



(11) **EP 1 929 939 A2**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
11.06.2008 Patentblatt 2008/24

(51) Int Cl.:
A61B 5/00 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **07018771.1**

(22) Anmeldetag: **25.09.2007**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MT NL PL PT RO SE SI SK TR
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL BA HR MK RS

(72) Erfinder:
• **König, Karsten, Prof., Dr.**
66119 Saarbrücken (DE)
• **Tchernook, Andrei, Dr.**
09212 Limbach-Oberfrohna (DE)

(30) Priorität: **29.09.2006 DE 102006046925**
28.09.2006 DE 102006046554

(74) Vertreter: **Freitag, Joachim et al**
Patentanwälte
Oehmke & Kollegen
Neugasse 13
07743 Jena (DE)

(71) Anmelder: **JenLab GmbH**
07778 Neuengönna (DE)

(54) **Verfahren und Anordnung zur mikroskopisch hochaufgelösten Abbildung oder Bearbeitung in der Laser-Endoskopie**

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Erzeugung hochauflösender mikroskopischer Abbildungen auf Basis von lasergenerierter Objektreaktionsstrahlung und zur Erzeugung mikroskopischer Bearbeitungsschnitte. Die Aufgabe der Erfindung, eine neue Möglichkeit zur endoskopischen Anwendung von Multiphotonen-Prozessen zu finden, die eine präzise Bildgebung und Mikrobearbeitung von Materialien, insbesondere von biologischen Materialien, mit einer Genauigkeit von weniger als einem Millimeter mittels der Strahlung eines Femtosekundenlasers gestattet, wird erfindungsgemäß gelöst, indem zur Erzeugung mikroskopisch hochaufgelöster Abbildungen gepulste fokussierte Laserstrahlung in ein Objekt (1) mittels einer Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45), bestehend aus einem Transmissionssystem (4) und einer Miniatur-Fokussieroptik (5) hoher numerischer Apertur größer 0,55, eingestrahlt wird zur Auslösung einer lokalen Objektreaktionsstrahlung im Mikrometer- bis Nanometerbereich und das distale Ende der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) mindestens zweidimensional bewegt wird zum örtlich hochaufgelösten Abtasten des Objekts (1) und zum Übertragen von örtlich fortschreitend abgetasteter Objektreaktionsstrahlung an ein bildgebendes System (30) mit Photonendetektor (36).

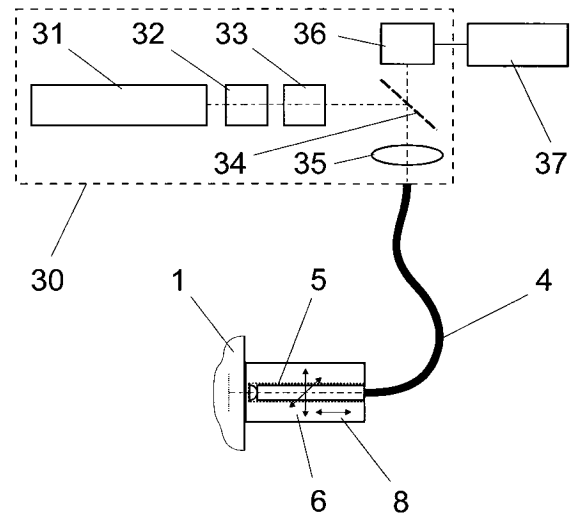


Fig. 1

EP 1 929 939 A2

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Anordnung zur Erzeugung hochauflösender mikroskopischer Abbildungen in der Endoskopie auf Basis von lasergenerierter Objektreaktionsstrahlung und zur Erzeugung mikroskopischer Bearbeitungsschritte.

Die Erfindung findet vorzugsweise Anwendung in der Laser-Endoskopie auf der Basis von Multiphotonen-Prozessen mittels Femtosekunden-Lasertechnik.

Sie ist insbesondere einsetzbar bei Mikroabbildungsverfahren, Laser-Scanning-Mikroskopie, optisch-kohärenter Tomographie sowie Ein- und Multiphotonen-Imaging, und findet wegen ihrer weitgehenden Miniaturisierung und Flexibilisierung des abbildenden bzw. bearbeitenden optischen Systems insbesondere Anwendung in der Endomikroskopie und Endomikrochirurgie.

Die Erfindung eignet sich besonders für die präzise Bearbeitung von biologischen Materialien, wie die optische Desaktivierung unerwünschter Zellen in einem Zellverband, die Bearbeitung des Augenhintergrundes und der Augenlinse, die Bearbeitung von Implantaten, die kontrollierte Wirkstoffabgabe, die Kieferchirurgie, die HNO-Chirurgie, die Gefäßchirurgie, Lymphknotentherapie, Herzchirurgie, Neurochirurgie, Stammzelltherapie und Tumorthherapie.

[0002] Strahlung von Femtosekundenlasern wird bislang vorwiegend im diagnostischen Bereich eingesetzt. Insbesondere wird die mittels naher infraroter (NIR) Femtosekundenlaserstrahlung induzierte Zweiphotonenfluoreszenz (siehe z.B. US 5,034,613 A) und SHG für eine dreidimensionale Mikroskopie biologischer Objekte genutzt. Zudem werden Femtosekundenlaser für die Diagnostik mittels optischer Kohärenztomographie (OCT) eingesetzt (WO 1998/038907).

NIR-Femtosekundenlaser für die optische Bearbeitung mit einer Präzision im Sub-Millimeterbereich werden bislang lediglich für die Cornea-Behandlung (z.B. EP 1 470 623 A2, DE 101 48 783 A1, US 5,993,438 A) kommerziell eingesetzt. Dabei werden Multiphotonen-Prozesse wirksam, die zu einer Ionisierung des Targets, einem optischen Durchbruch, einer Plasmabildung und zur Entstehung disruptiver Prozesse wie die Ausbildung und den Zerfall von Kavitätsblasen und die Generation von Schockwellen führen und für eine Materialbearbeitung genutzt werden können. Durch die beugungsbegrenzte Fokussierung der Laserstrahlung mit Fokussieroptiken einer hohen numerischen Apertur ($NA > 1$) auf Beleuchtungspots unter einem Mikrometer Durchmesser reichen NIR-Laserimpulse geringer Nanojoule-Impulsenergie aus, um den Schwellwert für den optischen Durchbruch im typischen Bereich um 1 TW/cm^2 , um Materialbearbeitungen vorzunehmen. Es wurde demonstriert, dass durch die Anwendung von multiplen -1 nJ Impulsen, Schneidwirkungen und Bohrungen im Sub-200 nm-Bereich ohne Kollateralschäden realisiert werden können (KÖNIG et al., Optics Express 10 (2002) 171-176, KÖNIG et al., Med. Laser Appl. 20 (2005) 169-184).

Zusätzlich zur medizinischen Anwendung im Bereich der Behandlung des vorderen Augenabschnittes existieren Femtosekunden-Laseranordnungen für die präzise Oberflächenbearbeitung von Halbleitern und anderen Werkstoffen (LeHarzic et al., Optics Express 13 (2005) 6651-6656).

In der DE 100 65 146 A1 wird ein Verfahren zur Analyse und optischen Bearbeitung von pigmentierten Hauttumoren mittels intensiver NIR-Femtosekunden-Laserstrahlung und Fokussieroptiken hoher numerischer Apertur (NA) beschrieben. Der Einsatz im Targetinneren ist auf den Arbeitsabstand der Makro-Fokussieroptik mit hoher numerischer Apertur $1,2 \leq NA \leq 1,3$ von typischerweise $200 \mu\text{m}$ beschränkt (KÖNIG, RIEMANN, Journal Biomedical Optics 8 (3) (2003) 432-439).

Bislang existieren keine kommerziellen Lichtendoskope mit Fokussieroptiken hoher numerischer Apertur. Typische numerische Aperturen liegen im Bereich kleiner $NA \approx 0,3$. Zudem basieren alle kommerziellen Licht-Endoskope auf optischen Materialien und Lichtleitern, die infolge hoher Dispersion keine Übertragung von Femtosekunden-Impulsen ermöglichen.

Es existieren erste Endoskop-Prototypen für den Einsatz an Kleintieren auf der Basis von GRIN-Linsen und mikrostrukturierten Lichtleitern geringer NA für eine Zweiphotonen-Bildgebung mittels injizierter Fluoreszenzmarker oder vorangegangener Injektion von FremddNA (Transfektion), die zur Bildung von fluoreszierenden Proteinen führt. Gradientenindex-(GRIN-)Linsen mit typischen Durchmessern von $0,2 \text{ mm}$ bis 2 mm ermöglichen den Aufbau von miniaturisierten Systemen. Dank ihrer planen Endflächen lassen sich Mehrlinsensysteme einfach und kompakt herstellen. Die NA hängt vom verwendeten Material und dem Herstellungsprozess des Brechzahlgradienten ab. Für silberdotierte GRIN-Linsen beträgt die NA maximal $0,48$ (NIR bei 850 nm) und für thalliumdotierte $0,55$ (850 nm). Die Auflösung, die Anregungseffizienz und die Detektionseffizienz sind jedoch aufgrund der geringen NA gering.

Um die für eine multiphotonen-basierte Materialabtragung notwendige wesentlich höhere Lichtintensität als im Fall der Diagnostik zu erreichen, würden extrem hohe Laserimpulsenergien erforderlich werden. Dies würde kostenintensive, aufwendige Laserapparaturen erfordern. Zudem würde ein hohes Gefährdungspotenzial bestehen. Eine Bearbeitungspräzision im Sub- $100 \mu\text{m}$ -Bereich innerhalb des Targets könnte infolge des Auftretens kollateraler Schäden, inklusive der Formation großer Kavitätsblasen im Bereich größer als eine Zelldimension sowie unkontrollierter Selbstfokussierung (Nebenschäden korrelieren mit der Impulsenergie), nicht erreicht werden.

Alle genannten Verfahren und Anordnungen haben den Nachteil, dass sie keinen endoskopischen Einsatz von Multiphotonen-Prozessen mittels Strahlung eines Femtosekundenlasers im Inneren von Materialien und im Körperinneren für eine präzise Bildgebung und/oder

Bearbeitung mit einer Genauigkeit von weniger als einem Millimeter ermöglichen.

[0003] Die Entwicklung mehrerer mikroskopischer optischer Abbildungsverfahren (sog. Mikro-Imaging), wie Laser-Scanning-Mikroskopie (LSM), Optisch kohärente Tomographie (OCT) und Multiphotonen-Imaging (MPI) hat das optische Mikro-Imaging revolutioniert und seine Möglichkeiten schnell erweitert (siehe z.B. Concello et al. in: Nature Methods 2 (12), 2005, S. 920-931; Helmchen et al., a.a.O., S. 932-940). Die auf diesen Verfahren basierenden Geräte werden zunehmend im biomedizinischen Bereich eingesetzt, weil sie mikroskopische Untersuchungen schnell, nicht invasiv und ohne Benutzung von Kontrastsubstanzen erlauben (siehe z.B. Flushberg et al., a.a.O., S. 941-950).

Zurzeit werden die optischen mikroskopischen Abtastverfahren meist für externe bzw. oberflächennahe Untersuchungen eingesetzt, weil flexible und miniaturisierte Geräte mit Scanning-Verfahren an der fehlenden Miniaturisierung der Scanner scheitern.

[0004] Vorhandene optisch abbildende Lösungen, wie z.B. LSM-Endoskope gemäß EP 1 468 322, haben nur eine beschränkte Auflösung und können ausschließlich für LSM verwendet werden. MPI-Endoskope (z.B. Ling Fu et al. in: Optics Express 14 (3), 2006, S. 1027-1032) haben intrinsisch relativ große Abmessungen, da ein MEMS-Spiegel-Scanner (micro-electro-mechanical system) mit guten optischen Parametern nicht kleiner als ca. 3 mm ist (wodurch ein Endoskop mit MEMS im Durchmesser nicht kleiner als ca. 5 mm sein kann).

[0005] Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine neue Möglichkeit zur endoskopischen Anwendung von Multiphotonen-Prozessen zu finden, die eine präzise Bildgebung und/oder Mikrobearbeitung von Materialien, insbesondere von biologischen Materialien, mit einer Genauigkeit von weniger als einem Millimeter mittels der Strahlung eines Femtosekundenlasers gestattet.

Es ist eine weitere Aufgabe der Erfindung, eine Möglichkeit zur mikroskopisch abtastenden optischen Abbildung, insbesondere für flexible medizinische Handgeräte und Mikroendoskope, zu finden, die eine Miniaturisierung und Flexibilisierung eines optischen Kopfes bei hoher örtlicher Auflösung gestattet, ohne an ein bestimmtes Abbildungs- und Analyseverfahren (z.B. MPI, OCT oder LSM) gebunden zu sein.

Eine erweiterte Aufgabe besteht in der flexiblen Anwendung des miniaturisierten optischen Kopfes für mikroskopische Bearbeitung von biologischem Gewebe und anderen Materialien sowie für kombinierte Abbildungs- und Bearbeitungsgeräte.

[0006] Erfindungsgemäß wird die Aufgabe bei einem Verfahren zur Erzeugung mikroskopisch hochauflöster Abbildungen auf Basis von lasergenerierter Objektreaktionsstrahlung, gekennzeichnet durch die Schritte:

- gepulstes Einstrahlen fokussierter Anregungsstrahlung von einem Lasersystem in ein Objekt mittels einer Transmissions-Fokussier-Optikeinheit, beste-

hend aus einem Transmissionssystem und einer mit dessen Ende starr verbundenen Miniatur-Fokussieroptik hoher numerischer Apertur größer 0,55, zur Auslösung einer lokalen Reaktionsstrahlung des Objekts im Mikrometer- bis Nanometerbereich,

- mindestens zweidimensionale Scanbewegung des distalen Endes der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit zum sukzessive räumlich veränderten Ausrichten der Anregungsstrahlung gegenüber dem Objekt und örtlich zugeordneten hochauflösten Abtasten von Objektreaktionsstrahlung des am distalen Ende der Miniatur-Fokussieroptik vorliegenden Objekts und
- Übertragung von örtlich fortschreitend abgetasteter Objektreaktionsstrahlung mittels der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit an ein bildgebendes System mit Photonendetektor.

[0007] Vorteilhaft erfolgt ein dritter zu der zweidimensionalen Scanbewegung orthogonaler Scanvorgang durch axiales Bewegen der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit zur Veränderung der Tiefe einer aus dem zweidimensionalen Scanbewegung erzeugten Bildaufnahme der Objektreaktionsstrahlung in einer durch die Miniatur-Fokussieroptik vorgegebenen Fokusebene.

