solche optische *in vivo* histologisch-pathologische Beurteilung kann außerdem zur Schnellschnittdiagnostik am Resektionsrand oder bei differenzialdiagnostischen Maßnahmen eingesetzt werden und bietet dadurch ein sehr breites Anwendungsgebiet in der minimal invasiven Chirurgie. An dieser Stelle bietet sich die OCT als optimaler Ansatz an, da sie aufgrund ihrer hochauflösenden, dreidimensionalen Visualisierung von Gewebe die Vorteile beider Bildgebungstechniken, EUS und CLE, kombiniert und somit eine entscheidende Lücke in der gastrointestinalen Bildgebung schließt.

#### 4.1.2. Stand der Technik

Dass sich OCT basierend auf ihrem faser-optischen Aufbau gut in Sonden integrieren lässt und sich somit auch zur Visualisierung von inneren Organen eignet, wurde bereits früh erkannt. Huang et al. legten bereits in den Anfängen der OCT-Forschung nahe, OCT für intravaskuläre Bildgebung zur Darstellung von atherosklerotischen Plaques zu nutzen [1]. Da der Einsatz in Gefäßen besonders kompakte Systeme erforderte, waren erste eOCT-Systeme mit kleinen, rotierenden Fasersonden ausgestattet, die eine zirkuläre Abtastung der Gefäßwände ermöglichten [96, 97]. Die Technik sogenannter Katheter-Endoskope wurde schnell auf den Gastrointestinaltrakt ausgeweitet. So demonstrierte Tearney et al. 1997 erste *in vivo* OCT-Aufnahmen des Ösophagus und der Trachea eines Kaninchens [98]. Für diese „endoskopischen *in vivo* optische Biopsien“ wurde eine 1 mm dicke Fasersonde durch den Arbeitskanal eines Standardendoskops geführt, um unter endoskopischer Sicht zielgenaue Aufnahmen zu machen.

Seitdem wurden diverse eOCT-Konzepte entwickelt, die in verschiedene Kategorien eingeteilt werden können: in vorwärtsscannende oder seitwärtsscannende Endoskope mit entweder proximalem oder distalem Antrieb [99]. Einen Überblick über die wesentlichen technologischen Entwicklungen für die Bildgebung am Darm gibt **Tabelle 6**.

Vorwärtsscannende Systeme eignen sich für Anwendungen in großen oder leicht zugänglichen Hohlräumen, wo ausreichend Platz zwischen Endoskop und Probenoberfläche vorhanden ist. Ein wesentlicher Vorteil dieser Technik ist die vergleichsweise einfache Visualisierung der OCT-Volumen, da die Scanmuster den standardmäßigen 2D-Scansystemen ähneln. Allerdings ist die Entwicklung von geeigneten Scanmechanismen vorwärtsscanner Endoskope oft komplizierter als bei seitwärtsscannenden Systemen. Proximal vor-

wärtsscannende Systeme werden vorzugsweise in starren Endoskopen verwendet, bei denen die Scaneinheit im Handstück platziert ist und das Scanmuster über eine Relay-Optik im Schaft an die Spitze des Endoskops übertragen wird. Distal scannende vorwärtsgerichtete Sonden erfordern komplexe Designs, denn der abbildende Lichtstrahl verläuft entlang der Längsachse der Sonde und der Platz für Scanner ist aufgrund des geringen Durchmessers stark eingeschränkt. Lösungsansätze für das Scanproblem reichen von der Verwendung mikroelektromechanischer Systeme (MEMS) mit Mikrospiegeln über den Einsatz thermischer Antriebe bis zu schwingenden Faserspitzen [99]. Ein weiterer Nachteil ist, dass das Bildfeld relativ klein ist und somit nur einen begrenzten Bereich abdeckt.

Die meisten eOCT-Konzepte basieren auf seitwärtsscannenden, rotierenden Verfahren. Bei der proximalen Scanmethode wird ein außerhalb des Körpers platzierter Motor verwendet, der das Drehmoment an die Spitze des Katheters überträgt. Die 3D-Datenerfassung wird durch langsames Zurückziehen des Katheters ermöglicht. Die distale Spitze des Katheters kann sehr klein gehalten werden, typischerweise mit Außendurchmessern von weniger als 2 mm, was die Integration in Standardendoskope oder Verwendung von Ballons zur Aufweitung des zu untersuchenden Hohlvolumens vereinfacht. Für die Untersuchung des Ösophagus wurde bereits ein klinisches Forschungssystem dieser Art entwickelt [100]. Das sogenannte NvisionVLE System (NvisionVLE; NinepointMedical, USA) ermöglichte durch automatisierte Rückzugsbewegung der rotierenden Kathetersonde innerhalb eines Ballons die Aufnahme von eOCT-Daten über einen 6 cm langen Bereich innerhalb von 90 s. Allerdings ist das System nicht mehr kommerziell erhältlich und für weitere Studien nutzbar. Das optische Design von proximal seitwärtsscannenden Systemen ist verhältnismäßig simpel. Allerdings kann die Bildqualität durch äußere Einflüsse wie Biegen des Katheters leicht beeinträchtigt werden. Zudem ist die Bildrate durch maximale Rotationsgeschwindigkeiten auf etwa 200 Bilder pro Sekunde (fps, engl. *frames per second*) limitiert und es treten häufig ungleichmäßige rotatorische Verzerrungsartefakte auf (NURD, engl. *non-uniform rotational distortion*), die wichtige Details für die Diagnose unkenntlich machen. Bei distalen, seitwärtsscannenden Endoskopen befindet sich der Antrieb im distalen Ende, also der Spitze des Endoskops, was auch den Einsatz von Bildgebungskapseln ermöglicht [101, 102]. Der Bildgebungsstrahl wird durch einen Mikroreflektor auf der Motorwelle seitlich abgelenkt und erlaubt dadurch einen kreisförmigen Scan um die Längsachse des Endoskops. Um den Außendurchmesser weiterhin klein zu halten, kommen Mikromotoren zum Einsatz, die sich im Vergleich zu den proximal scannenden Systemen durch deutlich höhere Drehzahlen von

über 100.000 Umdrehungen pro Minute (rpm, engl. *revolutions per minute*) auszeichnen und in Kombination mit SS-OCT-Systemen Echtzeit-Bildgebung ermöglichen [19, 103-106]. Diese extrem schnellen Mikromotoren wurden jedoch bisher für die Anwendungen maßgefertigt, sind entsprechend mit hohen Anschaffungskosten verbunden und weisen häufig eine geringe Laufzeit auf. Außerdem erfordert die Verwendung ein komplexes, maßgeschneidertes Synchronisationskonzept, um NURD-freie Bilder für die Echtzeit-Visualisierung zu generieren [105-107]. Ansätze NURD-Artefakte in den Bildern im Nachhinein rechnerisch zu korrigieren sind im Hinblick auf die Verwendung neuer Kontrastmechanismen, die präzise Scanmechanismen und eine gewisse Phasenstabilität benötigen, nur eingeschränkt anwendbar [108, 109].

**Tabelle 6** Veröffentlichte eOCT-Technologien für die Darmbildgebung

Modalität	Anwendung	Bildrate	Besonderheit	Referenz
seitwärts-proximal Katheter	<i>in vivo</i> (Mensch)	4 fps	Frühe klinische Studie an Patient*innen	Sivak et al. 2000 [110]
seitwärts-proximal, Katheter	<i>in vivo</i> (Mensch)	60 fps	Volumenaufnahmen, Echtzeit Vorschau	Adler et al. 2009 [103]
seitwärts-distal, Mikromotor	<i>ex vivo</i> (Mensch)	400 fps	Hochgeschwindigkeit, Echtzeit 2D-Vorschau	Tsai et al. 2013 [104]
seitwärts-proximal, Katheter	<i>in vivo</i> (Maus)	0.03 fps	Doppler-Kontrast	Welge et al. 2017 [111]
vorwärts, Faserscanner	<i>in vivo</i> (Mensch)	1800 fps	MHz 3D Volumen mit vaskulärem Kontrast	Liang et al. 2017 [112]
seitwärts-proximal, Ballon-Katheter	<i>ex vivo</i> (Mensch)	13 fps	Klinische Studie mit KI-Polyper- kennung (NvisionVLE-System)	Trinidad et al. 2018 [113]
seitwärts-distal, Mikromotor	<i>in vivo</i> (Maus)	50 fps	Hochauflösende 3D Volumen	Mavadia- Shukla et al. 2018 [114]
seitwärts-proximal, Katheter	<i>in vivo</i> (Schwein)	125 fps	robotisch-steuerbarer Katheter	Mora et al. 2020 [115]
seitwärts-distal, Mikromotor	<i>in vivo</i> (Schwein)	1000 fps	Hochgeschwindigkeit, Echtzeit 2D-Vorschau	Zhang et al. 2021 [106]
seitwärts-proximal, Katheter	<i>in vivo</i> (Ratte)	20 fps	Ultrahochauflösende 3D Volumen	Yuan et al. 2022 [116]

### 4.1.3. Angestrebte Innovation

Obwohl mit den genannten technischen Entwicklungen bereits vielversprechende eOCT-Bilddaten vom Darm präsentiert wurden (siehe **Tabelle 6**), zeichnet sich insgesamt ein Bedarf an kostengünstigen, präzise und schnell scannenden endoskopischen Technologien ab, die sich in bestehende OCT-Systeme für diverse Anwendungen integrieren lassen. Besonders bei hohen Scangeschwindigkeiten mit über 1000 fps und OCT-A-Scanraten von mehreren Megahertz stellt die Synchronisation der einzelnen Komponenten eine große Herausforderung dar.

An dieser Stelle setzt der in dieser Arbeit vorgestellte Lösungsansatz an: Der neue MHz-OCT-Endoskop Demonstrator enthält einen kostengünstigen Drohnenmotor mit einem innovativen, sensorlosen Synchronisationskonzept für die 3D eOCT-Bildgebung im Darm. Bei diesem sensorlosen Konzept wird die gegen elektromotorische Kraft (Gegen-EMK) des Motors ausgelesen, um zu Beginn jeder Rotation positionsgenau eine OCT-Aufnahme auszulösen und somit eine Echtzeit-Visualisierung der OCT-Daten erlaubt. Trotz des vergleichsweise großen Außendurchmessers der Sonde bietet diese eOCT-Technologie viele Integrationsmöglichkeiten für zukünftige Anwendungen, insbesondere jedoch in der Rektoskopie.

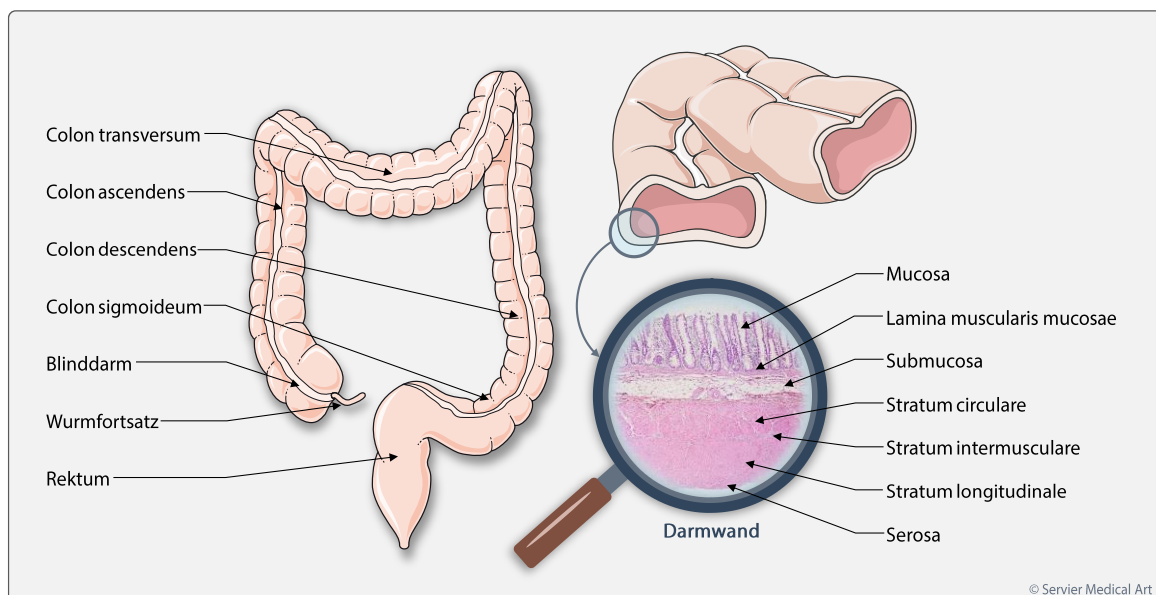
### 4.1.4. Anatomie des Dickdarms

Der Dickdarm (Colon) spielt eine zentrale Rolle in der Verdauung, indem er Wasser und Elektrolyte rückresorbiert. Er ist maßgeblich am Stoffwechsel beteiligt, da die dort angesiedelten Mikroorganismen der Darmmikrobiota unverdauliche Nahrungsreste fermentieren und wichtige Stoffe wie kurzkettige Fettsäuren produzieren. Darüber hinaus unterstützt der Dickdarm das Immunsystem und dient als Speicher für den Stuhl, bevor er ausgeschieden wird. **Abbildung 4.1** zeigt schematisch den anatomischen Aufbau und ein exemplarisches, histologisches Schnittbild der Darmwand.

Der Dickdarm schließt als abschließender Teil des Verdauungstrakts an den Dünndarm an und unterteilt sich in mehrere Abschnitte: den Blinddarm mit dem Wurmfortsatz, das Colon ascendens (aufsteigender Teil), das Colon transversum (quer verlaufender Teil), das Colon descendens (absteigender Teil), das Colon sigmoideum (S-förmiger Teil) und zuletzt das abschließende Rektum [117].

Die Darmwand des Dickdarms besteht aus mehreren Schichten, die spezifische Funktionen erfüllen. Die innerste Schicht, die Mucosa (Schleimhaut), sorgt für die Sekretion von Schleim, der das Gleiten des Darminhalts erleichtert und ist für die Resorption von Wasser

und Elektrolyten zuständig. Direkt darunter liegt die Lamina muscularis mucosae, eine dünne Muskelschicht, die für die Bewegung der Schleimhaut sorgt. Die Submucosa folgt als nächster Abschnitt und besteht aus Bindegewebe, in dem Blutgefäße, Nerven und Lymphgefäße verlaufen, die für die Versorgung der Darmwand notwendig sind. Die anschließende Muscularis propria setzt sich aus zwei Muskelschichten zusammen: dem Stratum circulare (Ringmuskulatur) und dem Stratum longitundinale (Längsmuskulatur), die durch das Stratum intermusculare – ein Nervengeflecht zur Steuerung der Darmbewegungen – getrennt sind. Diese Muskelschichten ermöglichen die Peristaltik, also die wellenförmigen Bewegungen, die den Darminhalt weitertransportieren. Den Abschluss bildet die Serosa, die äußerste Gewebeschicht, die eine glatte Oberfläche bildet und so das Reiben des Darms an benachbarten Organen verhindert.



**Abbildung 4.1** Anatomie des Dickdarms mit Histologie der Darmwand.  
Die schematische Darstellung des Dickdarms wurde adaptiert von Servier Medical Art [39].

## 4.2. ENTWICKLUNGSPROZESS

Während des iterativen Entwicklungsprozesses wurden verschiedene Endoskopdesigns und Motoren für die Integration in bestehende MHz-OCT-Systeme analysiert. Da die Sonden für rektoskopische Anwendungen entwickelt wurden, resultierten alle Lösungsansätze in einem starren, distal-seitwärtsscannendem Aufbau. Es wurde ein Synchronisationskonzept erarbeitet, das die Integration der im folgenden Abschnitt beschriebenen Prototypen in das bestehende 3,28 MHz-OCT Laborsystem (siehe Abschnitt 2.4.2) erlaubt. Anschließend folgte

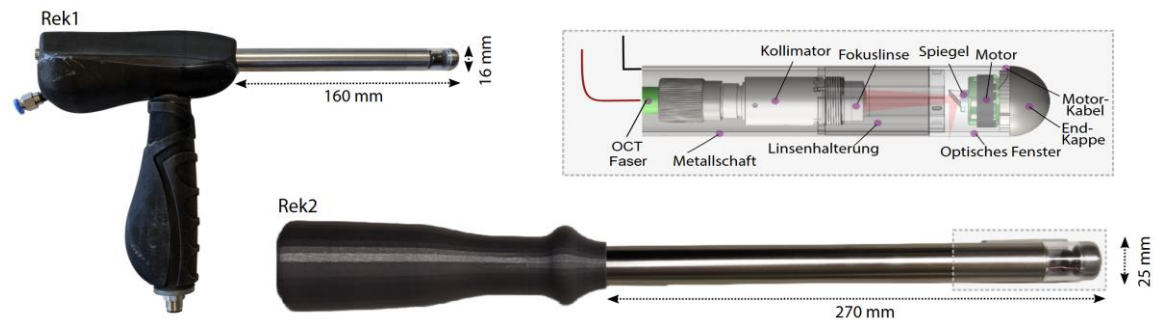
eine methodische Untersuchung anhand einer Reihe von Bildgebungsexperimenten an diversen Proben, um die Anwendbarkeit der Prototypen zu validieren, darunter ein künstliches Darmmodell, *ex vivo* Schweinedarm und *post mortem* menschlicher Darm. Untersuchungen an Letzterem wurden in der klinischen Anatomie durchgeführt und erfolgten mit einem anderen 3,28 MHz-OCT-System, das mit der in der Arbeitsgruppe eigens entwickelten Echtzeit-OCT-Software (LURO, engl. *Luebeck University Real-time OCT*) [70] kompatibel ist. Details zu den Versuchsdurchführungen und Scanprotokollen sind in Abschnitt 4.3 näher erläutert.

#### 4.2.1. Prototypendesign

Das erste Prototypmodell (Rek1) hatte einen 16 cm langen und 16 mm dicken Metallschaft mit einem 2 cm langem Austrittsfenster aus 1 mm dickem Polymethylmethacrylat (PMMA) am distalen Ende. An der Spitze ist ein bürstenloser Gleichstrommotor mit Gleitlager (0703, BETAFPV, China) verbaut, der eigentlich für Drohnenantriebe ausgelegt ist. Zentral auf der Motorwelle ist ein rechtwinkliger Goldspiegel (RA03-M01, Thorlabs Inc., USA) im 5° Winkel befestigt, um den Bildgebungsstrahl abzulenken und Reflexionen am Austrittsfenster zu vermeiden. Das bildgebende Licht des OCT-Systems erreicht die im Schaft verbaute Fokussieroptik mit einer SMF28 Glasfaser. Die Fokussieroptik besteht aus einem Faserkollimator (F260APC-C, Thorlabs Inc., USA) und einer 20-mm-Fokussierlinse (AC080-020-C, Thorlabs Inc., USA), was einen ca. 20 µm großen Bildpunkt direkt außerhalb des Austrittsfensters erzeugt. Die Treiberelektronik des Motors ist im 3D-gedruckten Handstück des Modells platziert, weshalb Kabel zur Ansteuerung des Motors entlang des Austrittsfensters verlaufen. Bei einer Drehzahl von 40.000 rpm kam es jedoch zu Überhitzungsproblemen, was den kontinuierlichen Betrieb des Motors auf wenige Minuten beschränkte und eine Überarbeitung des Prototyps bedingte.

Für den zweiten Entwurf wurde ein anderes Gleichstrommotor-Modell mit Kugellager (1102, BETAFPV, China) und größerem Durchmesser verwendet, was einen insgesamt größeren Durchmesser des zweiten Prototyps (Rek2) von 25 mm zur Folge hatte. Das verbaute PMMA-Fenster von Rek2 hat eine Dicke von 2 mm und die Fokussieroptik besteht aus einem anderen Faserkollimator (F240APC-C, Thorlabs Inc., USA) sowie einer 30 mm Fokussierlinse (AC080-030-C, Thorlabs Inc., USA), um den scannenden OCT-Strahl außerhalb der Sonde zu fokussieren. Mit dieser Konfiguration hat der abbildende Strahl im Fokus einen Durchmesser

von etwa  $35\ \mu\text{m}$  und eine Rayleigh-Länge von  $660\ \mu\text{m}$ . Das ebenfalls 3D-gedruckte Handstück von Rek2 ist kleiner, doch der Schaft hat eine Länge von 27 cm, um durch gleichmäßiges Zurückziehen des Rektoskops eine Länge von etwa 25 cm abbilden zu können. Fotos beider Prototypen sowie ein Schema der distalen Scankonstruktion sind in **Abbildung 4.2** dargestellt.



**Abbildung 4.2** Rektoskop-Prototypen mit distalem-seitwärtsgerichtetem Scanmechanismus.

Beide Motoren wurden über eine speziell entwickelte Motorsteuerung betrieben. Diese basiert auf einem Entwicklungsboard (Teensy 4.1, PJRC, USA), das die Drehzahl des Motors reguliert und ein Positionstriggersignal für die OCT-Aufnahme ausgibt. Die gewünschte Drehzahl wird softwarebasiert eingegeben, während die eigentliche Motorsteuerung über einen elektronischen Drehzahlregler (S3079, Graupner, Deutschland) mit integriertem PID-Regler auf dem Mikrocontroller des Boards erfolgt. Dafür wird die gegen-elektromotorische Kraft des Motors ausgelesen und in einem weiteren Schaltkreis daraus ein Positionstriggersignal abgeleitet. Weitere Details zur Funktionsweise der Motorsteuerung finden sich in der Veröffentlichung von Singh et al. [118].

#### 4.2.2. Synchronisationskonzept mit regelbarem Primärtakt

Damit für jede Umdrehung ein OCT-Bild an exakt der gleichen Winkelposition des Motors generiert wird, muss die Motorrotation mit der Bildgebungssoftware des MHz-OCT-Systems synchronisiert werden. Denkbar sind zwei Herangehensweisen: Entweder muss die Motordrehzahl auf die A-Scanrate des MHz-OCT-Systems angepasst werden, entsprechend folgt der Motor der OCT; oder die OCT folgt dem Motor, indem eine OCT-Aufnahme immer erst dann initiiert wird, sobald eine weitere Rotation des Motors erfolgt. Beide Herangehensweisen wurden implementiert und analysiert, was in den folgenden Abschnitten beschrieben wird.

Für einige Anwendungen des hier präsentierten MHz-OCT-Endoskop Demonstrators ist eine präzise, phasenstabile Aufnahme notwendig. Hierfür muss die Motordrehzahl auf einen

exakten Teiler der Durchstimmfrequenz des FDML-Lasers des OCT-Systems eingestellt werden. Für rauschfreie OCT-Aufnahmen wird die Durchstimmfrequenz des FDML-Lasers jedoch wie zuvor beschrieben stetig angepasst. Dies muss entsprechend auch für die Einstellung der Motordrehzahl berücksichtigt werden. Damit für die Prozessierung der OCT-Bilder auch die Datenaufnahme auf die FDML-Frequenz abgestimmt ist, wurde ein neues Konzept entwickelt, das die Synchronisation beliebig vieler Komponenten für die MHz-OCT Bildgebung erlaubt. Es basiert auf der Synchronisation verschiedener Taktgeber, die in einem Primär-Sekundär-Verbund angeordnet sind. Anstelle von komplexen Elektronikboards werden wiederverwendbare, einfach zu bedienende Funktionsgeneratoren (AWG, engl. *arbitrary waveform generator*) genutzt. Das Besondere an den hier verwendeten AWG (DG1062Z, RIGOL Technologies, Inc., China) ist, dass das Signal an ihrem Eingang für eine externe 10 MHz-Takterzeugung um eine Frequenz von bis zu  $\pm 50$  Hz schwanken kann. Auch das 10 MHz-Referenzsignal der Datenerfassungskarte (ATS9373, Alazar Technologies Inc., Canada) kann um  $\pm 100$  kHz abweichen. Unter dieser Voraussetzung kann ein übergeordneter, regelbarer 10 MHz Takt für die Synchronisation der Empfänger bzw. Sekundärtaktgeber genutzt werden. Anders als im Abschnitt 3.2.2.2 beschrieben, wird so für die synchronisierte Bildaufnahme nicht der Takt der FDML-Steuerung durchgereicht, sondern der übergeordnete Primärtakt genutzt. Dieser wird zur Regelung des rauscharmen Betriebs des FDML-Lasers leicht variiert, was zur Folge hat, dass alle Steuersignale der Sekundärtaktgeber phasenstarr mitvariiieren. Bei der Verwendung des MHz-OCT-Endoskop Demonstrators kann durch dieses Konzept eine stetig variiierende Motordrehzahl vorgegeben werden, die exakt auf die Durchstimmfrequenz des Lasers angepasst ist und somit eine perfekt synchrone Datenaufnahme erlaubt, die für die Live-3D-Darstellung der OCT-Daten essenziell ist.

In **Abbildung 4.3** ist das neue Synchronisationskonzept detailliert dargestellt. Die AWG (gelb markiert) sind über USB-Schnittstellen mit dem Computer des MHz-OCT-Systems verbunden. Hier werden in der Regelungssoftware des FDML-Lasers die Steuersignale bzw. Wellenformen der jeweiligen AWG definiert. AWG1 ist der Primärtaktgeber, der den  $\sim 10$  MHz-Takt (rot markiert) vorgibt. Dieses Signal liegt an den Eingängen des externen 10 MHz-Referenzsignals der Sekundärtaktgeber.

AWG2 wird für die Steuerung des FDML-Lasers genutzt. Kanal 1 steuert mit einem Sinussignal den Fabry-Pérot Filter (FFP), Kanal 2 moduliert mit einem Rechtecksignal der gleichen Frequenz den Halbleiterverstärker des Lasers. Die optimale Frequenz wird basierend auf der im Methodenteil vorgestellten Regelung (Abschnitte 2.4.1 und 2.4.3) ermittelt. Dafür wird in

einem zusätzlichen Interferometer ein Schwebungssignal generiert und mithilfe des Frequenzzählers die Intensitätseinbrüche quantifiziert. Das Signal des hochfrequenten Schaltmechanismus für die Fensterung des Schwebungssignals wird durch das Synchronisationsausgangssignal von AWG2 initiiert und erfolgt an Kanal 2 von AWG1, da dieser sonst unbenutzt ist. Auf Grundlage des Frequenzzählersignals, also der Anzahl an detektierten Intensitätseinbrüchen, kann die Frequenz der FFP-Steuerung angepasst und auf ein Rauschminimum geregelt werden. Dies wiederum geschieht nicht direkt an AWG2, sondern wird durch die Frequenzverschiebung des übergeordneten Primärtakts an AWG1 erreicht. Die Berechnung der Frequenzanpassung erfolgt in der FDML-Regelungssoftware.

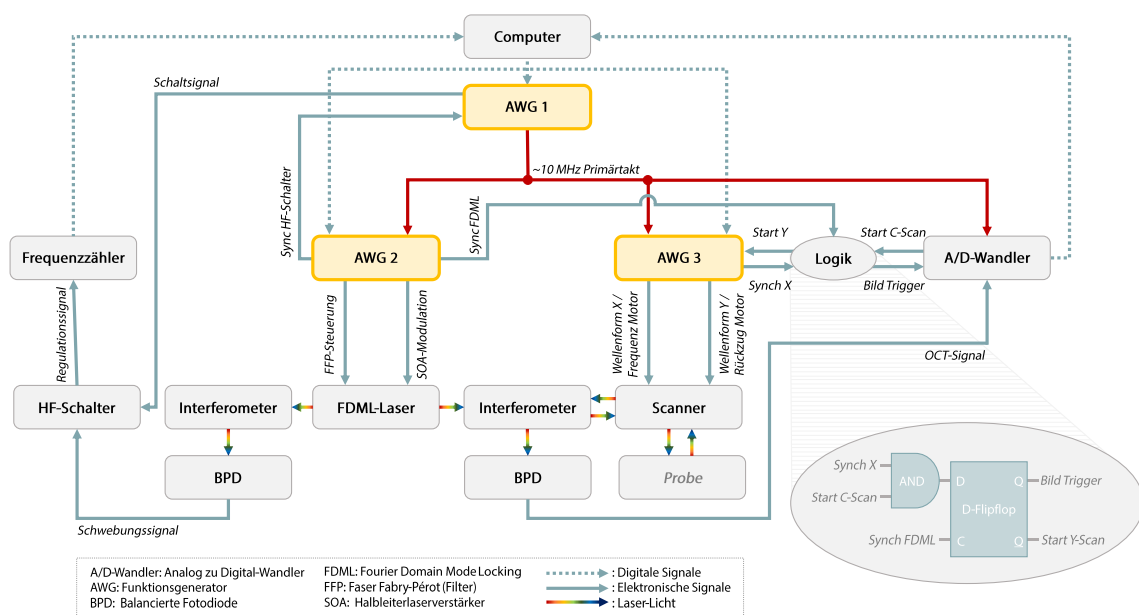


Abbildung 4.3 Neues Synchronisationskonzept mit Primärtakt für Live-3D-OCT.

AWG3 wird für die Ausgabe der Scanfunktionen genutzt. Kanal 1 gibt dabei die Wellenform für den schnellen X-Scanner aus bzw. die Frequenz für einen rotierenden Motor. Durch den externen  $\sim 10$  MHz-Primärtakt und die Wahl exakter Teiler bei den Frequenzen der ausgegebenen Funktionen sind Scanner und Laser automatisch synchronisiert. Für einen zwei-dimensionalen Vorschaumodus ist Kanal 2 von AWG3 deaktiviert und durch das Synchronisationsausgangssignal von Kanal 1 werden Bildtrigger direkt an die Datenerfassungskarte geleitet. Für den Fall, dass die Scanfrequenz kein exakter Teiler der FDML-Frequenz ist, wurde ein Logikboard konzipiert, das mithilfe eines UND-Gatters und D-Flipflop Bildtrigger bis zur nächsten steigenden Flanke des Synchronisationssignals der FDML-Steuerung (AWG2, Kanal 2, Sync-Ausgang) verzögert und an die Datenerfassungskarte weiterleitet. Damit ist zwar der Start der Datenerfassung des OCT-Signals nicht perfekt auf die Scanner

angepasst, dafür jedoch auf die Durchstimmfrequenz des FDML-Lasers, was die Prozessierung der OCT-Daten vereinfacht. Das Logik-Board wird außerdem dafür genutzt einen dreidimensionalen Scan (C-Scan) auszulösen. Sobald in der OCT-Software eine 3D Aufnahme initiiert wird, sich der X-Scanner/Motor in seiner Startposition befindet und der Primärsweep des FDML-Lasers ausgegeben wird, erhält AWG3 am Synchronisations-Eingang von Kanal 2 ein Startsignal und gibt die Wellenform für einen langsamen Y-Scanner (bzw. Steuersignal für einen möglichen Linearmotor für eine transversale Verschiebung der Endoskopsonde) aus.

Durch den Primärtakt als Referenztaktgeber der Datenerfassungskarte werden immer exakte Vielfache der FDML-Sweeps aufgenommen, was den Kalibrierungsprozess der OCT-A-Scans vereinfacht und  $k$ -Clocking obsolet macht. Außerdem erlaubt dieses Synchronisationskonzept die Integration weiterer zu synchronisierender Komponenten. Die Phasenkopplung der verschiedenen Sekundärtaktgeber ist dadurch gegeben, dass die Wellenformen nicht durch die Frequenz definiert werden, sondern arbiträre Wellenformen mit einer fixen Abtastrate und Anzahl an Punkten ausgegeben werden. In dem hier gezeigten Synchronisationskonzept beträgt die Abtastrate von AWG2 40 MSa/s und die Wellenform besteht aus 96 Punkten. So besteht ein fixes Verhältnis  $R_{FDML}$  zwischen der Frequenz des Primärtakts und der des FDML-Lasers:

$$\begin{aligned} R_{FDML} &= \frac{\text{Abtastrate}}{\text{Primärtakt}} \cdot \frac{1}{\text{Abtastpunkte}} \\ &= \frac{40 \text{ MSa/s}}{10 \text{ MHz}} \cdot \frac{1}{96 \text{ Sa}} = 0.041666. \end{aligned} \quad (4.1)$$

Bei der gleichen Anzahl an Punkten und der Wahl direkter Teiler der Abtastraten für die Wellenformen der Scanner werden exakt phasengekoppelte Wellenformen ausgegeben. Dadurch verschieben sich die Frequenzen aller sekundären Wellenformen um den gleichen Faktor, wenn sich die Frequenz des Primärtakts verändert. Um das Konzept besser zu verstehen, folgt an dieser Stelle ein Rechenbeispiel mit typischen Modulations- und Scanfrequenzen.