[0008] Die Miniatur-Fokussieroptik und eine zu dem Laser- und dem bildgebenden System gehörige Mikrooptik, die eine direkte optische Kopplung zu dem Laser- und dem bildgebenden System herstellt, werden zweckmäßig mittels einer starren Verbindung als Transmissions-Fokussier-Optikeinheit gleichzeitig scannend bewegt, wobei in axialer Richtung eine Relativbewegung zur Einstellung der Tiefe der Fokusebene im Objekt vorgenommen werden kann. Dabei wird vorzugsweise die Fokusebene durch Variation des Abstandes zwischen Transmissionssystem und Miniatur-Fokussieroptik variiert.

[0009] In einer bevorzugten Variante werden die Miniatur-Fokussieroptik und eine optische Faser, die eine optische Kopplung zu dem Laser- und dem bildgebenden System herstellt, mittels einer starren Verbindung als Transmissions-Fokussier-Optikeinheit gleichzeitig scannend bewegt. Dabei kann durch eine Art Faserbündel aus mehreren Faser-Fokussier-Optikeinheiten simultan eine mehrkanalige Abtastung des Objekts durchgeführt werden oder es können Abbildungs- und Bearbeitungsfunktionen des Objekts quasi-simultan vorgenommen werden, indem die Anregungsstrahlung durch Parameteränderung in einem Kanal zur Gewebearbeitung eingesetzt wird.

[0010] Die erweiterte Aufgabe der Erfindung wird erfindungsgemäß gelöst durch:

- Umschaltung der Anregungsstrahlung zu einer leistungs erhöhten Wirkungsstrahlung,
- gepulstes Einstrahlen der mittels der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit fokussierten Wirkungsstrahlung in das Objekt zur Auslösung von lokalen Gewe-

beveränderungen und

- definierte Bewegung des distalen Endes der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit zur Ausführung dreidimensionaler Bearbeitungsschritte im Objekt.

[0011] Dabei wird die Strahlung eines NIR-Femtosekundenlasers mittels Miniaturoptiken hoher numerischer Apertur, insbesondere GRIN-Optiken, bevorzugt in Kombination mit flexiblen optischen Lichtleitern, verspiegelten Hohlleitern oder starren stabförmigen GRIN-Optiken nahezu dispersionsfrei ins Objekt übertragen und auf einen Beleuchtungsspot kleiner $100\ \mu\text{m}$, bevorzugt um $1\ \mu\text{m}$, auf ein Target fokussiert. In einer Fokusebene kann mit dem Femtosekundenlaser auch biologisches Gewebe bearbeitet werden, wenn die transiente Intensität im Bereich größer $100\ \text{GW}/\text{cm}^2$, typischerweise im Bereich $1\text{-}20\ \text{TW}/\text{cm}^2$, liegt.

Durch Verschiebung der Fokusebene, z.B. mittels einer piezotriebenen Verstelleinheit, kann die Fokusebene variiert werden und so eine Materialbearbeitung in verschiedenen Targettiefen ermöglicht werden. Die Impulsbreite am Target beträgt zweckmäßig weniger als $10\ \text{ps}$, bevorzugt kleiner $400\ \text{fs}$. Wegen der geringen Absorptions- und Streukoeffizienten im NIR-Bereich wird eine NIR-Laserwellenlänge bevorzugt, die Erfindung umfasst jedoch auch Laserwellenlängen im sichtbaren Bereich, insbesondere die durch einen SHG-Kristall erzeugte frequenzverdoppelte Strahlung eines Femtosekundenlasers sowie Strahlung im UV-Bereich, insbesondere die THG-Laserstrahlung.

Es können Laserimpulse mit Folgefrequenzen im MHz-Bereich, aber auch mit geringerer Folgefrequenz (z.B. im kHz-Bereich), sowie Einzelimpulse für die Bearbeitung verwendet werden. Bevorzugt werden Impulse im Nanojoule-Bereich eingesetzt.

[0012] Üblicherweise sind Expositionszeiten pro Beleuchtungsspot von weniger als $10\ \text{ms}$ für die Materialbearbeitung ausreichend.

[0013] Vorteilhaft erfolgt die Umschaltung zur Einstrahlung der leistungserhöhten Wirkungsstrahlung für die Gewebearbeitung des Objekt im Wechsel mit dem gescannten Einstrahlen leistungsverminderter Anregungsstrahlung zur ortsauflösenden Bildaufnahme von Objektreaktionsstrahlung erfolgt. Die vom Objekt emittierte Strahlung wird zweckmäßig mittels zeitkorrelierter Einzelphotonen-Zählung detektiert.

[0014] Die Aufgabe der Erfindung wird ferner mit einem Verfahren zur Mikrobearbeitung von biologischem Material, insbesondere von Hautgewebe, in der Laser-Endoskopie mit einer Präzision von weniger als einem Millimeter, dadurch gelöst, dass Laserimpulse eines Femtosekundenlasers mit einer Impulsenergie von $0,05\ \text{nJ}$ bis $100\ \mu\text{J}$ über die Faser in die objektseitig angeordnete Miniatur-Fokussieroptik mit einer hohen numerischen Apertur eingekoppelt und mit einem Beleuchtungsspot von weniger als $10\ \mu\text{m}$ auf ein Target innerhalb des Objekts fokussiert werden, dass die Laserimpulse mit transienten Intensitäten von mehr als $100\ \text{GW}/\text{cm}^2$

Multiphotonenprozesse in Form einer Targetionisierung, eines optischen Durchbruchs und einer Plasmabildung auslösen, die für eine endoskopische Mikrobearbeitung mit einer Genauigkeit unter $100\ \mu\text{m}$ genutzt werden, ohne dass in Nachbarbereichen signifikante kollaterale Schäden auftreten, und dass die vom Target ausgesendete Plasmastrahlung sowie weitere vom Target emittierte Objektreaktionsstrahlung bildgebend mittels einer Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung, vorzugsweise in Form eines Multiphotonen-Lasermikroskops, detektiert wird, um die Mikrobearbeitung zu überwachen.

[0015] Dadurch können durch eine Einzelpunktbeleuchtung einzelne Zellen innerhalb eines Gewebverbandes optisch zerstört werden, ohne benachbarte Zellen zu schädigen, wobei der Durchmesser des zerstörten Bereichs durch Wahl der Expositionszeit sowie der verwendeten Laserimpulsenergie variiert wird. Bei gleicher Konditionierung kann durch lineare Bewegung ein präziser Schnitt mit Schnittbreiten kleiner $10\ \mu\text{m}$ im Inneren eines Objekts ausgeführt werden, wobei die Schnittbreite durch Wahl von Expositionszeit und Laserimpulsenergie variiert wird.

[0016] Wird ein interessierender Bereich (region of interest - ROI) systematisch abgescannt, kann ein präziser Materialabtrag auf größeren Flächen von $100\ \mu\text{m}^2$ bis $1\ \text{mm}^2$ mit einer Präzision von weniger als $10\ \mu\text{m}$ und einer Tiefenwirkung von weniger als $20\ \mu\text{m}$ realisiert werden. Bei zusätzlicher Verschiebung der Fokusebene ist es möglich, einen großvolumigen Materialabtrag im Bereich $1\ \mu\text{m}^3$ bis $1000\ \text{mm}^3$ zu realisieren.

Die vom Target ausgesendete Strahlung während der Laserbearbeitung, insbesondere das Plasmaleuchten, kann über die gleiche Strahlführung wie die Laserstrahlung (flexible mikrostrukturierte Faser, verspiegelter Hohlleiter, GRIN-Optik) und die Fokussieroptik, aufgenommen, transportiert und mittels Strahlteiler für eine Detektion ausgekoppelt werden. Zudem kann bei Intensitäten unterhalb der Schwelle für den optischen Durchbruch, typischerweise im Bereich von $1\text{-}100\ \text{GW}/\text{cm}^2$ durch Abrastern des Objektes eine Bildaufnahme durch Detektion der Zwei- und Dreiphotonen-Fluoreszenz sowie der SHG und THG von bestimmten Objektstrukturen, z.B. Kollagenfasern, erzielt werden. Dies ermöglicht das genaue Auffinden eines zu bearbeitenden Targets. Oftmals kann die SHG und die Autofluoreszenz ohne zusätzliche Objektmarkierung für die Targetsuche genutzt werden. Diese Bildgebung kann außerdem genutzt werden, unmittelbar nach der Bestrahlung mit intensiven Laserimpulsen im TW/cm^2 -Bereich, den Effekt der Laserbearbeitung bildgebend darzustellen. Interessanterweise wurde in Vorversuchen beobachtet, dass bearbeitetes biologisches Material eine intensive Lumineszenz im Bereich der Laserbearbeitung emittiert.

[0017] Des Weiteren wird die Aufgabe bei einem miniaturisierten mikroskopischen Kopf für endoskopische Anwendungen, bei dem eine Transmissionsoptik zur Zuführung einer Anregungsstrahlung, eine Fokussieroptik zum gebündelten Energieeintrag der Anregungsstrah-

lung in ein Objekt, und eine Scaneinrichtung zum Ändern des Ortes des Energieeintrags in einem Gehäuse angeordnet sind, wobei die Fokussieroptik durch ein Fenster im Gehäuse die Wirkungsstrahlung in das Objekt fokussiert, dadurch gelöst, dass die Fokussieroptik eine Miniatur-Fokussieroptik ist, die einen Durchmesser von weniger als 6 mm und eine numerische Apertur von $NA > 0,55$ aufweist, wobei die Anregungsstrahlung mittels der Miniatur-Fokussieroptik lokal auf einen Bereich von weniger als $100 \mu\text{m}$ begrenzt in das Objekt fokussiert ist, dass die Transmissionsoptik mit ihrem im Gehäuse befindlichen Ende starr mit der Miniatur-Fokussieroptik verbunden ist und eine Transmissions-Fokussier-Optikeinheit bildet, und dass die Scaneinrichtung mindestens einen in einer Ebene zweidimensional beweglichen Scan-Aktuator zur lateralen Bewegung der Miniatur-Fokussieroptik in unmittelbarer Nähe des Fensters aufweist.

[0018] Zweckmäßig weist die Scaneinrichtung weiterhin eine axial bewegliche Verstelleinheit zur axialen Bewegung der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit auf, wobei die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit in der Verstelleinheit axial fest eingespannt ist.

Dabei ist die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit in einer ersten Variante aus der Miniatur-Fokussieroptik und einer optischen Faser starr zusammengesetzt, wobei die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit in der Verstelleinheit axial fest eingespannt ist. In einer zweiten Variante ist anstelle der optischen Faser ein verspiegelten Hohlleiter eingesetzt.

In einer dritten Variante besteht sie aus der Miniatur-Fokussieroptik und einer Mikroskopoptik einer Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung, wobei der zweidimensionale Scan-Aktuator und die axiale Verstelleinheit ausschließlich an die Miniatur-Fokussieroptik gekoppelt sind.

[0019] Die Miniatur-Fokussieroptik ist vorzugsweise eine mehrlinsige GRIN-Optik, die entweder eine gerundete Endfläche aufweist oder mit einem vorgeordneten refraktiven Kugellinsensegment versehen ist, um die hohe numerische Apertur von $NA > 0,55$ (bis zu $NA = 0,85$) zu erreichen.

Um die axiale Auflösung noch weiter zu verbessern, enthält die Fokussieroptik zweckmäßig eine zweilinsige GRIN-Optik und eine dazwischen angeordnete diffraktive Optik.

[0020] Vorteilhaft ist in der Scaneinrichtung der zweidimensionale Scan-Aktuator als Piezo-Scanner ausgebildet. Er kann aber auch zweckmäßig als elektrostatischer Scanner oder als elektromagnetischer Scanner ausgebildet sein.

Für die Realisierung eines 3D-Scanners ist die axiale Verstelleinheit vorteilhaft mit dem zweidimensionalen Scan-Aktuator verbunden und der Scan-Aktuator in einer axial beweglichen Scannerhalterung befestigt.

[0021] Die Transmissionsoptik ist vorteilhaft eine mikrostrukturierte photonische Kristallfaser (PCF), weil diese die Femtosekunden-Laserstrahlung nahezu dispersionsfrei überträgt. Für orts aufgelöste Bildaufnahmen wird

vorzugsweise eine Faser vom Typ Double-Clad-Large-Area-Core-PCF eingesetzt. Für andere Anwendungen ist die Faser als eine Large-Area-Core-PCF ausgebildet.

[0022] Vorteilhaft ist im Scannergehäuse um die Faser herum mindestens ein Photoempfänger zum direkten Aufnehmen der Objektreaktionsstrahlung angeordnet. Der Photoempfänger ist vorzugsweise mit einer optischen Filterkombination versehen.

Zweckmäßig können im Gehäuse um die Faser herum mehrere Photoempfänger zum direkten Aufnehmen unterschiedlicher Bestandteile von Objektreaktionsstrahlung angeordnet sein.

[0023] Um eine Mehrkanalabtastung zu erreichen, sind im Gehäuse vorteilhaft mehrere Fasern in einer Faserhalterung parallel geführt. Dabei sind die Fasern zweckmäßig in einer flexiblen Bandage eingebettet und weisen Versteifungselemente zur Schwingungsunterdrückung auf.

Das Gehäuse ist vorzugsweise rohrförmig ausgebildet und ist an dessen Stirnseiten durch einen Deckel und ein Fenster hermetisch abgedichtet.

Insbesondere für endoskopische Anwendungen weist das Gehäuse mindestens eine ebene Seitenwand auf, wobei in der ebenen Seitenwand des Gehäuses seitlich ein Fenster angebracht und das Gehäuse mit stirnseitigen Deckeln hermetisch abgedichtet ist.

[0024] Für diesen Aufbau enthält die Miniatur-Fokussieroptik ein strahlungsumlenkendes Element, so dass die Anregungsstrahlung lateral aus der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit austritt und durch das seitlich angeordnete Fenster auf das Objekt fokussierbar ist, wobei die axiale Verstelleinheit für eine erste laterale Scan-Dimension am Objekt und der Scan-Aktuator für eine zweite laterale Scan-Dimension sowie den Tiefenscan im Objekt vorgesehen sind.

Das hermetisch abgedichtete Gehäuse ist zweckmäßig evakuiert, um eine ungehinderte Bewegung des distalen Endes der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit zu gewährleisten.

[0025] Die Erfindung basiert auf der Überlegung, dass herkömmliche endoskopische Bildaufnehmer oder mikrochirurgische Einheiten entweder eine zu geringe optische Auflösung oder zu große Abmessungen aufweisen oder aber an ein bestimmtes mikroskopisches Verfahren zur Abbildung gekoppelt sind, so dass biologische Gewebe nur anhand bestimmter Eigenschaften abgebildet werden können. Die Geräte sind auch schwer mit bearbeitenden optischen Anordnungen kombinierbar.

Ferner haben sich endoskopische Bildaufnehmer mit GRIN-Optiken durchgesetzt, bei denen der weiteren Miniaturisierung entgegensteht, dass der Scanablenkungswinkel und somit die laterale Auflösung sehr begrenzt sind. Außerdem sind die optischen Köpfe jeweils für nur eines der mikroskopischen Abbildungsverfahren (MPI, LSM u.a.) tatsächlich angepasst und anwendbar.

[0026] Die Erfindung löst dieses mannigfaltige Problemgefüge, indem der bisher nicht ausreichende Scanwinkel der Strahlung vor einer Fokussieroptik durch 2D-

oder 3D-Scannen einer mit der Lichtleitfaser starr verbundenen Fokussieroptik realisiert wird, wobei die fasergekoppelte Fokussieroptik als integrales Teil durch einen Aktuator über ein dünnes optisches Fenster gescannt wird. Durch diese Fokussieroptik wird die Wirkungsstrahlung (d.h. die Anregungsstrahlung für eines der oben genannten bildgebenden Verfahren) aus der Faser ausgekoppelt, mittels der Fokussieroptik in einen Punkt des Objekts fokussiert und vom Objekt zurückgeworfene Reaktionsstrahlung - wiederum von der Fokussieroptik gebündelt und über das proximale Ende der Fokussieroptik an die numerische Apertur der Lichtleitfaser angepasst einem Bildsensor zugeleitet. In Abhängigkeit von dem eingesetzten Imaging-Verfahren werden unterschiedliche Fokussieroptiken (für MPI oder LSM z.B. mit hoher distaler numerischer Apertur ($IVA > 0,5$) verwendet.

Die zum Einsatz kommenden Aktuatoren, die ein 2D-Scanningmuster ermöglichen, sind z.B. miniaturisierte Piezo-, elektrostatische oder elektromagnetische Aktuatoren. Der Abstand des distalen Endes der Fokussieroptik vom Fenster und die Fensterdicke werden mit dem Arbeitsabstand der Fokussieroptik (d.h. ihrer distalen Fokallänge) abgestimmt und berücksichtigen Änderungen des Abstandes vom Fenster für die Tiefenverstellung der fasergekoppelten Fokussieroptik. Beim lateralen Scannen des Faser-Fokussieroptik-Verbundes werden Punkte einer vorgewählten Ebene des Objekts systematisch fortschreitend abgetastet. Die nach Einwirkung der Wirkungsstrahlung erzeugte Objektreaktionsstrahlung, wie z.B. Fluoreszenz oder SHG (Second Harmonic Generation), wird über die Fokussieroptik und eine Lichtleitfaser an eine Sensoreinheit übertragen.

[0027] Die zweite Teilaufgabe, die Flexibilisierung der Erfindung für die Anwendung verschiedener Abbildungsverfahren, wird erzielt, indem die (optische) Wirkungsstrahlung einer Lichtquelle durch eine flexible Lichtleitfaser zum abzubildenden Objekt transportiert und dort zur scannenden Abtastung des Objekts verwendet und die Reaktionsstrahlung wieder vom Lichtleitfaser aufgenommen wird (sog. "Direkt-Scanner"). In Abhängigkeit von einer eingesetzten Imaging-Verfahren sind unterschiedliche optische Fasern (Transportfasern) erforderlich, für das MPI benutzt man z.B. PCF (Photonic Crystal Fibers). Der Abtastkopf ist somit durch Ankopplung verschiedener Fasern mit anderen Abbildungsverfahren anwendbar.

Durch die Faser wird eine Wirkungsstrahlung (bzw. Anregungsstrahlung) zum Objekt geleitet und von der Fokussieroptik auf der Oberfläche oder in der Tiefe des Objekts fokussiert sowie eine vom Objekt zurückkommende Reaktionsstrahlung durch das optische Fenster über die Fokussieroptik einer externen oder unmittelbar im Scannergehäuse befindlichen Sensoreinheit zugeführt.

Ein so beschaffener Direkt-Scanner kann eine hohe axiale und laterale Auflösung der Objektabbildung im Mikrometerbereich realisieren. Zusätzlich kann der Scanner in Mikro- und Nanochirurgie sowie für Bearbeitung verschiedener Gewebe und Stoffe als geführtes Bearbei-

tungswerkzeug eingesetzt werden, indem die Wirkungsstrahlung durch eine wesentlich erhöhte Leistung für Laser-Schneid- bzw. Bearbeitungsvorgänge verwendet und alternativ zur Beobachtung umgeschaltet wird.

[0028] Mit der erfindungsgemäßen Lösung werden neue endoskopische Anwendungen von Multiphotonen-Prozessen ermöglicht, die eine präzise Bildgebung und/oder Mikrobearbeitung von Materialien, insbesondere von biologischen Materialien, mit einer Genauigkeit von weniger als einem Millimeter mittels der Strahlung eines Femtosekundenlasers gestatten. Ein miniaturisierter mikroskopischer Aufnahmekopf, insbesondere für flexible medizinische Handgeräte und Mikroendoskope, ermöglicht dabei für verschiedene bildgebende Abbildungsverfahren, vorzugsweise für Multiphotonen-Imaging (MPI) und Laser-Scanning-Mikroskopie (LSM), mit wesentlich kleineren, leichteren und flexibleren Messköpfen hochaufgelöst abgetastete Abbildungen zu erhalten sowie mit derselben Einrichtung das MPI-Verfahren (z.B. in der Endoskopie) für Mikrobearbeitungsverfahren zu erschließen und mit anderen abbildenden Verfahren zu kombinieren.

[0029] Die Erfindung soll anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden. Die Zeichnungen zeigen:

- 25 Fig. 1: einen Prinzipaufbau zur Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens anhand eines Multiphotonenmikroskops mit sehr hoher numerischer Apertur zur Femtosekundenlaser-Bearbeitung und Beobachtung von Hautgewebe,
- 30 Fig. 2a: einen Direkt-Scanner mit Piezo-Aktuator für axiales Scanning und Fluoreszenz-Erfassung durch eine Lichtleitfaser (Double-Clad-Faser),
- 35 Fig. 2b: einen Direkt-Scanner mit Piezo-Aktuator für laterales Scanning, Fluoreszenz-Erfassung durch eine Lichtleitfaser (Double-Clad-Faser),
- 40 Fig. 3: einen Direkt-Scanner nach Fig. 2a mit einem elektrostatischen Aktuator,
- Fig. 4: einen Direkt-Scanner nach Fig. 2a mit einem elektromagnetischen Aktuator und Permanentmagnet auf der Faseranordnung,
- 45 Fig. 5: einen Direkt-Scanner nach Fig. 2a mit einem elektromagnetischen Aktuator und induktiven Elementen auf der Faseranordnung,
- Fig. 6: einen Direkt-Scanner mit einem elektrostatischen Aktuator, einem unmittelbar im Scanner befindlichen Empfänger (mit Faser-Durchgang) und einer reflektierenden Schicht an den Gehäusewänden,
- Fig. 7: einen Direkt-Scanner mit einem elektrostatischen Aktuator und zwei unmittelbar integrierten Empfängern,
- 55 Fig. 8: einen Direkt-Scanner mit einem elektromagnetischen Aktuator und einem unmittelbar integrierten Empfänger (ohne Faser-Durch-

- gang)
 Fig.9: einen Direkt-Scanner mit einem elektromagnetischen Aktuator und Fluoreszenz-Erfassung durch eine Faser mit Breitfeld-Abbildungsanordnung (ohne Faser-Durchgang),
 Fig. 10: eine Darstellung einer Faser vom Typ Double-Clad-Large-Area-Core-PCF,
 Fig. 11: eine schematische Darstellung einer Mehrkanalanordnung in einem Gehäuse.

[0030] Das erfindungsgemäße Verfahren soll im Folgenden - ohne Beschränkung der Allgemeinheit für die Anwendung anderer lasergestützter Abbildungsverfahren - unter Verwendung eines Femtosekunden-Lasermikroskops, wie es für Ein-, Zwei- und Multiphotonen-Mikroskopie verwendet wird, erklärt werden.

[0031] Die Anordnung besteht - wie in Fig. 1 dargestellt - aus einer Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung 30, bei der von einem 80 MHz-Titan-Saphir-Femtosekundenlaser 31 gepulste Strahlung einer Emissionswellenlänge von 780 nm erzeugt, durch einen Shutter 32, einen Strahlabschwächer 33 und einen dichroitischen Teilerspiegel 34 übertragen und mittels einer Mikroskopoptik 35 fokussiert bereitgestellt wird und bei dem eine durch die Laseranregung von einem Objekt 1 zurückkommende Sekundärstrahlung (z.B. Ein-, Zwei- oder Multiphotonen-Fluoreszenz, SHG, THG, Lumineszenz etc.) über den Teilerspiegel 34 auf einen Photonendetektor 36 angekoppelt wird.

[0032] Das Mikroskopobjektiv 35 der Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung 30 koppelt die Laserstrahlung in den zentralen Bereich 20 (nur in Fig. 10 gezeigt) einer optischen Multimode-Faser 4 ein, die als mikrostrukturierte photonische Kristallfaser (PCF), vorzugsweise als Doppelclad-Faser, ausgebildet ist und die Strahlungsübertragung zu einer Miniatur-Fokussieroptik 5 mit hoher numerischer Apertur ($NA > 0,55$) übernimmt.

Die am distalen Ende der Faser 4 starr angebrachte Miniatur-Fokussieroptik 5 ist eine spezielle Miniatur-GRIN-Optik, bestehend aus Stablinse mit radialem Gradienten-Brechungsindex sowie gekoppelt mit refraktiven Linsenformen zur Erzielung einer hoher numerischen Apertur (NA), um eine Fokussierung auf einen Bestrahlungspot kleiner $1 \mu\text{m}$ zu erreichen. Zu diesem Zwecke ist die distale Linse in Form einer Halbkugel geformt oder der GRIN-Optik wird ein refraktives Halbkugellinsensegment 5' vorgeordnet.

Typische Abmessungen dieser speziellen Miniatur-Fokussieroptik 5 sind 1,7 mm Außendurchmesser und eine Länge um 2 cm.

[0033] Durch die Miniatur-Fokussieroptik 5 werden NIR-Laserimpulse nach Betätigung des Shutters 32 zunächst mit einer über den Abschwächer 33 verringerten Impulsenergie von 0,5 nJ auf das zu bearbeitende Objekt 1 appliziert. Mittels einer Scaneinheit 6, vorzugsweise in Form eines Piezo-Aktuators 6' (gemäß Fig. 2), zur kontrollierten x-y-Auslenkung (Vibration) sowie einer axialen Verstelleinheit 8 zur Variation der Fokusebene, können

Flächen in unterschiedlichen Gewebetiefen abgerastert werden.

Vom Objekt 1 ausgesendete Signale in Form von SHG-Strahlung und Zweiphotonen-Fluoreszenz werden von der Miniatur-GRIN-Optik 5 erfasst, vorwiegend im äußeren Clad einer PCF-Faser 4 über die Mikroskopoptik 35 zum dichroitischen Teilerspiegel 34 geleitet und von dort auf einen Photonendetektor 36, typischerweise einem Photomultiplier (PMT), übertragen.

10 Durch Verknüpfung der Signale des Photonendetektors 36 mit der x-y-Scanposition und der Fokusebene, lässt sich mittels Bildverarbeitung an einem Computer 37 (z.B. PC) eine dreidimensionale Abbildung des Objektes 1 erstellen. Anhand dieser Abbildung kann ein Target innerhalb des Objektes 1 definiert werden. Der Laserstrahl wird auf das Target positioniert und ist nach dem Einstellen einer hohen Impulsenergie, z.B. von 3 nJ, durch Verändern der Transmission des Abschwächers 33 (z.B. durch Positionsänderung) und nach dem Öffnen des Shutters 32 geeignet, in der Fokusebene innerhalb des Objekts 1 ein lokales Plasma zu erzeugen, das zum Bohren (mittels Einzelpunktbeleuchtung - Single-Point-Illumination), zum Schneiden (mittels Line-Scan) sowie zum Inaktivieren einer einzelnen Zelle oder zum Ablatieren durch Scannen eines interessierenden Bereichs (ROI - region of interest) genutzt werden kann.

[0034] Während des Bearbeitungsvorganges wird am Photonendetektor 35 ein Signal aus Plasmastrahlung registriert. Nach Beendigung des Bearbeitungsprozesses kann das Objekt 1 erneut mit Laserimpulsen geringer Impulsenergie (z.B. 0,5 nJ) abgerastert werden, um ein Bild anhand des SHG-Signals, der Zweiphotonenfluoreszenz oder der Lumineszenz des bearbeitenden Areals zu gewinnen.

35 **[0035]** Besonders vorteilhaft wird eine Faser 4 mit einem zentral gelegenen PCF-Lichtleiter zur Übertragung der Laserimpulse und mit peripher liegenden Lichtleitern, die nicht mikrostrukturiert sein müssen, zur Transmission der Objektstrahlung genutzt.

40 Ferner kann anstelle einer Miniatur-Fokussieroptik 5 mit Kugellinsensegment 5' auch lediglich eine zweilinsige GRIN-Optik zur Erzeugung einer hohen NA eingesetzt werden. In einer weiteren modifizierten Ausführung nutzt man eine Miniatur-GRIN-Optik mit hoher NA durch zusätzliche Krümmung der (sonst üblicherweise planen) distalen Endfläche.

[0036] In einer speziellen Anwendung zur Untersuchung der menschlichen Haut wird an einem kommerziellen Zweiphotonen-Mikroskop oder kommerziellen Multiphotonen-Tomographen - beide werden hier unter Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung 30 subsumiert - zusätzlich eine Miniatur-Fokussieroptik 5 hoher NA derart starr angekoppelt, dass die durch die Mikroskopoptik 35 der Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung 30 (bzw. des Tomographen) definierte Fokusebene mittels der Miniatur-Fokussieroptik 5 in tiefere Schichten des zu bearbeitenden Objektes 1 übertragen wird. So kann beispielsweise mittels stabförmiger 2 cm langer Miniatur-GRIN-

Optik 5, die durch eine gekrümmte GRIN-Linsen-Oberfläche oder ein Kugellinsensegment 5' eine sehr hohe numerische Apertur von $NA > 0,6$ (bis zu 0,85) aufweist, sich in einer speziellen Edelstahlkanüle mit Saphir-Fenster (Fensterdicke kleiner als $200 \mu\text{m}$) befindet und an einer dreiachsigen Verstelleinrichtung (Zusammenwirken von lateralem Scan-Aktuator 6 und axialer Verstelleinheit 8) angebracht ist, der Fokus in das Innere des Objekts 1 übertragen werden. Mittels der axialen Verstelleinheit 8 kann der Abstand zur Mikroskopoptik 35 und damit näherungsweise die Fokusebene im Objekt 1 typischerweise in einem Bereich bis zu 0,5 mm mit einer Präzision im SubMikrometerbereich verschoben werden.