Angenommen der FDML-Laser läuft auf einer Durchstimmfrequenz von  $f_{FDML} = 410 \text{ kHz}$ . Dann könnte die Frequenz des schnellen Scanners  $f_X$  auf einem exakten Teiler:

$$f_X = \frac{410 \text{ kHz}}{125} = 3,28 \text{ kHz} \quad (4.2)$$

liegen, was im achtfach-gepufferten Modus des FDML-Lasers einer Aufnahme von:

$$n_{A-Scans} = 125 \times 8 = 1000 \quad (4.3)$$

A-Scans ( $n_{A-Scans}$ ) pro B-Scan entspricht. Sollen in einem Transversalscan wiederum ebenfalls 1000 B-Scans pro Volumen aufgenommen werden, müsste die Frequenz des langsamen Scanners  $f_Y$ :

$$f_Y = \frac{3,28 \text{ kHz}}{1000} = 3,28 \text{ Hz} \quad (4.4)$$

betragen. Um diese Frequenzen auszugeben, müssten entsprechend die Abstraten der Wellenformen  $Ar_X$  und  $Ar_Y$  an AWG3 folgendermaßen eingestellt werden:

$$\begin{aligned} Ar_X &= \frac{40 \text{ MSa/s}}{125} = 320 \text{ kSa/s} \\ Ar_Y &= \frac{40 \text{ MSa/s}}{125 \times 1000} = 320 \text{ Sa/s}. \end{aligned} \quad (4.5)$$

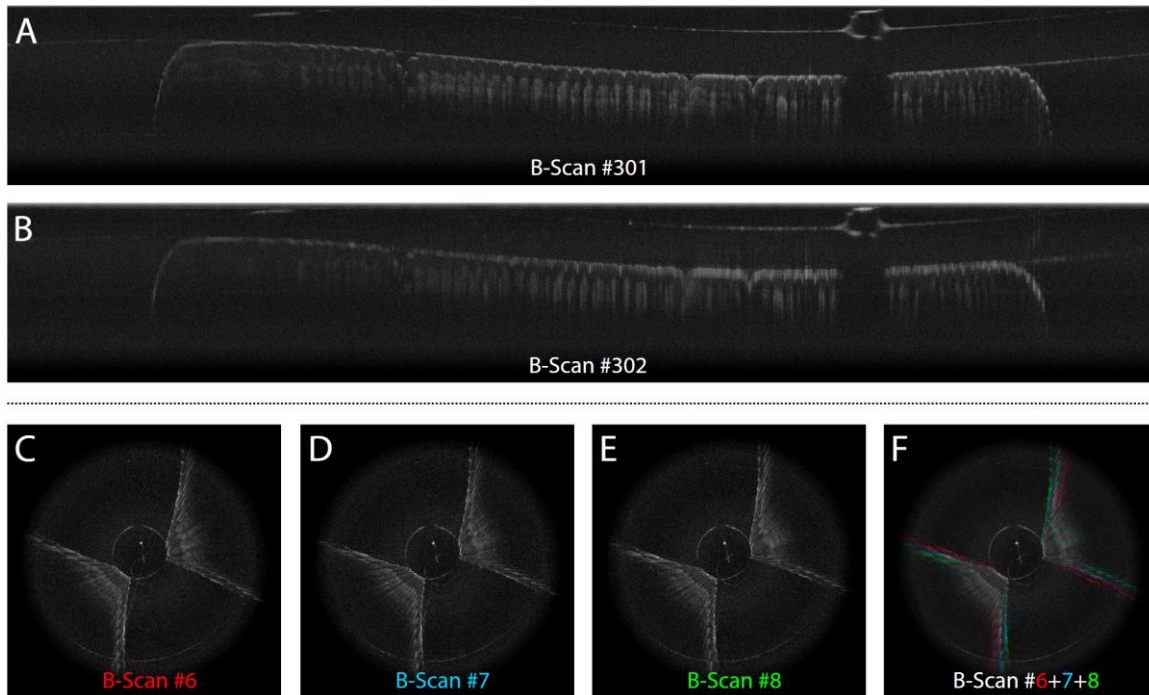
Die zweite Option die OCT-Datenerfassung mit dem Endoskopmotor zu synchronisieren nutzt das oben beschriebene Logik-Board für die Bild-Trigger-Generierung. In diesem Modus wird das Gegen-EMF basierte Ausgangstriggersignal der Motorsteuerung anstelle von *Synch X* genutzt. Bei jeder Umdrehung wird bei der nächsten steigenden Flanke des Synchronisationssignals der FDML-Steuerung ein Bild-Trigger und damit die Aufnahme der OCT-Daten ausgelöst. Wichtig ist in diesem Modus, dass die Anzahl aufzunehmender A-Scans an die Motordrehzahl angepasst ist, sodass keine Bild-Trigger bei der Datenaufnahme verloren gehen.

#### 4.2.3. Systemtests und Trigger-Jitter

Während des iterativen Entwicklungsprozesses der Prototypen und des Synchronisierungskonzepts erfolgten systematisch Bildgebungstests mit dem MHz-OCT-System, um die Leistung der Motoren oder der bereits zusammengefügtter Rektoskop-Prototypen zu analysieren.

In den ersten Systemtests wurde das „Motor folgt OCT“-Synchronisationskonzept angewandt, bei dem von der Regelungssoftware eine Drehzahl synchron zum FDML vorgegeben wurde. Die Sonde war fest auf einem optischen Tisch montiert, während ein stark streuendes Objekt – wie Papier oder ein Finger – vor dem Austrittsfenster platziert wurde. Das Ausgangstriggersignal der Motorsteuerung wurde ohne zusätzliche Synchronisationslogik di-

rekt an den Triggereingang der Datenerfassungskarte angeschlossen. Doch bereits während der Bildgebungstests waren Schwankungen im OCT-Signal erkennbar, die auf Ungenauigkeiten des Triggersignals zurückzuführen waren. Diese Schwankungen in der zeitlichen Präzision des Triggersignals, auch oft als Trigger-Jitter bezeichnet, zeigten sich auch in den prozessierten OCT-Bildern (**Abbildung 4.4 A-B**).



**Abbildung 4.4** Auswirkungen von Synchronisationsfehlern auf die eOCT-Bildgebung. A-B) Synchronisationsfehler zwischen Datenerfassung und FDML-Frequenz: A) Standard B-Scan bei korrekt synchronisierter Datenaufnahme; B) Folgender B-Scan mit Trigger-Jitter-bedingten Kalibrierungsfehlern. C-F) Synchronisationsfehler zwischen Motorposition und Datenerfassung. C-E) Aufeinander folgende B-Scans in Polarkoordinaten, F) Überlagerung der B-Scans aus C-D in rot, blau und grün mit erkennbarer Positionsdifferenz.

Durch einen leichten Zeitversatz zwischen Beginn der Datenaufnahme und dem FDML-Takt verschob sich der sogenannte „Trigger-Offset“ – ein definierter Abstand zwischen dem ersten Datenpunkt der Aufnahme und dem ersten Punkt des Primärsweeps. Dieser Abstand sollte innerhalb eines Datensatzes für jeden B-Scan konsistent bleiben, da andernfalls der Kalibrierungsschritt der OCT-Daten beeinträchtigt wird und die Tiefenschnitte nicht gleichmäßig scharf dargestellt werden können (siehe **Abbildung 4.4 B**). Im selben Datensatz gab es jedoch auch B-Scans, bei denen die Kalibrierung korrekt funktionierte (siehe **Abbildung 4.4 A**), was auf das Vorliegen von Trigger-Jitter hindeutet. Da zunächst unklar war, ob dieses Trigger-Jitter-Problem auf Unregelmäßigkeiten in der Motorrotation, der Erzeugung des Ausgangstriggersignals oder auf das Synchronisationskonzept selbst zurückzuführen

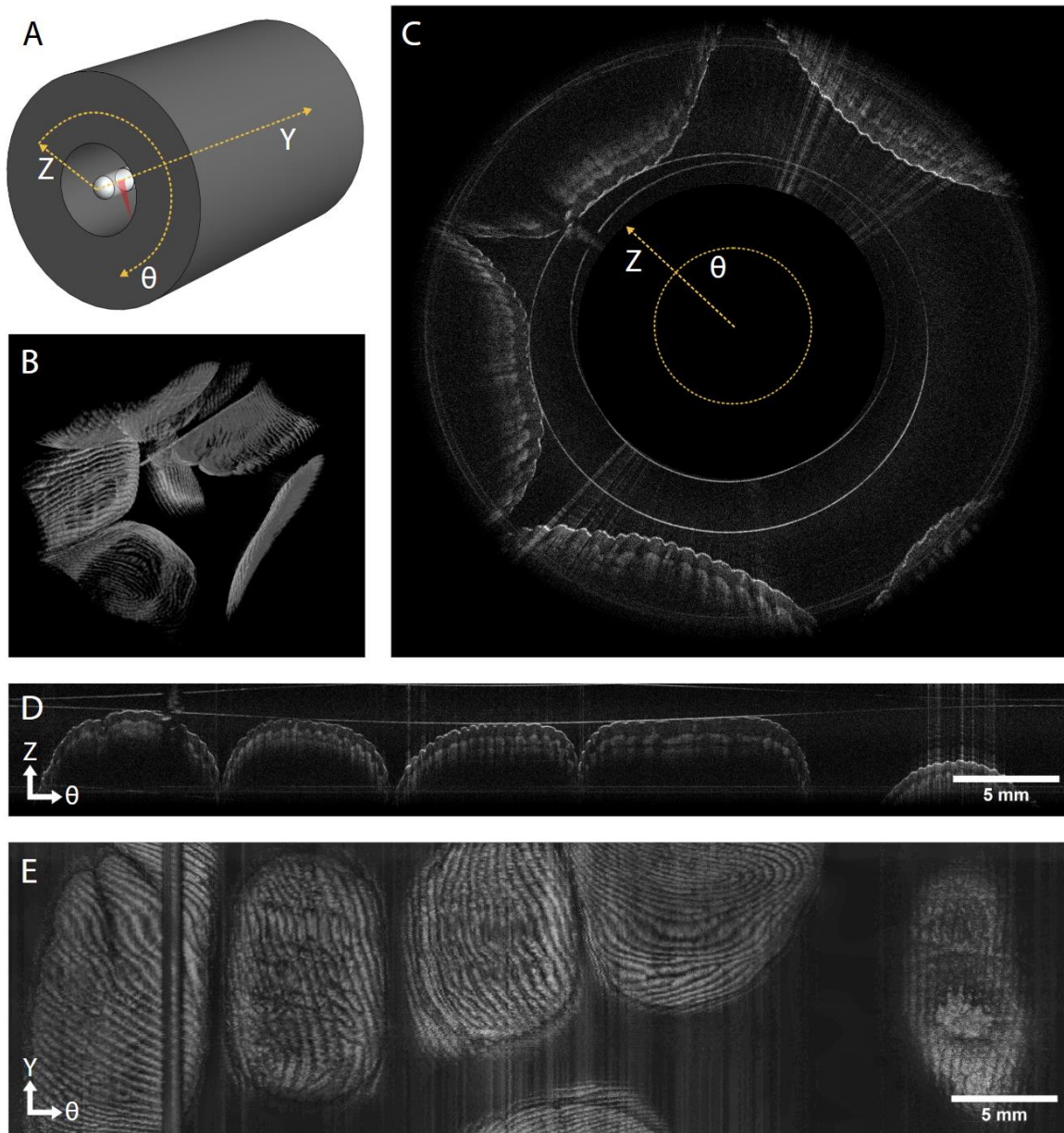
war, wurden verschiedene Tests zur Ursachenforschung durchgeführt. Fehler im Synchronisationskonzept konnten rasch ausgeschlossen werden, indem der Motor durch einen Galvanometerscanner ersetzt und das Synchronisationssignal des AWG als Trigger für die Bildaufnahme genutzt wurde. Bei Scanfrequenzen, die exakte Teiler der FDML-Durchstimmfrequenz darstellten, verlief die OCT-Bildgebung stabil und es traten keinerlei Trigger-Jitter-Artefakte auf.

Um mögliche Schwankungen in der Rotationsgeschwindigkeit des Motors auszuschließen, wurden mehrere Rotationen am Stück statt in einzeln getriggerten Sequenzen aufgezeichnet. Hierfür wurde die Anzahl der pro Bild aufzunehmenden A-Scans auf 100.000 gesetzt, sodass mit nur einem Start-Trigger 16 Rotationen in einer Aufnahme dargestellt werden konnten. Diese Messung wurde zehnmal wiederholt und anschließend wurden die langen OCT-Bilder in 16 exakt gleich große Einzelbilder aufgeteilt, die jeweils eine Rotation zeigen. In der Überlagerung dieser Einzelbilder zeigte sich ein aperiodisches Rotationsverhalten des Motors. Bei wiederholten Aufnahmen mit fixer Motordrehzahl hingegen schien die Motorrotation über mehrere Sekunden hinweg stabil zu bleiben.

Daraufhin wurde die zweite Herangehensweise zur Synchronisation „OCT folgt Motor“ angewandt. Dabei wurde die Motordrehzahl auf 40.000 rpm eingestellt und das gegen-EMK-Signal diente als Trigger zur OCT-Datenerfassung für einzelne Rotationen. Mithilfe der Synchronisationslogik wurde der Bildtrigger synchron zum FDML-Takt gesetzt, sodass die OCT-Bildgebung ohne die oben beschriebenen Kalibrierungsfehler erfolgte. Dennoch traten erneut Synchronisationsfehler auf. In der Live-Vorschau sowie beim Betrachten des gesamten 3D-Datensatzes waren Positionsfluktuationen der Ausgangsposition sichtbar (siehe **Abbildung 4.4 C-F**). Die im Polarkoordinatensystem angezeigten B-Scans erschienen verdreht und in kartesischen Koordinaten verschoben sich die B-Scans um mehrere A-Scans – ein Hinweis auf eine asynchrone Motorrotation.

Nach einigen Optimierungsschritten der Steuerungselektronik konnte der Trigger-Jitter um einen Faktor 10 verringert und somit ein Prototyp mit zuverlässiger Motorsteuerung entwickelt werden, der die Anforderungen für MHz-OCT Bildgebung erfüllt [118]. Die Rotationsstabilität des Motors bei verschiedenen Geschwindigkeiten wurde systematisch mithilfe eines Laser- und Fotodioden-Aufbaus gemessen. Zudem wurde die Präzision des auf dem Gegen-EMF basierenden Ausgangstriggersignals quantifiziert, wobei die leichten Schwankungen etwa der Dauer eines einzelnen A-Scans entsprachen.

Es folgten mit Rek1 erste Testaufnahmen von Fingern, die während der OCT-Aufnahme den Schaft des Prototypen umfassten und mit möglichst gleichmäßiger Rückzugsgeschwindigkeit über das Austrittsfenster glitten (vgl. **Abbildung 4.5**). So konnte ein dreidimensionaler Datensatz, wie in Skizze **Abbildung 4.5 A** dargestellt, erfasst und in verschiedenen Ansichten visualisiert werden.



**Abbildung 4.5** eOCT-Aufnahmen von Fingern mit Rek1. A) Scanprinzip mit Koordinaten. B) 3D Darstellung des eOCT-Volumens. C) eOCT B-Scan in Polarkoordinaten. D) eOCT B-Scan in kartesischen Koordinaten. E) eOCT *en face*-Projektion.

Die Live-Darstellung der B-Scans kann entweder in Polarkoordinaten (**Abbildung 4.5 C**) oder kartesischen Koordinaten (**Abbildung 4.5 D**) erfolgen und durch die Rückzugsbewegung in Y-Richtung können auch dreidimensionale Volumen (**Abbildung 4.5 B**) oder

en face-Projektionen (Abbildung 4.5 E) der Datensätze erstellt werden. Die Bildqualität ist ähnlich zum Standard OCT-System.

Wie in den B-Scans ersichtlich (Abbildung 4.5 C-D), können verschiedene Hautschichten in der Tiefe aufgelöst werden und typische Merkmale wie Schweißdrüsenkanäle sind klar zu erkennen. Trotz des manuellen Rückzugs sind nur geringfügig Bewegungsartefakte in den Volumendaten zu erkennen. Bei genauer Betrachtung der en face-Projektion fällt jedoch ein Rest-Jitter in Rotationsrichtung auf. Dieser ist auf verbliebende Lücken des Synchronisationskonzepts zurückzuführen. Da die Implementierung einer flexiblen, regelbaren Drehzahl mit den verwendeten Motoren nicht möglich war, wurde auf das zweite Synchronisationskonzept „OCT folgt Motor“ zurückgegriffen. Die Synchronisation basiert hier jedoch lediglich auf den Primärsweeps des FDML-Lasers, weshalb eine Fluktuation von bis zu 8 A-Scans (Anzahl der optischen Puffer des verwendeten FDML-Systems) trotz perfekter Motorstabilität in den OCT-Aufnahmen zu erwarten ist.

### 4.3. BILDGEBUNGSEXPERIMENTE

Um die medizinische Fragestellung zu adressieren, folgten weitere Bildgebungsexperimente am Darm. Experimente mit einem künstlichen Darmmodell dienten als Ausgangspunkt für die Definition der grundlegenden Bildgebungsmaßstäbe. Aufbauend auf diesen ersten Erkenntnissen wurde ex vivo Schweinedarm analysiert, um die Herausforderungen der biologischen Bildgebung zu adressieren. Nach Überarbeitung des Prototypens folgten Experimente an post mortem menschlichem Darm in situ, um das System unter realistischen, anatomisch anspruchsvollen Bedingungen zu testen und zu optimieren. Abbildung 4.6 zeigt die drei genannten Anwendungsbereiche.



**Abbildung 4.6** Evaluationsproben für rektoskopische OCT-Anwendungen. Fotos des A) künstlichen Darm-Trainingsmodells, B) Rek1-Prototyps im ex vivo Schweinedarm, C) Rek2-Prototyps im Rektum des Körperspenders.

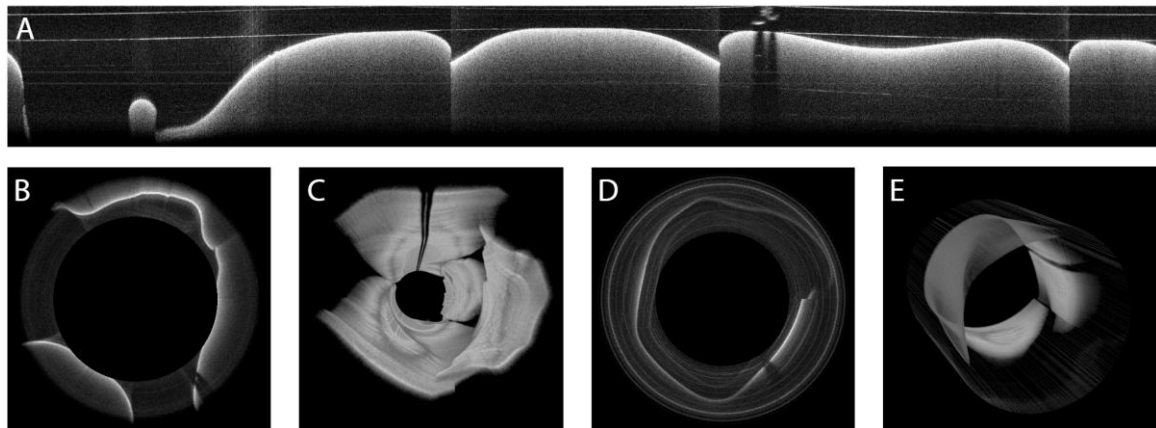
### 4.3.1. Darmmodell

Erste Bildgebungsexperimente mit Rek1 wurden an einem Trainingsmodell für die Koloskopie aus Silikon (Olympus Colon Modell CM-1, Japan) durchgeführt. Der Silikondarm weist keine Gewebestrukturen in der Tiefe auf, sodass es nicht möglich ist, die verschiedenen Darmschichten zu visualisieren. Allerdings entspricht der Durchmesser den wahren Gegebenheiten im Menschen und auch makroskopische Pathologien wie Silikonpolypen sind enthalten, um Proof-of-Concept Versuche zur Visualisierung der inneren Darmtopografie durchzuführen.

An dem Darmmodell wurden zwei verschiedene Bildgebungsmodalitäten getestet: Hochauflösende Aufnahmen unmittelbar außerhalb des Endoskops und Aufnahmen mit geringerer Tiefenauflösung, aber dafür größerem Bildabstand. Für die Standardaufnahmen mit hoher Auflösung wurde eine Laserbandbreite von 100 nm bei einer Leistungsstärke von 18 mW genutzt. Für die Aufnahmen mit großem Bildabstand (ca. 2 cm) wurde die Laserbandbreite auf 14 nm reduziert. Bei beiden Versuchen betrug die Rotationsgeschwindigkeit 40.000 rpm, wobei 4.800 A-Scans pro Umdrehung erfasst wurden. Zur dreidimensionalen Bildgebung wurde das OCT-Rektoskop manuell zurückgezogen, während für die Aufnahmen mit hoher Auflösung das Silikonmaterial um den Schaft der Sonde gewickelt wurde, um einen kontinuierlichen Kontakt zum Prototypen zu gewährleisten. Insgesamt wurden pro Volumen 1.800 B-Scans erfasst, die anschließend in der Nachbearbeitung visualisiert wurden. Es wurden jeweils ca. 15 GB große 3D-Datensätze aufgenommen, die bei einer gleichmäßigen Rückzugsbewegung innerhalb 2 s etwa eine Fläche von  $50 \times 10 \text{ mm}^2$  abdecken.

Wie in **Abbildung 4.7** erkennbar, lässt sich die Oberfläche der Darmwand gut in den OCT-Bildern differenzieren. Die OCT-Schnittbilder (**Abbildung 4.7 A, B, D**) zeigen eine stark streuende Oberflächenschicht mit einer gleichmäßigen, weniger streuenden Struktur darunter. Die 3D-Visualisierung des OCT-Volumens mit hoher Auflösung (**Abbildung 4.7 C**) stellt die faltige Oberflächenstruktur des Modells deutlich dar. Der im oberen Teil des Volumens erkennbare, längliche Schatten ist auf die zum Motor führenden Drähte zurückzuführen. Dass dieser im Vergleich zur Darmoberfläche kaum gekrümmt ist, zeugt von einer stabilen Rotations- und Rückzugsbewegung. In den Aufnahmen mit einem großen Bildbereich und entsprechend geringer Tiefenauflösung ist ein deutlich schwächeres Signal der Darmoberfläche zu erkennen (**Abbildung 4.7 D-E**). Da die abbildende Optik den Scanpunkt direkt

außerhalb des Endoskops fokussiert, kann in größerer Tiefe nur noch bedingt Signal detektiert werden. Außerdem ist durch das geringe OCT-Signal das Laserrauschen deutlich präsenter und Artefakte durch Reflexionen an diversen Oberflächen in der Scanoptik sind durch den vergrößerten Bildbereich sichtbar (helle Ringe in **Abbildung 4.7 D**). Dennoch lässt sich aus den Daten, wie in den dreidimensionalen Darstellungen der manuellen Rückzugsdaten (**Abbildung 4.7 C, E**) ersichtlich, die Oberflächentopografie der Darmwand ableiten.



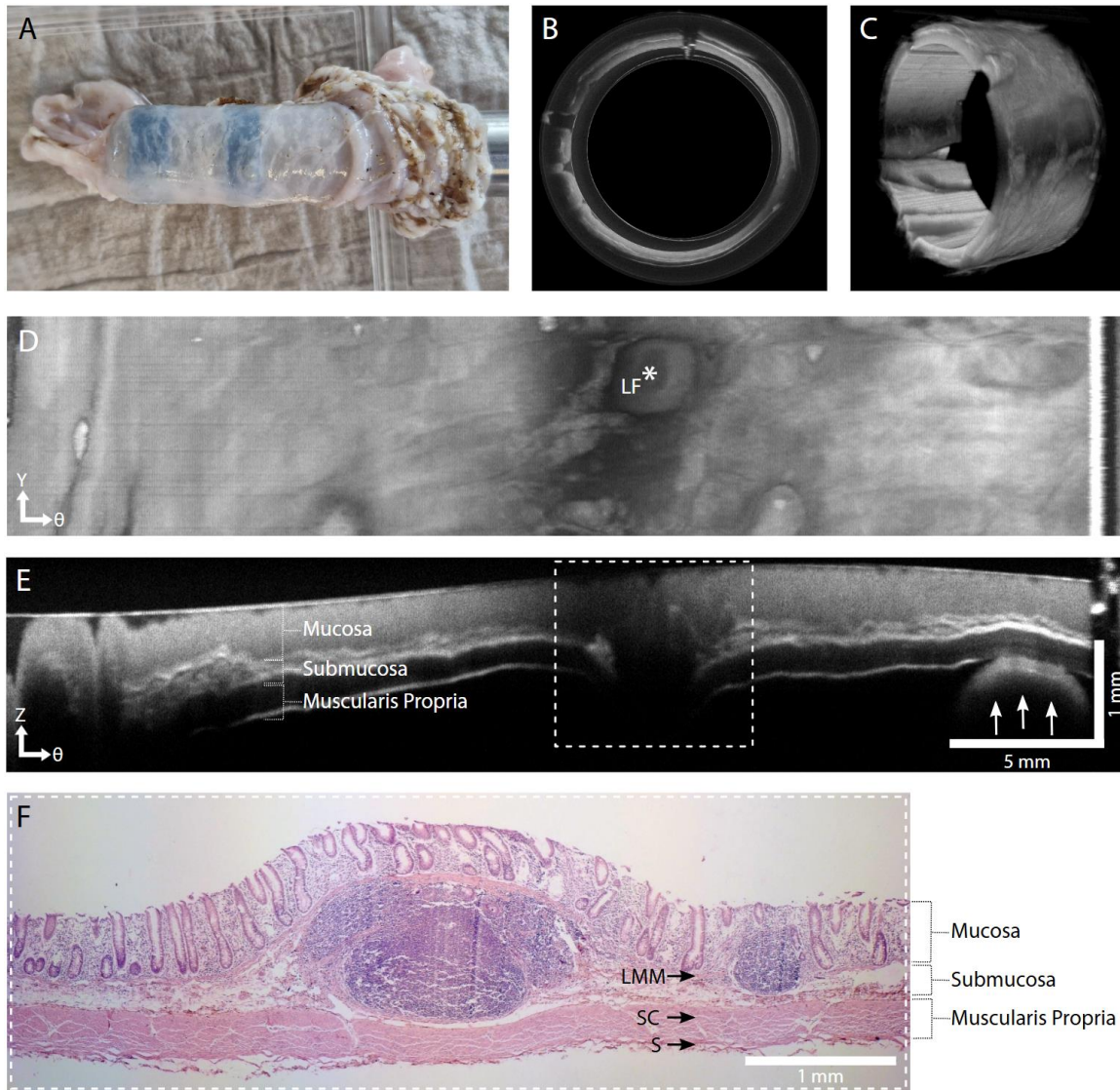
**Abbildung 4.7** eOCT-Aufnahmen von einem Darmmodell aus Silikon. eOCT-Aufnahmen mit hoher Tiefenauflösung dargestellt als A) B-Scan in kartesischen Koordinaten, B) in Polarkoordinaten und C) als 3D-Volumen. eOCT-Aufnahmen mit großem Bildabstand dargestellt als D) B-Scan in Polarkoordinaten und E) 3D-Volumen. Die Aufnahmen erfolgten mit dem Prototypen Rek1.

Insgesamt konnte durch die Experimente am künstlichen Darmmodell die Anwendbarkeit des Rektoskop-Prototypens für großflächige endoskopische OCT-Scans erfolgreich demonstriert werden. Der Bildgebungsmodus mit großem Bildabstand wurde allerdings für weitere Bildgebungsexperimente nicht weiter berücksichtigt, da sich die Zentrierung der Sonde innerhalb des Darms in Ermangelung eines stabilen Bildgebungsballons als schwierig darstellte und die Bildqualität für die Bildgebung an biologischem Gewebe mit den verbauten Scanoptiken nicht ausreichend ist.

#### 4.3.2. Schweinedarm

Auch wenn die anatomische Struktur des Darms zwischen Schweinen und Menschen variiert, bietet Schweinedarm gegenüber dem künstlichen Darmmodell den entscheidenden Vorteil einer differenzierten, geschichteten Darmwand. Um diese mit dem Prototypen in ihrer Tiefenstruktur zu visualisieren, wurde frisch explantierter Darm von einem örtlichen Metzger bezogen, der sonst als Schlachtabfall verwertet worden wäre. Der Darm wurde für die Bildgebungsversuche mit 0,9 % NaCl gespült und in 10 cm lange Stücke geschnitten. Rek1 wurde, wie in **Abbildung 4.8 A** gezeigt, in die Gewebeprobe eingeführt und manuell

um 1 cm zurückgezogen. Pro Umdrehung wurden 4.800 A-Scans und 1.334 B-Scans bei einer spektralen Bandbreite von 108 nm und Leistung von 21 mW aufgenommen. Zur Navigation wurde eine 2D-Bildvorschau (**Abbildung 4.8 B**) in Echtzeit verwendet. Im Anschluss wurden an den untersuchten Bereichen zwei Gewebeproben mit einer 12-mm-Biopsiestanze entnommen und in 4 % Paraformaldehyd (PFA) für spätere histologische Untersuchungen fixiert. **Abbildung 4.8** zeigt die Resultate des Bildgebungsversuchs am Schweinedarm.



**Abbildung 4.8** eOCT-Aufnahmen von Schweinedarm. A) Foto des Prototypen Rek1 in der Darmprobe. eOCT-Aufnahmen dargestellt als B) B-Scan in Polarkoordinaten (10-fach gemittelt), C) 3D-Volumen, D) *en face*-Projektion, E) B-Scan in kartesischen Koordinaten (10-fach gemittelt). In D) ist ein Lymphfollikel (LF\*) sichtbar. Pfeile in E) markieren einen Finger, der während der Messung zur Gewebepositionierung genutzt wurde. F) Histologie-Schnittbild mit H&E-Färbung des Gewebes, das an in E) eingezeichneter Position (gestricheltes Rechteck) entnommen wurde. Abkürzungen: LMM: Lamina muscularis mucosae, SC: Stratum circulare, S: Serosa.

Die Darmwand lässt sich - ähnlich wie bei herkömmlichen endoskopischen Ultraschallbildern - gut als Schnittbild in Polarkoordinaten (**Abbildung 4.8 B**) oder 3D-Volumen (**Abbildung 4.8 C**) darstellen. Beide Ansichten eignen sich gut für die Live-Vorschau und Navigation, da sie dem Betrachter einen guten Überblick des Situs verschaffen. Zur exakten Lokalisation auffälliger, oberflächlicher Strukturen kann die *en face*-Projektion (**Abbildung 4.8 D**) dienen, in der die gesamte Oberfläche „abgerollt“ dargestellt wird, während die kartesische Ansicht der B-Scans (**Abbildung 4.8 E**) eine differenzierte Darstellung der Tiefenstrukturen ermöglicht, ähnlich einem Histologie-Schnittbild (**Abbildung 4.8 F**).

Erstaunlicherweise weisen die OCT-Bilder trotz der hohen Scangeschwindigkeit von 667 Hz und großem Bildbereich von 50 mm eine hohe Sensitivität auf. Bis zu einer Eindringtiefe von mehr als 1 mm sind verschiedene Schichten mit großem Kontrast erkennbar. In einigen Tiefenschnitten ist sogar ein Finger zu sehen, mit dem der Darm bei den Rückzugsmessungen manuell fixiert wurde (siehe **Abbildung 4.8 E**). Das bedeutet wiederum, dass es möglich war mit dem vorgestellten OCT-Rektoskop die gesamte Darmwand vollständig abzubilden. Besonders bemerkenswert war die klare Abgrenzung der unterschiedlichen Darm-schichten, die eng mit den entsprechenden H&E-Schnittbildern korrelierte (siehe **Abbildung 4.8 E-F**).

In den zehnfach gemittelten B-Scans sind Mucosa, Submucosa und Muscularis Propria als breite Bänder unterschiedlicher Helligkeit erkennbar, die durch dünne, helle Schichten wie der Lamina muscularis mucosae, dem Stratum circulare oder der Serosa abgegrenzt werden. In einigen Aufnahmen waren außerdem knotenartige Strukturen in der Darmschleimhaut sichtbar. Hierbei handelt es sich um Lymphfollikel, die als darmassoziiertes, lymphatisches Gewebe einen entscheidenden Beitrag für das Immunsystem liefern und vermehrt im Darmbereich vorkommen. Bei den Bildgebungsversuchen zeigten sich diese Lymphfollikel als submuköse Strukturen mit minimaler Streuung, die sowohl in den B-Scans (**Abbildung 4.8 E**) zu erkennen waren, jedoch vor allem in den *en face*-Projektionen (**Abbildung 4.8 D**) hervorstachen und gut mit den histologischen Ergebnissen (**Abbildung 4.8 F**) korrelierten.

Aufgrund der Fähigkeit, die gesamte Darmwand und ihre komplexe Struktur in 3D zu rekonstruieren sowie die einzelnen Schichten in der Tiefe aufzulösen, erwies sich die optische und mechanische Konfiguration des MHz-OCT-Rektoskops als mehr als ausreichend

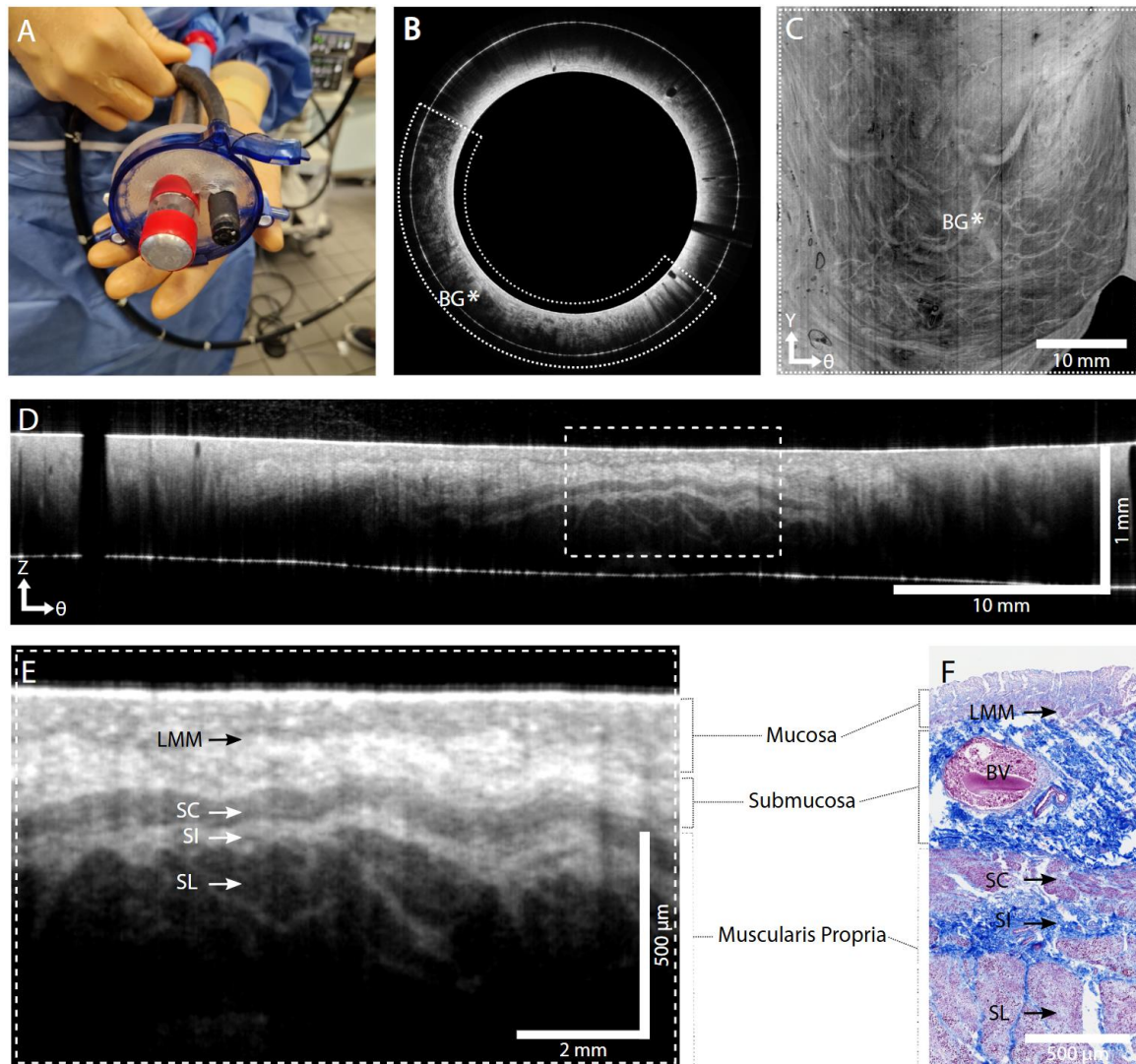
für die Bildgebung im Darm und die in den Bildgebungsexperimenten gesammelten Erkenntnisse demonstrieren erfolgreich die Anwendbarkeit des hier vorgestellten Systems für die Rektoskopie.