Die vom Objekt 1 emittierte Strahlung wird mittels Miniatur-Fokussieroptik 5 aufgefangen und über die Mikroskopoptik 35 und den dichroitischen Teilerspiegel 34 mittels Photonendetektoren 36, die sich innerhalb der Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung 30 bzw. Tomographen befinden, detektiert und für eine Bilderzeugung genutzt. Die Strahlung eines Femtosekundenlasers 31 wird nach Transmission durch Shutter 32, Abschwächer 33 und dichroitischen Teilerspiegel 34 mittels optischem Gelenkarm,

x-y-Galvoscaner und Optik (nicht dargestellt) in einer endoskopischen starren, mittels axialer Verstelleinheit 8 zur Variation der Fokusebene beweglichen Miniatur-Fokussieroptik 5 hoher NA eingekoppelt, die von einem Faserbündel 4 umgeben ist. Die Bearbeitung erfolgt mittels durch die Miniatur-Fokussieroptik 5 transmittierter Strahlung hoher Impulsenergie, während die vom Objekt 1 emittierte Strahlung durch die Miniatur-Fokussieroptik 5 erfasst und durch das umgebende Faserbündel 4 zum Photonendetektor 36 geleitet wird.

Der verwendete Photonendetektor 36 soll sich durch eine schnelle Reaktionszeit auszeichnen, so dass die Ankunft der Photonen der vom Objekt 1 ausgesendeten Strahlung zeitkorreliert, bevorzugt mittels zeitkorrelierter Einzelphotonen-Zählung erfasst werden. Dadurch kann eine zeitliche Auflösung im Bereich weniger Pikosekunden erreicht werden, die zur Ermittlung der Fluoreszenzlebensdauer und zur Separation der SHG/THG- und Plasmastrahlung von der Fluoreszenz genutzt werden kann.

[0037] Der Photonendetektor 36 kann ferner als spektraler Detektor ausgebildet sein, indem ein PMT-Array mit einem Polychromator kombiniert wird.

[0038] In einer weiteren Gruppe von Ausführungen ist die Anordnung zur hochgenauen Positionierung der Laserstrahlung und Detektion der Objektreaktionsstrahlung auf Basis einer Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung 30 als Direkt-Scanner als ein endoskopisch über eine Faser 4 angekoppeltes Handteil realisiert.

Diese Anordnung besteht in ihrem Grundaufbau - wie in Fig. 2a schematisch dargestellt - aus einem handlichen starren Gehäuse 2, das mit einem für die verwendeten optischen Strahlungsanteile transparenten Fenster 3 auf ein Objekt 1 aufgesetzt wird, einer an eine optischen Faser 4 angekoppelte Miniatur-Fokussieroptik 5 sowie ei-

nem Scan-Aktuator 6, der die starr verbundene Faser-Fokussieroptik-Anordnung 45 in einem frei wählbaren Scanning-Regime zweidimensional (X-Y-Scan) bewegt. Innerhalb des Gehäuses 2 ist eine axial bewegliche Scannerhalterung 7 vorgesehen, die durch eine axiale Verstelleinheit 8 eine zu den ersten beiden Scan-Richtungen orthogonale dritte Scanbewegung (Z-Scan) ermöglicht. Das Gehäuse 2 ist mit einem Gehäusedeckel 2' abgeschlossen, bevor sich ein flexibler Schlauch 2'' für Versorgungsleitungen anschließt, wie z.B. für Fasern 4 (zum Zuführen von Wirkungsstrahlung bzw. leistungsreduzierter Anregungsstrahlung) und Übertragung von Objektreaktionsstrahlung), elektrische Zuleitungen für Scan-Aktuator 6 und Verstelleinheit 8, und optional eine Vakuumleitung 9.

Auf Basis dieser Grundvariante sind verschiedene Betriebsmodi und bauliche Modifikationen realisierbar, die nachfolgend als separate Ausführungsbeispiele beschrieben sind.

1. Direkt-Scanner mit 3D-Scan

[0039] Der Direkt-Scanner besteht in diesem Beispiel, wie in Fig. 2a gezeigt, aus einer miniaturisierten Fokussieroptik 5, einer Faser 4, mit deren distalem Ende das proximale Ende der Fokussieroptik 5 verbunden ist und einem Scan-Aktuator 6, z.B. Piezo-Aktuator 6', der das distale Ende der Miniatur-Fokussieroptik 5 unmittelbar über einem dünnen optischen Fenster 3, das am Objekt 1 anliegt, abtastet. Der Brennpunkt der Fokussieroptik 5 befindet sich hinter dem Fenster 3 auf der Oberfläche des Objekts 1 oder in seiner Tiefe und wird mit der Miniatur-Fokussieroptik 5 gescannt (x-y-Scan). Die Abtasttiefe im Objekt 1 kann mit einer axialen Verstelleinheit 8 eingestellt werden. Dabei wird die axial bewegliche Scannerhalterung 7, auf der der Scan-Aktuator 6, der die Faser 4 und die Fokussieroptik 5 gemeinsam lateral bewegt, befestigt ist, in der axialen Richtung verschoben. Der Abstand zwischen dem distalen Ende der Fokussieroptik 5 und dem Fenster 3 verändert sich somit und realisiert einen in Längsrichtung des Gehäuses 2 gerichteten Z-Scan. Die freie Länge der Faser 4 innerhalb der axialen Verstelleinheit 8 und der Scannerhalterung 7 wird für den Längenausgleich der Faser 4 bei der Abstandänderung der Faser-Fokussieroptik-Einheit 45 gegenüber dem Fenster 3 verwendet.

Die Miniatur-Fokussieroptik 5 kann einen anderen Durchmesser als die Faser 4 haben und als GRIN-Optik, konventionelle Optik, Fresnel-Optik oder eine Kombination aus GRIN-Optik und anderer Optik (diffraktive Optik, Fresnel-Optik u.a.) ausgeführt sein.

[0040] In einer besonders vorteilhaften Ausführung weist die Miniatur-Fokussieroptik 5 ein refraktives Kugellinsensegment 5', dessen distale Fläche eben ist, zwei GRIN-Linsen 5'' und 5''' sowie eine dazwischen angeordnete Diffraktivoptik 5* auf. Die objektseitige GRIN-Linse 5'' dient zum Ausgleich der Aberrationen des Kugellinsensegments 5' und erzeugt an ihrem proximalen Ende

aus der durch das Kugellinsensegment 5' übertragenen stark divergenten Objektreaktionsstrahlung quasi-parallelen oder leicht divergentes Strahlenbündel. Die zweite GRIN-Linse 5'' dient zur Einkopplung dieser Strahlung in die Faser 4 bzw. Auskopplung der Wirkungsstrahlung (Anregungsstrahlung) aus der Faser 4. Die Diffraktioptik 5* korrigiert chromatische Aberrationen des Kugellinsensegments 5' sowie der GRIN-Linsen 5'' und 5'''.

[0041] Das Gehäuse 2, das aus einem medizinisch zugelassenen Werkstoff besteht, ist an seinem distalen Ende hermetisch (vakuumdicht) durch das optische Fenster 3 abgeschlossen, das ebenfalls aus medizinisch zugelassenen transparenten Material besteht. An seinem proximalen Ende wird das Gehäuse 2 für medizinische Anwendungen ebenfalls vakuumdicht mit dem Deckel 2' abgeschlossen. Der Deckel 2' ist mit dem Schlauch 2'' mit allen für den Scannerbetrieb notwendigen Leitungen verbunden. Auf der distalen Seite des Deckels 2' ist die axiale Verstelleinheit 8 befestigt. Der Deckel 2' gewährleistet die vakuumdichte Durchführung aller zum Scanner führenden Leitungen.

Das Gehäuse 2 kann durch die Vakuumleitung 9 evakuiert werden, um den Luftwiderstand für das distale Ende der Faser-Fokussieroptik-Einheit 45 beim Scannen zu verringern.

Die axiale Verstelleinheit 8 kann als z.B. eine Piezosteller ausgeführt sein.

Der Direkt-Scanner kann somit Punkt-, Linien-, 2D- oder 3D-Scannen in beliebiger Kombination der x, y und z-Bewegungen ausführen, dies wird durch eine gezielte Ansteuerung des 2D-Scan-Aktuators 6 und der axialen Verstelleinheit 8 erreicht.

[0042] Fig. 2b zeigt eine spezielle Ausführung des Direkt-Scanners mit einem optischen Fenster 3, das seitlich an einer Wand des Gehäuses 2 angeordnet ist. Die Fokussieroptik 5 beinhaltet in diesem Fall ein Umlenkelement 5** (z.B. ein Prisma), das die Richtung der Strahlung um ca. 90° ablenkt. Dadurch wird die Tiefenverstellung bezüglich des Objekts 1 (z-Scan) bei dieser Bauform des Direkt-Scanners vom Piezo-Aktuator 6' übernommen, der den x-Scan genauso wie in Fig. 2a ausführt. Die axiale Verstelleinheit 8 übernimmt hier den y-Scan.

[0043] Fig. 3 zeigt eine modifizierte Ausführung des Direkt-Scanners mit einem elektrostatischen Scanner 6''. Hier wird die Faser-Fokussieroptik-Einheit 45 dadurch bewegt bzw. verstellt, dass eine leitende Beschichtung 13, die ein elektrisches Potential über die Leitung 12 erhält, durch das elektrische Feld der gegenüberliegenden Schichtelektroden 10 eine gerichtete Wirkung erfährt. Die Schichtelektroden 10 sind unmittelbar auf die Innenwand des Gehäuses 2 aufgebracht, falls das Gehäuse 2 aus einem isolierenden Material besteht oder ruhen auf einer isolierenden Unterlage 11, wenn - wie in Fig. 3 gezeigt - das Gehäuse 2 aus leitenden Material besteht.

[0044] Im Übrigen funktioniert der Direkt-Scanner mit dem elektrostatischen Aktuator 6'' nach demselben Schema wie mit dem Piezo-Aktuator 6'.

[0045] Fig. 4 zeigt eine modifizierte Ausführung des

Direkt-Scanners mit einem elektromagnetischen Aktuator 6''', in dem ein Permanentmagnet 14 verwendet wird. Hier wird die Faser-Fokussieroptik-Einheit 45 dadurch bewegt bzw. verstellt, dass der Permanentmagnet 14, der auf die Faser-Fokussieroptik-Einheit 45 (z.B. als ferromagnetische Beschichtung) aufgebracht ist, durch das elektromagnetische Feld der gegenüberliegenden stromleitenden Induktivelemente 15, die an der Innenwand des Gehäuses 2 angebracht sind, eine gerichtete Wirkung erfährt. Falls das Gehäuse 2 aus leitenden Material besteht wird - wie in Fig. 3 - eine isolierende Unterlage in Form einer dielektrischen Schicht 11 verwendet. Eine weitere Variante dieser Ausführung ist in Fig. 5 dargestellt, bei der der Permanentmagnet 14 durch mehrere Induktivelemente 16 ersetzt ist.

Alle übrigen Funktionen des Direkt-Scanners sind gleich denen der vorhergehenden Ausführungen mit Piezo-Scanner 6' oder elektrostatischem Scanner 6''.

[0046] Wenn die Ausführungsbeispiele nach den Figuren 2-5 sowie 9 für mikroskopische Abbildungszwecke benutzt werden, wird als Faser 4 eine so genannte Double-Clad-Large-Area-Core-PCF (PCF - Photonic Crystal Fiber) eingesetzt, wie sie nachfolgend mit Bezug auf Fig. 10 beschrieben wird. Eine Faser 4 dieses Typs hat einen

zentralen Bereich 20 mit einem gehobenen Brechungsindex n_1 , der seine führenden Eigenschaften durch einen mikrostrukturierten Bereich 21 erhält, der von einem Mantel 22 aus einem optischen Material mit Brechungsindex n_2 umgeben ist. Der Mantel 22 ist mit einer äußeren Beschichtung 23 umhüllt, die den niedrigen Brechungsindex n_3 aufweist und vor allem die mechanischen Eigenschaften der Faser 4 verbessert. Im Allgemeinen gilt: $n_1 > n_2 > n_3$. Der Kernbereich 20 wird zum Zuführen einer Wirkungsstrahlung zum Objekt 1 verwendet. Die im Objekt 1 erzeugte Reaktionsstrahlung wird durch die Miniatur-Fokussieroptik 5 in den Mantel 22 der Faser 4 eingekoppelt, über diese zurückgeleitet und mittels eines Strahlteilers 34 auf einen (externen) Photoempfänger 36 (beide nur in Fig. 1 dargestellt) ausgekoppelt. Der Photoempfänger 36 ist mit notwendigen Farbfiltern und gegebenenfalls mit einer Sammeloptik ausgestattet. In Abhängigkeit von der konkreten Anwendung des Direkt-Scanners kann die Objektreaktionsstrahlung als spiegelnd oder diffus reflektierte Anregungsstrahlung, Photolumineszenz (insbesondere Fluoreszenz), Raman- und Rayleigh-Streuung, erzeugte Harmonische (SHG, THG) der Anregungsstrahlung usw. vorkommen. Der oben genannte Fasertyp ist auch für die Anwendungen vorteilhaft, in denen Abbildung und Gewebearbeitung kombiniert werden.

[0047] Beim Einsatz des Direkt-Scanners ausschließlich für Zwecke der Mikrochirurgie oder Materialbearbeitung ist die Faser 4 vorzugsweise eine sog. Large-Area-Core-PCF. In einer solchen Faser 4 ist der Mantel 22 auf den mikrostrukturierten Bereich 21 reduziert, d.h. der in Fig. 10 gezeichnete Mantel 22 ist als Funktionsschicht völlig entfallen.

[0048] Weitere Möglichkeiten der Erfassung der Ob-

jektreaktionsstrahlung sind in den Figuren 6-8 dargestellt, wobei der Direkt-Scanner mit elektrostatischen bzw. elektromagnetischen Aktuatoren 6" bzw. 6'" in spezieller Ausführung arbeitet.

In einer ersten Ausführung gemäß Fig. 6 wird für die Faser 4 eine Large-Area-Core-PCF verwendet. Die durch die Wirkungsstrahlung hervorgerufene Objektreaktionsstrahlung wird innerhalb des Direkt-Scanners von einem Photoempfänger 17 mit vorgeordneter optischer Filterkombination 18, die mindestens aus einem Farbfilter besteht, erfasst. Die Innenwände des Gehäuses 2 auf der distalen Seite des Photoempfängers 17 sind mit einer Spiegelschicht 10 versehen, die ersatzweise auch durch (spiegelnde) Elektroden auf der dielektrischen Schicht 11 gebildet sein kann. Diese Ausführungsvariante ist für miniaturisierte Anwendungen vorteilhaft, in denen der verwendete Photoempfänger 17 ein zentrales Loch für die Faser 4 hat.

[0049] Fig. 7 offenbart eine Ausführung, in der mindestens zwei Photoempfänger 17' und 17" so angeordnet sind, dass möglichst viel Objektreaktionsstrahlung ohne Reflexionen an den Wänden des Gehäuses 2 durch Filterkombinationen 18' und 18" von den Photoempfängern 17', 17" erfasst wird. Die Photoempfänger 17', 17" und die Filterkombinationen 18', 18" können in Abhängigkeit von der konkreten Anwendung gleich oder auch unterschiedlich sein.