#### 4.3.3. Körperspender

Der für die hier vorgestellten Bildgebungsversuche verwendete Körper (82 Jahre, männlich, 176 cm, 82 kg) wurde im Rahmen des Körperspendeprogramms (KS-2003) des Instituts für Anatomie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel zur Verfügung gestellt. Zur Erhaltung der Gewebekonsistenz wurde der Körper mit einer speziellen Lösung aus Ethanol, Glycerin und Lysoformin fixiert [119]. Vor den OCT-Messungen wurde das Rektum und Colon Sigmoideum zunächst mittels flexibler Standard-Koloskopie (CF-H190I, Olympus, Japan) auf Abnormalitäten untersucht. Außerdem wurde dadurch visuell sichergestellt, dass die Anatomie und Konsistenz der Darmwand durch die moderne Fixierungsmethode nicht beeinträchtigt sind. Die weiterhin weiche Gewebestruktur und intakte Schleimhaut boten optimale Bedingungen für realitätsnahe kolorektale OCT-Untersuchungen.

Die OCT-Aufnahmen wurden mit der Rek2-Sonde durchgeführt, die manuell über einen Bereich von 1 bis 8 cm zurückgezogen wurde. Es wurden 4.900 A-Scans pro Rotation und bis zu 5.120 B-Scans in Rückzugsrichtung erfasst, mit einer spektralen Bandbreite von 100 nm und einer Ausgangsleistung von etwa 30 mW. Die B-Scans wurden in Echtzeit sowohl in kartesischen als auch polaren Koordinaten visualisiert und mit Live-*en face*- sowie 3D-Visualisierungen ergänzt. Zur Verbesserung des SNR wurden im Vorschaumodus vier aufeinanderfolgende Bilder gemittelt, wobei eine Aktualisierungsrate von 170 Hz erreicht wurde. Ungemittelte OCT-Rohdaten wurden dabei direkt in den Arbeitsspeicher übertragen. Nach den *in situ* durchgeführten endoskopischen Bildgebungsexperimenten wurde das Rektum für weitere Analysen entnommen und für spätere histologische Untersuchungen fixiert.

**Abbildung 4.9 A** zeigt das OCT-Rektoskop im klinischen Einsatz neben dem Koloskop sowie verschiedene OCT-Aufnahmen (**Abbildung 4.9 B-E**) im Vergleich zur Histologie (**Abbildung 4.9 F**). Im B-Scan (**Abbildung 4.9 B**) sind Blutgefäße des submukösen Gefäßplexus bis zu einer Eindringtiefe von etwa 1 mm zu erkennen, die in der *en face*-Projektion (**Abbildung 4.9 C**) des entsprechenden Bildbereichs als vernetztes Gefäßsystem erscheinen.

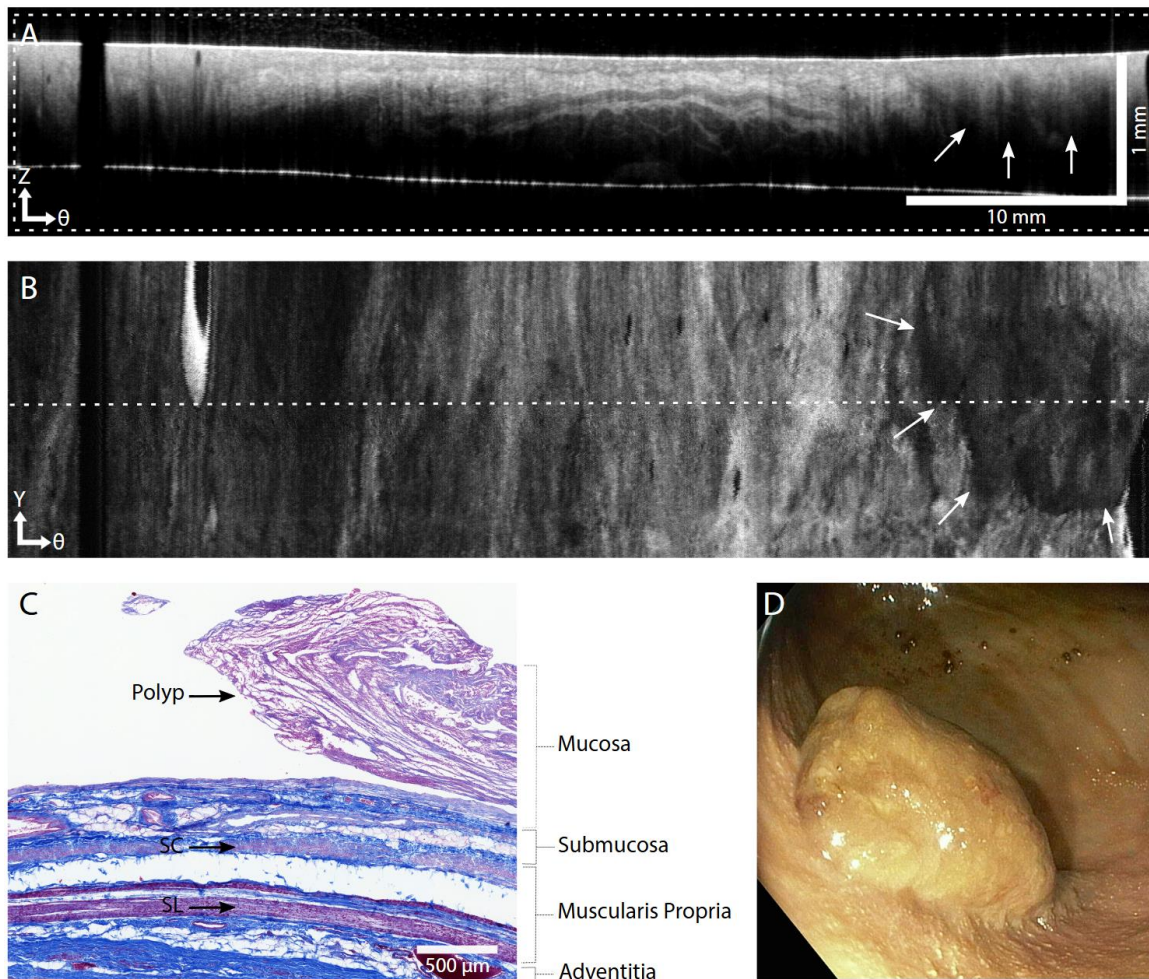


**Abbildung 4.9** eOCT-Aufnahmen eines postmortalen menschlichen Rektums *in situ*. A) Foto der eingeführten Rektoskope: links OCT-Rek2, rechts Koloskop. eOCT-Aufnahmen dargestellt als B) B-Scan in Polarkoordinaten (10-fach gemittelt), C) *en face*-Projektion, D-E) B-Scan in kartesischen Koordinaten (10-fach gemittelt). Der dargestellte Bereich in C) entspricht der in B) angegebene Region (gepunkteter Halbkreis). In beiden Ansichten ist die Vaskularisierung der Darmwand zu sehen, besonders ein großes Blutgefäß (markiert als BG\*). In D) ist ein anderer Bereich der Darmwand abgebildet, in dem verschiedene Schichten deutlich zu differenzieren sind. Die untere weiße Linie entspricht der oberen PMMA-Oberfläche des Bildgebungsfensters, das in das OCT-Bild gespiegelt wird. E) zeigt die in D) markierte Region (gestricheltes Rechteck) mit höherer Vergrößerung. F) Histologie mit Azan-Färbung des an ähnlicher Stelle entnommenen Gewebes. Abkürzungen: BG, Blutgefäß; LMM, Lamina muscularis mucosae; SC, Stratum circulare; SI, Stratum intermusculare; SL, Stratum longitudinale.

Es sind kaum Bewegungsartefakte ersichtlich, was auf eine stabile manuelle Rückzugsbewegung von etwa 10 mm/s hindeutet. In einem weiteren Scan sind die verschiedenen Schichten der Darmwand aufgelöst (Abbildung 4.9 D). Vergleichbar mit den Aufnahmen des Schweinedarms können die Mucosa, Submucosa und Muscularis propria klar identifiziert werden. Die Visualisierung der Lamina muscularis mucosae ermöglicht eine genaue

Abgrenzung der Mucosa von der darunter liegenden Submucosa-Schicht. Außerdem ist in einer vergrößerten Ansicht (**Abbildung 4.9 E**) sogar eine Unterscheidung der zirkulären und longitudinalen Muskelschicht innerhalb der Muscularis propria möglich. Die OCT-Bilder stimmen gut mit der histologischen Darstellung (**Abbildung 4.9 F**) überein.

Zusätzlich wurden OCT-Aufnahmen eines endoluminalen Polypen (**Abbildung 4.10**) angefertigt, der zuvor durch die Koloskopie identifiziert wurde (**Abbildung 4.10 D**).

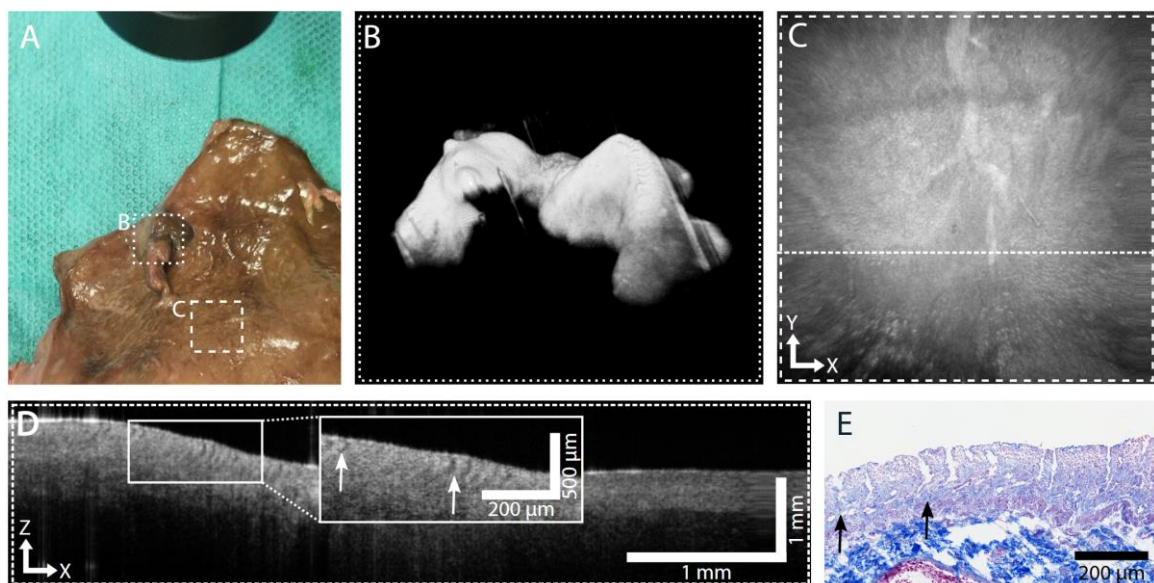


**Abbildung 4.10** eOCT-Aufnahmen eines endoluminalen Polypen *in situ*. eOCT-Aufnahmen dargestellt als A) B-Scan in kartesischen Koordinaten (10-fach gemittelt) und B) *en face*-Projektion. Die gestrichelte Linie in B) zeigt die Position des B-Scans aus A). Die Pfeile markieren die Umrisse des Polypen. Die untere weiße Linie in A) entspricht der oberen PMMA-Oberfläche des Bildgebungsfensters, das in das OCT-Bild gespiegelt wird. C) Histologie mit Azan-Färbung des entfernten Gewebes. D) Standard-Koloskopie Aufnahme des Polypen. Abkürzungen: SC, Stratum circulare; SL, Stratum longitudinale.

Durch den Kontakt des Rektoskops zur Darmwand ist der in das Lumen hineinragende Polyp topografisch nicht in den OCT-Aufnahmen zu erkennen. Allerdings erscheint das Gewebe im Bereich des Polypen, wie im B-Scan in **Abbildung 4.10 A** durch Pfeile markiert, ho-

mogen, während die gesunde Darmwand von einer geschichteten Struktur geprägt ist. Außerdem weist der Polyp eine niedrige Signalintensität auf, die mit dem höheren Signal der angrenzenden normalen Schleimhaut kontrastiert. Dieser Kontrast ist in der *en face*-Projektion des Datensatzes (**Abbildung 4.10 B**) noch stärker ausgeprägt. Die histologische Untersuchung des Datensatzes (**Abbildung 4.10 C**) noch stärker ausgeprägt. Die histologische Untersuchung bestätigte das Vorhandensein des Polypen (**Abbildung 4.10 C**).

Nach Entnahme des Rektums, wurde das Gewebe mit der Standard-Scanoptik des MHz-OCT-Systems (siehe Abschnitt 2.4.2) analysiert, um einen Vergleich der Bildqualität zu ziehen. In **Abbildung 4.11** ist ein Foto des exziierten Darmgewebes mit dem Polypen (**Abbildung 4.11 A**) zu sehen.



**Abbildung 4.11** Standard OCT von exziiertem menschlichem Darmgewebe *post mortem*. A) Foto des herausgeschnittenen Rektums mit Polypen (gekennzeichnetes Rechteck) und normalem Gewebereich (gestricheltes Rechteck). B) 3D-OCT-Darstellung des Polypen, der an der in A) angezeigten Position gescannt wurde. C) OCT-*en face*-Projektion des normalen Gewebes, das an der in A) gekennzeichneten Position aufgenommen wurde (abgescanntes FOV:  $7,5 \times 7,5 \text{ mm}^2$ ). D) OCT-B-Scan von in C) markierter Position (10-fach gemittelt in Y-Richtung, 2-fach gemittelt in X-Richtung). In der Zoom-Ansicht in D) ist Kryptenstruktur (Pfeile) erkennbar. E) Histologie mit Azan-Färbung des exziierten Gewebes mit Kryptenstrukturen (Pfeile).

An zwei verschiedenen Stellen wurden ca.  $7,5 \times 7,5 \text{ mm}^2$  große Aufnahmen von dem Polypen und gesundem Gewebe erstellt. Dabei wurden jeweils  $2048 \times 2048$  A-Scans mit einer lateralen Auflösung von  $18 \mu\text{m}$  bei einer Laser-Bandbreite von  $100 \text{ nm}$  - entsprechend gleicher axialer Auflösung wie bei den rektoskopischen Versuchen - aufgenommen. Mit dem kontaktlosen Rasterverfahren kann die Topografie des Polypen gut in 3D dargestellt werden (**Abbildung 4.11 B**). Die höhere laterale Auflösung des Systems zeigte sich insbesondere bei der Darstellung von Kryptenstrukturen in der Darmwand des gesunden Ge-

webes. Sowohl in der *en face*-Projektion (**Abbildung 4.11 C**) als auch im B-Scan (**Abbildung 4.11 D**) sind runde Vertiefungen in der Darmschleimhaut, sogenannte Krypten, sichtbar (Pfeile), die auch histologisch bestätigt wurden (**Abbildung 4.11 E**).

Zusammengefasst zeigen die Bildgebungsversuche am Körperspender, dass das entwickelte System für die rektale Endoskopie geeignet ist. Es ermöglicht die Unterscheidung von Gewebeschichten, lymphatischem Gewebe, Blutgefäßen und endoluminalen Polypen sowie eine präzise Abgrenzung der Lamina muscularis mucosae von der Submucosa.

#### 4.4. INTERPRETATION, DISKUSSION UND PERSPEKTIVEN

Für eine präzise Erstdiagnose und die Beurteilung des Therapieansprechens bei malignen oder entzündlichen Darmerkrankungen bedarf es einer fortschrittlichen Bildgebungstechnik, die eine Differenzierung der verschiedenen Darmwandschichten ermöglicht. Deshalb wurde ein MHz-OCT-Rektoskop entwickelt, das für die 3D-Bildgebung des Rektums konzipiert ist. Die Ergebnisse aus den drei Bildgebungsexperimenten zeigen, dass das System in der Lage ist, die unterschiedlichen Gewebeschichten der Darmwand präzise zu visualisieren und zuverlässig zu unterscheiden.

Trotz der hohen Aufnahmegeschwindigkeiten weisen die *in vivo* OCT-Aufnahmen des Darms im Vergleich zu früheren Studien mit langsameren Systemen [116, 120] ein erstaunlich gutes SNR auf. Der Rest-Jitter wird in der Echtzeit-Visualisierung zur Speckle-Reduktion genutzt, indem die leicht zueinander verschobenen, aufeinander folgenden B-Scans gemittelt werden. Wie Vergleiche mit den histologischen Analysen zeigen, ermöglicht das MHz-OCT-Rektoskop so nicht nur die Unterscheidung der einzelnen Darmschichten, sondern auch die Dicke der einzelnen Schichten zu quantifizieren. Insbesondere die Fähigkeit, die Lamina muscularis mucosae vom submukösen Gewebe abzugrenzen, ist für die Diagnose von neoplastischen und entzündlichen Erkrankungen von entscheidender Bedeutung. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass mit dem System Polypen identifiziert werden können. Da der Polyp bei der Messung leicht gegen das Glasfenster des OCT-Rektoskops gepresst wird, ist er in den OCT-Bildern nicht durch seine intraluminalen Struktur sondern allein durch die Homogenität des Gewebes erkennbar. Dieser Befund weckt die Hoffnung, mit OCT auch kleine Polypen erkennen zu können, die mit kamerabasierten Systemen nicht zu erfassen sind.

Bei dem Bildgebungsexperiment am Körperspender wurde das Gewebe mit einer modernen Fixierungsmethode basierend auf einer Lösung aus Ethanol, Glycerin und Lysoformin fixiert. Durch diese Fixierung blieb die Schleimhaut flexibel und intakt, was für die Bildgebungsversuche essenziell war. Die bemerkenswert hohe Bildqualität deutet darüber hinaus darauf hin, dass mit dieser Methode der Gewebekontrast besser erhalten bleibt als bei der Standard-Formalin-Fixierung, was für zukünftige OCT-Entwicklungen an experimentellen Gewebemodellen genutzt werden könnte. Um die Auswirkungen der Fixierungsmethode systematisch zu untersuchen und diese Hypothese zu untermauern, sind jedoch weitere Studien erforderlich.

Technisch hebt sich das vorgestellte System durch die Verwendung kostengünstiger Motoren und einem anpassbaren Synchronisationskonzept von anderen Forschungsansätzen ab. Zwar liegen die Rotationsgeschwindigkeiten dieses Systems unter denen vergleichbarer Studien [106], jedoch bieten die niedrigen Entwicklungskosten und die hohe Flexibilität zur Anpassung an spezifische Anwendungen einen entscheidenden Vorteil. Durch die Nutzung des Gegen-EMK-Signals als Rotationstrigger können die Rotationsgeschwindigkeit sensorlos erfasst und anwendungsbezogene Motoren flexibel integriert werden. Außerdem ermöglicht dieses Konzept nahezu NURD-freie Bildgebung [118], was die Visualisierung der OCT-Bilder in Echtzeit erlaubt. Eine Herausforderung für zukünftige elastografische Anwendungen stellt allerdings der Rest-Jitter von  $\pm 4$  A-Scans dar, der durch die Primärsweep-Synchronisation entsteht. Die optische Kohärenzelastografie (OCE, engl. *optical coherence elastography*) nutzt unter anderem Phasendifferenzen des OCT-Signals, um biomechanische Gewebeeigenschaften submikrometergenau darzustellen. Wie Wang et al. zeigten [121], ist hierfür eine genaue Anpassung der Motorrotation auf die Durchstimmfrequenz des FDML-Lasers erforderlich. Alternativ kann der Rest-Jitter nach der Aufnahme unter Verwendung von genauen Zeitstempeln der jeweiligen Systeme kompensiert werden. Dazu müsste die einfache Trigger-Logik durch eine konfigurierbare FPGA-Lösung (engl. *field programmable gate array*) ersetzt werden, die derzeit in der Arbeitsgruppe entwickelt wird.

Da die klinische Fragestellung dieser Arbeit zunächst nur auf eine Bildgebung des Rektums abzielte, wurde ein starres Rektoskop mit großem Durchmesser entwickelt. Die Spotgröße und Rotationsgeschwindigkeit von 667 Hz ist genau auf die A-Scanrate des Systems abgestimmt, um einen vergleichsweise großen Aufnahmebereich (Rek1 mit 50 mm; Rek2 mit 78 mm Umfang) dicht abtasten zu können. Manuelles Zurückziehen ermöglicht die Auf-

nahme dreidimensionaler Datensätze, wobei aufgrund der hohen Bildgebungsgeschwindigkeit nur geringfügig Bewegungsartefakte auftreten. Das große Sichtfeld ermöglicht es, verschiedene Gewebestrukturen zu erkennen, die in einzelnen Querschnittsansichten nicht umfassend dargestellt werden wie z. B. komplexe Gefäßmuster. Auch unregelmäßige Gewebemerkmale wie z. B. Polypen lassen sich in den *en face*-Projektionen leichter erkennen, was für zukünftige Entwicklungen im Hinblick auf eine automatische, KI-basierte Mustererkennung von entscheidender Bedeutung ist.

Die Visualisierung der Krypten spielt eine zentrale Rolle in der Darmkrebserkennung. Veränderungen in Form, Größe, Dichte und Anordnung dieser Krypten können auf das Vorhandensein von dysplastischem oder krebsartigem Gewebe hinweisen. Wie kürzlich von Zeng et al. [122] gezeigt wurde, kann beispielsweise eine automatische Mustererkennung der Kryptenstruktur zur Erkennung von Darmkrebs eingesetzt werden. Mit den derzeit im Rek2-Prototyp verbauten Scan-Optiken lässt sich die Kryptenstruktur aufgrund der 35 µm großen Spotgröße nicht in ausreichender Detailtiefe auflösen, wie dies in anderen Studien gezeigt wurde [103, 112, 116]. Durch die zusätzlichen Aufnahmen des exzidierten Rektums mit der Standard-Scanoptik des MHz-OCT-Systems konnte allerdings gezeigt werden, dass ein leicht erhöhtes Auflösungsvermögen des OCT-Rektoskops den Zugang zur Visualisierung des Kryptenmusters im Dickdarm ermöglicht. Für zukünftige Anwendungen ist daher eine Optik mit hoher NA und lateraler Auflösung von <20 µm erforderlich. Die höhere laterale Auflösung kann auch für zusätzlichen Kontrast durch funktionelle Bildgebung nützlich sein. Welge und Barton demonstrierten, dass die *in vivo* endoskopische Doppler-OCT Adenome und gesundes Gewebe anhand ihrer Durchblutungseigenschaften unterscheiden kann [111]. Es ist daher anzunehmen, dass die Anwendung von dynamischen Kontrastmethoden, wie der am Ende dieser Arbeit vorgestellten [86], als zusätzliche funktionelle Information in die OCT-Rektoskopdaten die Akzeptanz des Systems für die Koloskopie weiter verbessern wird.

Vorteil wiederum der vergleichsweise großen Spotgröße ist die entsprechend große Rayleigh-Länge des hier vorgestellten Systems. Besonders tiefliegende Strukturen lassen sich mit dem System gut visualisieren und es ermöglicht die Darstellung der gesamten Darmwand. Um möglichst beides, also eine hohe Auflösung, aber auch einen großen Tiefenbereich, abdecken und entsprechend zwischen einer makroskopischen und mikroskopischen axialen Auflösung wechseln zu können, wird aktuell an einem „Dual-Mode“-Rekto-

skop geforscht. Durch spektrales Zoomen [16], also einer dynamischen Anpassung des axialen Messbereichs, kann die axiale Auflösung bzw. der axiale Bildbereich schnell verändert werden. Allerdings muss für die optimale Nutzung beider Modalitäten ebenfalls der optische Fokus angepasst werden. Die Kombination aus zwei nebeneinanderliegenden Fasern mit verschiedenen Modenfelddurchmessern und einem optoelektrischen Schalter soll daher einen schnellen Wechsel der Modalitäten gewährleisten, ohne das gesamte Gerät während der Rektoskopie auszutauschen zu müssen. Ein solches „Dual-Mode“-Rektoskop könnte in Zukunft großflächige Übersichtsscans des Rektums ermöglichen, anhand derer spezifische, auffällige Bereiche mit hoher Auflösung präzise analysiert werden können. Eine große Herausforderung hierbei bleibt die Speicherung und Echtzeit-Darstellung der entstehenden Datenmengen. Außerdem erfolgten alle hier gezeigten OCT-Aufnahmen in direktem Kontakt mit der Darmwand und bilden nur einen Ausschnitt ab. Um in Zukunft große Übersichtsscans der gesamten Darmwand zu erhalten, wird ein Ballon benötigt, um die Sonden zentral im Darm auszurichten und die Darmwand zu entfalten.

Die übergeordnete Vision des hier gezeigten Kooperationsprojektes ist eine KI-gestützte Echtzeit-Theranostik von entzündlichen Darmerkrankungen und kolorektalen Karzinomen mittels MHz-OCT. Die in dieser Arbeit gezeigten Resultate sind wichtige Vorarbeiten und demonstrieren, dass die Bildgebungstechnik integriert in neuartige Sonden in der Lage ist, die verschiedenen Darmschichten zu visualisieren und dadurch eine detaillierte Unterscheidung von gesundem und pathologischem Gewebe ermöglicht. Um das Bildgebungsfeld jedoch vom Rektum auf das Colon zu erweitern, muss das starre Rektoskop durch ein flexibles Endoskop- oder Kapseldesign ersetzt werden. Die Kombination mit noch schnelleren MHz-OCT-Systemen [29] ermöglicht den Bildgebungsprozess weiter zu beschleunigen. Damit sollte es rein rechnerisch möglich sein, einen kompletten Dickdarm-Scan mit einer dichten Abtastung von 20  $\mu\text{m}$  Pixelgröße in weniger als 45 Sekunden durchzuführen. Mit der Integration von neuartigen KI-gestützten Detektionsalgorithmen könnten so Entzündungsherde oder minimale Polypen erkannt und frühzeitig therapiert werden.



# 5

## DYNAMISCHE MHz-OCT

Wie die bisherigen Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, eignet sich die MHz-OCT als ein effektives Verfahren zur Darstellung oberflächlicher Gewebemorphologien. Langfristig bietet sie das Potenzial, die Diagnose mittels Stanz-Biopsie und anschließender Histologie durch eine optische OCT-Biopsie mit sofort verfügbarer Gewebeinformation zu ersetzen. Für die eindeutige Bestimmung von Gewebetypen und die Beurteilung der Dignität pathologischer Veränderungen ist jedoch eine Schnittbilddarstellung mit zellulärer Auflösung erforderlich.

Die funktionelle OCT-Bildgebung eröffnet in diesem Kontext vielversprechende Perspektiven. Sie erlaubt es, dynamische Prozesse im Gewebe färbefrei und *in vivo* darzustellen, wodurch physiologische sowie metabolische Vorgänge präziser untersucht werden können. Insbesondere die kürzlich vorgestellte scannende dynamische optische Kohärenztomographie liefert histologieähnliche Schnittbilder, indem sie zeitliche metabolisch bedingte Signalfluktuationen sichtbar macht [86]. Dennoch sind bisherige Ansätze aufgrund von langen Aufnahmezeiten und Bewegungsartefakten in ihrer klinischen Anwendbarkeit eingeschränkt. Ein System, das mit A-Scanraten im MHz-Bereich arbeitet und eine Live-Feedback-Funktion integriert, könnte diese Hürden überwinden und den Weg für neue Echtzeit-Anwendungen ebnen. Fraglich ist jedoch, ob die limitierte axiale Auflösung von etwa 16  $\mu\text{m}$  dafür ausreicht.

Dieses Kapitel untersucht daher die Anwendbarkeit der MHz-OCT zur Visualisierung dynamischer Prozesse. Dabei kommt der dOCT-Algorithmus zur Anwendung, der eine Visualisierung zellulärer Strukturen ermöglicht. Hierfür wurde eine speziell entwickelte Scaneinheit mit erhöhter lateraler Auflösung basierend auf Mikroskopobjektiven eingesetzt und Bildgebungsversuche an verschiedenen Gewebetypen sowie Vergleichsmessungen mit ei-

nem mikroskopischen OCT-System durchgeführt. Zudem wurden verschiedene Scanprotokolle erprobt, um die hohen Scangeschwindigkeiten effizient für eine intra-volumetrische Kontrastbildung zu nutzen. Erste vielversprechende Ergebnisse von *ex vivo* Schweinegewebe unterstreichen das Potenzial dieser Methode für schnelle, dreidimensionale Bildgebung. Einige der hier gezeigten Ergebnisse wurden bereits auf einer internationalen Konferenz vorgestellt und sind in folgendem Forschungsartikel zusammengefasst:

- S. Burhan, **M. Göb**, M. Pieper, T. Laedtke, T. Grahl, M. Münter, H. Schulz-Hildebrand, G. Hüttmann, P. König, und R. Huber, *Large-area dynamic contrast MHz optical coherence tomography for label-free imaging of porcine tissue*, *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXIX*, SPIE BiOS, Vol. 13305, (2025). DOI: 10.1117/12.3046216.
- S. Burhan\*, **M. Göb\***, M. Pieper, T. Laedtke, T. Grahl, M. Münter, H. Schulz-Hildebrand, G. Hüttmann, P. König, und R. Huber, *Label-free volumetric imaging of porcine kidney tissue over extended areas using dynamic MHz-OCT*, *Scientific Reports* 15, 32426 (2025). DOI: 10.1038/s41598-025-15032-6.

An dieser Stelle ist die Zusammenarbeit mit Sazgar Burhan hervorzuheben, die sowohl die Probenbearbeitung in den letzten Bildgebungsversuchen an Schweinegewebe übernahm als auch intensiv an der Auswertung der Daten beteiligt war. Nach der Vorarbeit im Rahmen dieser Arbeit, die die Entwicklung und Charakterisierung der hochauflösenden Scaneinheit, Vorversuche und Vergleichsmessungen sowie Entwicklung des intervolumetrischen Scanprotokolls und Planung der finalen Bildgebungsversuche beinhaltete, übernahm Sazgar Burhan während der Elternzeit einen Großteil der Verschriftlichung der Ergebnisse und Grafikentwürfe für den Artikel. Svea Höhl und Noah Heldt unterstützten bei Vergleichsmessungen mit dem mOCT-System. Darüber hinaus waren weitere Ko-Autor\*innen an der Forschung beteiligt: Michael Münter, Hinnerk Schulz-Hildebrand und Gereon Hüttmann leisteten grundlegende Vorarbeiten zur Erzeugung des dynamischen Kontrasts; ein neuer Linearroboter, entwickelt von Thorge Grahl, wurde für die präzisen OCT-Aufnahmen eingesetzt und Mario Pieper und Peter König trugen wertvolle Beiträge zur histologischen Validierung der Daten bei. Außerdem ist die Vorarbeit von Baris Bargu zu erwähnen, der im Rahmen seiner Abschlussarbeit ein festes 4f-Optiksystem zur effektiven Auflösungserhöhung der MHz-OCT konstruierte.

## 5.1. STAND DER TECHNIK

Die funktionelle optische Kohärenztomographie erweitert die herkömmliche OCT, indem sie nicht nur strukturelle Informationen liefert, sondern auch dynamische Prozesse im Gewebe sichtbar macht. Diese Prozesse können als endogene Biomarker für eine präzisere Diagnostik herangezogen werden, darunter Parameter wie Blutfluss [123], Zellbewegungen [124] oder biomechanische Eigenschaften [11, 125]. Zur Darstellung des Gewebekontrasts wurden eine Vielzahl innovativer Methoden und Techniken entwickelt.

### 5.1.1. Überblick über funktionelle Bildgebungsmethoden

Da die Vaskularisierung häufig Hinweise auf pathologische Veränderungen im Gewebe liefert, wurde die nicht-invasive Darstellung von Blutgefäßen mittels OCT intensiv untersucht, insbesondere als Alternative zu konventionellen Bildgebungsverfahren, die exogene Kontrastmittel erfordern. Eine der ersten Ansätze, die Doppler-OCT, macht sich den Dopplereffekt zunutze, indem die durch Blutfluss verursachte Frequenzverschiebung im rückgestreuten Licht analysiert wird [126, 127]. Die Frequenzverschiebung ist im OCT-Signal ersichtlich und ermöglicht eine quantitative Messung der Blutflussgeschwindigkeit. Darüber hinaus wurden angiografische OCT-Algorithmen entwickelt, die Änderungen des komplexen OCT-Signals [128, 129], Speckle-Varianzen [62, 63] oder Phasendifferenzen [130, 131] zwischen benachbarten A-Scans nutzen, um mikrovaskuläre Netzwerke hochauflösend darzustellen. Die präzise Quantifizierung dieser mikrovaskulären Strukturen eröffnet den Zugang zu neuen bildbasierten Biomarkern, die insbesondere in der Augenheilkunde und der Hirnforschung Anwendung finden und die Diagnose sowie die Überwachung von Krankheiten erheblich verbessern können.

Ein weiterer Meilenstein ist die polarisationssensitive OCT (PS-OCT), welche die doppelbrechenden Eigenschaften bestimmter Gewebetypen wie kollagenhaltigem Knorpelgewebe nutzt [132, 133]. Doppelbrechendes Material verursacht eine relative Verzögerung zwischen den beiden orthogonalen Polarisationszuständen des auftreffenden Lichts, die durch den Einsatz zweier Detektoren unabhängig voneinander detektiert werden können. Durch Auflösung der Polarisationszustände bietet die PS-OCT einen inhärenten Kontrast auf Grundlage der strukturellen Anisotropie. Dies ermöglicht nicht nur die Identifikation spezifischer Gewebetypen, sondern auch die Analyse von Gewebedichte und -elastizität unter mechanischer Belastung.

Ergänzend dazu ermöglicht die optische Kohärenzelastografie die Messung von mechanischen Gewebeeigenschaften. Sie basiert auf der Messung der Gewebedeformation nach mechanischer Anregung [134]. Die meisten OCE-Methoden verwenden externe mechanische Anregungsmethoden wie beispielsweise Piezo-Kompression, Luftstöße oder Laserpulse zur Anregung [135]. Die resultierende Deformation wird anschließend mittels OCT quantifiziert. Durch Speckle-Tracking oder phasen-sensitive Detektionsmethoden kann hierbei das Verschiebungsfeld (sub-)pixelgenau bestimmt werden, was Aufschluss über die Elastizität des Gewebes gibt und z. B. in der Onkologie zur Unterscheidung von gesundem und pathologischem Gewebe verwendet werden kann [136].

Im Hinblick auf metabolische Prozesse erweitern kürzlich demonstrierte Verfahren wie logarithmischer Intensitätsvarianz-Kontrast (LIV) [137, 138] und dynamische OCT [86, 139] das Anwendungsspektrum der funktionellen Bildgebung. Beide Methoden nutzen stoffwechselbedingte Signalfluktuations zur Visualisierung (intra-)zellulärer Bewegungen. Während der LIV-Algorithmus ausschließlich die Amplitude der Signalfluktuations berücksichtigt und somit keine Informationen über die Bewegungsgeschwindigkeiten innerhalb des Gewebes liefert, ermöglicht der dOCT-Algorithmus eine Analyse der verschiedenen Bewegungsgeschwindigkeiten. Diese werden zur farblichen RGB-Kontrastierung genutzt, wodurch dynamische Prozesse differenzierter dargestellt werden können.

### 5.1.2. Prinzip der dynamischen OCT-Bildgebung

Das Prinzip der dOCT basiert auf der inhärenten Bewegung von Streupartikeln in lebendem Gewebe, die zu Fluktuationen im OCT-Signal führen. Analog zu den Konzepten der OCT-Angiographie (OCTA) bildet die zeitliche Analyse dieser Fluktuationen den methodischen Kern, wobei die Bewegungen auf unterschiedliche Ursachen zurückzuführen sind. Auf subzellulärer Ebene werden Partikelbewegungen primär durch diffusive Prozesse bestimmt, einschließlich thermischer Brownscher Bewegung, während aktive Transportmechanismen zusätzlich eine Rolle spielen [140]. Aktive zelluläre Prozesse wie Zellwanderung, Zellteilung oder intrazellulärer Transport tragen ebenfalls zum dynamischen Signal bei. Auf Gewebeebene entstehen Fluktuationen durch koordinierte Bewegungen, etwa durch das Schlagen von Flimmerhärchen oder Flüssigkeitsströme. Ein wesentlicher Fortschritt der dOCT ist die Analyse dieser unterschiedlich schnellen Specklefluktuationen in separaten Frequenzbändern, was die detaillierte Darstellung dynamischer Prozesse verschiedener Geschwindigkeiten ermöglicht.

Ein früherer Ansatz, der die Zeitdimension zur Gewinnung zusätzlicher Informationen über Gewebedynamik nutzte, war der Specklefluktuations-Kontrast, der 2012 von Oldenburg et al. vorgestellt wurde [141]. Diese Methode analysierte die zeitliche Variabilität von Speckle-mustern in OCT-Bildern und wurde zur Bildgebung der Zilienaktivität in Atemwegen eingesetzt. Statt die Zilienbewegung direkt zu messen, wurde die Standardabweichung der Specklefluktuationen in unterschiedlichen Zeitfenstern berechnet, um dynamische Prozesse verschiedener Größenordnungen zu erfassen. Hierfür wurden B-Scan-Zeitserien mit variablen Bildraten aufgenommen, wobei die zeitliche Auflösung durch das Überspringen von Frames angepasst wurde. Die gezielte Auswahl von Frequenzbändern ermöglichte die Auflösung spezifischer Bewegungen wie etwa vom langsamen Schleimtransport bis hin zum schnellen Zilienschlag. Durch die Abbildung dieses breiten Frequenzspektrums kann die Methode zudem spektroskopisch genutzt werden, um spezifische Eigenschaften von zellulären Bewegungen zu analysieren [124].

2016 stellte die Arbeitsgruppe von Claude Boccarda eine neue Methode der dynamischen OCT-Bildgebung vor, basierend auf der hochauflösenden FF-OCT-Technologie [139]. Im Gegensatz zur FD-OCT, bei der das Bild zunächst rekonstruiert werden muss, analysiert die dynamische Vollbild-OCT (D-FFOCT, engl. *dynamic full-field OCT*) die Signalfluktuatio-nen direkt im Interferenzsignal. Mittels Fourier-Transformation des Zeitsignals und Integra-tion über definierte Frequenzbereiche werden spezifische dynamische Prozesse isoliert [142]. Durch die Abbildung dieser Fluktuationen auf einen HSV-Farbraum können so unter-schiedliche Strukturen anhand ihrer Dynamik visualisiert werden. Dabei repräsentiert der Farbton (Hue) die zentrale Frequenz der Fluktuationen, die Sättigung (Saturation) kodiert deren spektrale Breite und der Wert (Value) gibt die Amplitude an. Diese Technik erlaubt es, kleine dynamische Strukturen sichtbar zu machen, selbst wenn sie von stark streuenden, stationären Komponenten verdeckt werden. Die Methode wurde inzwischen kommerziali-siert und ist als System (LightCT, LLTech Inc., Frankreich) verfügbar. Aufgrund der hohen räumlichen Auflösung von 1  $\mu\text{m}$  erlaubt diese Technologie detaillierte Einblicke in zelluläre und subzelluläre Strukturen, ähnlich zu histologischen Schnittbildern. Ein Nachteil besteht jedoch in der notwendigen Stabilisierung der Proben, die für optimale Bildgebungsbedin-gungen in einem speziellen Halter komprimiert werden müssen.

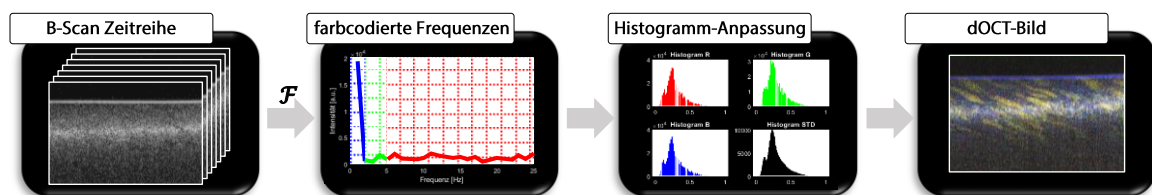
Neue Ansätze zur Anwendung des dOCT-Prinzips auf schnellere, scannende Verfahren wurden erstmals 2020 von Münter et al. vorgestellt [86]. Diese Methode kombiniert die zu-

vor beschriebenen Ansätze, indem Signalfluktuations aus OCT-Zeitserien mittels Fourieranalyse extrahiert werden. Das zur Anwendung kommende kamerabasierte, mikroskopische SD-OCT-System, wie in Abschnitt 5.2.2 beschrieben, ermöglicht A-Scanraten von bis zu 600 kHz. Anstelle von B-Scan-Zeitserien wurden dreidimensionale Volumendatensätze mit einer Wiederholrate von 24 Hz aufgenommen, wobei der dynamische Kontrast intervolumetrisch für jeden Voxel berechnet wurde [143]. Im Gegensatz zur D-FFOCT-Technik werden dabei ausgewählte detektierte Frequenzbänder im RGB-Farbraum überlagert dargestellt, was eine visuelle Differenzierung dynamischer Prozesse erlaubt. Mit dieser dOCT-Technik konnten neben mikroanatomischen Strukturen von frisch entnommenen Mäuseorganen wie Zunge, Leber und Trachea auch dynamische, physiologische Prozesse, darunter Schleimtransport, Schleimsekretion sowie die Migration von Immunzellen, erfolgreich visualisiert werden [144].

### 5.1.3. Berechnung des dynamischen Kontrasts

Der Algorithmus zur Berechnung und Visualisierung des dynamischen Kontrasts umfasst mehrere zentrale Schritte, die in **Abbildung 5.1** schematisch dargestellt sind. Die Berechnung erfolgt in MATLAB (MATLAB R2023a, The MathWorks, Inc., USA) und wurde von Hinnerk Schulz-Hildebrand und Michael Münter implementiert [86].

Voraussetzung für die Berechnungen sind bereits rekonstruierte OCT B-Scans, deren Intensitätswerte nicht wie typischerweise logarithmiert, sondern in Absolutwerten vorliegen müssen. Um Bewegungsartefakte in den Zeitreihen zu minimieren, werden die B-Scans mittels der in MATLAB integrierten Funktion *imregcorr* vorab registriert. Die anschließende Analyse der Signalfluktuations erfolgt voxelweise, wobei auf jeden räumlichen Index parallelisiert eine Fourier-Transformation angewendet wird, um die zeitlichen Frequenzmerkmale zu extrahieren.



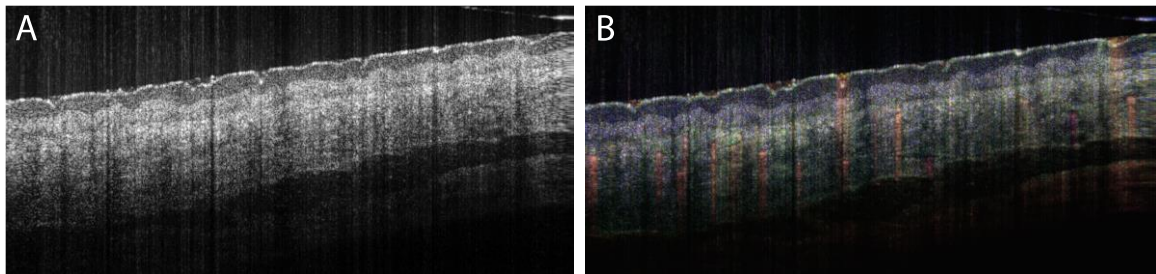
**Abbildung 5.1** Algorithmus zur Berechnung des dynamischen OCT-Kontrasts.

Die resultierenden Spektraldaten werden in drei Frequenzbereiche aufgeteilt, deren Amplituden integriert und für die Farbcodierung im RGB-Farbraum verwendet werden.

Langsame Schwankungen bzw. der Gleichanteil werden durch den blauen Farbkanal, mittlere Frequenzen durch den grünen und schnelle Schwankungen durch den roten Farbkanal dargestellt. Die Werte der Farbkanäle werden einzeln normalisiert und logarithmiert, um eine präzisere Darstellung der dynamischen Signale zu gewährleisten. Abschließend erfolgt eine adaptive Histogramm-Anpassung, die auf den logarithmierten Werten der Standardabweichung der zeitlichen OCT-Signalvariationen basiert. Dadurch wird der Farbkontrast mit der Dynamik-Intensität der Probe verknüpft. Durch die Überlagerung der drei Farbkanäle entsteht schließlich ein RGB-Farbbild, das die verschiedenen Frequenzbereiche visuell darstellt.

## 5.2. DYNAMISCHER KONTRAST IM VERGLEICH: MHz-OCT vs. mOCT

Anwendungen des dOCT-Algorithmus auf Standard *in vivo* Hautaufnahmen des MHz-OCT-Systems ermöglichen zwar eine stärkere Kontrastierung der einzelnen Hautschichten und Visualisierung dynamischer Prozesse wie beispielsweise Blutfluss allerdings ist die optische Auflösung zu gering, um mikroanatomische Strukturen zu visualisieren (vgl. **Abbildung 5.2**).



**Abbildung 5.2** MHz-OCT des Daumenballens mit Standard-Scaneinheit. A) B-Scan mit logarithmierten Intensitätswerten (100-fach gemittelt). B) B-Scan mit dynamischem Kontrast. Farbkanäle: Blau (<1 Hz), Grün (1-5 Hz), Rot (5-25 Hz).

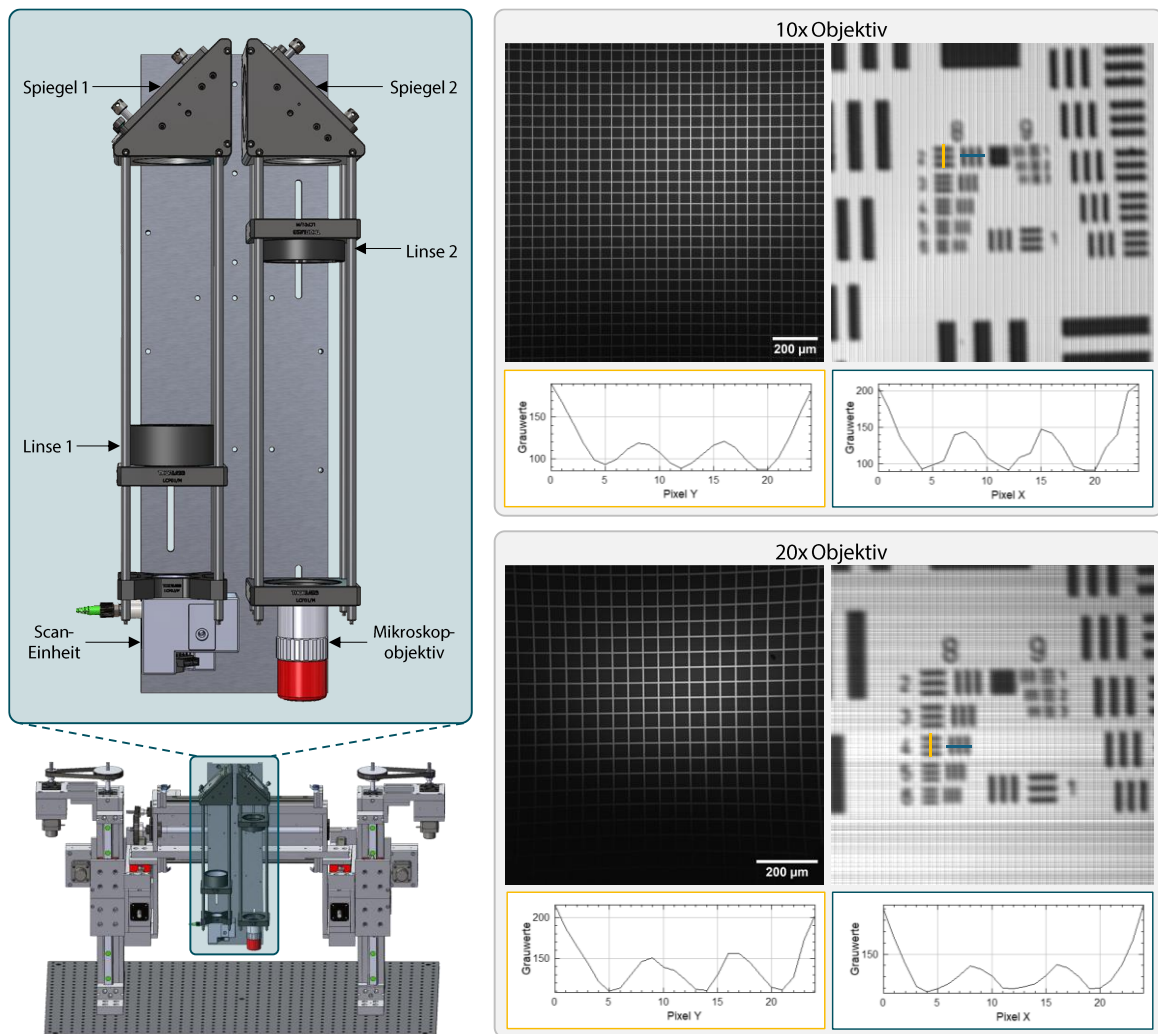
Um zu evaluieren, ob MHz-OCT trotz ihrer begrenzten axialen Auflösung für die Visualisierung zellulärer Strukturen geeignet ist, wurde eine neue Scaneinheit für hochauflösende Aufnahmen entwickelt. Anschließend wurden systematische Vergleichsmessungen mit einem mOCT-System an verschiedenen Gewebeproben durchgeführt.

### 5.2.1. MHz-OCT Scaneinheit mit Mikroskopobjektiven

Zur Erhöhung der lateralen Auflösung im Vergleich zu Standard-Scan-Konfigurationen des OCT-Systems mit Basis-Scanlinsen wurden zwei hochauflösende Objektive (M Plan Apo NIR 10x, M Plan Apo NIR 20x, Mitutoyo, Japan) angeschafft. Der Durchmesser des kollimierten Scanstrahls ist jedoch nicht ausreichend, um die volle Auflösungsleistung der Objektive auszuschöpfen. Die Anpassung des Strahldurchmessers durch einen einfachen Austausch der

Kollimatoren ist aufgrund der begrenzten Spiegelgröße der Ablenkeinheit nicht realisierbar. Zwar könnten prinzipiell größere Spiegel verwendet werden, jedoch würde dies die Scangeschwindigkeit verringern und ist aufgrund des kompakten Designs der Scaneinheit nicht ohne Weiteres umsetzbar.

Um dennoch eine ausreichende Ausleuchtung der Objektive sicherzustellen, wurde eine Relaisoptik zur Strahlvergrößerung implementiert. Hierfür kam ein justierbares 4f-Optiksystem zum Einsatz, das zwischen der Scaneinheit des MHz-OCT-Systems und den jeweiligen Objektiven integriert wurde (Abbildung 5.3).



**Abbildung 5.3** Aufbau der hochauflösenden MHz-OCT Scaneinheit und ihre Charakterisierung. Links: Zeichnung des 4f-Optiksystems inklusive der Befestigung an dem Linearroboter. Rechts: Für jedes Objektiv jeweils ein OCT *en face*-Schnittbild eines Punktgitter-Verzeichnungstestbilds und einer Auflösungsstafel sowie die Intensitätsprofile der kleinsten noch auflösbaren Gruppen.

Das System besteht aus zwei Linsen, die in einem Abstand von  $f_1 + f_2$  (den Brennweiten der jeweiligen Linsen) angeordnet sind. Ein Punktobjekt im Brennpunkt der ersten Linse

( $f_1$ ) wird durch die zweite Linse erneut in deren Brennpunkt ( $f_2$ ) fokussiert. Diese Relaisoptik ermöglicht nicht nur eine virtuelle Verschiebung des Drehpunkts der Scanner, sondern auch eine gezielte Vergrößerung des Strahldurchmessers durch die Wahl unterschiedlicher Brennweiten. Die Vergrößerung  $M$  des Strahldurchmessers ergibt sich aus  $M = \frac{f_2}{f_1}$ .

Für das 10x-Objektiv war eine Vergrößerung des ursprünglichen Strahldurchmessers von 2,8 mm um den Faktor 3,7 erforderlich, während für das 20x-Objektiv eine Vergrößerung um den Faktor 2,9 notwendig war. Durch die Verwendung zweier unterschiedlicher Linsenanordnungen, wie in **Tabelle 7** aufgelistet, wurde eine effektive Strahlaufweitung von 3,4 für das 10x-Objektiv und 2,4 für das 20x-Objektiv erreicht.

**Tabelle 7** Spezifikationen der verschiedenen Scanobjektive

Parameter	10x	20x
$NA_{\text{Obj}}$	0,26	0,4
$f_1$	87.5 mm	125 mm
$f_2$	300 mm	300 mm
Strahldurchmesser	9,6 mm	6,7 mm
Leistung auf Probe	11,0 mW	12,6 mW
Laterale Auflösung	3,48 $\mu\text{m}$	2,76 $\mu\text{m}$
Transversales FOV	1410x1460 $\mu\text{m}^2$	1040x1060 $\mu\text{m}^2$

Zur Minimierung sphärischer Aberrationen wurden Linsen mit großen Brennweiten und einem Durchmesser von zwei Zoll verwendet (LA1399-C, LA1384-C und LA1256-C, Thorlabs Inc., USA). Der Strahlengang wurde durch zwei 45°-Ablenkspiegel gefaltet, um die Gesamt-abmessungen des Aufbaus zu reduzieren. Alle Komponenten wurden fest auf einer Adapterplatte montiert, die für die Befestigung an dem Linearroboter ausgelegt ist. Für eine flexible Justierung und einfache Anordnung der Linsen wurde ein Justierstangensystem für optische Komponenten verwendet und die Adapterplatte so entworfen, dass die Linsenhalterungen entlang der optischen Achse verschiebbar sind. Das gesamte System, einschließlich der Scaneinheit und des jeweiligen Objektivs, wurde an dem Linearroboter montiert, um stabile Bildgebungsversuche und eine präzise Fokussierung zu ermöglichen.

Die resultierende laterale Auflösung wurde, wie in **Abbildung 5.3** gezeigt, mit einer Auflösungsstafel (USAF-1951 Negative Target #55-622, Edmund Optics, USA) charakterisiert. Hierfür wurden nicht-logarithmierte OCT *en face*-Schnittbilder aus der Fokusebene extrahiert und das Intensitätsprofil der Auflösungsgruppen mithilfe von ImageJ analysiert. Bei einer Kontrastabnahme von 50 % wurden zwei Linien noch als auflösbar betrachtet. So

konnte für das 10x-Objektiv die Gruppe 8, Element 2 als kleinste aufgelöste Struktur identifiziert werden, was einer Auflösung von 287 Linienpaaren pro Millimeter entspricht und einer Breite von 3,48  $\mu\text{m}$ . Ergänzt wurde die Auflösungscharakterisierung durch eine Vermessung des Laserstrahls im Fokus, die ein Modenfelddurchmesser von 3,57  $\mu\text{m}$  ergab. Beim Einsatz des 20x-Objektivs war Gruppe 8, Element 4 noch auflösbar, was einer Linienbreite von 2,76  $\mu\text{m}$  entspricht. Das transversale FOV wurde mithilfe eines Punktgitter-Verzeichnungstestbilds (R1L3S3PR, Thorlabs Inc., USA) vermessen (siehe **Abbildung 5.3**). Die jeweiligen gemessenen Parameter sind in **Tabelle 7** zusammengefasst.

Aufgrund geringfügig verstellter Spiegelpositionen wurde der scannende Strahl nicht perfekt entlang der optischen Achse geführt, was kleinere Bildartefakte zur Folge hatte. Insbesondere zeigte sich bei großen Scanwinkeln die nicht optimale Ausleuchtung des 20x-Objektivs, was sich im *en face*-Schnittbild des Punktgitter-Verzeichnungstestbilds durch Vignettierungsartefakte bemerkbar machte. Zusätzlich traten im Rasterbild leichte kissenförmige Verzerrungen an den Bildrändern auf. Diese Verzerrungen sind im B-Scan als Bildfeldwölbung erkennbar, was darauf hindeutet, dass der virtuelle Scandrehpunkt nicht exakt in der hinteren Brennebene des Objektivs liegt. Durch die Integration der optischen Komponenten der Relay-Optik sowie einer suboptimalen Strahlführung wurde eine Systemempfindlichkeit von 85 dB ermittelt. Dieser Wert liegt unerwartet niedrig und weicht um etwa 6 dB vom theoretischen Wert ab, insbesondere unter Berücksichtigung der erhöhten Leistungsverluste im Probenarm, die lediglich um 3,5 dB auf insgesamt 8,8 dB anstiegen. Diese Diskrepanz deutet auf potenzielle Optimierungspotenziale hin.

### 5.2.2. Aufbau des mOCT-Systems

Im Unterschied zur MHz-OCT basiert das mOCT-System auf einem spektralen OCT-Aufbau und verwendet eine Superkontinuum-Lichtquelle (SuperK EXTREME-EXW-OCT, NKT Holding, Dänemark), die einen Spektralbereich von 550–950 nm abdeckt und dadurch eine axiale Auflösung von 1  $\mu\text{m}$  erreicht wird. Die Lichtquelle ist mit einem faserbasierten Michelson-Interferometer gekoppelt, wobei ein breitbandiger 50/50-Faserkoppler (TW630R5A2, Thorlabs Inc., USA) das Licht in Proben- und Referenzarm aufteilt.

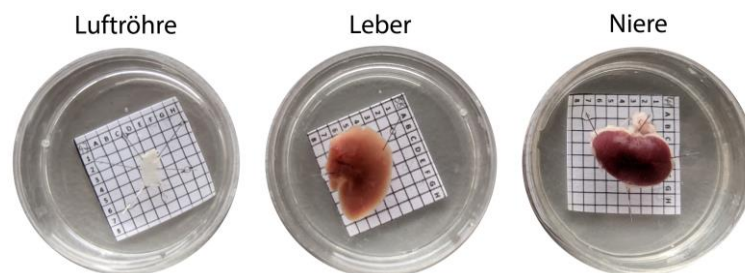
Im Probenarm erfolgt die Fokussierung über ein 10x-Objektiv (HCX APO L 10x/0.3 WUVI, Leica Microsystems, Deutschland) nach Kollimation (60FC-L-4-M25-02, Schäfter + Kirchhoff GmbH, Deutschland), einem Galvanometerscanner-Paar (6210 H, Cambridge Technology, USA) und einem achromatischen Teleskop (SL50-CLS2 und TL200-CLS2, Thorlabs Inc., USA).

Im Referenzarm wird die Lichtintensität mit einem Neutraldichtefilter (NDC-50C-2M, Thorlabs Inc., USA) angepasst und die Dispersion durch SF57-Glas kompensiert.

Das Interferenzsignal wird in einem speziell angefertigten Spektrometer (Thorlabs GmbH, Deutschland) detektiert, dessen Kamera (OctoPlus CL, Teledyne e2v, Kanada) eine maximale A-Scan-Rate von 248 kHz ermöglicht.

### 5.2.3. Mäuseorgane als Vergleichsproben

Frühere Versuche mit dem mOCT-System zeigten, dass frisch entnommene Organe von C57BL/6-Mäusen einen guten dynamischen Kontrast aufweisen [144]. In diesem Experiment wurden daher Vergleichsmessungen an Luftröhre, Leber und Niere von C57BL/6-Mäusen durchgeführt (Aktennummer: 1.1\_2023-10-05\_Schmudde). Die Mäuse wurden durch Inhalation von Isofluran euthanasiert. Anschließend wurden die Organe entnommen, mit Insektennadeln am Boden silikonbedeckter Petrischalen fixiert und mit steriler, HEPES-gepufferter Ringer-Lösung (pH 7,4) bedeckt (siehe **Abbildung 5.4**). Die Luftröhre wurde dabei längs aufgeschnitten und so positioniert, dass die Epithelseite nach oben zeigte, während Niere und Leber in ihrer ursprünglichen Form belassen wurden. Während der Aufnahmen blieben die Gewebeprobe in den Petrischalen fixiert und alle OCT-Messungen wurden innerhalb von 2 Stunden nach der Gewebeentnahme durchgeführt. Nach Abschluss der Experimente wurden die Organe mit 4% PFA fixiert.



**Abbildung 5.4** Gewebeprobe einer Maus für den Systemvergleich.

### 5.2.4. Bildgebungsprotokoll der OCT-Vergleichsmessungen

Unmittelbar nach Entnahme der Proben erfolgten die Aufnahmen mit dem mOCT-System. Die verwendete Ringer-Lösung diente dabei als Immersionsmedium für das Objektiv und ermöglichte eine laterale Auflösung von 1,3  $\mu\text{m}$ . An verschiedenen Stellen der Proben wurden B-Scans mit einer Breite von 1,4 mm und einer Größe von 2048 $\times$ 1024 Pixeln mit 150-facher Wiederholung aufgenommen. Aufgrund des vergleichbar großen FOV dieser Messungen reduzierte sich die effektive Bildrate des Systems auf 40 Hz, was zu einer Gesamtscanzeit von 3,75 Sekunden pro Datensatz führte.

Etwa eine Stunde später erfolgten Vergleichsmessungen mit dem MHz-OCT-System. Dabei wurden, abgesehen von den systembedingten Unterschieden wie Wellenlänge, optischer Bandbreite und axialer Auflösung, möglichst identische Bildgebungsparameter verwendet (siehe **Tabelle 8**). Durch das eingesetzte 10x-Objektiv des MHz-OCT-Systems erreichte dieses eine laterale Auflösung von 2,76  $\mu\text{m}$ . Da es sich bei diesem nicht um ein Immersionsobjektiv handelt, wurde die Flüssigkeitsmenge in den Petrischalen so angepasst, dass der Pegel nicht den Arbeitsabstand des Objektivs überstieg, jedoch noch so viel Flüssigkeit über der Probe enthalten blieb, dass keine Artefakte durch Reflexionen an der Oberfläche entstanden. Die Scanparameter der MHz-Scaneinheit wurden so gewählt, dass ebenfalls eine 1,4 mm breite Linie abgetastet wurde. Um Frequenzen in den dynamischen OCT-Bildern vergleichbar abzubilden, wurde eine Gesamtscanzeit von 3,27 Sekunden gewählt. Bei einer Bildrate von 610 Hz entsprach dies etwa 2000 Wiederholungen.

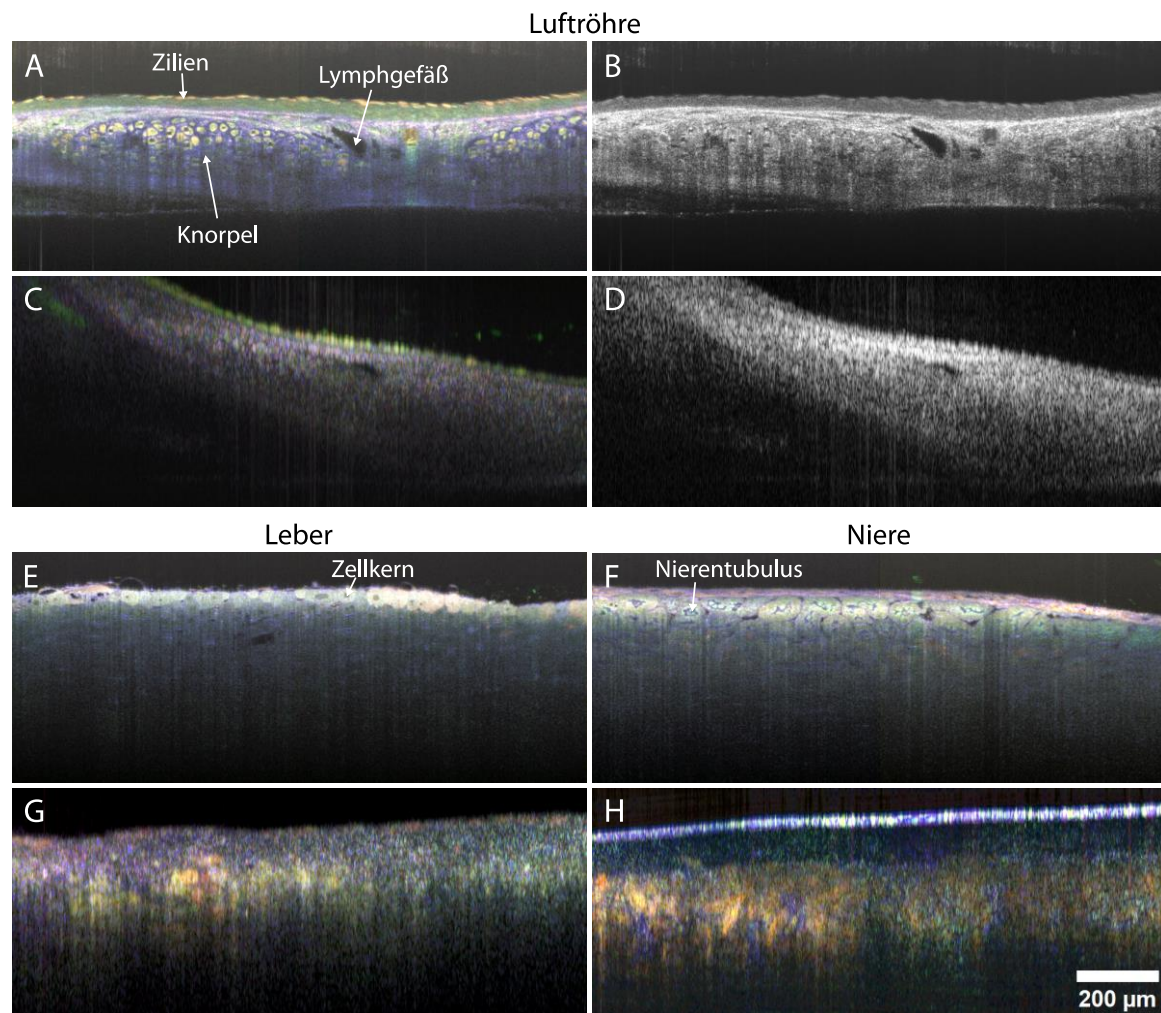
Nach der Datenaufnahme wurde der dynamische Kontrast gemäß Abschnitt 5.1.3 berechnet. Trotz der höheren Bildraten des MHz-OCT-Systems und entsprechend größerem Spektrum an Signalfluktuationen wurden für eine bessere Vergleichbarkeit der Bilder die standardisierten Frequenzbänder der dOCT-Analyse genutzt: Blautöne repräsentieren langsame Bewegungsfrequenzen bzw. statische Probenanteile ( $<0,5$  Hz), Grüntöne mittlere Bewegungsfrequenzen (0,5–5 Hz) und Rottöne schnelle Bewegungsfrequenzen (5–25 Hz). Die jeweiligen Bilder wurden auf isotrope Pixelgrößen skaliert und vergleichbare Bildausschnitte beider Systeme zugeschnitten und direkt gegenübergestellt.