[0050] Für Photoempfänger 17, die keinen zentralen Durchlass haben, wie z.B. Sekundärelektronenvervielfacher (SEV bzw. PMT), ist eine alternative Ausführung in Fig. 8 dargestellt. In dieser Anordnung wird die Faser 4 in einem axial beweglichen Rahmen 7' befestigt, der eine Kreuzstegkonstruktion aufweist. Dadurch schattet der Rahmen 7' den Photoempfänger 17 nur minimal ab. Der Rahmen 7' ist auf einer ringförmigen bzw. axial segmentären Verstelleinheit 8' befestigt, der wiederum mit einem unbeweglichen ringförmigen bzw. segmentären Element 7" verbunden ist.

[0051] In allen Ausführungsvarianten gemäß den Figuren 6-8 kann auch eine Double-Clad-Large-Area-Core-PCF als Faser 4 eingesetzt werden, wenn ein Teil der Objektreaktionsstrahlung durch die Faser 4 zu dem externen Photoempfänger 36 geführt werden muss.

[0052] Fig.9 stellt eine Ausführung dar, bei der der Direkt-Scanner mit einem elektrostatischen Aktuator 6", gebildet aus Schichtelektroden 10, dielektrische Schicht 11, Zuleitung 12 und leitfähige Beschichtung 13, mit einem zweidimensionalen Bildsensor 19, z.B. einer CCD-Kamera inklusive zugehöriger Optik und Beleuchtung, kombiniert werden kann. Die Faser 4 wird in dieser Anordnung durch eine Double-Clad-Large-Area-Core-PCF gebildet, die sowohl für Abbildungs- als auch für mikrochirurgische oder Materialbearbeitungszwecke eingesetzt werden kann.

[0053] In allen Ausführungsbeispielen des Direkt-Scanners gemäß den Figuren 6-9 können für den elektrostatischen Aktuator 6" anstelle der leitfähigen Beschichtungen 10 und 13 zum Bewegen der Faser-Fokus-

sieroptik-Einheit 45 auch ein Permanentmagnet 14 und Induktivelemente 15, wie in Fig. 4 dargestellt, oder am Gehäuse 2 und an der Faser-Fokussieroptik-Einheit 45 angebrachte Induktivelemente 15 und 16, wie in Fig. 5 gezeigt, verwendet werden.

2. Direkt-Scanner mit mehreren Faser-Fokussieroptik-Einheiten

[0054] Der Direkt-Scanner kann auch als ein Mehrkanalgerät ausgeführt sein. In dieser Ausführung wird die Faser-Fokussieroptik-Einheit 45 durch eine Art mehradriges Kabel - wie in Fig. 11 gezeigt, ersetzt, wobei mindestens zwei Faser-Fokussieroptik-Einheiten 45 miteinander verbunden sind. Die Fasern 4 sind in eine flexible Bandage 26 eingebettet, die frei herausstehenden distalen Faserabschnitte sind vorzugsweise gleich lang und werden durch Versteifungselemente 25 in einer Halterung 24 fixiert. Die Versteifungselemente 25 dienen zur Einstellung von Schwingungseigenschaften der distalen Abschnitte der Faser-Fokussieroptik-Einheit 45. Sie können auch zur unmittelbaren Fixierung der einzelnen Miniatur-Fokussieroptiken 5 eingesetzt werden. Durch die Halterung 24 werden die Fasern 4 in einem geometrischen Muster anwendungsabhängig angeordnet, z.B. in einer Reihe (Fig. 11 B) oder zwei Reihen (Fig. 11 C) oder als Matrix (Fig. 11 D) symmetrisch oder asymmetrisch. Anwendungsabhängig sind auch noch anders gestaltete geometrische Muster möglich.

[0055] Die Fokussieroptiken 5 können abhängig vom Anwendungsfall in einer geraden (nach Fig. 2a) oder abgewinkelten (nach Fig. 2b) Variante verwendet werden. Die Faserhalterung 24 wird entweder mit dem Scan-Aktuator 6 bzw. speziell einem Piezoaktuator 6' (gemäß Fig. 2a bzw. 2b) fest verbunden, oder in die axial beweglichen Scanner- oder Rahmenhalterung 7 bzw. 7' (Ausführungsvarianten nach Fig. 3-5, 9) integriert. Die Art der eingesetzten Fasern 4 ist anwendungsabhängig, z.B. werden für MPI vorteilhaft Double-Clad-Large-Area-Core-PCF verwendet, für andere Anwendungen genügen Large-Area-Core-PCF.

2.1 Multi-Channel Scanning Imaging

[0056] In modifizierten Ausführung kann der Direkt-Scanner als Mehrkanal-Scanner für mehrkanalabgetastete Abbildung wie z.B. LSM, MPI oder OCT verwendet werden. Hier werden alle Faser-Fokussieroptik-Kombinationen 45 durch einen 2D-Scan-Aktuator 6 synchron über zugeordnete Teilbereiche bewegt. Aus den durch die einzelnen Fasern 4 weitergeleiteten Teilbildern wird das Gesamtbild zusammengesetzt. Dies wird durch eine einheitliche Brennweite aller einzelnen Miniatur-Fokussieroptiken 5 und eine gleichmäßige Leistungsverteilung der Anregungsstrahlung erreicht.

[0057] Durch das parallele Scannen mehrerer Faser-Fokussieroptik-Einheiten 45 wird die Bildaufnahmezeit wesentlich verkürzt - dies kann zur Eliminierung ver-

schiedener Artefakte, verursacht durch Herzschlag, Atem oder eventuelles Zittern des Untersuchenden und/oder des Patienten, führen. Ebenso kann dadurch die Auflösung der Abbildung bei gleichbleibender Aufnahmezeit wesentlich erhöht oder der abgebildete Gesamtbereich vergrößert werden.

Eine eventuelle Tiefenverstellung erfolgt wie für Fig. 2 und 3 beschrieben.

2.2 Direkt-Multiphotonen-Tomographie

[0058] In einer weiteren Ausführung ist der Mehrkanal-Direkt-Scanner vergleichbar mit Beispiel 2.1 aufgebaut, jedoch sind die Brennweiten der Fokussieroptiken 5 von einzelnen Fasern 4 (oder Faser-Gruppen) unterschiedlich, wodurch gleichzeitig Abbildungen (Tomogramme) von mindestens zwei unterschiedlich tief im Objekt 1 liegenden Ebenen aufgenommen werden. Dadurch kann z.B. mit LSM oder MPI eine 3D-Abbildung eines Objekts 1 in einem Schritt aufgenommen werden. Des Weiteren kann die Aufnahmezeit von Tomogrammen in größeren Tiefenbereichen bzw. mit einer höheren Tiefenauflösung (mehrere Abbildungsebenen) durch Verwendung der Tiefenverstellung wesentlich verkürzt werden, wodurch wiederum die im Beispiel 2.1 genannten Artefakte eliminiert werden.

2.3 Direkt-Scanner unter Verwendung verschiedener Abbildungs- und/oder Messverfahren

[0059] In einer weiteren Ausführung ist der Mehrkanal-Direkt-Scanner wie in den Beispielen 2.1 oder 2.2 aufgebaut, wobei jedoch die einzelnen Fasern 4 (oder Faser-Gruppen) mit unterschiedlichen Fokussieroptiken 5 versehen sind. Diese werden für unterschiedliche optische Abbildungs- oder Messverfahren parallel verwendet, z.B. für die gleichzeitige bzw. schnelle sequenzielle MPI bzw. MP-Tomographie und OCT. In diesem Fall sind die Faser-Fokussieroptik-Einheiten 45 für das entsprechende Abbildungs- oder Messverfahren optimiert und ihre schwingungstechnischen Eigenschaften aneinander angeglichen.

Der Mehrkanal-Direkt-Scanner kann durch diese optimierten, angeglichenen Eigenschaften auch zur gleichzeitigen Messung verschiedener Charakteristika der Objektreaktionsstrahlung, z.B. Fluoreszenz-Polarisation, Kohärenz oder Objektabbildung, eingesetzt werden.

2.4 Mehrkanal-Direkt-Scanner mit Vereinigung von Abbildungs- und Bearbeitungsfunktion

[0060] In einer multifunktionalen Ausführung ist der Mehrkanal-Direkt-Scanner gemäß einem der Beispiele 2.1 bis 2.3 aufgebaut, aber die Fokussieroptiken 5 von einzelnen Fasern 4 bzw. Faser-Gruppen und die Faser 4 sind unterschiedlich. Einige der Faser-Fokussieroptik-Kombinationen 4, 5 sind für Abbildungs- (z.B. mit LSM oder MPI) und die anderen für Mikrochirurgie- oder Ma-

terialbearbeitungszwecke (z.B. mit Multiphotonen-Laserablation) optimiert, dadurch können Abbildung und Verarbeitung parallel oder schnell abwechselnd durch unterschiedliche Faser-Fokussieroptik-Einheiten 45 oder ganze Gruppen davon erfolgen.

2.5 Vereinigung mehrerer Einzelfaser-Direkt-Scanner

[0061] Durch Zusammenfügung von vorzugsweise gleichen Varianten des Direkt-Scanners gemäß den Figuren 2 bis 9, indem die Gehäuse 2 der Einzelfaser-Scanner starr miteinander verbunden werden (nicht separat gezeichnet), wird entweder die hochaufgelöste abtastbare Fläche des Objekts 1 vergrößert, z.B. paralleles MPI, oder ein Mehrkanalgerät geschaffen, z.B. OCT-Mehrkanal-Direkt-Scanner.

[0062] Die oben beschriebenen Anordnungen werden vorzugsweise genutzt, um Operation im mittleren und hinteren Augenabschnitt vorzunehmen, insbesondere zur Bearbeitung der Linse derart, dass durch präzise Schnitte die Elastizität verbessert werden kann, die Retina präzise bearbeitet, Gefäße bei der altersbedingten Makula-Degeneration verschlossen bzw. entfernt werden können, unerwünschte Zellen entfernt bzw. inaktiviert werden, Kanäle zur Druckentlastung gebohrt werden können und komplizierte Eingriffe um den Sehnerv durchgeführt werden können.

Anordnungen nach den Ausführungsbeispielen 1-4 können ferner genutzt werden, um präzise Operationen im Bereich des Mittelohrs durchzuführen.

Des Weiteren kommen die erfindungsgemäßen Ausführungen 1-4 für Operationen im Hirnbereich mit hoher Präzision und minimalem invasiven Eingriff zum Einsatz, um beispielsweise Tumorzellen optisch zu inaktivieren ohne benachbarte Hirnregionen zu schädigen.

Die Ausführungen 1-4 können außerdem vorteilhaft genutzt werden, um Operation im Bereich der Wirbelsäule durchzuführen, ohne benachbarte Nerven zu schädigen. Die Anordnungen in den Ausführungsbeispielen 1-4 werden zweckmäßig auch dazu genutzt, um in gezüchteten Hautprodukten (tissue-engineered products?) unerwünschte Zellen und Mikroorganismen zu inaktivieren bzw. zu entfernen oder um Operationen innerhalb eines Embryonen mit hoher Präzision durchzuführen.

[0063] Besonders geeignet sind Anordnungen gemäß den obigen Beispielen 1-4, um Mikrobearbeitungen im wässrigen Milieu vorzunehmen, insbesondere um optische Transfektionen für einen Molekültransfer (z.B. von DNS) im Körperinneren zu realisieren oder um injizierte Stammzellen, die sich unerwünscht differenzieren, optisch zu inaktivieren.

Bezugszeichenliste

[0064]
1 Objekt

2	Gehäuse	
2'	Gehäusedeckel	
2"	flexibler Schlauch	
3	Fenster	
4	(optische) Faser	5
45	Faser-Fokussier-Optikeinheit	
5	(Miniatur-) Fokussieroptik	
5'	(refraktives) Kugellinsensegment	
5"	erste (objektseitige) GRIN-Linse	
5'''	zweite GRIN-Linse	10
5*	Diffraktivoptik	
5**	Umlenkelement	
6	Scan-Aktuator	
6'	Piezo-Scanner	15
6"	elektrostatischer Aktuator	
6'''	elektromagnetischer Aktuator	
7	axial bewegliche Scannerhalterung	
7'	axial bewegliche Rahmenhalterung	
7"	unbewegliche Rahmenhalterung	20
8	axiale Verstelleinheit	
8'	ringförmige axiale Verstelleinheit	
9	Vakuundleitung	
10	Schichtelektroden	25
11	dielektrische Schicht	
12	Leitung	
13	leitfähige Beschichtung	
14	Permanentmagnet	
15, 16	Induktivelemente	30
17, 17', 17"	Photoempfänger	
18, 18', 18"	Filterkombination	
19	(flächenhafter) Bildsensor	
20	zentraler Bereich	
21	mikrostrukturierter Bereich	35
22	Mantel	
23	äußere Beschichtung	
24	Faserhalterung	
25	Versteifungselemente	
26	flexible Bandage	40
30	Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung	
31	Femtosekundenlaser	
32	Shutter	
33	Abschwächer	45
34	(dichroitischer) Teilerspiegel	
35	Mikroskopoptik	
36	Photonendetektor (PMT)	
37	Computer (PC)	50

Patentansprüche

1. Verfahren zur Erzeugung mikroskopisch hochauflöser Abbildungen in der Endoskopie auf Basis von lasergenerierter Objektreaktionsstrahlung, **gekennzeichnet durch** die Schritte:

- gepulstes Einstrahlen fokussierter Anregungsstrahlung von einem Lasersystem in ein Objekt (1) mittels einer Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45), bestehend aus einem Transmissionsystem (4;35) und einer mit dessen Ende starr verbundenen Miniatur-Fokussieroptik (5) hoher numerischer Apertur größer 0,55, zur Auslösung einer lokalen Reaktionsstrahlung des Objekts (1) im Mikrometer- bis Nanometerbereich,
- mindestens zweidimensionale Scanbewegung des distalen Endes der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) zum sukzessive räumlich veränderten Ausrichten der Anregungsstrahlung gegenüber dem Objekt (1) und örtlich zugeordneten hochauflösenden Abtasten von Objektreaktionsstrahlung des am distalen Ende der Miniatur-Fokussieroptik (5) vorliegenden Objekts (1) und
- Übertragung von örtlich fortschreitend abgestreuter Objektreaktionsstrahlung mittels der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) an ein bildgebendes System (30) mit Photonendetektor (36).