**Tabelle 8** Bildgebungsparameter der verglichenen Systeme

Parameter	mOCT	MHz-OCT
Leistung auf Probe	40 mW	14,5 mW
Zentralwellenlänge	750 nm	1305 nm
Optische Bandbreite	400 nm	118 nm
Axiale Auflösung	1,5 $\mu\text{m}$	16 $\mu\text{m}$
Laterale Auflösung	1,3 $\mu\text{m}$	2,76 $\mu\text{m}$
$NA_{\text{Obj}}$	0,3	0,26
B-Scan FOV	1400×864 $\mu\text{m}^2$	1410×350 $\mu\text{m}^2$
B-Scan Dimension	2048×1024	2048×600
# Wiederholungen	150	2000
Bildrate	40 Hz	610 Hz
Gesamt-Scanzeit	3,75 s	3,27 s

### 5.2.5. Dynamische Kontrastaufnahmen im Vergleich

Die resultierenden dOCT-Bilder der jeweiligen Proben und Systeme sind in **Abbildung 5.5** dargestellt. Für die Luftröhre werden neben den dOCT-Daten auch konventionelle B-Scans gezeigt, die auf gemittelten Intensitätswerten basieren (vgl. **Abbildung 5.5A-D**).



**Abbildung 5.5** Dynamische OCT von *ex vivo* Mäusegewebe – mOCT und MHz-OCT im Vergleich. A-B, E-F) wurden mit dem mOCT-System aufgenommen; C-D, G-H) zeigen Aufnahmen des MHz-OCT-Systems mit 10x Objektiv. A, C) OCT-B-Scans von Gewebe der Luftröhre mit dynamischem Kontrast sind B, D) den konventionellen B-Scans basierend auf gemittelten Intensitätswerten gegenübergestellt. Weitere dOCT-Aufnahmen von Leber- und Nierengewebe sind in E-H) gezeigt. Farbkanäle: Blau (<0,5 Hz), Grün (0,5-5 Hz), Rot (5-25 Hz). FOV: 1400×560 µm<sup>2</sup>.

Ein Vergleich dieser Darstellungen verdeutlicht den Mehrwert des dynamischen Kontrasts. Sowohl in den mOCT- als auch in den MHz-OCT-Aufnahmen hebt sich die grün kontrastierte Epithelschicht klar vom darunterliegenden, bläulich erscheinenden Bindegewebe und Knorpel ab. Allerdings ermöglichen die dynamischen OCT-Aufnahmen des MHz-OCT lediglich die Schichtdifferenzierung, während zusätzliche Details wie einzelne Zilien oder Knorpelzellen nicht auflösbar sind. Im Gegensatz dazu lassen sich diese Strukturen in den

dmOCT-Bildern deutlich differenzieren und heben sich durch gelben Kontrast, der auf eine hohe Bewegungsaktivität hindeutet, von der umgebenden Struktur ab.

Diese Unterschiede zeigen sich auch bei den Aufnahmen von Leber und Niere. In den dmOCT-Bildern der Leber ist die oberste Zellschicht klar erkennbar (**Abbildung 5.5 E**) und sogar intrazelluläre Strukturen wie dunkel erscheinende Zellkerne lassen sich identifizieren. Ähnliche Strukturen, sowohl in Form als auch in Farbgebung, sind auch in den MHz-OCT-Daten sichtbar. Allerdings lag der Fokus bei den MHz-OCT-Aufnahmen tiefer im Gewebe, wodurch die Strukturen weniger scharf abgegrenzt erscheinen (vgl. **Abbildung 5.5 E, G**). Bei den Aufnahmen der Niere ist die Nierenkapsel mit beiden Systemen klar abgebildet. Während die dmOCT-Daten die darunterliegenden Tubuli-Strukturen der Nierenrinde deutlich darstellen, sind diese in den MHz-OCT-Bildern lediglich schemenhaft zu erkennen (vgl. **Abbildung 5.5F, H**).

Die unterschiedliche axiale Auflösung der beiden Systeme ist in den gezeigten Aufnahmen klar erkennbar. Dies wird insbesondere am dunkel erscheinenden Lymphgefäß deutlich, das mit beiden Systemen erkennbar ist (vgl. **Abbildung 5.5 A-D**), jedoch im mOCT schärfer und detaillierter dargestellt wird. Trotzdem hebt der dynamische Kontrast in den MHz-OCT-Daten unerkannte Strukturen hervor, wenn auch weniger ausgeprägt. Ob dieser reduzierte Kontrast ausschließlich auf die geringere axiale Auflösung des MHz-OCT-Systems zurückzuführen ist, bleibt unklar. Zusätzlich könnten die veränderte Lage der Fokusebene und die längere Zeitspanne bis zur Aufnahme, die mit einer reduzierten Bewegungsaktivität einhergeht, das Kontrastsignal beeinflusst haben.

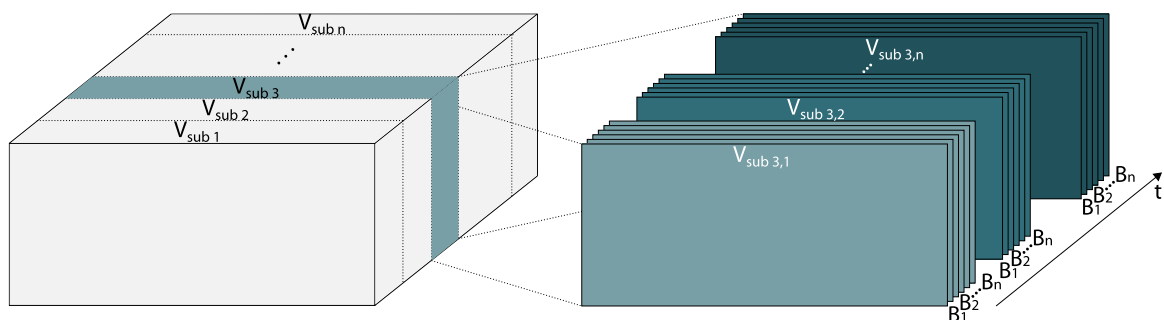
Da der Schwerpunkt dieser Messreihe auf der Vergleichbarkeit mit den dmOCT-Daten lag, wurden ausschließlich wiederholte Linienscans aufgenommen. Um vergleichbare Frequenzen abbilden zu können, waren mit dem MHz-OCT-System lange Scanzeiten und zahlreiche Wiederholungen erforderlich. Dies schränkte die effektive Nutzung der hohen A-Scanrate des Systems stark ein. Die Beschränkung auf B-Scans zeigte zwar dynamische Kontrastfähigkeit des MHz-OCT-Systems, ließ jedoch die verbesserte laterale Auflösung weniger offensichtlich hervortreten. Insbesondere bleibt offen, ob diese in der *en face*-Ebene eine Differenzierung von zellulären Strukturen ermöglicht. Diese Frage konnte mit den in diesem Experiment erhobenen Daten nicht geklärt werden.

### 5.3. MHz-OCT MIT INTERVOLUMETRISCHEM DYNAMISCHEN KONTRAST

Um die verbesserte transversale Auflösung des MHz-OCT-Systems bei der dynamischen Kontrastdarstellung optimal zu nutzen, wurde das Scanfeld auf den dreidimensionalen Raum erweitert. Zur Vermeidung der Totzeiten herkömmlicher, nacheinander aufgezeichneter Linienscans und um gleichzeitig eine ausreichende Wiederholrate für die Darstellung dynamischer Prozesse zu gewährleisten, wurde ein spezielles Scanprotokoll eingesetzt, das eine intervolumetrische Kontrasterstellung ermöglicht. Dieses Konzept wurde in einem weiteren Bildgebungsexperiment an einer Schweineniere erprobt.

#### 5.3.1. Intervolumetrisches Scanprotokoll

Zur unabhängigen Einstellung des räumlichen Scanbereichs und der darstellbaren Frequenzen wird das Volumen bei der dreidimensionalen Aufnahme in kleinere Subvolumen unterteilt, die nacheinander wiederholt abgescannt werden. **Abbildung 5.6** veranschaulicht das zugrunde liegende Scanprinzip. Jedes Subvolumen  $V_{sub\ i,j}$  besteht aus der gleichen Anzahl  $n$  angrenzender B-Scans  $B_n$ , wobei die Größe und Anzahl der B-Scans die zeitliche Auflösung des dynamischen Kontrasts bestimmen. Der Index  $i$  gibt die räumliche Position des Subvolumens innerhalb des Gesamtvolumens an, während  $j$  die Zahl der zeitlichen Wiederholungen bezeichnet. Die Größe und Anzahl der Subvolumen bestimmen wiederum den Gesamtaufnahmebereich der Messung. Um beide Parameter flexibel an die jeweilige Anwendung anzupassen, sind diese Größen einstellbar, jedoch durch die maximale Auslenkung der Spiegel, die Eintrittspupille der Objektivse und die Speichergröße des RAM begrenzt.

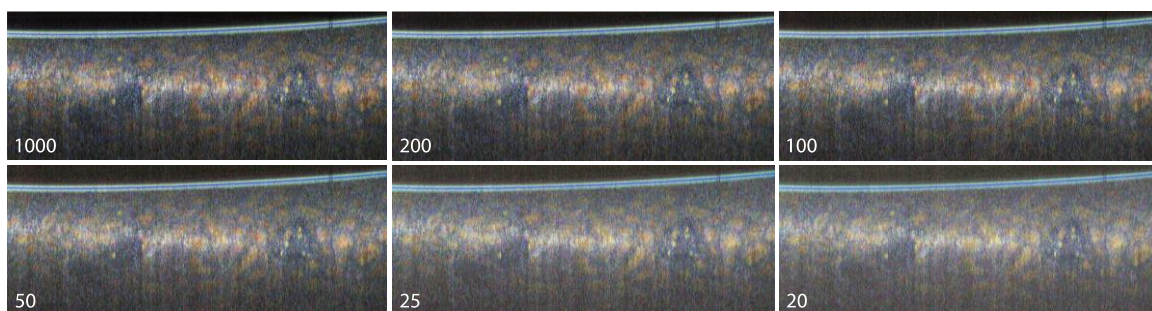


**Abbildung 5.6** Prinzip des intervolumetrischen Scanprotokolls. Die Aufnahme erfolgt in  $i$  einzelnen,  $j$ -fach wiederholt abgescannten Subvolumen  $V_{sub\ i,j}$ , die aus  $n$  B-Scans  $B$  bestehen.

Die Auswertungssoftware zur Berechnung des dynamischen Kontrasts musste aufgrund der veränderten Bildgebungsparameter umfassend modifiziert werden, da die ursprüngliche Software ausschließlich für die Analyse zweidimensionaler OCT-Datensätze des mOCT-

Systems konzipiert war. Die Anpassungen umfassten insbesondere die Implementierung weiterer Datenformate, die Einführung variabler räumlicher und zeitlicher Auflösungen sowie eine signifikante Beschleunigung der Berechnungsprozesse durch GPU-basierte Verarbeitung. Zudem wurde die Software durch die Einführung automatisierter Batch-Prozesse optimiert und ermöglicht es so, auch große Datensätze des MHz-OCT-Systems effizient auszuwerten, das intervolumetrische Scanprotokoll anzuwenden und verschiedene Bildgebungsparameter sowie Frequenzbereiche detailliert zu analysieren.

Für die hier gezeigten Messungen wurden die gewählten Bildgebungsparameter anhand eines Vorversuchs bestimmt. Zur Reduzierung von Bewegungsartefakten wurde der Effekt kürzerer Aufnahmezeiten und Anzahl an Scan-Wiederholungen auf den dynamischen Kontrast analysiert. Dabei wurde ein Linienscan mit 1000 Wiederholungen aufgenommen und die Anzahl der Wiederholungen sowie die Zeitintervalle wurden in der Auswertung variiert, bis ein optimales Verhältnis zwischen Scangeschwindigkeit und Signalkontrast visuell ermittelt werden konnte. Wie in **Abbildung 5.7** dargestellt, erweist sich bereits eine Wiederholrate von 25 anstelle von 150 Bildern pro Position als ausreichend für eine gute Kontrastdarstellung und angemessene Frequenzauflösung. Für die Berechnung des Kontrasts wurde eine absteigende Anzahl an B-Scans des Datensatzes verwendet (wie in den Einzelbildern dargestellt), wobei die Zeitintervalle zwischen den Scans jeweils vergrößert wurden. Dadurch blieb die Gesamtzeit zwischen dem ersten und letzten genutzten B-Scan bei allen Berechnungen konstant. Zur Sicherheit wurden jedoch in den weiteren Bildgebungsversuchen  $j = 50$  Wiederholungen gewählt.



**Abbildung 5.7** Auswirkung der Wiederholrate auf den dynamischen Kontrast. Gezeigt sind dOCT-Bilder einer Schweineniere, die aus einer absteigenden Anzahl von B-Scans (wie in den Einzelbildern dargestellt) desselben Datensatzes generiert wurden. Die Aufnahme erfolgte mit dem MHz-OCT-System unter Verwendung der in **Tabelle 8** aufgeführten Parameter. Farbkanäle: Blau (<0,75 Hz), Grün (0,75–3 Hz), Rot (3–6 Hz).

Zusätzlich wurden die Signalfluktuationen für die Bestimmung des Zeitintervalls zwischen zwei Scanwiederholungen evaluiert. In der Probe konnten jedoch weder extrem

hoch- noch niederfrequente Signalfluktuationen festgestellt werden. Daher wurde für die weiteren Bildgebungsversuche das gleiche Zeitintervall wie bei den dmOCT-Experimenten von 82 ms übernommen [143]. Bei einer Auflösung von 2048 A-Scans pro B-Scan entspricht dies einer Subvolumengröße von  $n = 50$  B-Scans und einer Subvolumenrate von 12,2 Hz. Für ein isotropes Gesamtvolumen wurden  $i = 40$  aneinandergrenzende Subvolumen erfasst. Ein Datensatz eines einzelnen Subvolumens umfasst  $2048 \times 50 \times 1200$  Voxel, was bei einer Wiederholrate von  $j = 50$  zu einer Datensatzgröße von 12 GB führt. Die Aufnahme und Speicherung der angrenzenden Subvolumen erfolgten sequenziell. Aufgrund der großen Datenmengen und der nicht optimierten Speicherprozesse der verwendeten LabVIEW-OCT-Software, die zu langen Totzeiten führen, dauerte die Aufnahme eines Gesamtvolumens von 480 GB etwa 20 Minuten, obwohl die reine Scanzeit nur 2,75 Minuten betrug.

### 5.3.2. Schweineniere als Gewebeprobe

Die Bildgebungsversuche wurden an einer *ex vivo* Schweineniere durchgeführt, die als Schlachtnebenprodukt von einem örtlichen Schlachthof bezogen wurde. Um die Gewebeintegrität zu gewährleisten, wurde das Organ in einer mit Eis gekühlten Transportbox aufbewahrt. Für die OCT-Aufnahmen wurden mit einer Biopsiestanze 12 mm große Segmente aus der Nierenrinde und dem Nierenmark entnommen, die nach Abschluss der Experimente in 4 % PFA fixiert wurden. Für die histologische Analyse wurde das fixierte Gewebe in Paraffin eingebettet, mit einem Mikrotom in 5  $\mu\text{m}$  dicke Schnitte unterteilt, mit Hämatoxylin und Eosin eingefärbt und mit einem automatischen Objektträger-Scanner (PANNORAMIC MIDI II, 3DHISTECH Ltd., Ungarn) digitalisiert.

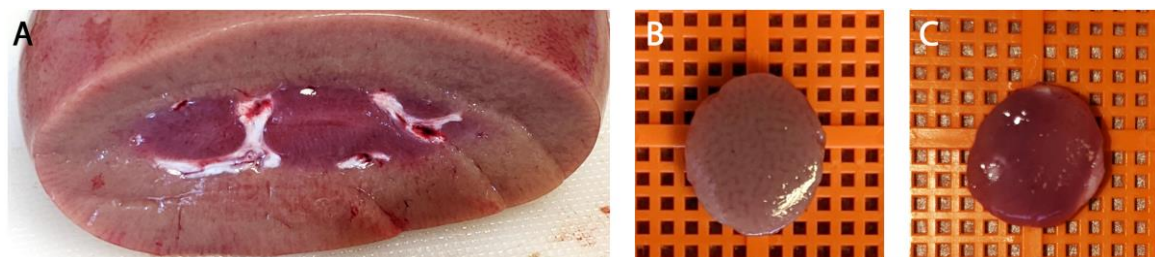


Abbildung 5.8 Fotos der Gewebeproben.

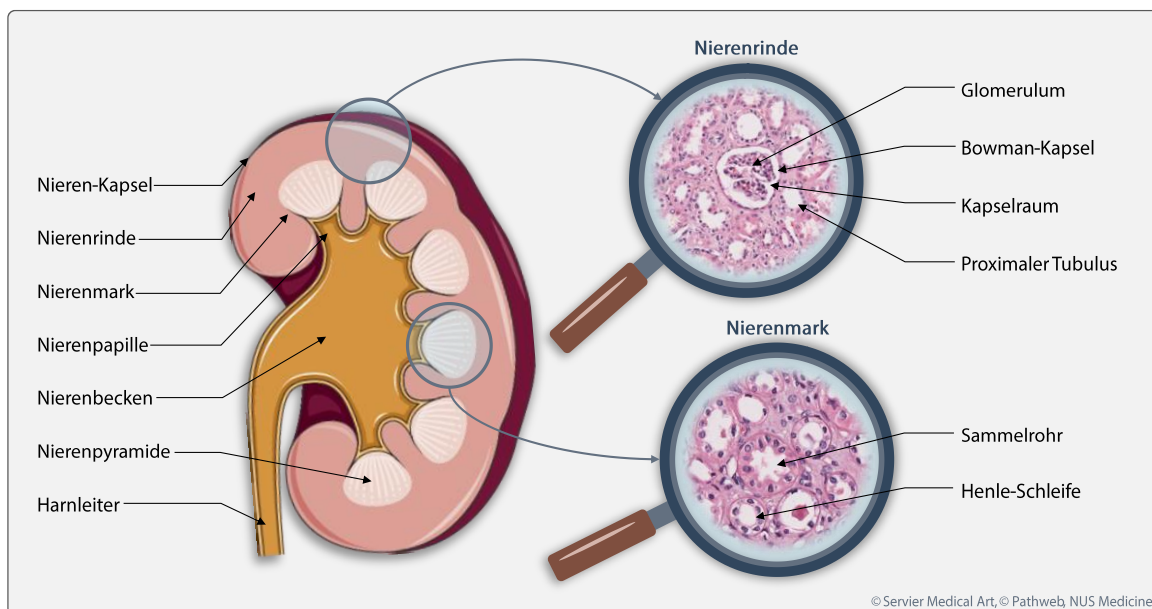
A) Schweineniere im Querschnitt; B) Nierenrinde; C) Nierenmark.

Abbildung 5.8 zeigt Fotos der Gewebeproben sowie einen Querschnitt der Schweineniere. Für die Bildgebung der Nierenrinde wurde die oberste Gewebeschicht entfernt und das Präparat so ausgerichtet, dass die Oberfläche nach oben zeigte, um *in vivo*-Bedingungen zu simulieren. Zur Darstellung des Nierenmarks wurde eine Gewebeprobe aus dem inneren Bereich der Niere entnommen. Um den Brechungsindex an die Proben anzupassen,

wurde während der OCT-Aufnahmen ein 1 mm dickes Deckglas auf die Gewebeproben aufgelegt. Alle hier gezeigten OCT-Messungen erfolgten mit dem 20x-Objektiv.

### 5.3.3. Anatomie der Niere

Die Niere ist ein hochspezialisiertes Organ, das eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung der Homöostase spielt. Ihre komplexe, strukturelle Organisation unterstützt die effiziente Durchführung von Filtrations- und Reabsorptionsprozessen und sie produziert Hormone, die den Blutdruck und die Erythropoese beeinflussen. **Abbildung 5.9** stellt schematisch den Aufbau einer Niere dar sowie zwei exemplarische histologische Schnitte der erfassten Regionen.



**Abbildung 5.9** Anatomie der Niere mit histologischen Einblicken in Nierenrinde und Nierenmark. Die schematische Darstellung der Niere stammt von Servier Medical Art [39] und die hochauflösten H&E-Schnittbilder aus dem Histologie-Atlas der National University of Singapore [145].

Die Niere lässt sich in drei Hauptregionen unterteilen: Nierenrinde, Nierenmark und Nierenbecken [117]. Die äußere Nierenrinde enthält die Nierenkörperchen, die aus Glomeruli und Bowman-Kapseln bestehen und den Ausgangspunkt der Blutfiltration bilden. Der gefilterte Primärharn gelangt in den proximalen Tubulus, wo essenzielle gelöste Stoffe und Wasser rückresorbiert werden. Das tiefer liegende Nierenmark beherbergt die Nierenpyramiden, in denen sich die Henle-Schleife und die Sammelkanäle befinden. Die Henle-Schleife erzeugt durch Wasser- und Ionenreabsorption einen Konzentrationsgradienten, der es den Sammelkanälen ermöglicht, unter Einfluss des antidiuretischen Hormons den Harn weiter

zu konzentrieren. Der Urin fließt von den Sammelkanälen zur Spitze der Pyramiden, der Nierenpapille, und von dort in das Nierenbecken. Das Nierenbecken fungiert als Sammelstelle für den Urin aus allen Pyramiden und leitet ihn in den Harnleiter, der ihn schließlich zur Harnblase transportiert. Diese fein abgestimmte Architektur ermöglicht es der Niere, effektiv Blut zu filtern, den Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt zu regulieren und konzentrierten Urin zur Ausscheidung zu produzieren.

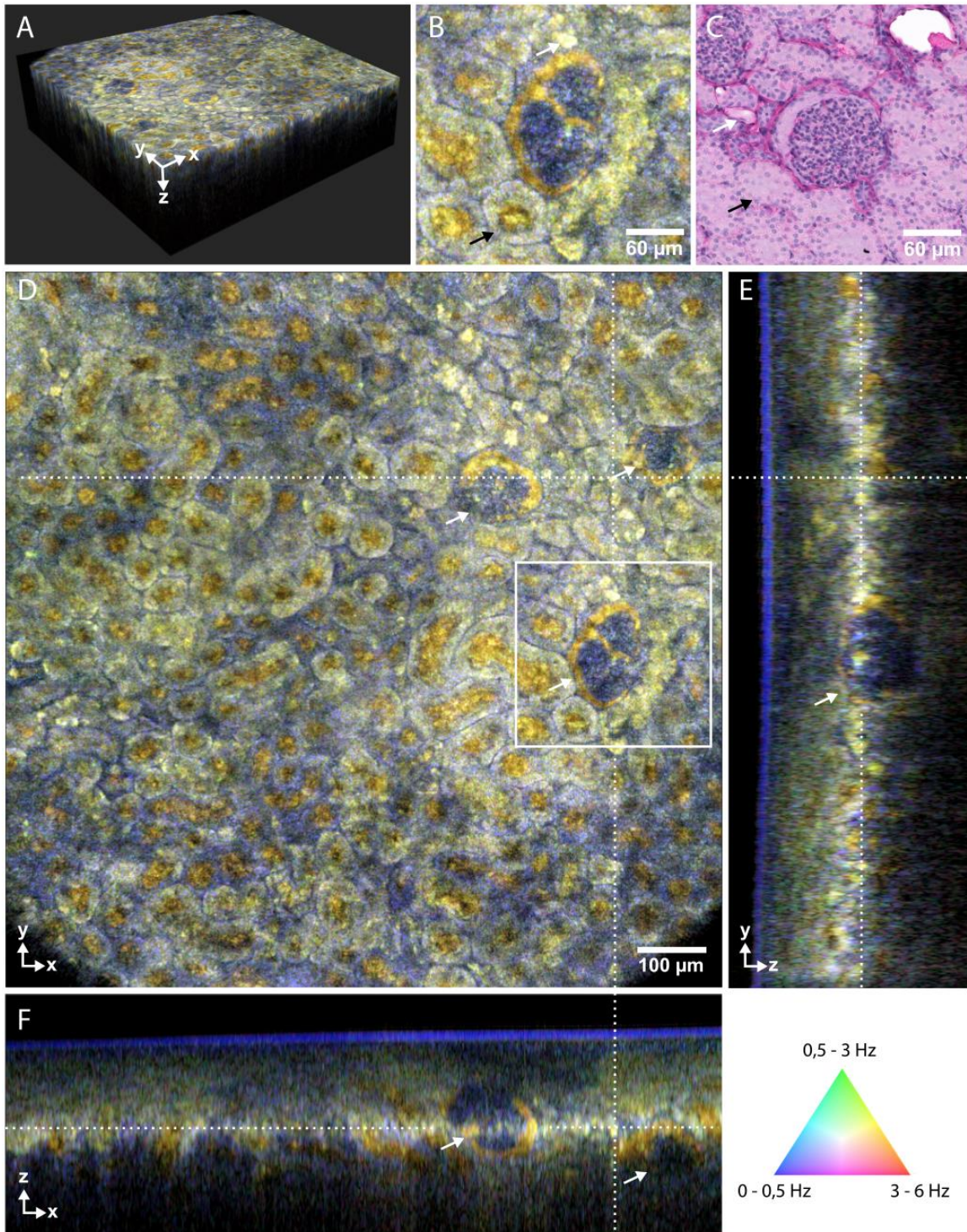
#### 5.3.4. Volumetrische dynamische OCT von Nierenrinde und Nierenmark

**Abbildung 5.10** zeigt Aufnahmen der Nierenrinde. In **Abbildung 5.10 A** wird das resultierende dOCT-Volumen in 3D dargestellt. **Abbildung 5.10 D–F** zeigt Querschnitte des Volumens in allen drei Raumrichtungen, wobei die Positionen der jeweiligen Schnitte durch gestrichelte Linien gekennzeichnet sind. Ein vergrößerter Ausschnitt des *en face*-Schnittbilds in etwa 110  $\mu\text{m}$  Tiefe ist in **Abbildung 5.10 B** abgebildet und einem entsprechenden Ausschnitt aus dem H&E-gefärbten Histologieschnitt der Gewebeprobe in **Abbildung 5.10 C** gegenübergestellt.

Sowohl in den B-Scans als auch in dem *en face*-Schnittbild sind verschiedene anatomische Strukturen der Nierenrinde gut erkennbar. Während sich diese Strukturen in den B-Scans nur im Bereich der Fokalebene abheben, ermöglicht der transversale Anschnitt eine detailliertere Darstellung. Auf einer Fläche von  $1 \times 1 \text{ mm}^2$  sind diverse Strukturen der Nierenrinde erkennbar, wobei die Nierenkörperchen besonders deutlich hervortreten (vgl. weiße Markierungen in **Abbildung 5.10 D–F**). Die dOCT-Aufnahmen erlauben eine klare Abgrenzung zwischen dem Glomerulus und der Bowman-Kapsel. Der Glomerulus, ein Kapillarknäuel, in dem die primäre Filtration der Niere erfolgt, erscheint bläulich und weist ein niederfrequentes Signal auf, vermutlich durch die Ansammlung statischer Zellkerne. Im Gegensatz dazu erscheint der Kapselraum, der den Glomerulus umgibt, gelblich, was auf die flüssigkeitsgefüllte, zellarme Struktur zurückzuführen ist. Diese optischen Kontraste ermöglichen die präzise Identifikation der einzelnen Komponenten.

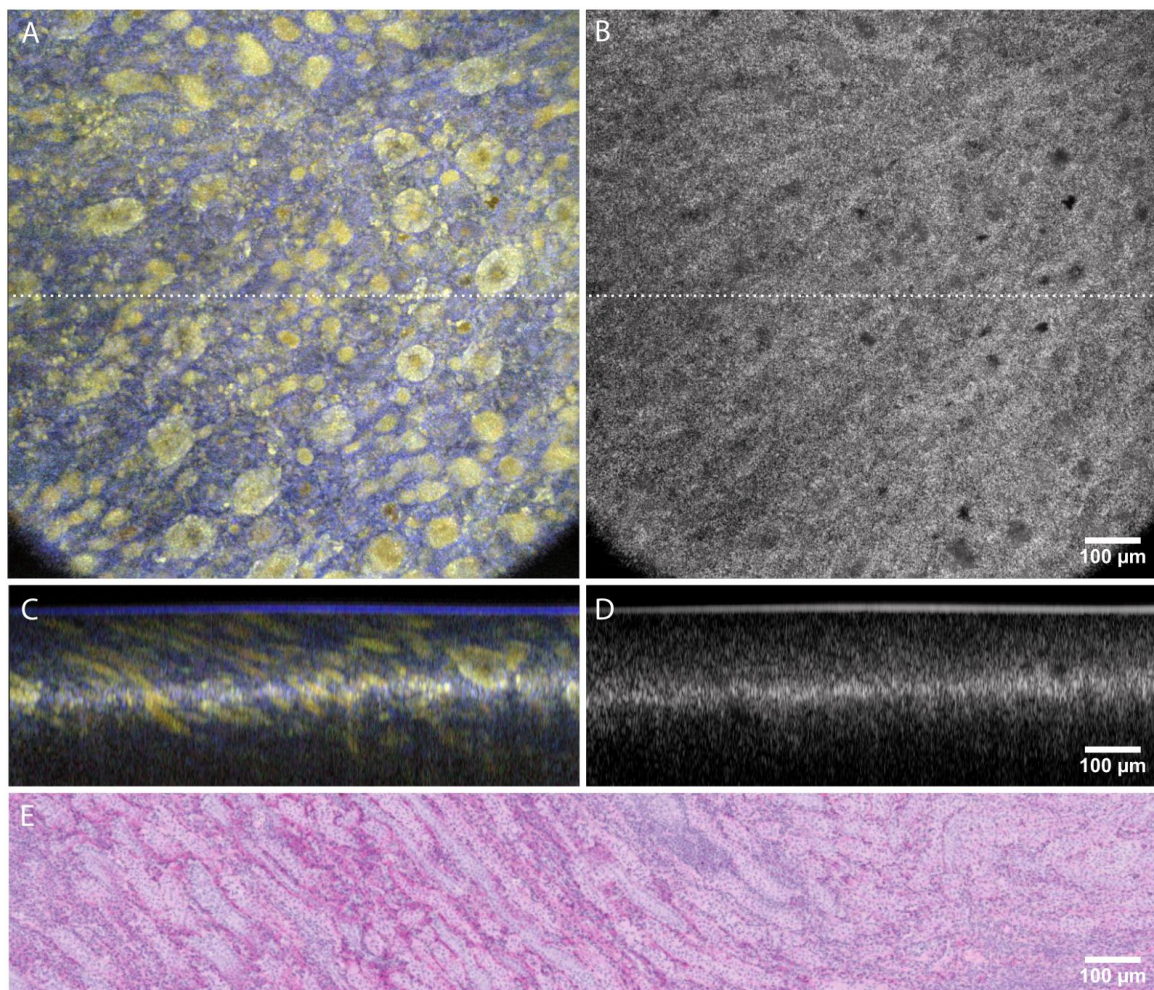
Zusätzlich zu den Nierenkörperchen zeigen die dOCT-Aufnahmen weitere gelbliche Strukturen, die in **Abbildung 5.10 B** durch schwarze Pfeile markiert sind. Diese runden bzw. länglichen Strukturen repräsentieren Tubuli, die für die Rückresorption essenzieller Stoffe und von Wasser verantwortlich sind. Trotz der *ex vivo*-Bedingungen, bei denen das Gewebe bereits seit mehreren Stunden isoliert war, sind in den Tubuli weiterhin Restbewegungen

der Moleküle nachweisbar, was zu einem gelblichen, hochfrequenten Signal im Tubuluslumen führt.



**Abbildung 5.10** Volumetrische dynamische MHz-OCT der Nierenrinde. A) Darstellung des dOCT-Volumens in 3D, D) als einzelner *en face*-Tiefenschnitt im Fokusbereich in ca. 110 µm Tiefe und E-F) als B-Scans in X- und Y-Richtung. Nierenkörperchen sind in allen drei Ansichten deutlich sichtbar (weiße Pfeile). B) In dem Zoom-Ausschnitt des *en face*-Schnitts sind weitere Details wie Tubuli (schwarzer Pfeil) und einzelne Zellen (weißer Pfeil) differenzierbar. C) H&E-Schnittbild der Probe. Vergrößerung des Objektivs: 20x. FOV: 1040x1040x480 µm<sup>2</sup>.

Die umgebenden Strukturen erscheinen grün und weisen niederfrequente Bewegungen auf. Vereinzelt Strukturen mit einer Größe von 10–20  $\mu\text{m}$ , die durch eine hohe Intensität dargestellt und in **Abbildung 5.10 B** markiert sind, könnten einzelne Nierenzellen darstellen. Ein vergrößerter Ausschnitt des *en face*-Schnittbilds ist in **Abbildung 5.10 B** abgebildet. Die Histologie bestätigt die in den dOCT-Aufnahmen beobachteten Strukturen. Die dargestellten Nierenkörperchen weisen eine räumliche Ausdehnung von 100 – 250  $\mu\text{m}$  auf, was mit Messwerten der Literatur übereinstimmt. Es ist jedoch zu beachten, dass die Maßstabsbalken in den dOCT-Bildern und den histologischen Schnitten aufgrund der Schrumpfung des Gewebes während der histologischen Verarbeitung nicht direkt vergleichbar sind.



**Abbildung 5.11** Volumetrische dynamische MHz-OCT des Nierenmarks. A, C) Dynamische Kontrastaufnahmen im Vergleich zu B, D) konventionellen Intensitätsbildern. A-B) OCT *en face*-Tiefenschnitte im Fokusbereich (ca. 140  $\mu\text{m}$  tief); C-D) B-Scans an in A-B) markierter Position; E) H&E-Schnittbild der Probe. Farbkanäle: Blau (<0,5 Hz), Grün (0,5–3 Hz), Rot (3–6 Hz). Vergrößerung des Objektivs: 20x. FOV OCT: 1040 $\times$ 1040 $\times$ 480  $\mu\text{m}^2$ .

Im Gegensatz zur Nierenrinde zeichnet sich das Nierenmark vor allem durch die parallele Anordnung der Henle-Schleifen und Sammelrohre aus. **Abbildung 5.11** zeigt eine volumetrische dOCT-Aufnahme des Nierenmarks. **Abbildung 5.11 A-B** zeigen *en face*-Schnittbilder des Fokusbereichs in etwa 140  $\mu\text{m}$  Tiefe. Die gestrichelten Linien markieren die Positionen der zugehörigen B-Scans, die in **Abbildung 5.11 C-D** dargestellt sind. Zum Vergleich werden die dOCT-Bilder (**Abbildung 5.11 A, C**) den konventionellen OCT-Intensitätsbildern (**Abbildung 5.11 B, D**) gegenübergestellt. In **Abbildung 5.11 E** ist ein H&E-Schnittbild der Probe dargestellt.

In den dOCT-Aufnahmen sind zelluläre Strukturen sichtbar, die in den statischen Intensitätsbildern nicht erkennbar sind. Während in der *en face*-Schnittebene eher rundliche Querschnitte der verschiedenen Sammelröhren zu erkennen sind, zeigen die B-Scans dünne, längliche Strukturen. Diese sind auch außerhalb des Fokusbereichs noch deutlich zu erkennen. Die beobachteten Dimensionen entsprechen den typischen Durchmessern von Henle-Schleifen (20-50  $\mu\text{m}$ ) [146]. Größere Strukturen mit Durchmessern von etwa 100  $\mu\text{m}$  deuten auf Sammelrohre hin, die durch einen hellgrünen Ring mit einem orangefarbenen Zentrum charakterisiert sind. Wie bei den in **Abbildung 5.10** sichtbaren Tubuli bestehen die Wände dieser Gänge aus ringförmig angeordneten, statischen Zellen, was zu niedrigfrequenten Signalen in diesem Bereich führt. Im Gegensatz dazu stehen Flüssigkeitsbewegungen im Lumen, die durch hochfrequente Signale in orange dargestellt werden. Eine Unterscheidung zwischen Henle-Schleifen und Sammelröhren ist nur anhand ihrer Größe möglich, ähnlich wie bei der Histologie (**Abbildung 5.11 E**).

## 5.4. DISKUSSION

Insgesamt konnte erfolgreich gezeigt werden, dass auch mit MHz-OCT eine dynamische Kontrastbildgebung realisierbar ist. Der zusätzliche Kontrast ermöglicht insbesondere eine klarere Differenzierung von Strukturen, die in der Standarddarstellung der OCT-Intensitätswerte kaum oder gar nicht sichtbar sind. Dies könnte beispielsweise für die Abgrenzung von Schleimhautschichten oder die Beurteilung von Verbrennungen von Vorteil sein. Wie die dOCT-Aufnahme in **Abbildung 5.2** zeigt, ist dabei nicht zwingend eine hohe laterale Auflösung erforderlich.

Die hochaufgelösten, volumetrischen dynamischen MHz-OCT-Aufnahmen der Schweiniere zeigen eindeutig, dass trotz der begrenzten axialen Auflösung eine Visualisierung mikroanatomischer Strukturen möglich ist. Die Erweiterung auf dreidimensionale Daten

und die Darstellung von *en face*-Schnittbildern erlaubt eine klare Differenzierung der Gewebestrukturen bis hin zur Erkennung einzelner Zellen. Die Ergebnisse der Nierenrindenaufnahmen verdeutlichen, dass wichtige anatomische Details wie Nierenkörperchen einschließlich mikroskopischer Bestandteile visualisiert werden können. Diese Technik eröffnet somit neue Möglichkeiten zur dreidimensionalen Quantifizierung von biologischem Gewebe *in vivo*.

Gerade in Bezug auf die hier gezeigten dOCT-Bilder stellt die Prätransplantationsdiagnostik der Niere ein vielversprechendes Anwendungsfeld dar [147-149]. Der zunehmende Mangel an Spenderorganen und die Notwendigkeit, auch Organe von Spendern mit erweiterten Kriterien zu nutzen, erhöhen den Bedarf an bildgebenden Verfahren zur Beurteilung der Organqualität [150]. Bestehende Methoden, die oft auf visueller Inspektion beruhen, bieten nicht die notwendige Auflösung, um die mikrostrukturelle Integrität von Spenderorganen zu beurteilen [151]. Der Einsatz von MHz-OCT mit zusätzlichem dynamischen Kontrast könnte eine präzisere Beurteilung von Spendernieren ermöglichen und so zu einer besseren Entscheidungsfindung führen.

Ein weiteres potenzielles Einsatzgebiet ist die optische Biopsie. Im Gegensatz zu invasiven Verfahren, gefolgt von zeitaufwändigen histologischen Analysen könnte die dynamische OCT-Technik eine sofortige und nicht-invasive Gewebeanalyse ermöglichen. Verglichen mit H&E-histologischen Schnittbildern liefert die dOCT durch die Visualisierung dynamischer Prozesse einen zusätzlichen Informationskanal mit verbessertem Kontrast. Während in der histologischen Ansicht in **Abbildung 5.10 C** verschiedene Tubuli lediglich anhand der ringförmigen Anordnung der Zellkerne erkennbar sind, bietet die dOCT *en face*-Ansicht (**Abbildung 5.10 B, D**) einen klaren Kontrast zwischen Nierenkanälen und umgebender extra-zellulärer Matrix. Auch die Tubulus-Lumen sind aufgrund höherer Flussbewegungen farblich abgesetzt, was sich mit der klassischen H&E-Färbung nicht darstellen lässt.

Allerdings reicht im Vergleich zu den zuvor demonstrierten D-FFOCT- und dmOCT-Techniken die Auflösung der dynamischen MHz-OCT mit den hier verwendeten Mikroskopobjektiven nicht aus, um intrazelluläre Strukturen zu visualisieren. Hierfür wären höhere spektrale Bandbreiten oder kürzere Zentralwellenlängen erforderlich. Der Vorteil der MHz-OCT mit nahinfraroter Lasertechnik liegt in der größeren Eindringtiefe. Die Aufnahmen zeigen, dass mikroanatomische Strukturen selbst in Gewebetiefen von über 200  $\mu\text{m}$  erkennbar

sind. Besonders hervorzuheben ist die hohe Geschwindigkeit der MHz-OCT. Der direkte Vergleich in Abschnitt 5.2 zeigt, dass die Bildrate des MHz-OCT-Systems im Vergleich zur Standard-Ausführung des dmOCT-Systems 15-mal höher ist.

Gleichzeitig muss berücksichtigt werden, dass die Aufnahme eines Volumens inklusive Speicherung etwa 20 Minuten dauerte und eine Datenmenge von 480 GB erzeugte. Aufgrund dieser großen Datenmengen und der Verwendung des intervolumetrischen Scanprotokolls erfolgten die OCT-Aufnahmen mit der OCT-LabVIEW-Software statt der Echtzeit Streaming-fähigen LURO-Software [70]. Eine Anpassung des Scanmusters in der LURO-Software und echtzeitfähige Berechnung des dynamischen Kontrasts könnte zukünftige Arbeitsabläufe beschleunigen und die dynamische Überwachung biologischer Prozesse unterstützen.

Zusammenfassend erweitert die Anwendung von dynamischem Kontrast auf MHz-OCT-Daten nicht nur das Verständnis der Mikrostruktur und Dynamik biologischer Gewebe, sondern eröffnet auch neue Perspektiven für klinische Anwendungen.

# 6

## GESAMTFAZIT UND PERSPEKTIVEN

Insgesamt zeigt sich, dass die in dieser Arbeit vorgestellten neuen MHz-OCT-Technologien ein erhebliches Potenzial für die zukünftige medizinische Bildgebung bieten, welche sowohl die Diagnostik als auch die Therapieüberwachung erheblich verbessern können. Die erfolgreiche Integration robotischer und endoskopischer Systeme eröffnet neue Perspektiven in diversen klinischen Bereichen. Besonders hervorzuheben ist die Erweiterung der Standard-MHz-OCT-Bildgebung um den dynamischen Kontrast, der die diagnostischen Möglichkeiten maßgeblich erweitert. Neben den Vorteilen, die in den einzelnen Kapiteln speziell für die Dermatologie und Gastroenterologie diskutiert wurden, bieten die entwickelten Systeme zudem weitere Perspektiven für zukünftige Anwendungsfelder.

Ein besonders vielversprechender Bereich ist die hochinnovative Roboterindustrie. Die hochauflösende, dreidimensionale OCT-Sensortechnik, die im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurde, könnte in der Zukunft speziell in der robotergestützten Chirurgie von entscheidender Bedeutung werden. Statt der vorgestellten robotergestützten OCT-Bildgebung könnte die OCT-gestützte Roboternavigation eine Schlüsseltechnologie für die Zukunft darstellen. Ähnlich wie LIDAR-Sensoren (engl. *light detection and ranging*) in selbstfahrenden Fahrzeugen könnte die automatische Abstandskontrolle durch OCT eine effiziente und präzise Navigation und Steuerung von Robotern in der Chirurgie und bei minimal-invasiven Eingriffen ermöglichen.

Ein weiteres zentrales Ergebnis dieser Arbeit ist die Untersuchung der Anwendung von kostengünstigen Drohnenmotoren als Ersatz für hochpreisige Hochgeschwindigkeitsscanner. Der Einsatz dieser Motoren könnte die derzeitigen Einschränkungen der Endoskope in der Scangeschwindigkeit überwinden und die MHz-OCT-Technologie weiter optimieren.

Insbesondere durch die Entwicklung geeigneter optischer Systeme und komplexer Scanverfahren könnte der Einsatz dieser Motoren auch außerhalb von Endoskopen erfolgen, wodurch die hohen Bildraten der MHz-OCT-Technologie effektiver genutzt werden könnten.

Eine der vielversprechendsten Perspektiven ist der funktionelle, dynamische Kontrast, der eine detailliertere Darstellung von Geweben und Organen ermöglicht. Der farbige Bildeindruck, der in Zukunft für den Betrachter zugänglich sein wird, ist eine bedeutende Weiterentwicklung im Vergleich zu den traditionellen schwarz-weißen OCT-Bildern und erhöht die intuitivere Erfassung relevanter medizinischer Informationen. Diese zusätzliche Modalität könnte außerdem die Anwendung von KI-Methoden unterstützen, um die automatische Erkennung und Klassifizierung von Gewebepathologien zu verbessern.

Insbesondere die Kombination der in dieser Arbeit vorgestellten drei Technologien eröffnet zahlreiche neue Anwendungsmöglichkeiten und Perspektiven für die medizinische Praxis. In der endoskopischen Bildgebung könnte ein robotergestütztes System beispielsweise dazu beitragen, schnelle und präzise Übersichtsscans von Dickdarmgewebe zu erzeugen. Dank der exakten Roboterpositionierung ließe sich anschließend eine präzise Analyse potenziell pathologischer Bereiche durchführen. Der zusätzliche dynamische Kontrast könnte dabei helfen, kritische Läsionen oder Entzündungen zuverlässiger zu detektieren und unnötige Biopsien sowie potenzielle Krankheitsverläufe zu vermeiden.

Ein weiteres Anwendungsszenario bietet die Transplantationsmedizin. Ähnlich wie in dem Forschungsansatz von Ma et al. [57] könnten Organe auf ihre Vitalität hin untersucht werden. Hier könnte die robotergestützte MHz-OCT die vollständige Aufnahme der Organoberfläche ermöglichen, während miniaturisierte Endoskopsonden auch innere Areale in Echtzeit analysieren könnten. Besonders der zusätzliche dOCT-Kontrast ist für die Vitalitätsanalyse von entscheidender Bedeutung, da er eine präzisere Beurteilung der Organfunktionen ermöglicht.

Zusammenfassend bieten die in dieser Arbeit vorgestellten Errungenschaften und Weiterentwicklungen der MHz-OCT-Technologie eine vielversprechende Grundlage für die medizinische Diagnostik und Therapieüberwachung. Der Schlüssel für ihren langfristigen Erfolg wird in der weiteren Optimierung der Echtzeitvisualisierung und -analyse liegen. Durch die Weiterentwicklung der Hardware und Bildgebungsalgorithmen sowie die Integration von KI könnte diese Technologie nicht nur bestehende Verfahren ergänzen, sondern die medizinische Bildgebung in Zukunft grundlegend verändern.

## LITERATURVERZEICHNIS

1. D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin, J. S. Schuman, W. G. Stinson, W. Chang, M. R. Hee, T. Flotte, K. Gregory, C. A. Puliafito, und J. G. Fujimoto, "Optical Coherence Tomography," *Science* **254**, 1178-1181 (1991). DOI:10.1126/science.1957169.
2. A. F. Fercher, C. K. Hitzenberger, G. Kamp, und S. Y. El-Zaiat, "Measurement of intraocular distances by backscattering spectral interferometry," *Optics Communications* **117**, 43-48 (1995). DOI:10.1016/0030-4018(95)00119-5.
3. M. A. Choma, M. V. Sarunic, C. Yang, und J. A. Izatt, "Sensitivity advantage of swept source and Fourier domain optical coherence tomography," *Opt. Express* **11**, 2183-2189 (2003). DOI:10.1364/OE.11.002183.
4. W. Drexler und J. G. Fujimoto, *Optical Coherence Tomography*, 2 ed. (Springer Science+Business Media, 2015). DOI:10.1007/978-3-319-06419-2.
5. R. Huber, M. Wojtkowski, K. Taira, J. Fujimoto, und K. Hsu, "Amplified, frequency swept lasers for frequency domain reflectometry and OCT imaging: design and scaling principles," *Opt Express* **13**, 3513-3528 (2005). DOI:10.1364/opex.13.003513.
6. W. Wieser, B. R. Biedermann, T. Klein, C. M. Eigenwillig, und R. Huber, "Multi-Megahertz OCT: High quality 3D imaging at 20 million A-scans and 4.5 GVoxels per second," *Opt. Express* **18**, 14685-14704 (2010). DOI:10.1364/OE.18.014685.
7. W. Wieser, W. Draxinger, T. Klein, S. Karpf, T. Pfeiffer, und R. Huber, "High definition live 3D-OCT in vivo: design and evaluation of a 4D OCT engine with 1 GVoxel/s," *Biomed. Opt. Express* **5**, 2963-2977 (2014). DOI:10.1364/BOE.5.002963.
8. E. Beaurepaire, A. C. Boccara, M. Lebec, L. Blanchot, und H. Saint-Jalmes, "Full-field optical coherence microscopy," *Opt. Lett.* **23**, 244-246 (1998). DOI:10.1364/OL.23.000244.
9. Y. Chen, S.-W. Huang, A. D. Aguirre, und J. G. Fujimoto, "High-resolution line-scanning optical coherence microscopy," *Opt. Lett.* **32**, 1971-1973 (2007). DOI:10.1364/OL.32.001971.
10. A. Dubois, O. Levecq, H. Azimani, D. Siret, A. Barut, M. Suppa, V. del Marmol, J. Malvehy, E. Cinotti, P. Rubegni, und J.-L. Perrot, "Line-field confocal optical coherence tomography for high-resolution noninvasive imaging of skin tumors," *Journal of Biomedical Optics* **23**, 106007 (2018). DOI:10.1117/1.JBO.23.10.106007
11. D. Hillmann, H. Spahr, C. Pfäffle, H. Sudkamp, G. Franke, und G. Hüttmann, "In vivo optical imaging of physiological responses to photostimulation in human photoreceptors," *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 13138-13143 (2016). DOI:doi:10.1073/pnas.1606428113.
12. A. M. Rollins und J. A. Izatt, "Optimal interferometer designs for optical coherence tomography," *Opt. Lett.* **24**, 1484-1486 (1999). DOI:10.1364/OL.24.001484.
13. R. Leitgeb, C. K. Hitzenberger, und A. F. Fercher, "Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography," *Opt. Express* **11**, 889-894 (2003). DOI:10.1364/OE.11.000889.
14. G. Haeusler und M. Lindner, "'Coherence radar" and "Spectral radar"- new tools for dermatological diagnosis," *Journal of Biomedical Optics* **3**(1998). DOI:10.1117/1.429899
15. M. Gora, K. Karnowski, M. Szkulmowski, B. J. Kaluzny, R. Huber, A. Kowalczyk, und M. Wojtkowski, "Ultra high-speed swept source OCT imaging of the anterior segment of human eye at 200 kHz with adjustable imaging range," *Opt. Express* **17**, 14880-14894 (2009). DOI:10.1364/OE.17.014880.

16. M. Göb, T. Pfeiffer, W. Draxinger, S. Lotz, J. P. Kolb, und R. Huber, "Continuous spectral zooming for in vivo live 4D-OCT with MHz A-scan rates and long coherence," *Biomed. Opt. Express* **13**, 713-727 (2022). DOI:10.1364/BOE.448353.
17. J. P. Kolb, T. Klein, C. L. Kufner, W. Wieser, A. S. Neubauer, und R. Huber, "Ultra-widefield retinal MHz-OCT imaging with up to 100 degrees viewing angle," *Biomed. Opt. Express* **6**, 1534-1552 (2015). DOI:10.1364/BOE.6.001534.
18. J. P. Kolb, W. Draxinger, J. Klee, T. Pfeiffer, M. Eibl, T. Klein, W. Wieser, und R. Huber, "Live video rate volumetric OCT imaging of the retina with multi-MHz A-scan rates," *PLOS ONE* **14**, e0213144 (2019). DOI:10.1371/journal.pone.0213144.
19. T. Wang, T. Pfeiffer, E. Regar, W. Wieser, H. van Beusekom, C. T. Lancee, G. Springeling, I. Krabbendam, A. F. W. van der Steen, R. Huber, und G. van Soest, "Heartbeat OCT: in vivo intravascular megahertz-optical coherence tomography," *Biomed. Opt. Express* **6**, 5021-5032 (2015). DOI:10.1364/BOE.6.005021.
20. W. Draxinger, Y. Miura, C. Grill, T. Pfeiffer, und R. Huber, "A real-time video-rate 4D MHz-OCT microscope with high definition and low latency virtual reality display," in *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media III*, SPIE Proceedings (Optica Publishing Group, 2019), 11078\_11071. DOI:10.1117/12.2527177.
21. R. Huber, M. Wojtkowski, und J. G. Fujimoto, "Fourier Domain Mode Locking (FDML): A new laser operating regime and applications for optical coherence tomography," *Opt. Express* **14**, 3225-3237 (2006). DOI:10.1364/OE.14.003225.
22. W. Wieser, T. Klein, D. C. Adler, F. Trépanier, C. M. Eigenwillig, S. Karpf, J. M. Schmitt, und R. Huber, "Extended coherence length megahertz FDML and its application for anterior segment imaging," *Biomed. Opt. Express* **3**, 2647-2657 (2012). DOI:10.1364/BOE.3.002647.
23. T. Pfeiffer, M. Petermann, W. Draxinger, C. Jiruschek, und R. Huber, "Ultra low noise Fourier domain mode locked laser for high quality megahertz optical coherence tomography," *Biomed. Opt. Express* **9**, 4130-4148 (2018). DOI:10.1364/BOE.9.004130.
24. D. C. Adler, W. Wieser, F. Trepanier, J. M. Schmitt, und R. A. Huber, "Extended coherence length Fourier domain mode locked lasers at 1310 nm," *Opt. Express* **19**, 20930-20939 (2011). DOI:10.1364/OE.19.020930.
25. M. Klufts, S. Lotz, M. Bashir, S. Karpf, und R. Huber, *Ultra-high-accuracy chromatic dispersion measurement in optical fibers*, SPIE OPTO (SPIE, 2022), Vol. 11997.
26. W. Wieser, B. R. Biedermann, T. Klein, C. M. Eigenwillig, und R. Huber, "Ultra-rapid dispersion measurement in optical fibers," *Opt. Express* **17**, 22871-22878 (2009). DOI:10.1364/OE.17.022871.
27. R. H. T. Pfeiffer, "Verfahren zur Erhaltung der Synchronität eines Fourier Domain Mode Locked (FDML) Lasers," Patent, DE 10 2017 209 739.6 (2018).
28. R. Huber, D. C. Adler, und J. G. Fujimoto, "Buffered Fourier domain mode locking: unidirectional swept laser sources for optical coherence tomography imaging at 370,000 lines/s," *Opt. Lett.* **31**, 2975-2977 (2006). DOI:10.1364/OL.31.002975.
29. S. Lotz, M. Göb, W. Draxinger, A. Dick, und R. Huber, "13.4 MHz FDML Laser for Intra-Surgical Optical Coherence Tomography," in *Conference on Lasers and Electro-Optics Europe & European Quantum Electronics Conference (CLEO/Europe-EQEC)*, 2023), 1-1. DOI:10.1109/CLEO/Europe-EQEC57999.2023.10231419.
30. J. P. Fingler, "Motion Contrast Using Optical Coherence Tomography," (California Institute of Technology, Pasadena, California, USA, 2007).

31. A. J. Deegan, F. Talebi-Liasi, S. Song, Y. Li, J. Xu, S. Men, M. M. Shinohara, M. E. Flowers, S. J. Lee, und R. K. Wang, "Optical coherence tomography angiography of normal skin and inflammatory dermatologic conditions," *Lasers in Surgery and Medicine* **50**, 183-193 (2018). DOI:10.1002/lsm.22788.
32. T. Peñate Medina, J. P. Kolb, G. Hüttmann, R. Huber, O. Peñate Medina, L. Ha, P. Ulloa, N. Larsen, A. Ferrari, M. Rafecas, M. Ellrichmann, M. S. Pravdivtseva, M. Anikeeva, J. Humbert, M. Both, J. E. Hundt, und J. B. Hövener, "Imaging Inflammation - From Whole Body Imaging to Cellular Resolution," *Frontiers in Immunology* **12**, 692222 (2021). DOI:10.3389/fimmu.2021.692222.
33. L. Yang, Y. Chen, S. Ling, J. Wang, G. Wang, B. Zhang, H. Zhao, Q. Zhao, und J. Mao, "Research progress on the application of optical coherence tomography in the field of oncology," *Frontiers in Oncology* **12**(2022). DOI:10.3389/fonc.2022.953934.
34. T. H. Tsai, J. G. Fujimoto, und H. Mashimo, "Endoscopic Optical Coherence Tomography for Clinical Gastroenterology," *Diagnostics (Basel, Switzerland)* **4**, 57-93 (2014). DOI:10.3390/diagnostics4020057.
35. F. Adan, P. J. Nelemans, B. A. B. Essers, T. Brinkhuizen, S. R. P. Dodemont, J. Kessels, P. J. F. Quaedvlieg, G. J. Dermont, V. J. L. Winnepenninckx, M. Abdul Hamid, N. W. J. Kelleners-Smeets, und K. Mosterd, "Optical coherence tomography versus punch biopsy for diagnosis of basal cell carcinoma: a multicentre, randomised, non-inferiority trial," *The Lancet. Oncology* **23**, 1087-1096 (2022). DOI:10.1016/s1470-2045(22)00347-3.
36. J. Perez-Anker, S. Puig, L. Alos, A. García, B. Alejo, E. Cinotti, C. Orte Cano, L. Tognetti, C. Lenoir, J. Monnier, N. Machuca, P. Castillo, P. R. Gibert, P. Rubegni, M. Suppa, J. L. Perrot, V. del Marmol, und J. Malveyh, "Morphological evaluation of melanocytic lesions with three-dimensional line-field confocal optical coherence tomography: correlation with histopathology and reflectance confocal microscopy. A pilot study," *Clinical and Experimental Dermatology* **47**, 2222-2233 (2022). DOI:10.1111/ced.15383.
37. A. Song, K.-M. Roh, J. B. Lusk, N. G. Valikodath, E. M. Lad, M. Draelos, P. Ortiz, R. G. Theophanous, A. T. Limkakeng, J. A. Izatt, R. P. McNabb, und A. N. Kuo, "Robotic Optical Coherence Tomography Retinal Imaging for Emergency Department Patients: A Pilot Study for Emergency Physicians' Diagnostic Performance," *Annals of Emergency Medicine* **81**, 501-508 (2023). DOI:10.1016/j.annemergmed.2022.10.016.
38. M. Schünke, E. Schulte, U. Schumacher, M. Voll, und K. H. Wesker, *PROMETHEUS LernAtlas der Anatomie: Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem*, 6 ed. (Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2022). DOI:10.1055/b000000613.
39. Servier Medical Art "Abbildung entnommen von <https://smart.servier.com>. Letzter Zugriff am 16.12.2024. Lizenziert unter CC BY 3.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>)."
40. M. Finke, S. Kantelhardt, A. Schlaefler, R. Bruder, E. Lankenau, A. Giese, und A. Schweikard, "Automatic scanning of large tissue areas in neurosurgery using optical coherence tomography," *The International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery* **8**, 327-336 (2012). DOI:10.1002/ircs.1425.
41. M. Baader, A. Mayr, T. Raffin, J. Selzam, A. Kühn, und J. Franke, "Potentials of Optical Coherence Tomography for Process Monitoring in Laser Welding of Hairpin Windings," in *2021 11th International Electric Drives Production Conference (EDPC)*, 2021), 1-10. DOI:10.1109/EDPC53547.2021.9684210.
42. G. Ma, M. McCloud, Y. Tian, A. Narawane, H. Shi, R. Trout, R. P. McNabb, A. N. Kuo, und M. Draelos, "Robotics and optical coherence tomography: current works and future perspectives [Invited]," *Biomed. Opt. Express* **16**, 578-602 (2025). DOI:10.1364/BOE.547943.
43. C.-W. Chen, Y.-H. Lee, M. J. Gerber, H. Cheng, Y.-C. Yang, A. Govetto, A. A. Francone, S. Soatto, W. S. Grundfest, J.-P. Hubschman, und T.-C. Tsao, "Intraocular robotic interventional surgical system (IRISS): Semi-automated OCT-guided cataract removal," *The International Journal of Medical Robotics and Computer Assisted Surgery* **14**, e1949 (2018). DOI:10.1002/ircs.1949.

44. M. Bengs, N. Gessert, M. Schlüter, und A. Schlaefer, "Spatio-temporal deep learning methods for motion estimation using 4D OCT image data," *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery* **15**, 943-952 (2020). DOI:10.1007/s11548-020-02178-z.
45. B. Keller, M. Draelos, K. Zhou, R. Qian, A. N. Kuo, G. Konidaris, K. Hauser, und J. A. Izatt, "Optical Coherence Tomography-Guided Robotic Ophthalmic Microsurgery via Reinforcement Learning from Demonstration," *IEEE Transactions on Robotics* **36**, 1207-1218 (2020). DOI:10.1109/TRO.2020.2980158.
46. Y. Baran, K. Rabenoroosa, G. J. Laurent, P. Rougeot, N. Andreff, und B. Tamadazte, "Preliminary results on OCT-based position control of a concentric tube robot," in *IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS)*, 2017), 3000-3005. DOI:10.1109/IROS.2017.8206137.
47. Y. Tian, M. Draelos, G. Tang, R. Qian, A. Kuo, J. Izatt, und K. Hauser, "Toward Autonomous Robotic Micro-Suturing using Optical Coherence Tomography Calibration and Path Planning," in *IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA)*, 2020), 5516-5522. DOI:10.1109/ICRA40945.2020.9196834.
48. B. Keller, M. Draelos, G. Tang, S. Farsiu, A. N. Kuo, K. Hauser, und J. A. Izatt, "Real-time corneal segmentation and 3D needle tracking in intrasurgical OCT," *Biomed. Opt. Express* **9**, 2716-2732 (2018). DOI:10.1364/BOE.9.002716.
49. M. Sommersperger, A. Martin-Gomez, K. Mach, P. L. Gehlbach, M. Ali Nasser, I. Iordachita, und N. Navab, "Surgical scene generation and adversarial networks for physics-based iOCT synthesis," *Biomed. Opt. Express* **13**, 2414-2430 (2022). DOI:10.1364/BOE.454286.
50. N. Gessert, J. Beringhoff, C. Otte, und A. Schlaefer, "Force estimation from OCT volumes using 3D CNNs," *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery* **13**, 1073-1082 (2018). DOI:10.1007/s11548-018-1777-8.
51. M. Draelos, G. Tang, B. Keller, A. Kuo, K. Hauser, und J. A. Izatt, "Optical Coherence Tomography Guided Robotic Needle Insertion for Deep Anterior Lamellar Keratoplasty," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **67**, 2073-2083 (2020). DOI:10.1109/TBME.2019.2954505.
52. M. Ourak, J. Smits, L. Esteveny, G. Borghesan, A. Gijbels, L. Schoevaerds, Y. Douven, J. Scholtes, E. Lankenau, T. Eixmann, H. Schulz-Hildebrandt, G. Hüttmann, M. Kozlovsky, G. Kronreif, K. Willekens, P. Stalmans, K. Faridpooya, M. Cereda, A. Giani, G. Staurengi, D. Reynaerts, und E. B. Vander Poorten, "Combined OCT distance and FBG force sensing cannulation needle for retinal vein cannulation: in vivo animal validation," *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery* **14**, 301-309 (2019). DOI:10.1007/s11548-018-1829-0.
53. S. Dehghani, M. Sommersperger, P. Zhang, A. Martin-Gomez, B. Busam, P. Gehlbach, N. Navab, M. A. Nasser, und I. Iordachita, "Robotic Navigation Autonomy for Subretinal Injection via Intelligent Real-Time Virtual iOCT Volume Slicing," in *IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA)*, 2023), 4724-4731. DOI:10.1109/ICRA48891.2023.10160372.
54. M. Draelos, P. Ortiz, R. Qian, C. Viehland, R. McNabb, K. Hauser, A. N. Kuo, und J. A. Izatt, "Contactless optical coherence tomography of the eyes of freestanding individuals with a robotic scanner," *Nature Biomedical Engineering* **5**, 726-736 (2021). DOI:10.1038/s41551-021-00753-6.
55. Y. Huang, X. Li, J. Liu, Z. Qiao, J. Chen, und Q. Hao, "Robotic-arm-assisted flexible large field-of-view optical coherence tomography," *Biomed. Opt. Express* **12**, 4596-4609 (2021). DOI:10.1364/BOE.431318.
56. B. He, Y. Zhang, Z. Meng, Z. He, Z. Chen, Z. Yin, Z. Hu, Y. Shi, C. Wang, X. Zhang, N. Zhang, G. Wang, und P. Xue, "Whole Brain Micro-Vascular Imaging Using Robot Assisted Optical Coherence Tomography Angiography," *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics* **29**, 1-9 (2023). DOI:10.1109/JSTQE.2022.3229659.

57. X. Ma, M. Moradi, X. Ma, Q. Tang, M. Levi, Y. Chen, und H. K. Zhang, "Large area kidney imaging for pre-transplant evaluation using real-time robotic optical coherence tomography," *Communications Engineering* **3**, 122 (2024). DOI:10.1038/s44172-024-00264-7.
58. Y. Wang, S. Wei, R. Zuo, M. Kam, J. D. Opfermann, I. Sunmola, M. H. Hsieh, A. Krieger, und J. U. Kang, "Automatic and real-time tissue sensing for autonomous intestinal anastomosis using hybrid MLP-DC-CNN classifier-based optical coherence tomography," *Biomed. Opt. Express* **15**, 2543-2560 (2024). DOI:10.1364/BOE.521652.
59. C. Xu, Z. Fang, H. Gao, T. Zhang, T. Zhang, P. Liu, H. Ren, und W. Yuan, "Patient-Mounted Neuro Optical Coherence Tomography for Targeted Minimally Invasive Micro-Resolution Volumetric Imaging in Brain In Vivo," *Advanced Intelligent Systems* **n/a**, 2400488 (2024). DOI:10.1002/aisy.202400488.
60. S. Burhan, M. Göb, W. Draxinger, und R. Huber, "Design and construction of a motorized XYZ positioning stage for large field of view optical coherence tomography imaging," in *10th Conference on Medical Engineering Science*, (Infinite Science Publishing, Lübeck University Press and Academic Printing, 2021).
61. "TMCM-3110 TMCL™ Firmware Manual. Firmware Version V1.17. Document Revision V1.16," (2021).
62. J. K. Barton und S. Stromski, "Flow measurement without phase information in optical coherence tomography images," *Opt. Express* **13**, 5234-5239 (2005). DOI:10.1364/OPEX.13.005234.
63. C. Blatter, B. Grajciar, T. Schmoll, R. Leitgeb, T. Klein, W. Wieser, R. André, und R. Huber, "Ultrahigh-speed non-invasive widefield angiography," *Journal of Biomedical Optics* **17**, 070505 (2012). DOI:10.1117/1.JBO.17.7.070505.
64. M. J. Ju, M. Heisler, A. Athwal, M. V. Sarunic, und Y. Jian, "Effective bidirectional scanning pattern for optical coherence tomography angiography," *Biomed. Opt. Express* **9**, 2336-2350 (2018). DOI:10.1364/BOE.9.002336.
65. D. Hsu, J. H. Kwon, A. Athwal, Y. Miao, Y. Jian, M. Sarunic, und M. J. Ju, "Effective scanning protocol for optical coherence tomography and angiography using a 1.6 MHz Fourier domain mode-locked laser source," in *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXV*, (SPIE BIOS, 2021). DOI:10.1117/12.2578207.
66. Kuka-AG, "KUKA LBR iiwa Betriebsanleitung V8," (2019).
67. ThorlabsInc., "Datasheet for R1L3S3P" (2023), letzter Zugriff am 16.04.2024, <https://www.thorlabs.de/thorproduct.cfm?partnumber=R1L3S3P>.
68. M. Göb, S. Lotz, L. Ha-Wissel, S. Burhan, S. Böttger, F. Ernst, J. Hundt, und R. Huber, *Advances in large area robotically assisted OCT (LARA-OCT): towards drive-by continuous motion imaging*, European Conferences on Biomedical Optics (SPIE, 2023), Vol. 12632.
69. S. Lotz, M. Göb, S. Böttger, L. Ha-Wissel, J. Hundt, F. Ernst, und R. Huber, "Large area robotically assisted optical coherence tomography (LARA-OCT)," *Biomed. Opt. Express* **15**, 3993-4009 (2024). DOI:10.1364/BOE.525524.
70. W. Draxinger, N. Detrez, P. Strenge, V. Danicke, D. Theisen-Kunde, L. Schützeck, S. Spahr-Hess, P. Kuppler, J. Kren, W. Wieser, M. Mario Bonsanto, R. Brinkmann, und R. Huber, "Microscope integrated MHz optical coherence tomography system for neurosurgery: development and clinical in-vivo imaging," *Biomed. Opt. Express* **15**, 5960-5979 (2024). DOI:10.1364/BOE.530976.
71. D. Queen und K. Harding, "What's the true costs of wounds faced by different healthcare systems around the world?," *Int Wound J* **20**, 3935-3938 (2023). DOI:10.1111/iwj.14491.
72. J. Posnett und P. J. Franks, "The costs of skin breakdown and ulceration in the UK," *Skin Breakdown: The Silent Epidemic*. Smith & Nephew Foundation, Hull, 6-12 (2007).