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, dass**

ein dritter zu der zweidimensionalen Scanbewegung orthogonaler Scanvorgang durch axiales Bewegen der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) erfolgt zur Veränderung der Tiefe einer aus dem zweidimensionalen Scanbewegung erzeugten Bildaufnahme der Objektreaktionsstrahlung in einer durch die Miniatur-Fokussieroptik (5) vorgegebenen Fokusebene.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass**

die Miniatur-Fokussieroptik (5) und eine zu der Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung (30) gehörige Optik (35), die eine direkte optische Kopplung zu der Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung (30) herstellt, mittels einer starren Verbindung als Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) gleichzeitig scannend bewegt werden, wobei in axialer Richtung eine Relativbewegung zur Einstellung der Tiefe der Fokusebene im Objekt (1) vorgenommen werden kann.

4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet, dass**

die Fokusebene durch Variation des Abstandes zwischen Transmissionsystem und Miniatur-Fokussieroptik (5) variiert wird.

5. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, dass**

die Miniatur-Fokussieroptik (5) und eine optische Faser (4), die eine optische Kopplung zu der Bestrah-

- lungs- und Detektionseinrichtung (30) herstellt, mittels einer starren Verbindung als Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) gleichzeitig scannend bewegt werden.
- 5
6. Verfahren nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- durch eine Art Faserbündel aus mehreren Faser-Fokussier-Optikeinheiten (45) simultan eine mehrkanalige Abtastung des Objekts (1) durchgeführt wird.
- 10
7. Verfahren nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- durch eine Art Faserbündel aus mehreren Faser-Fokussier-Optikeinheiten (45) Abbildungs- und Bearbeitungsfunktionen des Objekts (1) quasi-simultan durchgeführt werden, indem die Anregungsstrahlung durch Parameteränderung zur Gewebearbeitung eingesetzt wird.
- 15
8. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- Umschaltung der Anregungsstrahlung zu einer leistungserhöhten Wirkungsstrahlung,
 - gepulstes Einstrahlen der mittels der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) fokussierten Wirkungsstrahlung in das Objekt (1) zur Auslösung von lokalen Gewebeveränderungen und
 - definierte Bewegung des distalen Endes der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) zur Ausführung dreidimensionaler Bearbeitungsschritte im Objekt (1).
- 20
9. Verfahren nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- die Umschaltung zur Einstrahlung der leistungserhöhten Wirkungsstrahlung zur Gewebearbeitung des Objekt (1) im Wechsel mit dem gescannten Einstrahlen leistungsverminderter Anregungsstrahlung zur ortsauflösenden Bildaufnahme von Objektreaktionsstrahlung erfolgt.
- 25
10. Verfahren nach Anspruch 8, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- vom Objekt (1) emittierte Strahlung mittels zeitkorrelierter Einzelphotonen-Zählung detektiert wird.
- 30
11. Verfahren zur Mikrobearbeitung von biologischem Material in der Laser-Endoskopie mit einer Präzision von weniger als einem Millimeter, **gekennzeichnet durch** die Schritte:
- Einkoppeln von Laserimpulsen eines Femtosekundenlasers mit einer Impulsenergie von 0,05 nJ bis 100 μJ über die Faser (4) in die objektseitig angeordnete Miniatur-Fokussieroptik (5) mit einer hohen numerischen Apertur und
- 35
- Fokussieren auf ein Target innerhalb des Objekts (1) mit einem Beleuchtungsspot von weniger als 10 μm , und
- Auslösen von Multiphotonenprozessen in Form einer Targetionisierung, eines optischen Durchbruchs und einer Plasmabildung **durch** Laserimpulse mit transienten Intensitäten von mehr als 100 GW/cm^2 , die für eine endoskopische Mikrobearbeitung mit einer Genauigkeit unter 100 μm genutzt werden, ohne dass in Nachbarbereichen signifikante kollaterale Schäden auftreten, und
 - bildgebende Detektion der vom Target ausgesendete Plasmastrahlung sowie weiterer vom Target emittierte Objektreaktionsstrahlung mittels einer Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung (30), um die Mikrobearbeitung zu überwachen.
- 40
12. Verfahren nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- durch eine Einzelpunktbeleuchtung einzelne Zellen innerhalb eines Gewebeverbandes optisch zerstört werden, ohne benachbarte Zellen zu schädigen, wobei der Durchmesser des zerstörten Bereichs durch Wahl der Expositionszeit sowie der verwendeten Laserimpulsenergie variiert wird.
- 45
13. Verfahren nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- durch eine lineare Bewegung ein präziser Schnitt mit Schnittbreiten kleiner 10 μm im Inneren eines Objekts (1) durchgeführt wird, wobei die Schnittbreite durch Wahl der Expositionszeit sowie der verwendeten Laserimpulsenergie variiert wird.
- 50
14. Verfahren nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- durch ein Abscannen eines Bereiches (ROI) ein präziser Materialabtrag auf größeren Flächen von 100 μm^2 bis 1 mm^2 mit einer Präzision von weniger als 10 μm und einer Tiefenwirkung von weniger als 20 μm realisiert wird.
- 55
15. Verfahren nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet, dass**
- durch ein Abscannen eines Bereichs (ROI) und eine Verschiebung der Fokusebene der großvolumige Materialabtrag im Bereich 1 μm^3 bis 1000 mm^3 realisiert wird.
16. Miniaturisierter mikroskopischer Kopf, insbesondere für endoskopische Anwendungen, bei dem eine Transmissionsoptik zur Zuführung einer Anregungsstrahlung, eine Fokussieroptik zum gebündelten Energieeintrag der Anregungsstrahlung in ein Objekt, und eine Scaneinrichtung zum Ändern des Ortes des Energieeintrags in einem Gehäuse angeordnet sind,

wobei die Fokussieroptik durch ein Fenster im Gehäuse die Wirkungsstrahlung in das Objekt fokussiert, **dadurch gekennzeichnet, dass**

- die Fokussieroptik eine Miniatur-Fokussieroptik (5) ist, die einen Durchmesser von weniger als 6 mm und eine numerische Apertur von $NA > 0,55$ aufweist,

wobei die Anregungsstrahlung mittels der Miniatur-Fokussieroptik (5) lokal auf einen Bereich von weniger als 100 μm begrenzt in das Objekt (1) fokussiert ist,

- die Transmissionsoptik (4) mit ihrem im Gehäuse (2) befindlichen Ende starr mit der Miniatur-Fokussieroptik (5) verbunden ist und eine Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) bildet, und
- die Scaneinrichtung mindestens einen in einer Ebene zweidimensional beweglichen Scan-Aktuator (6) zur lateralen Bewegung der Miniatur-Fokussieroptik (5) in unmittelbarer Nähe des Fensters (3) aufweist.

17. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

die Scaneinrichtung weiterhin eine axial bewegliche Verstelleinheit (8) zur axialen Bewegung der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) aufweist, wobei die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) in der Verstelleinheit (8) axial fest eingespannt ist.

18. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) aus der Miniatur-Fokussieroptik (5) und einer optischen Faser (4) starr zusammengesetzt ist, wobei die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) in der Verstelleinheit (8) axial fest eingespannt ist.

19. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) aus der Miniatur-Fokussieroptik (5) und einem verspiegelten Hohlleiter starr zusammengesetzt ist, wobei die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) in der Verstelleinheit (8) axial fest eingespannt ist.

20. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

die Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) aus der Miniatur-Fokussieroptik (5) und einer Mikroskopoptik (35) einer Bestrahlungs- und Detektionseinrichtung (30) besteht, wobei der

zweidimensionale Scan-Aktuator (6) und die axiale Verstelleinheit (8) ausschließlich an die Miniatur-Fokussieroptik (5) gekoppelt sind.

21. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

die Fokussieroptik (5) eine GRIN-Optik mit gerundeter Endfläche ist.

22. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

die Fokussieroptik (5) eine GRIN-Optik mit vorgeordnetem refraktivem Kugellinsenelement (5') ist.

23. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

die Fokussieroptik (5) eine zweilinsige GRIN-Optik (5",5''') und eine diffraktive Optik (5*) enthält.

24. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

die axiale Verstelleinheit (8) starr mit dem zweidimensionalen Scan-Aktuator (6) verbunden und der Scan-Aktuator (6, 6',6'',6''') in einer axial beweglichen Scannerhalterung (7) befestigt ist.

25. Anordnung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass

die Transmissionsoptik eine mikrostrukturierte Faser (4) vom Typ Double-Clad-Large-Area-Core-PCF ist, die Femtosekunden-Laserstrahlung nahezu dispersionsfrei überträgt

26. Anordnung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass

die Transmissionsoptik eine Faser (4) vom Typ Large-Area-Core-PCF ist.

27. Anordnung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass

im Gehäuse (2) um die Faser (4) herum mindestens ein Photoempfänger (17) zum direkten Aufnehmen der Objektreaktionsstrahlung angeordnet ist.

28. Anordnung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass

im Gehäuse (2) um die Faser (4) herum mehrere Photoempfänger (17) zum direkten Aufnehmen unterschiedlicher spektraler Bestandteile der Objektreaktionsstrahlung angeordnet sind.

29. Anordnung nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass

im Gehäuse (2) mehrere parallel angeordnet und die Fasern (4) in einer Faserhalterung (24) parallel geführt sind.

30. Anordnung nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet,

zeichnet, dass

die Fasern (4) in einer flexiblen Bandage (26) eingebettet sind und Versteifungselemente (25) zur Schwingungsunterdrückung aufweisen.

5

31. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

das Gehäuse (2) rohrförmig ausgebildet und an dessen Stirnseiten durch einen Deckel (2') und ein Fenster (3) hermetisch abgedichtet ist.

10

32. Anordnung nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass

das Gehäuse (2) mindestens eine ebene Seitenwand aufweist, wobei in der ebenen Seitenwand des Gehäuses (2) seitlich ein Fenster (3) angebracht und das Gehäuse (2) mit stirnseitigen Deckeln (2') hermetisch abgedichtet ist.

15

33. Anordnung nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, dass

die Miniatur-Fokussieroptik (5) ein strahlungsumlenkendes Element (5**) aufweist, so dass die Anregungsstrahlung lateral aus der Transmissions-Fokussier-Optikeinheit (45) austritt und durch das seitlich angeordnete Fenster (3) auf das Objekt (1) fokussierbar ist, wobei die Verstelleinheit (8) für eine erste laterale Scan-Dimension am Objekt (1) und der Scan-Aktuator (6) für eine zweite laterale Scan-Dimension sowie den Tiefenscan im Objekt (1) vorgesehen sind.

20

25

30

34. Anordnung nach Anspruch 31 oder 32, dadurch gekennzeichnet, dass

das hermetisch abgedichtete Gehäuse (2) evakuiert ist.