73. C. Lindholm und R. Searle, "Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency," *International Wound Journal* **13**, 5-15 (2016). DOI:10.1111/iwj.12623.
74. T. M. Sturmheit, N. Nissen, C. Jacobi, M. Göb, R. Pfündl, S. K. Landt, T. Pfeiffer, W. Draxinger, C. Kren, D. Wendt, R. J. Ludwig, N. Koop, R. Huber, R. Paus, M. Brandenburger, C. Kruse, und J. E. Hundt, "Sweat gland derived stem cells promote re-epithelialization in a newly standardized human skin wound healing assay," in Vorbereitung für die Veröffentlichung in *Experimental Dermatology Concise Communication*.
75. L. L.-Y. Chan, C. Zhou, Y. Huang, J. Zou, M. Badar, J. Liu, W. Shi, S. Wang, Q. Guo, X. Wang, S. Kessel, P. Li, Y. Liu, und J. Qiu, "Longitudinal Morphological and Physiological Monitoring of Three-dimensional Tumor Spheroids Using Optical Coherence Tomography," *JoVE*, e59020 (2019). DOI:doi:10.3791/59020.
76. D. A. Gil, D. A. Deming, und M. C. Skala, "Volumetric growth tracking of patient-derived cancer organoids using optical coherence tomography," *Biomed. Opt. Express* **12**, 3789-3805 (2021). DOI:10.1364/BOE.428197.
77. L. Zhang, L. Wang, S. Yang, K. He, D. Bao, und M. Xu, "Quantifying the drug response of patient-derived organoid clusters by aggregated morphological indicators with multi-parameters based on optical coherence tomography," *Biomed. Opt. Express* **14**, 1703-1717 (2023). DOI:10.1364/BOE.486666.
78. L. Ha-Wissel, H. Yasak, R. Huber, D. Zillikens, R. J. Ludwig, D. Thaçi, und J. E. Hundt, "Case report: Optical coherence tomography for monitoring biologic therapy in psoriasis and atopic dermatitis," *Frontiers in Medicine* **9**(2022). DOI:10.3389/fmed.2022.995883.
79. L. Ha-Wissel, H. Graßhoff, M. Göb, B. Mustafa, R. Huber, H. Zirpel, H. Yasak, D. Thaçi, und J. E. Hundt, "Optical coherence tomography-based imaging biomarkers for disease activity monitoring in plaque psoriasis," *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* **n/a**(2024). DOI:10.1111/jdv.20097.
80. N. Otsu, "A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms," *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics* **9**, 62-66 (1979). DOI:10.1109/TSMC.1979.4310076.
81. Y.-C. Tsai und T.-F. Tsai, "Overlapping Features of Psoriasis and Atopic Dermatitis: From Genetics to Immunopathogenesis to Phenotypes," *International Journal of Molecular Sciences* **23**, 5518 (2022). DOI:10.3390/ijms23105518
82. K. Hahn-Ristic, B. Rzany, M. Amagai, E.-B. Bröcker, und D. Zillikens, "Increased incidence of pemphigus vulgaris in southern Europeans living in Germany compared with native Germans," *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* **16**, 68-71 (2002). DOI:10.1046/j.1468-3083.2002.00384.x.
83. V. D. Mandel, E. Cinotti, E. Benati, B. Labeille, S. Ciardo, C. Vaschieri, F. Cambazard, J. L. Perrot, und G. Pellacani, "Reflectance confocal microscopy and optical coherence tomography for the diagnosis of bullous pemphigoid and pemphigus and surrounding subclinical lesions," *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* **32**, 1562-1569 (2018). DOI:10.1111/jdv.14795.
84. L. Ha und J. E. Hundt, "Optical coherence tomography for fast bedside imaging, assessment and monitoring of autoimmune inflammatory skin diseases?," *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* **18**, 937-942 (2020). DOI:10.1111/ddg.14266.
85. H. Schulz-Hildebrandt, M. Münter, M. Ahrens, H. Spahr, D. Hillmann, P. König, und G. Hüttmann, *Coherence and diffraction limited resolution in microscopic OCT by a unified approach for the correction of dispersion and aberrations*, Second Canterbury Conference on Optical Coherence Tomography (SPIE, 2018), Vol. 10591. DOI:10.1117/12.2303755.
86. M. Münter, M. vom Endt, M. Pieper, M. Casper, M. Ahrens, T. Kohlfaerber, R. Rahmanzadeh, P. König, G. Hüttmann, und H. Schulz-Hildebrandt, "Dynamic contrast in scanning microscopic OCT," *Opt. Lett.* **45**, 4766-4769 (2020). DOI:10.1364/OL.396134.

87. L. Tognetti, E. Cinotti, M. Suppa, R. Guazzo, C. Habougit, F. Santi, G. Diet, M. Fontaine, V. Berot, J. Monnier, E. Pianigiani, V. del Marmol, J. Malveyh, J.-L. Perrot, und P. Rubegni, "Line field confocal optical coherence tomography: An adjunctive tool in the diagnosis of autoimmune bullous diseases," *Journal of Biophotonics* **14**, e202000449 (2021). DOI:10.1002/jbio.202000449.
88. R. Koch-Institut, "Krebs in Deutschland für 2019/2020," (Robert Koch-Institut, 2023).
89. M. Aziz, H. Haghbin, W. Sayeh, H. Alfatlawi, M. K. Gangwani, A. H. Sohail, T. Zahdeh, S. Weissman, F. Kamal, W. Lee-Smith, A. Nawras, P. Sharma, und A. Shaukat, "Comparison of Artificial Intelligence With Other Interventions to Improve Adenoma Detection Rate for Colonoscopy: A Network Meta-analysis," *Journal of Clinical Gastroenterology* **58**, 143-155 (2024). DOI:10.1097/mcg.0000000000001813.
90. R. Panaccione, T. Hibi, L. Peyrin-Biroulet, und S. Schreiber, "Implementing changes in clinical practice to improve the management of Crohn's disease," *Journal of Crohn's and Colitis* **6**, S235-S242 (2012). DOI:10.1016/s1873-9946(12)60503-0.
91. Y. L. Zhao, D. M. Cao, Q. C. Zhou, N. Yang, und H. L. Yao, "Accuracy of Endorectal Endoscopic Ultrasound (EUS) for Locally Advanced Rectal Cancer (LARC) Restaging After Neoadjuvant Chemoradiotherapy (NAT): A Meta-Analysis," *Hepato-gastroenterology* **61**, 978-983 (2014).
92. M. Ellrichmann, P. Wietzke-Braun, S. Dhar, S. Nikolaus, A. Arlt, J. Bethge, T. Kuehbacher, L. Wintermeyer, K. Balschun, W. Klapper, S. Schreiber, und A. Fritscher-Ravens, "Endoscopic ultrasound of the colon for the differentiation of Crohn's disease and ulcerative colitis in comparison with healthy controls," *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* **39**, 823-833 (2014). DOI:10.1111/apt.12671.
93. M. Ellrichmann, B. Schulte, C. C. Conrad, S. Schoch, J. Bethge, M. Seeger, R. Huber, M. Goeb, A. Arlt, S. Nikolaus, C. Röcken, und S. Schreiber, "Contrast-Enhanced Endoscopic Ultrasound Detects Early Therapy Response Following Anti-TNF Therapy in Patients with Ulcerative Colitis," *Journal of Crohn's and Colitis* **18**, 1012-1024 (2024). DOI:10.1093/ecco-jcc/jjae034.
94. A. Fábíán, R. Bor, Z. Bószé, T. Tóth, P. Bacsur, A. Bálint, K. Farkas, T. Resál, M. Rutka, T. Molnár, und Z. Szepes, "[Endoscopic ultrasound in the lower gastrointestinal tract]," *Orvosi hetilap* **164**, 1176-1186 (2023). DOI:10.1556/650.2023.32794.
95. A. M. Buchner und G. R. Lichtenstein, "Evaluation and Detection of Dysplasia in IBD: the Role of Chromoendoscopy and Enhanced Imaging Techniques," *Current Treatment Options in Gastroenterology* **14**, 73-82 (2016). DOI:10.1007/s11938-016-0078-y.
96. G. J. Tearney, M. E. Brezinski, S. A. Boppart, B. E. Bouma, N. Weissman, J. F. Southern, E. A. Swanson, und J. G. Fujimoto, "Catheter-Based Optical Imaging of a Human Coronary Artery," *Circulation* **94**, 3013-3013 (1996). DOI:doi:10.1161/01.CIR.94.11.3013.
97. J. G. Fujimoto, S. A. Boppart, G. J. Tearney, B. E. Bouma, C. Pitris, und M. E. Brezinski, "High resolution in vivo intra-arterial imaging with optical coherence tomography," *Heart (British Cardiac Society)* **82**, 128-133 (1999). DOI:10.1136/hrt.82.2.128.
98. G. J. Tearney, M. E. Brezinski, B. E. Bouma, S. A. Boppart, C. Pitris, J. F. Southern, und J. G. Fujimoto, "In Vivo Endoscopic Optical Biopsy with Optical Coherence Tomography," *Science* **276**, 2037-2039 (1997). DOI:doi:10.1126/science.276.5321.2037.
99. M. J. Gora, M. J. Suter, G. J. Tearney, und X. Li, "Endoscopic optical coherence tomography: technologies and clinical applications [Invited]," *Biomed. Opt. Express* **8**, 2405-2444 (2017). DOI:10.1364/BOE.8.002405.
100. H. C. Wolfsen, P. Sharma, M. B. Wallace, C. Leggett, G. Tearney, und K. K. Wang, "Safety and feasibility of volumetric laser endomicroscopy in patients with Barrett's esophagus (with videos)," *Gastrointestinal endoscopy* **82**, 631-640 (2015). DOI:10.1016/j.gie.2015.03.1968.

101. A. López-Marín, G. Springeling, R. Beurskens, H. van Beusekom, A. F. W. van der Steen, A. D. Koch, B. E. Bouma, R. Huber, G. van Soest, und T. Wang, "Motorized capsule for shadow-free OCT imaging and synchronous beam control," *Opt. Lett.* **44**, 3641-3644 (2019). DOI:10.1364/OL.44.003641.
102. D.-R. Song, T. Lignelli, M. Tinus, E. Sevieri, P. Grahmann, J. McDaniel, A. Cirio, P. Alarcon, S. Winters, H. Khalili, A. Gregg, D. Otuya, J. Dong, A. Mausekapp, J. Gardecki, A. Thrapp, und G. Tearney, *Self-propelled retrograde tethered capsule endomicroscopy (R-TCE) in the colon*, SPIE BiOS (SPIE, 2023), Vol. PC12367. DOI:10.1117/12.2652740.
103. D. C. Adler, C. Zhou, T. H. Tsai, J. Schmitt, Q. Huang, H. Mashimo, und J. G. Fujimoto, "Three-dimensional endomicroscopy of the human colon using optical coherence tomography," *Opt Express* **17**, 784-796 (2009). DOI:10.1364/oe.17.000784.
104. T.-H. Tsai, B. Potsaid, Y. K. Tao, V. Jayaraman, J. Jiang, P. J. S. Heim, M. F. Kraus, C. Zhou, J. Hornegger, H. Mashimo, A. E. Cable, und J. G. Fujimoto, "Ultrahigh speed endoscopic optical coherence tomography using micromotor imaging catheter and VCSEL technology," *Biomed. Opt. Express* **4**, 1119-1132 (2013). DOI:10.1364/BOE.4.001119.
105. T. Wang, G. van Soest, und A. F. W. van der Steen, "A Micromotor Catheter for Intravascular Optical Coherence Tomography," *Engineering* **1**, 015-017 (2015). DOI:10.15302/J-ENG-2015018.
106. J. Zhang, T. Nguyen, B. Potsaid, V. Jayaraman, C. Burgner, S. Chen, J. Li, K. Liang, A. Cable, G. Traverso, H. Mashimo, und J. G. Fujimoto, "Multi-MHz MEMS-VCSEL swept-source optical coherence tomography for endoscopic structural and angiographic imaging with miniaturized brushless motor probes," *Biomed. Opt. Express* **12**, 2384-2403 (2021). DOI:10.1364/BOE.420394.
107. T. H. Nguyen, O. O. Ahsen, K. Liang, J. Zhang, H. Mashimo, und J. G. Fujimoto, "Correction of circumferential and longitudinal motion distortion in high-speed catheter/endoscope-based optical coherence tomography," *Biomed. Opt. Express* **12**, 226-246 (2021). DOI:10.1364/BOE.409074.
108. O. O. Ahsen, H.-C. Lee, M. G. Giacomelli, Z. Wang, K. Liang, T.-H. Tsai, B. Potsaid, H. Mashimo, und J. G. Fujimoto, "Correction of rotational distortion for catheter-based en face OCT and OCT angiography," *Opt. Lett.* **39**, 5973-5976 (2014). DOI:10.1364/OL.39.005973.
109. G. Cao, S. Li, S. Zhang, Z. Peng, Y. Wu, D. Wang, und C. Dai, "Improved FAST algorithm for non-uniform rotational distortion correction in OCT endoscopic imaging," *Opt. Express* **31**, 2754-2767 (2023). DOI:10.1364/OE.474955.
110. M. V. Sivak, K. Kobayashi, J. A. Izatt, A. M. Rollins, R. Ung-runyawee, A. Chak, R. C. K. Wong, G. A. Isenberg, und J. Willis, "High-resolution endoscopic imaging of the GI tract using optical coherence tomography," *Gastrointestinal endoscopy* **51**, 474-479 (2000). DOI:10.1016/S0016-5107(00)70450-0.
111. W. A. Welge und J. K. Barton, "In vivo endoscopic Doppler optical coherence tomography imaging of the colon," *Lasers Surg Med* **49**, 249-257 (2017). DOI:10.1002/lsm.22578.
112. K. Liang, O. O. Ahsen, Z. Wang, H.-C. Lee, W. Liang, B. M. Potsaid, T.-H. Tsai, M. G. Giacomelli, V. Jayaraman, H. Mashimo, X. Li, und J. G. Fujimoto, "Endoscopic forward-viewing optical coherence tomography and angiography with MHz swept source," *Opt. Lett.* **42**, 3193-3196 (2017). DOI:10.1364/OL.42.003193.
113. A. J. Trindade, A. Rishi, R. Hirten, S. Inamdar, D. V. Sejal, und J. F. Colombel, "Identification of volumetric laser endomicroscopy features of colon polyps with histologic correlation," *Gastrointestinal endoscopy* **87**, 1558-1564 (2018). DOI:10.1016/j.gie.2018.02.024.
114. J. Mavadia-Shukla, P. Fathi, W. Liang, S. Wu, C. Sears, und X. Li, "High-speed, ultrahigh-resolution distal scanning OCT endoscopy at 800 nm for in vivo imaging of colon tumorigenesis on murine models," *Biomed. Opt. Express* **9**, 3731-3739 (2018). DOI:10.1364/BOE.9.003731.

115. O. C. Mora, P. Zanne, L. Zorn, F. Nageotte, N. Zulina, S. Gravelyn, P. Montgomery, M. de Mathelin, B. Dallemagne, und M. J. Gora, "Steerable OCT catheter for real-time assistance during teleoperated endoscopic treatment of colorectal cancer," *Biomed. Opt. Express* **11**, 1231-1243 (2020). DOI:10.1364/BOE.381357.
116. W. Yuan, Y. Feng, D. Chen, P. Gharibani, J. D. Z. Chen, H. Yu, und X. Li, "In vivo assessment of inflammatory bowel disease in rats with ultrahigh-resolution colonoscopic OCT," *Biomed. Opt. Express* **13**, 2091-2102 (2022). DOI:10.1364/BOE.453396.
117. M. Schünke, E. Schulte, U. Schumacher, M. Voll, und K. H. Wesker, *PROMETHEUS LernAtlas der Anatomie: Innere Organe* 6ed. (Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2022).
118. A. P. Singh, M. Göb, M. Ahrens, T. Eixmann, B. Schulte, H. Schulz-Hildebrandt, G. Hüttmann, M. Ellrichmann, R. Huber, und M. Rahlves, "Virtual Hall sensor triggered multi-MHz endoscopic OCT imaging for stable real-time visualization," *Opt. Express* **32**, 5809-5825 (2024). DOI:10.1364/OE.514636.
119. T. Wedel, J. Ackermann, H. Hagedorn, L. Mettler, N. Maass, und I. Alkatout, "Educational training in laparoscopic gynecological surgery based on ethanol-glycerol-lysoformin-preserved body donors," *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* **221**, 157-164 (2019). DOI:10.1016/j.aanat.2018.10.002.
120. A. Tumlinson, B. Považay, L. Hariri, J. McNally, A. Unterhuber, B. Hermann, H. Sattmann, W. Drexler, und J. Barton, "In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography of mouse colon with an achromatized endoscope," *Journal of Biomedical Optics* **11**, 064003 (2006). DOI:10.1117/1.2399454.
121. T. Wang, T. Pfeiffer, A. Akyildiz, H. M. M. van Beusekom, R. Huber, A. F. W. van der Steen, und G. van Soest, "Intravascular optical coherence elastography," *Biomed. Opt. Express* **13**, 5418-5433 (2022). DOI:10.1364/BOE.470039.
122. Y. Zeng, S. Xu, W. C. Chapman, Jr., S. Li, Z. Alipour, H. Abdelal, D. Chatterjee, M. Mutch, und Q. Zhu, "Real-time colorectal cancer diagnosis using PR-OCT with deep learning," *Theranostics* **10**, 2587-2596 (2020). DOI:10.7150/thno.40099.
123. R. A. Leitgeb, L. Schmetterer, W. Drexler, A. F. Fercher, R. J. Zawadzki, und T. Bajraszewski, "Real-time assessment of retinal blood flow with ultrafast acquisition by color Doppler Fourier domain optical coherence tomography," *Opt. Express* **11**, 3116-3121 (2003). DOI:10.1364/OE.11.003116.
124. A. L. Oldenburg, X. Yu, T. Gilliss, O. Alabi, R. M. Taylor, und M. A. Troester, "Inverse-power-law behavior of cellular motility reveals stromal-epithelial cell interactions in 3D co-culture by OCT fluctuation spectroscopy," *Optica* **2**, 877-885 (2015). DOI:10.1364/OPTICA.2.000877.
125. P. Li, A. Liu, L. Shi, X. Yin, S. Rugonyi, und R. K. Wang, "Assessment of strain and strain rate in embryonic chick heart in vivo using tissue Doppler optical coherence tomography," *Physics in medicine and biology* **56**, 7081-7092 (2011). DOI:10.1088/0031-9155/56/22/006.
126. J. A. Izatt, M. D. Kulkarni, S. Yazdanfar, J. K. Barton, und A. J. Welch, "In vivo bidirectional color Doppler flow imaging of picoliter blood volumes using optical coherence tomography," *Opt. Lett.* **22**, 1439-1441 (1997). DOI:10.1364/OL.22.001439.
127. Z. Chen, T. E. Milner, S. Srinivas, X. Wang, A. Malekafzali, M. J. C. van Gemert, und J. S. Nelson, "Noninvasive imaging of in vivo blood flow velocity using optical Doppler tomography," *Opt. Lett.* **22**, 1119-1121 (1997). DOI:10.1364/OL.22.001119.
128. R. K. Wang, S. L. Jacques, Z. Ma, S. Hurst, S. R. Hanson, und A. Gruber, "Three dimensional optical angiography," *Opt. Express* **15**, 4083-4097 (2007). DOI:10.1364/OE.15.004083.
129. Y. K. Tao, A. M. Davis, und J. A. Izatt, "Single-pass volumetric bidirectional blood flow imaging spectral domain optical coherence tomography using a modified Hilbert transform," *Opt. Express* **16**, 12350-12361 (2008). DOI:10.1364/OE.16.012350.

130. B. J. Vakoc, S. H. Yun, J. F. d. Boer, G. J. Tearney, und B. E. Bouma, "Phase-resolved optical frequency domain imaging," *Opt. Express* **13**, 5483-5493 (2005). DOI:10.1364/OPEX.13.005483.
131. B. J. Vakoc, R. M. Lanning, J. A. Tyrrell, T. P. Padera, L. A. Bartlett, T. Stylianopoulos, L. L. Munn, G. J. Tearney, D. Fukumura, R. K. Jain, und B. E. Bouma, "Three-dimensional microscopy of the tumor microenvironment in vivo using optical frequency domain imaging," *Nature Medicine* **15**, 1219-1223 (2009). DOI:10.1038/nm.1971.
132. J. F. de Boer, C. K. Hitzenberger, und Y. Yasuno, "Polarization sensitive optical coherence tomography - a review [Invited]," *Biomed. Opt. Express* **8**, 1838-1873 (2017). DOI:10.1364/BOE.8.001838.
133. Y. Yasuno, "Multi-Contrast Jones-Matrix Optical Coherence Tomography—The Concept, Principle, Implementation, and Applications," *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics* **29**, 1-18 (2023). DOI:10.1109/JSTQE.2023.3248148.
134. J. M. Schmitt, "OCT elastography: imaging microscopic deformation and strain of tissue," *Opt. Express* **3**, 199-211 (1998). DOI:10.1364/OE.3.000199.
135. K. V. Larin und D. D. Sampson, "Optical coherence elastography: OCT at work in tissue biomechanics [Invited]," *Biomed. Opt. Express* **8**, 1172-1202 (2017). DOI:10.1364/BOE.8.001172.
136. S. Burhan, N. Detrez, K. Rewerts, P. Strenge, S. Buschschlüter, J. Kren, C. Hagel, M. M. Bonsanto, R. Brinkmann, und R. Huber, "Phase unwrapping for MHz optical coherence elastography and application to brain tumor tissue," *Biomed. Opt. Express* **15**, 1038-1058 (2024). DOI:10.1364/BOE.510020.
137. I. Abd El-Sadek, A. Miyazawa, L. Tzu-Wei Shen, S. Makita, S. Fukuda, T. Yamashita, Y. Oka, P. Mukherjee, S. Matsusaka, T. Oshika, H. Kano, und Y. Yasuno, "Optical coherence tomography-based tissue dynamics imaging for longitudinal and drug response evaluation of tumor spheroids," *Biomed. Opt. Express* **11**, 6231-6248 (2020). DOI:10.1364/BOE.404336.
138. I. Abd El-Sadek, L. T.-W. Shen, T. Mori, S. Makita, P. Mukherjee, A. Lichtenegger, S. Matsusaka, und Y. Yasuno, "Label-free drug response evaluation of human derived tumor spheroids using three-dimensional dynamic optical coherence tomography," *Scientific Reports* **13**, 15377 (2023). DOI:10.1038/s41598-023-41846-3.
139. C. Apelian, F. Harms, O. Thouvenin, und A. C. Boccara, "Dynamic full field optical coherence tomography: subcellular metabolic contrast revealed in tissues by interferometric signals temporal analysis," *Biomed. Opt. Express* **7**, 1511-1524 (2016). DOI:10.1364/BOE.7.001511.
140. D. Arcizet, B. Meier, E. Sackmann, J. O. Rädler, und D. Heinrich, "Temporal Analysis of Active and Passive Transport in Living Cells," *Physical Review Letters* **101**, 248103 (2008). DOI:10.1103/PhysRevLett.101.248103.
141. A. L. Oldenburg, R. K. Chhetri, D. B. Hill, und B. Button, "Monitoring airway mucus flow and ciliary activity with optical coherence tomography," *Biomed. Opt. Express* **3**, 1978-1992 (2012). DOI:10.1364/BOE.3.001978.
142. O. Thouvenin, C. Apelian, A. Nahas, M. Fink, und C. Boccara, "Full-Field Optical Coherence Tomography as a Diagnosis Tool: Recent Progress with Multimodal Imaging," *Applied Sciences* **7**, 236 (2017). DOI:10.3390/app7030236.
143. M. Münter, M. Pieper, T. Kohlfaerber, E. Bodenstorfer, M. Ahrens, C. Winter, R. Huber, P. König, G. Hüttmann, und H. Schulz-Hildebrandt, "Microscopic optical coherence tomography (mOCT) at 600 kHz for 4D volumetric imaging and dynamic contrast," *Biomed. Opt. Express* **12**, 6024-6039 (2021). DOI:10.1364/BOE.425001.

144. T. Kohlfaerber, M. Pieper, M. Münter, C. Holzhausen, M. Ahrens, C. Idel, K.-L. Bruchhage, A. Leichtle, P. König, G. Hüttmann, und H. Schulz-Hildebrandt, "Dynamic microscopic optical coherence tomography to visualize the morphological and functional micro-anatomy of the airways," *Biomed. Opt. Express* **13**, 3211-3223 (2022). DOI:10.1364/BOE.456104.
145. Pathweb Online Resource "Abbildung entnommen aus dem Normal Histology Atlas. Letzter Zugriff am 16.12.2024. Verfügbar unter: <https://medicine.nus.edu.sg/pathweb/normal-histology/>." (Pathweb Online Resource, Department of Pathology, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore).
146. I. Stefanov und A. Vodenicharov, "A micromorphometric study on the common bile duct and major duodenal papilla of the domestic swine," *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **45**, 113-125 (2021). DOI:10.3906/vet-2006-56.
147. Q. Li, M. L. Onozato, P. M. Andrews, C.-W. Chen, A. Paek, R. Naphas, S. Yuan, J. Jiang, A. Cable, und Y. Chen, "Automated quantification of microstructural dimensions of the human kidney using optical coherence tomography (OCT)," *Opt. Express* **17**, 16000-16016 (2009). DOI:10.1364/OE.17.016000.
148. B. Konkel, C. Lavin, T. T. Wu, E. Anderson, A. Iwamoto, H. Rashid, B. Gaitian, J. Boone, M. Cooper, P. Abrams, A. Gilbert, Q. Tang, M. Levi, J. G. Fujimoto, P. Andrews, und Y. Chen, "Fully automated analysis of OCT imaging of human kidneys for prediction of post-transplant function," *Biomed Opt Express* **10**, 1794-1821 (2019). DOI:10.1364/boe.10.001794.
149. X. Ma, M. Moradi, H. Mustafa, M. Hunter, Y. Chen, und H. Zhang, *Feasibility of robotic-assisted optical coherence tomography with extended scanning area for pre-transplant kidney monitoring* (2022), p. 24. DOI:10.1117/12.2612677.
150. R. A. Metzger, F. L. Delmonico, S. Feng, F. K. Port, J. J. Wynn, und R. M. Merion, "Expanded criteria donors for kidney transplantation," *American Journal of Transplantation* **3**, 114-125 (2003). DOI:10.1034/j.1600-6143.3.s4.11.x.
151. N. Warmuzińska, K. Łuczykowski, und B. Bojko, "A Review of Current and Emerging Trends in Donor Graft-Quality Assessment Techniques," *Journal of clinical medicine* **11**(2022). DOI:10.3390/jcm11030487.

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AD	Atopische Dermatitis
A-Scan	Amplitudenscan, Eindimensionaler Tiefenscan
AWG	engl. <i>arbitrary waveform generator</i> , Funktionsgenerator
B-Scan	engl. <i>brightness mode scan</i> , Zweidimensionaler Tiefenscan
C-Scan	engl. <i>cross-sectional scan</i> , Dreidimensionaler Tiefenscan
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CFBG	engl. <i>chirped fiber Bragg grating</i> , gechirptes Faser-Bragg-Gitter
CLE	engl. <i>confocal laser endomicroscopy</i> , konfokale Laserendomikroskopie
dOCT	OCT mit dynamischem Kontrast
D-FFOCT	engl. <i>dynamic full-field OCT</i> , dynamische Vollbild-OCT
eOCT	Endoskopische OCT
EUS	endoskopischer Ultraschall
FDML	engl. <i>Fourier domain mode locked</i> , Fourier Domänen Modenkopplung
FD-OCT	Frequenzdomänen OCT
FF-OCT	engl. <i>full-field OCT</i> , Vollbild-OCT
FFP	Faser Fabry-Pérot
FOV	engl. <i>field of view</i> , Bildfeld
fps	engl. <i>frames per second</i> , Bilder pro Sekunde
GB	Gigabyte
GBP	Großflächiges Bildfeld-Protokoll
Gegen-EMK	gegenelektromotorische Kraft (Gegen-EMK)
HAP	Hochauflösungs-Protokoll
HE	Hämatoxylin und Eosin (histologisches Färbeverfahren)
KI	Künstliche Intelligenz
LC-OCT	engl. <i>line-field confocal OCT</i> , konfokale Linien-OCT
LIED	Lübecker Institut für Experimentelle Dermatologie
LIV	engl. <i>logarithmic intensity variance</i> , logarithmische Intensitätsvarianz
LURO	engl. <i>Luebeck University Real-time OCT</i> , Echtzeit-OCT-Software
mOCT	Mikroskopische Optische Kohärenztomographie
NA	Numerische Apertur

NURD	engl. <i>non-uniform rotational distortion</i> , ungleichmäßige rotatorische Verzerrung
OAP	OCT-Angiografie-Protokoll
OCE	engl. <i>optical coherence elastography</i> , Optische Kohärenzelastografie
OCT	engl. <i>optical coherence tomography</i> , Optische Kohärenztomographie
OCTA	OCT-Angiografie
PFA	Paraformaldehyd
Pix	Pixel
PMMA	Polymethylmethacrylat
PSO	Psoriasis
PS-OCT	Polarisations-sesitive OCT
PV	Pemphigus vulgaris
ROI	engl. <i>region of interest</i> , interessierender Bereich
rpm	engl. <i>revolutions per minute</i> , Umdrehungen pro Minute
SNR	engl. <i>signal-to-noise ratio</i> , Signal-Rausch-Verhältnis
SD-OCT	Spektraldomänen OCT
SS-OCT	Swept-Source OCT
TCP/IP	Transmission Control Protocol/Internet Protocol, Datenübertragungsprotokoll
TD-OCT	engl. <i>time-domain OCT</i> , Zeitdomänen OCT
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
USAF	engl. <i>United States Air Force</i>

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 2.1	Bildgebungsprinzip und verschiedene OCT-Ansichten.....	14
Abbildung 2.2	Schematischer Aufbau der verschiedenen OCT-Technologien.....	15
Abbildung 2.3	Foto des MHz-OCT-Systems und schematischer Aufbau.....	25
Abbildung 2.4	Eigenschaften des verwendeten FDML-Lasers und OCT-Systems.....	27
Abbildung 3.1	Anatomie der Haut. ....	35
Abbildung 3.2	Aufbau des Linearroboters.....	40
Abbildung 3.3	Prinzip des Mosaik-Modus.....	44
Abbildung 3.4	Großflächige OCT-Mosaik Aufnahme eines Fingers.....	46
Abbildung 3.5	OCT-Angiografie-Mosaikaufnahme der Hand.....	47
Abbildung 3.6	Hochaufgelöste OCT-Mosaikaufnahme vs. Standard OCT am Finger.....	49
Abbildung 3.7	Synchronisationskonzept von OCT-System und Linearroboter.....	50
Abbildung 3.8	Prinzip des Interaktions-Modus.....	51
Abbildung 3.9	Vergleich verschiedener Bildgebungsmodi.....	52
Abbildung 3.10	Interaktions-Modus OCT Aufnahme eines Fingers. ....	53
Abbildung 3.11	Prinzip des Interaktions-Modus-Plus.....	54
Abbildung 3.12	Anwendungen des Interaktions-Modus-Plus an Testmodellen.....	56
Abbildung 3.13	OCT-Resultate des Interaktions-Modus-Plus am Handgelenk.....	57
Abbildung 3.14	Aufbau des LARA-OCT-Systems.....	58
Abbildung 3.15	Konzept der OCT-gestützten Abstands- und Orientierungsregelung.....	60
Abbildung 3.16	Zeitdiagramme der LARA-OCT Modi.....	62
Abbildung 3.17	LARA-OCT-Mosaik-Modus von gekrümmter Arm-Oberfläche.....	64
Abbildung 3.18	Bewegungsanalyse des LARA-OCT-Linear-Modus.....	66
Abbildung 3.19	OCT-Aufnahme einer Hand im LARA-OCT-Linear-Modus.....	68
Abbildung 3.20	Automatisierte <i>in vitro</i> OCT-Bildgebung mittels Linearroboter.....	74
Abbildung 3.21	Semi-automatischer Wundvolumenquantifizierungsprozess.....	75
Abbildung 3.22	OCTA-Unterschiede der Gefäßstruktur in Haut.....	80
Abbildung 3.23	Automatischer OCTA-Bildverarbeitungsprozess.....	82
Abbildung 3.24	Vergleich zweier Oberflächensegmentierungsverfahren.....	84
Abbildung 3.25	Automatische Gefäßanzahlbestimmung der klinischen Studiendaten:.....	85
Abbildung 3.26	OCT-Systeme zur Erkennung von Pemphigus vulgaris im Vergleich.....	89
Abbildung 3.27	OCT-Aufnahme einer intraepidermalen Blase.....	91

Abbildung 4.1 Anatomie des Dickdarms mit Histologie der Darmwand.....	101
Abbildung 4.2 Rektoskop-Prototypen.....	103
Abbildung 4.3 Neues Synchronisationskonzept mit Primärtakt für Live-3D-OCT. ....	105
Abbildung 4.4 Auswirkungen von Synchronisationsfehlern auf die eOCT-Bildgebung....	108
Abbildung 4.5 eOCT-Aufnahmen von Fingern mit Rek1.....	110
Abbildung 4.6 Evaluationsproben für rektoskopische OCT-Anwendungen.....	111
Abbildung 4.7 eOCT-Aufnahmen von einem Darmmodell aus Silikon.....	113
Abbildung 4.8 eOCT-Aufnahmen von Schweinedarm.....	114
Abbildung 4.9 eOCT-Aufnahmen eines postmortalen menschlichen Rektums <i>in situ</i> .....	117
Abbildung 4.10 eOCT-Aufnahmen eines endoluminalen Polypen <i>in situ</i> .....	118
Abbildung 4.11 Standard OCT von exzidiertem menschlichem Darmgewebe .....	119
Abbildung 5.1 Algorithmus zur Berechnung des dynamischen OCT-Kontrasts.....	130
Abbildung 5.2 MHz-OCT des Daumenballens mit Standard-Scaneinheit.....	131
Abbildung 5.3 Aufbau der hochauflösenden MHz-OCT Scaneinheit.....	132
Abbildung 5.4 Gewebeproben einer Maus für den Systemvergleich.....	135
Abbildung 5.5 Dynamische OCT von <i>ex vivo</i> Mäusegewebe .....	137
Abbildung 5.6 Prinzip des intervolumetrischen Scanprotokolls. ....	139
Abbildung 5.7 Auswirkung der Wiederholrate auf den dynamischen Kontrast.....	140
Abbildung 5.8 Fotos der Gewebeproben.....	141
Abbildung 5.9 Anatomie der Niere mit histologischen Einblicken.....	142
Abbildung 5.10 Volumetrische dynamische MHz-OCT der Nierenrinde.....	144
Abbildung 5.11 Volumetrische dynamische MHz-OCT des Nierenmarks.....	145

## TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1 Relevante veröffentlichte robotergeführte OCT-Systeme .....	38
Tabelle 2 Technische Daten des Linearroboters.....	41
Tabelle 3 Betriebsmodi des Linearroboters.....	43
Tabelle 4 Verwendete Scanprotokolle des Mosaik-Modus.....	45
Tabelle 5 Eigenschaften der verglichenen OCT-Systeme.....	88
Tabelle 6 Veröffentlichte eOCT-Technologien für die Darmbildgebung.....	99
Tabelle 7 Spezifikationen der verschiedenen Scanobjektive .....	133
Tabelle 8 Bildgebungsparameter der verglichenen Systeme.....	136

## VIDEOS

Alle in dieser Arbeit referenzierten Videos sind als Zusatzmaterialien eigener Publikationen auf den Webseiten der Herausgeber zu finden:

**Video 1** Abstands- und Orientierungsregelung des LARA-OCT

<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.25563261.v1>

**Video 2** Linear-Modus des LARA-OCT

<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.25563264.v1>

## HILFSMITTEL

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden dict.cc (dict.cc GmbH, 2025) und DeepL Translator (DeepL SE, 2025) für die Übersetzung zuvor veröffentlichter Materialien sowie ChatGPT (OpenAI, 2024) zur sprachlichen Verbesserung und Stiloptimierung verwendet. Die inhaltliche Verantwortung liegt vollständig bei der Autorin.

# PROGRAMM-CODE

Matlab-Code zur automatischen Gefäßzahlbestimmung in 3D OCT Daten von Haut:

```
% This main code is used to automatically count vessels in OCTA Datasets.
% The code batch processes any OCTA Dataset with given filename in DICOM
% format. The vessel count numbers can be plotted or stored in
% spreadsheets.
% Madita Goeb - 14.04.2023
% Adjusted code from Bayan Mustafa
% .....

close all
clear

%% Read dataset(s) and basic settings

% Add the path of the main folder of all DICOM images
FolderPath = uigetdir('C:\', 'Directory of OCT Dicom Data:');
% Select which OCT datasets should be analysed: CON/CONTROL, PSO, AD
disease='PSO';

% Get dataset folders info.
FilesInfo = dir(fullfile(FolderPath, '**', strcat('*',disease,'*OCTA*Baseline*.dcm')));
% Number of images found only with (OCTA)
nImages = length({FilesInfo.name});
% Create an empty structure to save the main info for each image
DepthsInfo = struct('Depth',[],'NumberOfVesselsElongation',[]);
% Create an empty structure to save the main info for each image
AllImages = struct('ImageName',[],'ImageInfo',[], 'DepthsData',[]);
% Spacing in Z-direction for each line:
pixSpaceZ=4.5;
% Create an empty matrix for the number of vessels for each dataset and each depth
nV_depth=zeros(nImages,460,'uint32');
% Create array to plot timings
time_SurfaceFlattening=zeros();
time_VesselSegment=zeros();

%% Run surface detection and vessel segmentation functions on all datasets.

try
    % Read all images info and apply the segmentation for each of them.
    for i=1:nImages
        try
            % Add the folder's path of the image each time
            addpath(FilesInfo(i).folder);
            % Save the image's name
            ImageName = FilesInfo(i).name;
            % Save the image's info.
            ImageInfo = dicominfo(ImageName);
            % read OCT dataset (X)
            [X,cmap] = dicomread(ImageInfo);

            % Surface Segmentation Step
            tic
        catch
        end
    end
end
```

```

[DetectedSurf, FlatVol] = SurfaceDetectionFlattening(X);
time_SurfaceFlattening(1,i)=toc

% Vessel Segmentation Step
% reslice volume from top and resize en face slices into equal
spacing
EnFace_origRGB = imresize(permute(FlatVol,[4 2 1 3]),[740
740],'bilinear');

% Create empty matrix for displaying the segmentation result
%SegOverlay_RGB =
uint8(zeros(size(EnFace_origRGB,1),size(EnFace_origRGB,2),3,size(EnFace_origRGB,3)));

% Extract only angiographic channel (red channel)
X_EnfaceRed=squeeze(EnFace_origRGB(:,:,1)-
EnFace_origRGB(:,:,2)-EnFace_origRGB(:,:,3));

tic
% segment and count vessels for each en face layer in a
% parallel for loop
parfor j=1:size(X,1)
% Segment the vessels elongation in the en face image at the given
depth.
[mask,nVessels] = SegmentVessels(X_EnfaceRed(:,:,j));
nV_depth(i,j)=nVessels;
% Label the segmented image on the en face image
% EnFaceImg_RGB = squeeze(EnFace_origRGB(:,:,j,:));
% if nVessels ~= 0
%     SegOverlay_RGB(:,:,j) =
Labeloverlay(EnFaceImg_RGB,~mask,'Colormap','hot','Transparency',0.00);
% end
end
time_VesselSegment(1,i)=toc

% figure()
% sliceViewer(permute(SegOverlay_RGB,[1 2 4 3]))

catch
FilesInfo(i)=[];
nV_depth(i,:)=[];
warning('Problem using function.');
```

end

```

end

catch
warning('Problem using overall for-loop.');
```

end

```

%% Show and save all results.

% Show mean execution time per dataset
meantime_SurfaceANDFlatten=mean(time_SurfaceFlattening,2)
meantime_VesselSegment=mean(time_VesselSegment,2)

% plot numbers of vessels for all datasets
figure()
plot(permute(nV_depth,[2 1]))
```

```

title('n vessels in depth')

% Save counted vessels in Excel sheet
cd(FolderPath);
FileName = ['AVC_Data',char(datetime('now','Format','yyyy_MM_dd_HH_mm')),'.xls'];
writematrix(nV_depth',FileName);

```

Matlab-Funktion zur Oberflächendetektion und Volumenbegradigung der OCT-Daten:

```

function [DetectedSurf, FlatVol] = SurfaceDetectionFlattening(X)
% This function is used to smoothing the original image and detect the surface
% Input: the 3D RGB Stack (4D Matrix) [Z X C Y]
% Output: Height map of the detected surface [Y X]; flattened 4D stack
% Madita Goeb - 14.04.2023
% Adjusted code from Bayan Mustafa
% .....

% Creating empty matrix for the detected surface data of size [120 1324]
% and flat surface
DetectedSurf = zeros(size(X,4),size(X,2));
FlatVol = zeros(size(X),'uint8');
% Binarizing the 3D image using global image threshold based on otsu
% threshold [typically ~0.2 of max int]
bw = imbinarize(squeeze(X(:,:,2,:))); % use only green channel to detect surface
independently of angio contrast
% Size of the structures that should be excluded from the main oct of the skin
area = 5000;

% For-Loop into all the frames (120)
% frame-wise operation seems faster and more accurate than 3D surface
segmentation
% it also allows to remove overhanging structures (e.g. hair)
for y=1:size(X,4)
% Open the area's of size equal or less than 5000 (filtration)
bw(:, :, y) = bwareaopen(bw(:, :, y), area);
[~, surf_frame] = max(bw(:, :, y));
% Smoothing the DetectedSurface using median filter
surf_frame = ceil(medfilt2(surf_frame, [10 10], 'symmetric'));
% Detect and fill remaining outlayers
surf_frame = filloutliers(surf_frame, 'nearest', 'percentiles', [6 100], 2);
% If the detected index is 1 assign it to a new value equal to the
% median of the row data [boundary conditions]
surf_frame(surf_frame == 1) = ceil(median(surf_frame));
% Detect and fill remaining outlayers
surf_frame = filloutliers(surf_frame, 'nearest', 'percentiles', [6 100], 2);
% Write surface line into output height map
DetectedSurf(y, :)=surf_frame;
end

% Smoothing the 2D DetectedSurface using median filter
DetectedSurf = ceil(medfilt2(DetectedSurf, [3 3], 'symmetric'));

% Flatten 3D Volume based on surface information
nAscans=size(X,2);
nBscans=size(X,4);
for x=1:nAscans
% Preallocate shiftedAScan outside the inner loop

```

```

shiftedAScan = zeros(size(X, 1), size(X, 3), 'uint8');
for y = 1:nBscans
    surfValue = DetectedSurf(y, x);
    % shift A-scan upwards until the surface is at the top.
    shiftedAScan(1:(size(X, 1) - surfValue + 1), :) = X(surfValue:end, x, :,
y);
    FlatVol(:, x, :, y) = shiftedAScan;
end
end
end

```

Matlab-Funktion zur Gefäßsegmentierung in OCT *en face*-Bildern:

```

function [mask,nvessels] = SegmentVessels(EnFaceImg)
% This function is used to segment the vessels for each depth of a 3D volume
% Input: En face image of specific depth
% Output: number of detected vessels elongation (nvessels) and it's image matrix (mask).
% Madita Goeb - 14.04.2023
% Adjusted code from Bayan Mustafa
% .....

% Adjust image intensity values
EnFaceImg = imadjust(EnFaceImg,[0.20 0.75]);
% Threshold image - global threshold of value 0.25
BW = imbinarize(EnFaceImg,0.25);
% Remove/open all white regions less than the given area
BW = bwareaopen(BW,4,4);
% Label the connected components (vessels)
[~, nvessels] = bwlabel(BW);
% For displaying the segmentation results (mask)
% Apply Roberts edge detection
%mask = ~edge(BW,'Roberts','nothinning'); % Detects the elongated vessels (mask).
% (nothinning) skips the edge-thinning stage, which can improve performance.
% This syntax is valid only when method is "Sobel", "Prewitt", or "Roberts".
% This step is only to use it in labeloverlay command for plotting.
% else:
mask=0;
end

```

## PUBLIKATIONSVERZEICHNIS

Im Rahmen dieser Arbeit entstanden insgesamt 11 Journalbeiträge mit Peer-Review Begutachtung in wissenschaftlichen Fachjournalen, davon 2 in Erstautorenschaft und 2 in geteilter Erstautorenschaft (\*). Weitere 3 Manuskripte wurden bereits erstellt, befinden sich jedoch noch in Vorbereitung für den Einreichungsprozess. Daneben entstanden 20 mehrseitige Konferenz-Beiträge mit Tagungsband (peer-reviewed Proceedings) und weitere 3 Konferenzbeiträge ohne Tagungsband (Poster). Im Folgenden findet sich eine vollständige Liste sämtlicher Veröffentlichungen, die im Rahmen dieser Arbeit entstanden sind.

### JOURNALBEITRÄGE (PEER REVIEW)

1. T. Pfeiffer, **M. Göb**, W. Draxinger, S. Karpf, J. P. Kolb, und R. Huber, "Flexible A-scan rate MHz-OCT: efficient computational downscaling by coherent averaging," *Biomed. Opt. Express* 11, 6799-6811 (2020). DOI: 10.1364/BOE.402477.
2. S. Lotz, C. Grill, **M. Göb**, W. Draxinger, J. P. Kolb, und R. Huber, "Cavity length control for Fourier domain mode locked (FDML) lasers with  $\mu\text{m}$  precision," *Biomed. Opt. Express* 12, 2604-2616 (2021). DOI: 10.1364/BOE.422898.
3. **M. Göb**, T. Pfeiffer, W. Draxinger, S. Lotz, J. P. Kolb, und R. Huber, "Continuous spectral zooming for *in vivo* live 4D-OCT with MHz A-scan rates and long coherence," *Biomed. Opt. Express* 13, 713-727 (2022). DOI: 10.1364/BOE.448353.
4. L. Ha-Wissel, H. Graßhoff, **M. Göb**, B. Mustafa, R. Huber, H. Zirpel, H. Yasak, D. Thaçi, und J. E. Hundt, "Optical coherence tomography-based imaging biomarkers for disease activity monitoring in plaque psoriasis," *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* (2024). DOI: 10.1111/jdv.20097.
5. A. P. Singh, **M. Göb**, M. Ahrens, T. Eixmann, B. Schulte, H. Schulz-Hildebrandt, G. Hüttmann, M. Ellrichmann, R. Huber, und M. Rahlves, "Virtual Hall sensor triggered multi-MHz endoscopic OCT imaging for stable real-time visualization," *Opt. Express* 32, 5809-5825 (2024). DOI: 10.1364/OE.514636.
6. B. Schulte\*, **M. Göb\***, A. P. Singh, S. Lotz, W. Draxinger, M. Heimke, M. pieper, T. Heinze, T. Wedel, M. Rahlves, R. Huber, und M. Ellrichmann, "High-resolution rectoscopy using MHz optical coherence tomography: a step towards real time 3D endoscopy," *Scientific Reports* 14, 4672 (2024). DOI: 10.1038/s41598-024-55338-5.
7. M. Ellrichmann, B. Schulte, C. C. Conrad, S. Schoch, J. Bethge, M. Seeger, R. Huber, **M. Goeb**, A. Arlt, S. Nikolaus, C. Röcken, und S. Schreiber, "Contrast-Enhanced Endoscopic Ultrasound Detects Early Therapy Response Following Anti-TNF Therapy in Patients with Ulcerative Colitis," *Journal of Crohn's and Colitis* 18, 1012-1024 (2024). DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjae034.
8. S. Lotz, **M. Göb**, S. Böttger, L. Ha-Wissel, J. Hundt, F. Ernst, und R. Huber, "Large area robotically assisted optical coherence tomography (LARA-OCT)," *Biomed. Opt. Express* 15, 3993-4009 (2024). DOI: 10.1364/BOE.525524.

9. S. Burhan\*, **M. Göb\***, M. Pieper, T. Laedtke, T. Grahl, M. Münter, H. Schulz-Hildebrandt, G. Huettmann und R. Huber, "Label-free volumetric imaging of porcine kidney tissue over extended areas using dynamic MHz-OCT," *Scientific Reports* 15, 32426 (2025). DOI: 10.1038/s41598-025-15032-6.
10. **M. Göb**, L. Ha-Wissel, C. Jacobi, J. E. Hundt und R. Huber, "Megahertz dynamic optical coherence tomography of blisters in human skin," *Biomed. Opt. Express* 16, 4063-4078 (2025). DOI: 10.1364/BOE.571621.
11. B. S. Larsen, T. Straube, K. Kelly, R. Huber, **M. Göb**, J. Siebert, L. Wünsch und J. Lindert, "Assessment of Attenuation Coefficient and Blood Flow at Depth in Pediatric Thermal Hand Injuries Using Optical Coherence Tomography: A Clinical Study," *European Burn Journal* 6, 54 (2025). DOI: 10.3390/ebj6040054.

*Noch zu veröffentlichen:*

12. S. Burhan, B. Schulte, **M. Göb**, A. P. Singh, B. Mustafa, S. Lotz, W. Draxinger, P. Lamminger, Y. Saker, T. Eixmann, M. Ahrens, M. Heimke, T. Heinze, T. Wedel, M. Rahlves, M. Ellrichmann, und R. Huber, "Dual-resolution MHz-OCT prototype rectoscope for enhanced visualization and diagnosis of colorectal pathologies".
13. T. M. Sturmheit, N. Nissen, C. Jacobi, **M. Göb**, R. Pfündl, S. K. Landt, T. Pfeiffer, W. Draxinger, C. Kren, D. Wendt, R. J. Ludwig, N. Koop, R. Huber, R. Paus, M. Brandenburger, C. Kruse, und J. E. Hundt, "Sweat gland derived stem cells promote re-epithelialization in a newly standardized human skin wound healing assay,".
14. **M. Göb**, B. Mustafa, L. Ha-Wissel, J. E. Hundt, und R. Huber, "Automated OCTA vessel count algorithm for quantitative analysis of skin disease activity,".

## KONFERENZBEITRÄGE MIT TAGUNGSBAND (PEER REVIEW)

1. **M. Göb**, T. Pfeiffer, und R. Huber, "Towards combined optical coherence tomography and multi-spectral imaging with MHz a-scan rates for endoscopy," *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media III*, Optical Society of America, SPIE Proceedings Vol. 11078\_11033 (2019). DOI: 10.1117/12.2526796.
2. S. Burhan, **M. Göb**, W. Draxinger, und R. Huber, "Design and construction of a motorized XYZ positioning stage for large field of view optical coherence tomography imaging," *10th Conference on Medical Engineering Science*, Infinite Science Publishing, Lübeck University Press and Academic Printing, (2021).
3. **M. Göb**, S. Burhan, W. Draxinger, J. P. Kolb, und R. Huber, "Towards densely sampled ultra-large area multi-MHz-OCT for *in vivo* skin measurements beyond 1 cm<sup>2</sup>/sec," *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media IV, European Conferences on Biomedical Optics*, Optical Society of America, Proc. SPIE 11924, EW3C.4 (2021). DOI: 10.1117/12.2616054.
4. S. Lotz, C. Grill, **M. Göb**, W. Draxinger, J. P. Kolb, und R. Huber, "Characterization of the dynamics of an FDML laser during closed-loop cavity length control," *Fiber Lasers XVIII: Technology and Systems*, SPIE LASE, Vol. 11665 (2021). DOI: 10.1117/12.2578514.

5. **M. Göb**, S. Burhan, S. Lotz, und R. Huber, "Towards ultra-large area vascular contrast skin imaging using multi-MHz-OCT," *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXVI*, SPIE BiOS, Vol. 11948 (2022). DOI: 10.1117/12.2612171.
6. B. Mustafa, **M. Göb**, L. Ha-Wissel, J. E. Hundt, und R. Huber, "Automated vessels count algorithm to find novel OCT-based biomarkers for inflammatory skin diseases," *12th Conference on Medical Engineering Science*, Infinite Science Publishing, Lübeck University Press and Academic Printing (2023).
7. **M. Göb**, S. Lotz, L. Ha-Wissel, S. Burhan, S. Böttger, F. Ernst, J. Hundt, und R. Huber, "Large area robotically assisted optical coherence tomography (LARA-OCT) for skin imaging with MHz-OCT surface tracking," *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXVII*, SPIE BiOS, Vol. 12367 (2023). DOI: 10.1117/12.2652616.
8. S. Burhan, N. Detrez, K. Rewerts, **M. Göb**, C. Hagel, M. M. Bonsanto, D. Theisen-Kunde, R. Huber, und R. Brinkmann, "Characterization of brain tumor tissue by time-resolved, phase-sensitive optical coherence elastography at 3.2 MHz line rate," *Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic and Surgical Guidance Systems XXI*, SPIE BiOS, Vol. 12368 (2023). DOI: 10.1117/12.2648301.
9. S. Burhan, N. Detrez, **M. Göb**, M. M. Bonsanto, R. Brinkmann, und R. Huber, "Advanced FFT-based contrast approach for MHz optical coherence elastography," *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media V*, European Conferences on Biomedical Optics, Vol. 12632 (2023). DOI: 10.1117/12.2670957.
10. A. P. Singh, **M. Göb**, M. Ahrens, T. Eixmann, H. Schulz-Hildebrandt, G. Hüttmann, R. Huber, und M. Rahlves, "Synchronous high-speed OCT imaging with sensorless brushless DC motor and FDML laser in a phase-locked loop," *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXVII*, SPIE BiOS, Vol. 12367 (2023). DOI: 10.1117/12.2652955.
11. **M. Göb**, S. Lotz, L. Ha-Wissel, S. Burhan, S. Böttger, F. Ernst, J. Hundt, und R. Huber, "Advances in large area robotically assisted OCT (LARA-OCT): towards drive-by continuous motion imaging," *Optical Coherence Imaging Techniques and Imaging in Scattering Media V*, European Conferences on Biomedical Optics, Vol. 12632 (2023). DOI: 10.1117/12.2670950.
12. S. Burhan, N. Detrez, K. Rewerts, **M. Göb**, S. Buschschlüter, C. Hagel, M. M. Bonsanto, D. Theisen-Kunde, R. Huber, und R. Brinkmann, "Phase analysis strategies for MHz OCE in the large displacement regime," *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXVII*, SPIE BiOS, Vol. 12367 (2023). DOI: 10.1117/12.2652847.
13. S. Lotz, **M. Göb**, W. Draxinger, A. Dick, und R. Huber, "13.4 MHz FDML Laser for Intra-Surgical Optical Coherence Tomography," *Conference on Lasers and Electro-Optics Europe & European Quantum Electronics Conference* (2023). DOI: 10.1109/CLEO/Europe-EQEC57999.2023.10231419.

14. S. Burhan, **M. Göb**, M. Pieper, T. Laedtke, T. Grahl, M. Münter, H. Schulz-Hildebrand, G. Hüttmann, P. König, und R. Huber, "Large-area dynamic contrast MHz optical coherence tomography for label-free imaging of porcine tissue," *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXIX*, SPIE BiOS, Vol. 13305 (2025). DOI: 10.1117/12.3046216.
15. S. Burhan, B. Schulte, **M. Göb**, A. P. Singh, B. Mustafa, S. Lotz, W. Draxinger, P. Lamminger, Y. Saker, T. Eixmann, M. Ahrens, M. Heimke, M. Pieper, T. Heinze, T. Wedel, M. Rahlves, M. Ellrichmann und R. Huber, "Switchable lateral resolution real-time MHz-OCT rectoscopy for enhanced colorectal disease diagnosis," *Optical Coherence Tomography and Coherence Domain Optical Methods in Biomedicine XXIX*, SPIE BiOS, Vol. 13305, (2025). DOI: 10.1117/12.3046222.
16. T. Laedtke, S. Burhan, S. Lotz, **M. Göb** und R. Huber, "Speckle Reduction Through Angular Compounding in Robotically Assisted MHz-OCT," *European Conferences on Biomedical Optics 2025*, W1D.4 (2025). DOI: 10.1364/ECBO.2025.W1D.4.
17. S. Burhan, **M. Göb**, G. Hüttmann und R. Huber, "Non-Equidistant Temporal Scanning in Dynamic MHz-OCT for Higher Speed," *European Conferences on Biomedical Optics 2025*, S4B.3 (2025). DOI: 10.1364/ECBO.2025.S4B.3.
18. A. P. Singh, **M. Göb**, S. Burhan, N. Tesmer, W. Draxinger, S. Lotz, B. Schulte, M. Ellrichmann, R. Huber und M. Rahlves, "Multi-MHz-OCT Endoscopic Imaging with an Automated Pullback Mechanism," *European Conferences on Biomedical Optics 2025*, M1C.1 (2025). DOI: 10.1364/ECBO.2025.M1C.1.
19. W. Draxinger, S. Lotz, A. Behr, **M. Göb** und R. Huber, "Lifting constraints on multi-kHz raster-line scanning frequency matching in multi-MHz Swept-Source OCT imaging systems," *European Conferences on Biomedical Optics 2025*, W5D.5 (2025). DOI: 10.1364/ECBO.2025.W5D.5.
20. **M. Göb**, S. Burhan, G. Hüttmann und R. Huber, "In vivo Megahertz Dynamic Optical Coherence Tomography of Human Skin," *European Conferences on Biomedical Optics 2025*, Tu3C.4 (2025). DOI: 10.1364/ECBO.2025.Tu3C.4.

## WEITERE KONFERENZBEITRÄGE OHNE TAGUNGSBAND (POSTER)

1. C. Jacobi, **M. Göb**, R. Huber, R. J. Ludwig, und J. E. Hundt, "Searching for novel drug candidates to promote wound healing," 48. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung e. V., P238 (2022).
2. C. Jacobi, **M. Göb**, L. Gao, M. Otto, R. Huber, R. J. Ludwig, und J. E. Hundt, "Screening an inhibitor library for new drug candidates to promote wound healing," 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research (2022). DOI: 10.1016/j.jid.2022.09.637.
3. C. Jacobi, **M. Göb**, L. Gao, M. Otto, R. Huber, R. J. Ludwig, und J. E. Hundt, "Searching for new drug candidates, that aid wound healing, by screening an inhibitor library," 49. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung e. V., P219 (2023). DOI: 10.1111/exd.14726.

## BETREUTE ARBEITEN

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden folgende Studienarbeiten betreut:

1. Bachelorarbeit von B. Bargu mit dem Titel „Bau kompakter 4f-Optiken für die hochauflösende MHz-OCT-Bildgebung“, Universität zu Lübeck (2021).
2. Masterarbeit und -praktikum von S. Burhan mit dem Titel „Implementierung einer motorisierten Scaneinheit für großflächige, ultra-schnelle optische Kohärenztomographie“, Universität zu Lübeck (2021).
3. Masterpraktikum von B. Mustafa mit dem Titel „Automated vessels count algorithm to find novel OCT-based biomarkers for inflammatory skin disease“, Lübeck University of Applied Sciences (2023).
4. Masterarbeit von B. Mustafa mit dem Titel „Optical multiplex beam delivery system for dual-resolution endoscopic OCT“, Lübeck University of Applied Sciences (2024).

## DANKSAGUNG

*„Man merkt nie, was schon getan wurde - man sieht immer nur, was noch zu tun bleibt.“*

Dieses Zitat von Marie Curie beschreibt genau, warum eine Doktorarbeit nie wirklich 'fertig' ist. Mit jedem gelösten Problem ergeben sich neue Fragen und Möglichkeiten, die erforscht werden wollen. Diese Neugier hat meine Promotion geprägt und dazu beigetragen, dass sie länger gedauert hat als ursprünglich geplant. Doch nun ist es geschafft und ich bin unendlich dankbar für all die geduldigen Menschen an meiner Seite, die mir neue Perspektiven aufgezeigt, mich in allen Lebenslagen unterstützt und mit angepackt haben.

Danke an:

**Robert**, dass du mir trotz meines anfänglichen Zögerns die Chance gegeben hast, Teil deiner Arbeitsgruppe zu werden und diese Dissertation anzufertigen. Trotz deiner vielseitigen Aufgaben als Institutsleitung hast du dir immer wieder die Zeit genommen, spontane Laborprobleme zu lösen. Du hast mir wertvolle Freiheiten gelassen, mich in Forschung und Lehre selbst zu verwirklichen, aber auch in die Prozesse der Hochschulpolitik einzutauchen. Danke, dass ich an Cluster-Retreats und internationalen Konferenzen teilnehmen durfte und dadurch ganz neue Einblicke gewinnen konnte. Besonders dankbar bin ich dir jedoch für deine Unterstützung während meiner Schwangerschaft und Elternzeit – du hast gezeigt, wie sehr dir sowohl beruflicher Erfolg als auch die persönlichen Belange deiner Mitarbeitenden am Herzen liegen und das schätze ich sehr.

**Tom**, dafür, dass du mich in die Welt der OCT eingeführt hast. Dein MHz-OCT-System zu „erben“ war eine Ehre – auch wenn es beschlossen hat, mich nach deinem Abgang mit spontanen Fehlermeldungen zu begrüßen.

**Sazgar**, dafür, dass du aus meinem „Erbe“ während meiner Elternzeit so viel mehr gemacht hast, als ich je erwartet hätte. Dein unermüdlicher Fleiß ist echt beeindruckend. Ohne deine Unterstützung und Zusammenarbeit wären ganze Kapitel dieser Dissertation schlichtweg nicht möglich gewesen. Einfach Danke!

**Simon**, dafür, dass du mit mir das LARA-OCT-Projekt ins Leben gerufen hast. Ohne deine akribische Arbeit, insbesondere bei der Miniproposal-Antragstellung, gäbe es keinen Roboterarm in unserem Labor – und damit auch keine spaßigen Tannenbaum- oder Fege-Projekte. Danke, dass du die Ordnung im Labor im Griff behältst, mit deiner FDML-Expertise

immer weiterhilfst und deinen Low-Noise Laser sogar mit auf Reisen nach Kiel geschickt hast. Auf dich ist einfach Verlass und es motiviert ungemein, mit dir zusammenzuarbeiten.

**Wolfgang**, dafür dass ich dich immer mit Software- und Elektronikfragen nerven durfte und du immer Lösungen parat hattest. Danke auch für die Entwicklung der LURO-Software – sie treibt einen zwar manchmal in den Wahnsinn, aber die Ergebnisse sind es mehr als wert.

**Huber's Young Stars - Asim, Marie, Philipp**, dafür, dass ihr Teil der OCT-Familie seid (wenn auch indirekt). Der Roadtrip mit euch durch Kalifornien und die Schneeballschlacht im Sequoia-Nationalpark bleiben unvergesslich.

**Baris, Bayan und Sazgar**, die mit ihren Studi-Projekten diese Arbeit bereichert haben. Es hat immer Spaß gemacht, mit euch gemeinsam an neuen Systemlösungen zu tüfteln und ich bin auch ein bisschen stolz darauf, dass der Weg sogar zu einer eigenen Promotion geführt hat und ich dadurch mittlerweile schon „Betreuungsenkelkinder“ habe...

**Caren, Linh und Jenny**, dafür, dass ihr mich in die Problemstellungen der Dermatologie eingeführt habt und so spannende Kooperationsprojekte entstanden sind.

**Sven** für die hilfreichen Tipps zum Roboter und die Möglichkeit an den Schulungen teilzunehmen.

**Awanish und Maik**, dafür, dass ihr euch mit der Ansteuerung der Drohnenmotoren rumgeschlagen und die Rektoskop-Prototypen gebaut habt.

**Berenice und Mark** für die klinischen „Einblicke“ in die Gastroenterologie.

**die Teams der Anatomie in Lübeck und Kiel**, für die anatomische Expertise und histologischen Schnittbilder sowie für die Möglichkeit, Messungen an Körperspendern durchzuführen – ein spannendes Erlebnis.

**Bianka**, dafür, dass dank deiner Unterstützung organisatorisch immer alles reibungslos lief. Dein offenes Ohr und deine Geduld haben den Institutsalltag sehr viel leichter gemacht.

**Reinhard**, dafür, dass du an deinem „Kiosk-Fenster“ immer wertvolle Tipps für meine technischen Zeichnungen hattest und alle Teile immer schneller angefertigt hast als geplant.

**alle BMO-Mitarbeitende**, für die angenehme Arbeitsatmosphäre, die Sommer- und Weihnachtsfeiern sowie die inspirierenden Gespräche, ohne die viele Daten dieser Arbeit nie zustande gekommen wären.

**Tim und den Promovierendenrat**, für den intensiven Austausch und inspirierende Einblicke in die Hochschulpolitik.

Ein dickes Dankeschön geht außerdem an meine Freunde und Familie:

**die „Lost in Lübeck“-Crew**, für legendäre WG-Partys und unvergessliche Abende.

**die Handballmädels**, für das Abschalten und Auspowern mit euch nach langen Labortagen.

**die Freunde der Sonne**, dafür, dass aus Mitbewohnerinnen eine enge Freundschaft wurde.

**die Restauranttester**, für die schmackhafte Ablenkung - besonders zu fiesen Coronazeiten.

**meine Freunde aus der Heimat**, dafür, dass ihr mich immer auf dem Laufenden haltet.

**meine Nachbarn**, die immer für ein Feierabendbier auf dem Balkon zu haben sind.

**das Wolfsrudel**, einfach dafür, dass es euch gibt.

**Mama und Papa**, dafür, dass ihr mich früh in die Welt ziehen lassen, an mich geglaubt und mich zu dem Menschen gemacht habt, der ich heute bin.

**Tjorven**, dafür, dass du dich jetzt für das viele Korrekturlesen revanchierst.

**meiner gesamten Familie**, dafür, dass auf euch immer Verlass ist und ihr „Zuhause“ zu dem macht, was es ist. Auch wenn ihr mich regelmäßig genervt habt, wann ich endlich fertig werde, habe ich mich immer darauf gefreut, wenn es zur Abwechslung in die Heimat ging.

Zuletzt geht mein größter, herzlichster Dank an:

**Tom**, für deine unermüdliche, volle Unterstützung. Danke, dass du mir während der gesamten Promotionszeit immer den Rücken freigehalten hast – besonders im letzten Jahr mit Kind. Danke, dass du mich ziehen lassen und die Welt entdecken lassen hast und gleichzeitig immer mein Ruhepol, die beste Abwechslung und mein Zuhause bist.

**Linnar**, der unser Leben mit seinem Mini-Charme komplett auf den Kopf gestellt hat – und es jeden Tag ein bisschen besser macht.