35

40

45

50

55

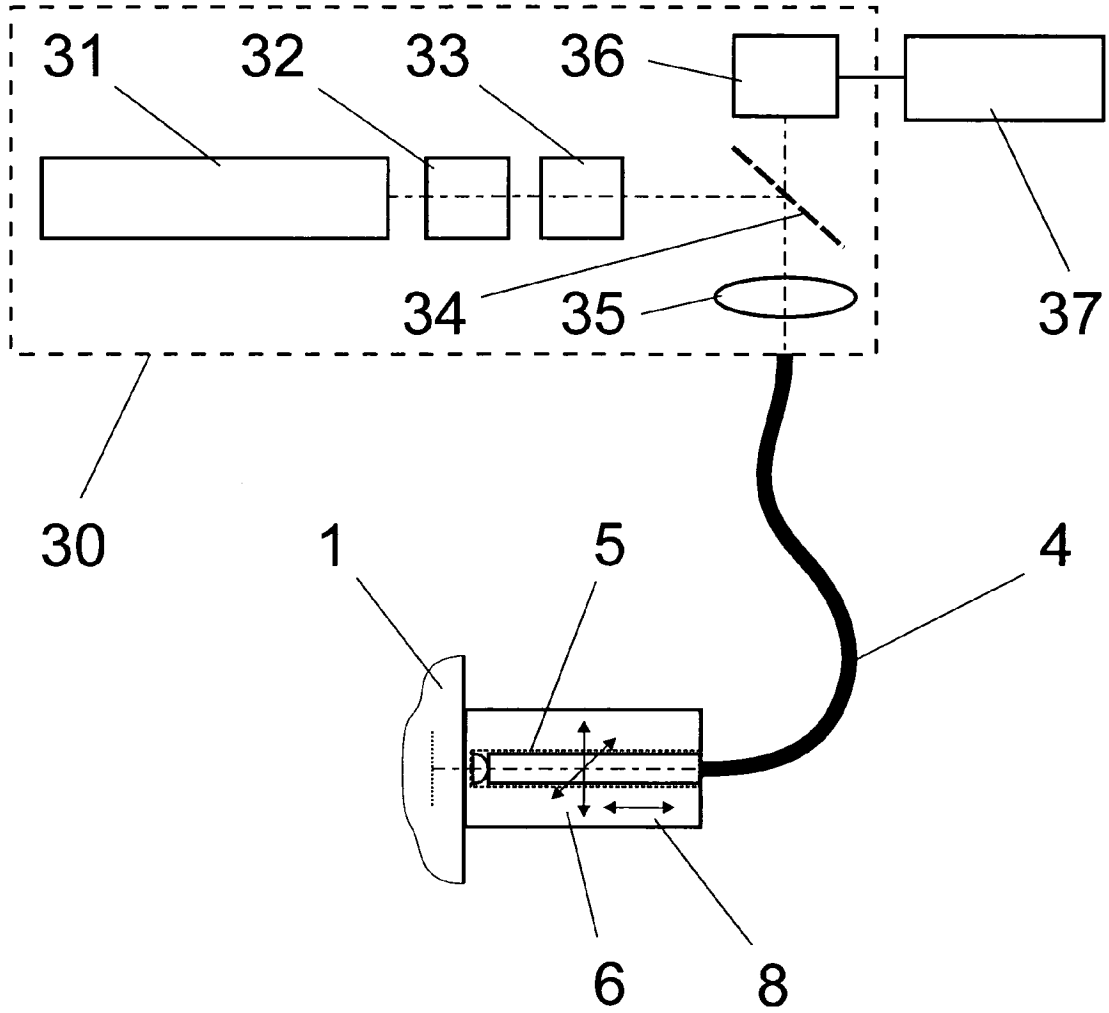


Fig. 1

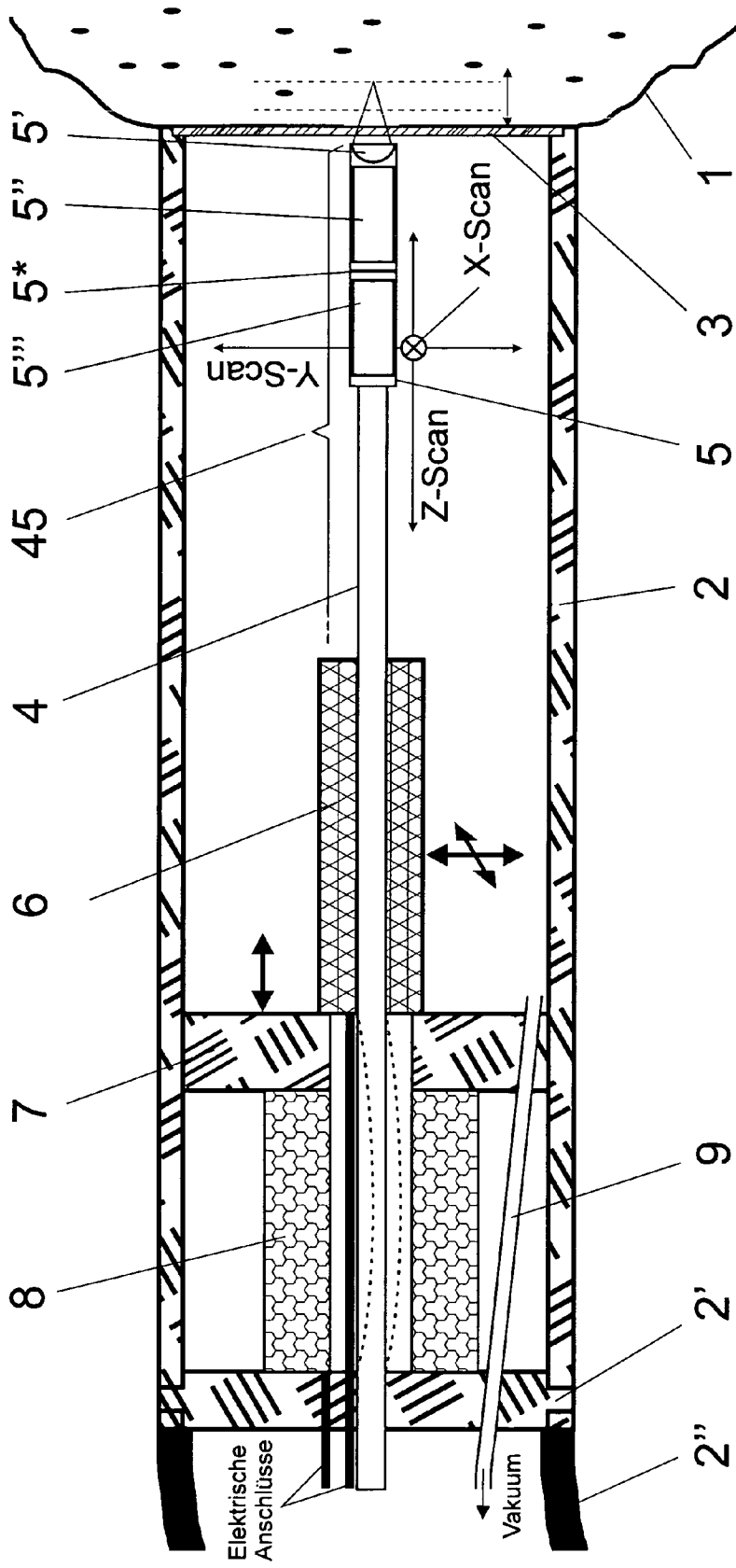


Fig. 2a

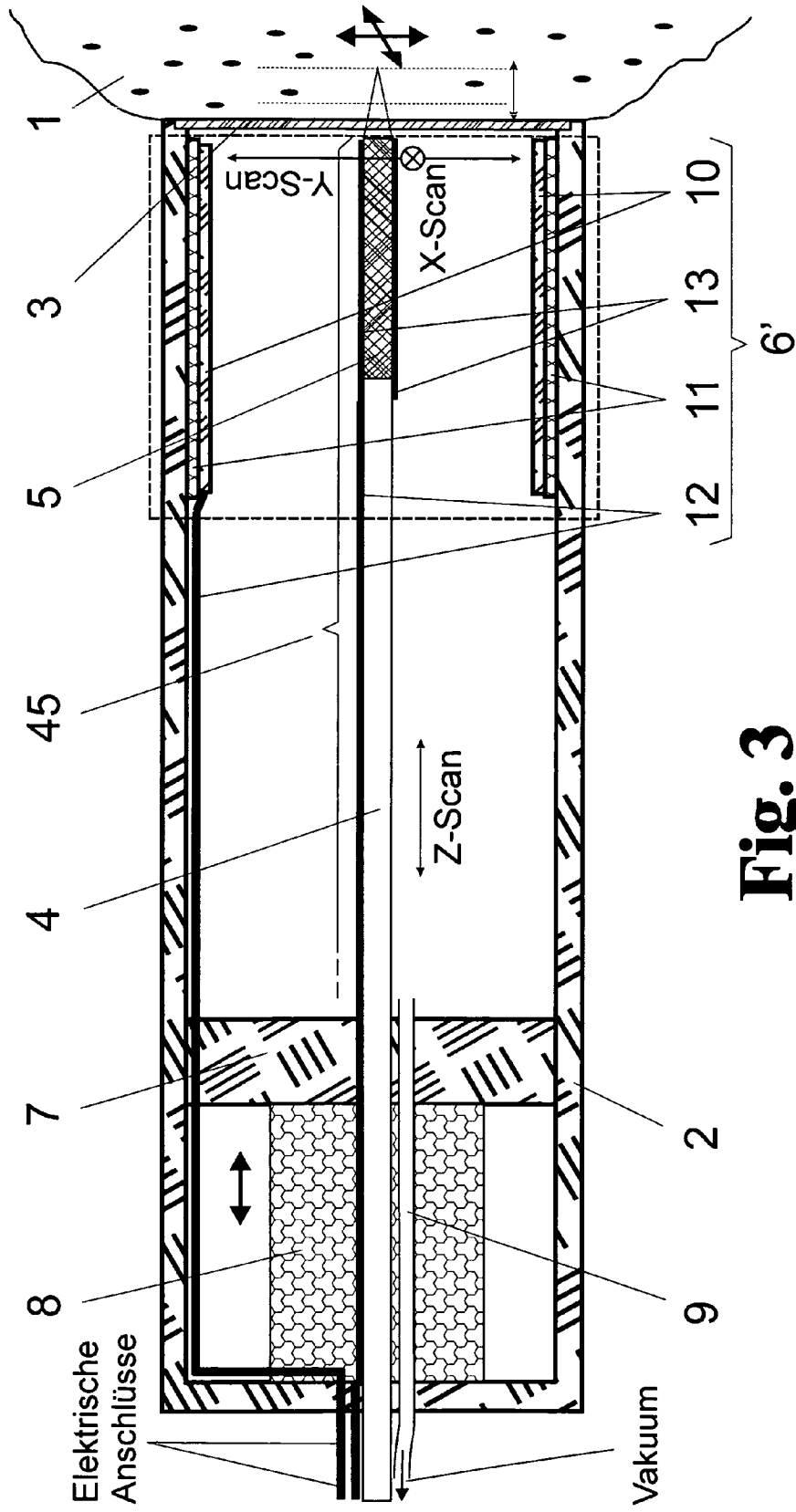


Fig. 3

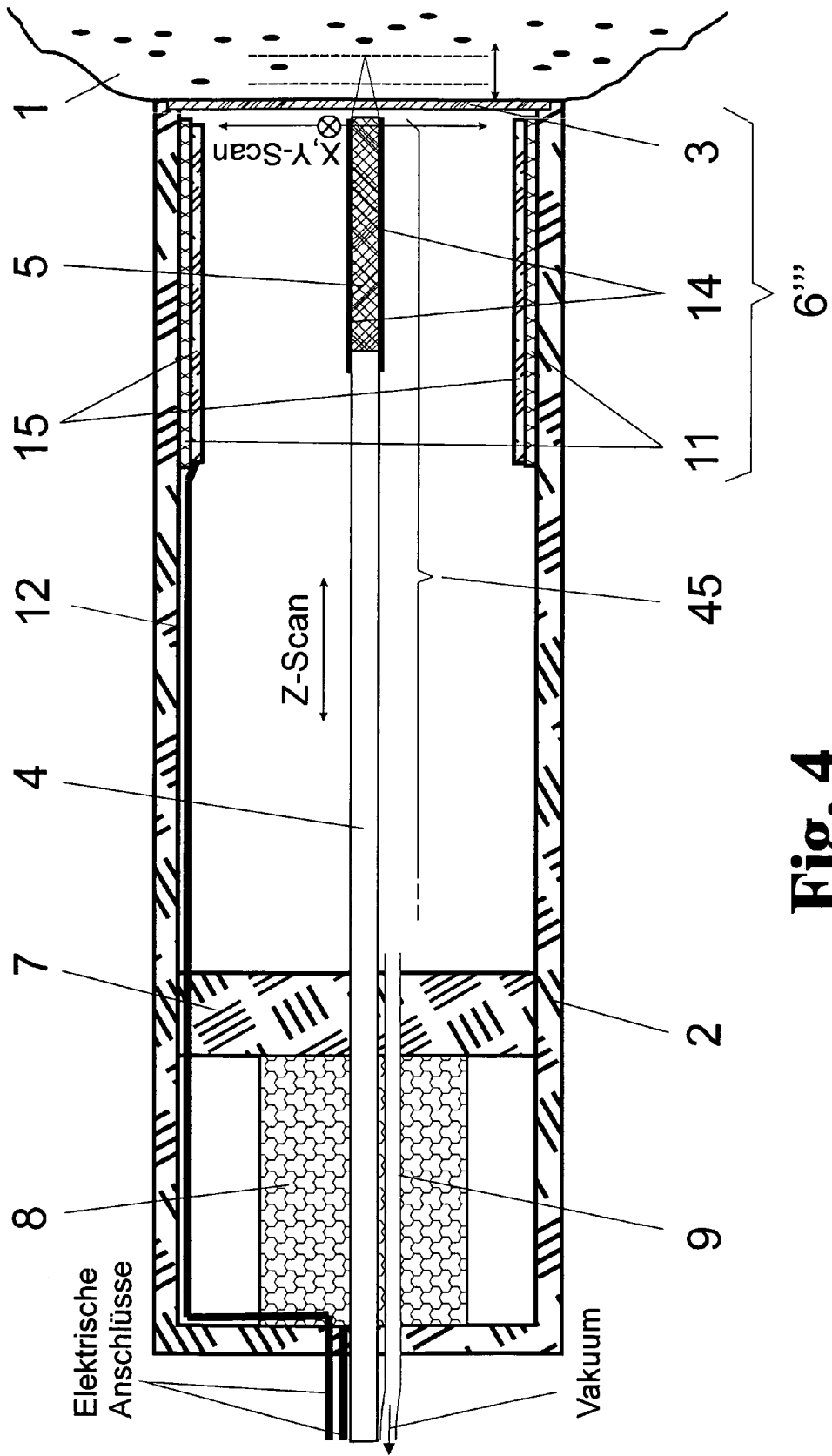


Fig. 4

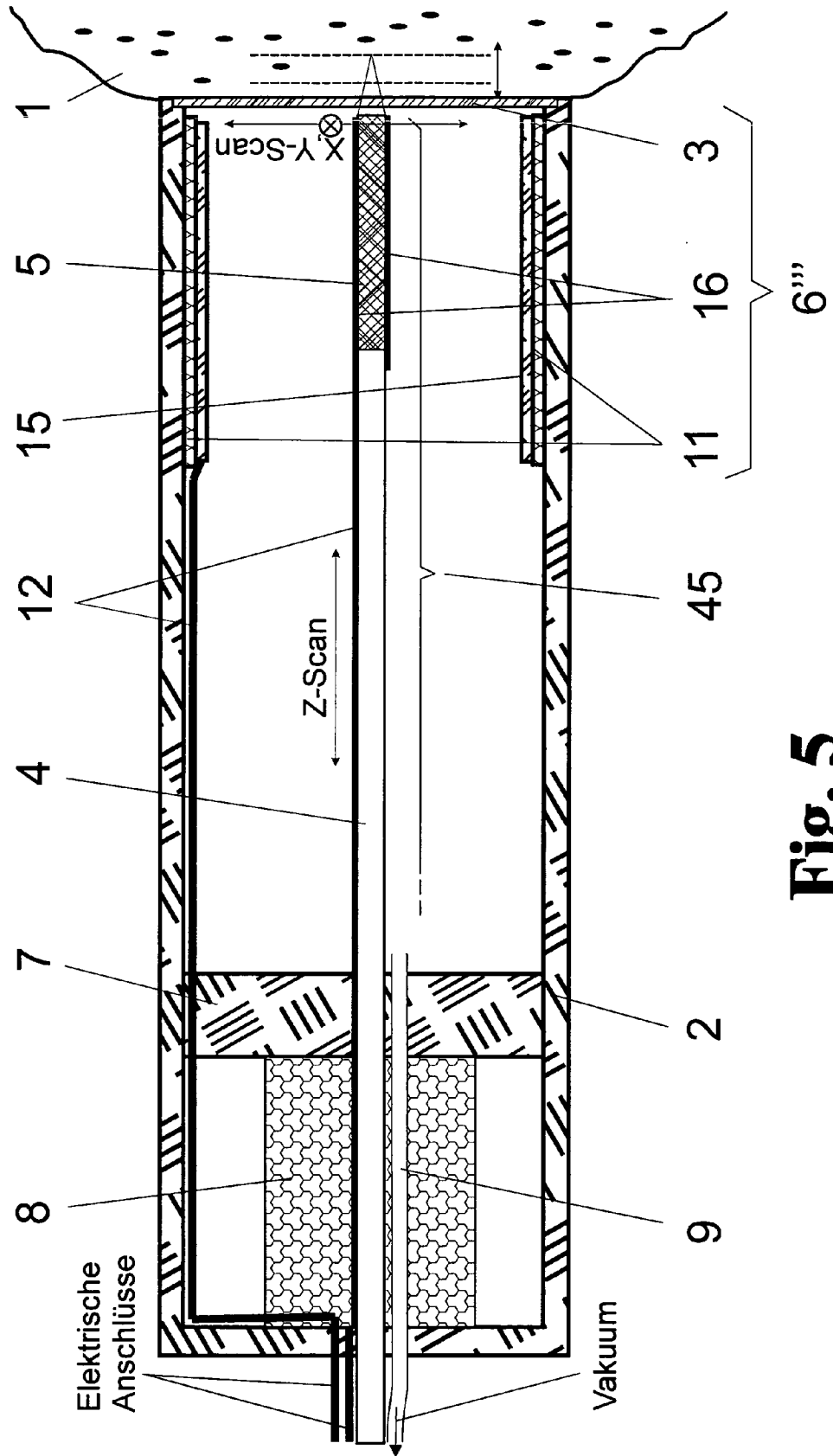


Fig. 5

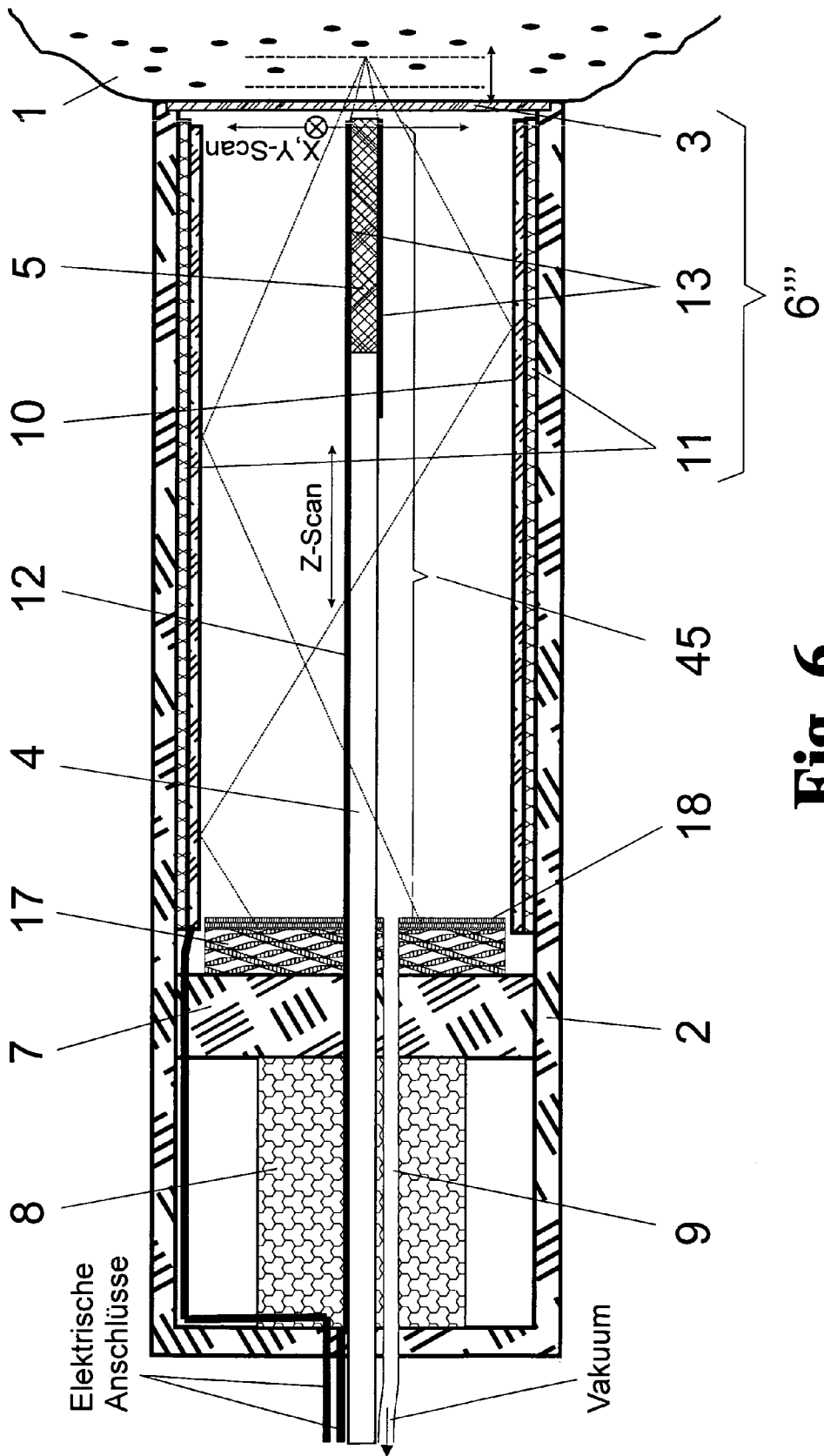


Fig. 6

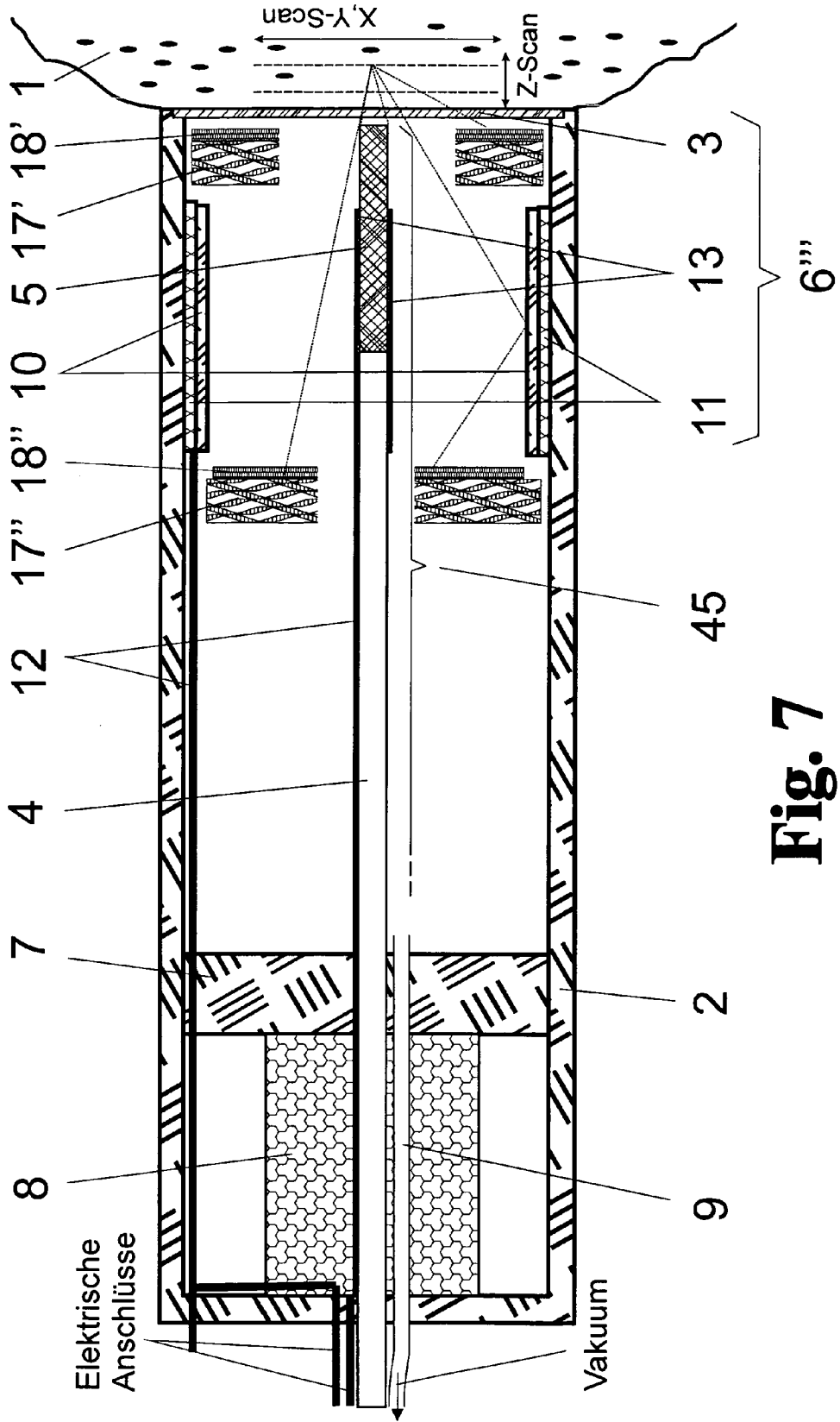


Fig. 7

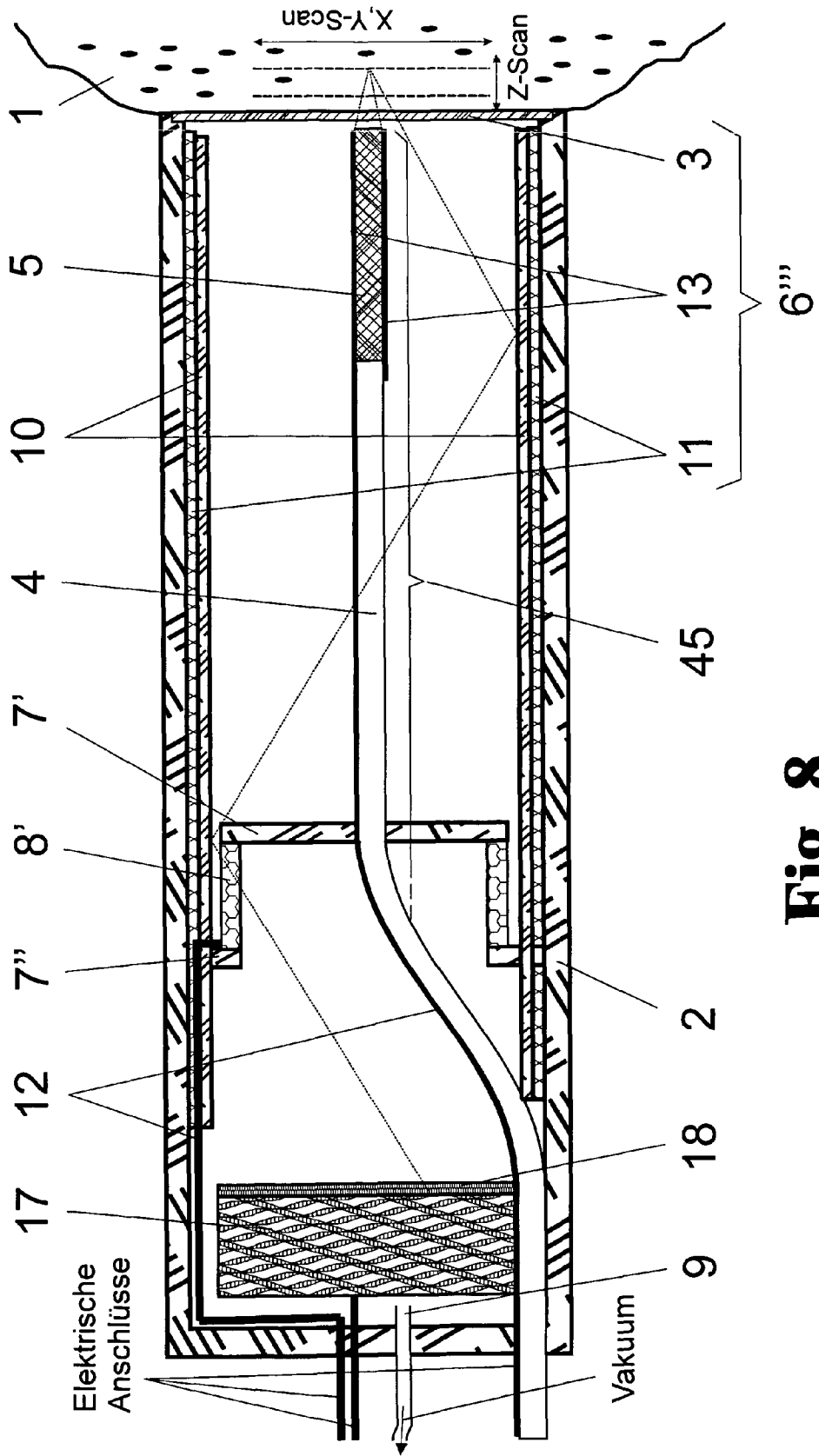


Fig. 8

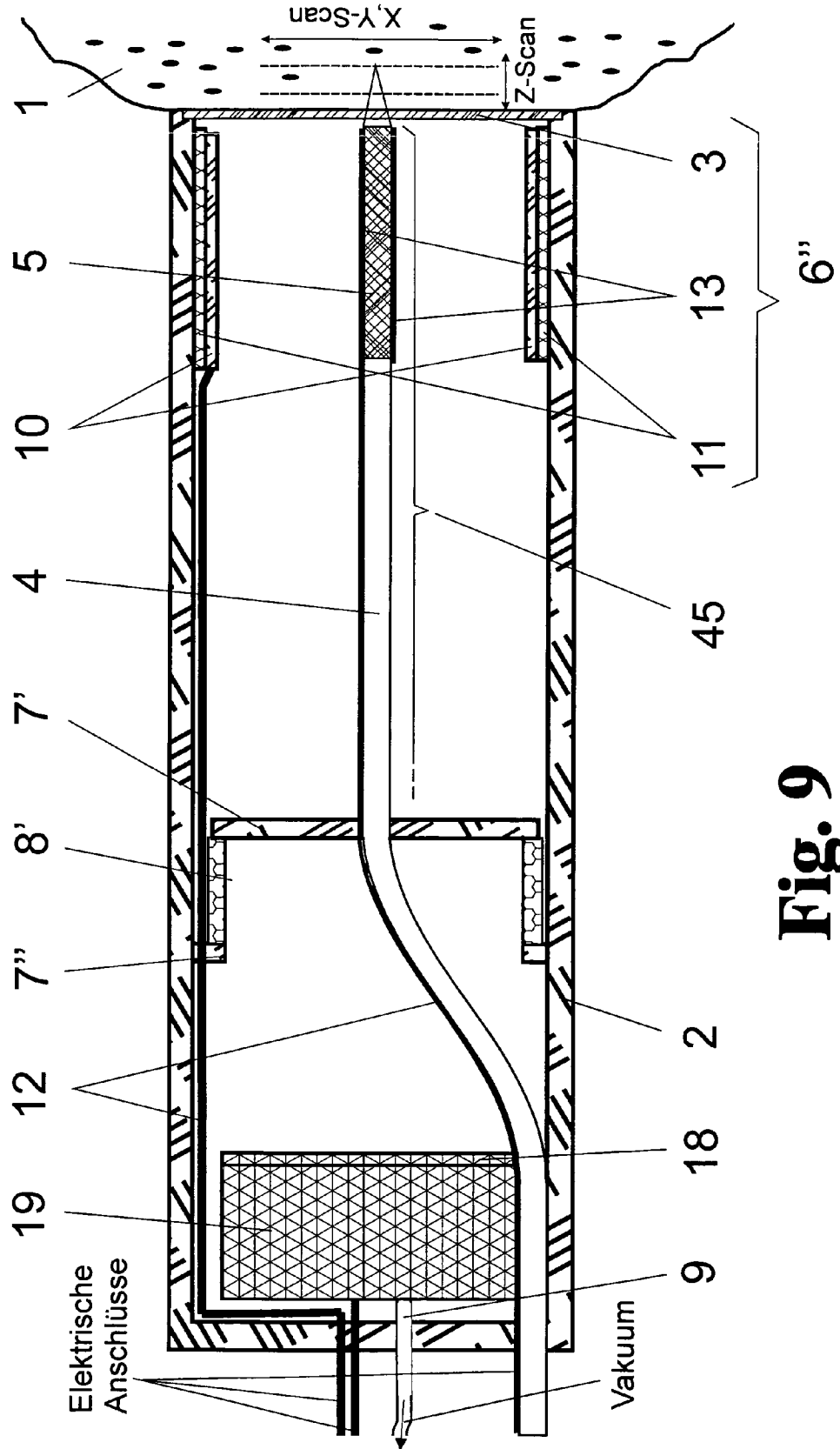


Fig. 9

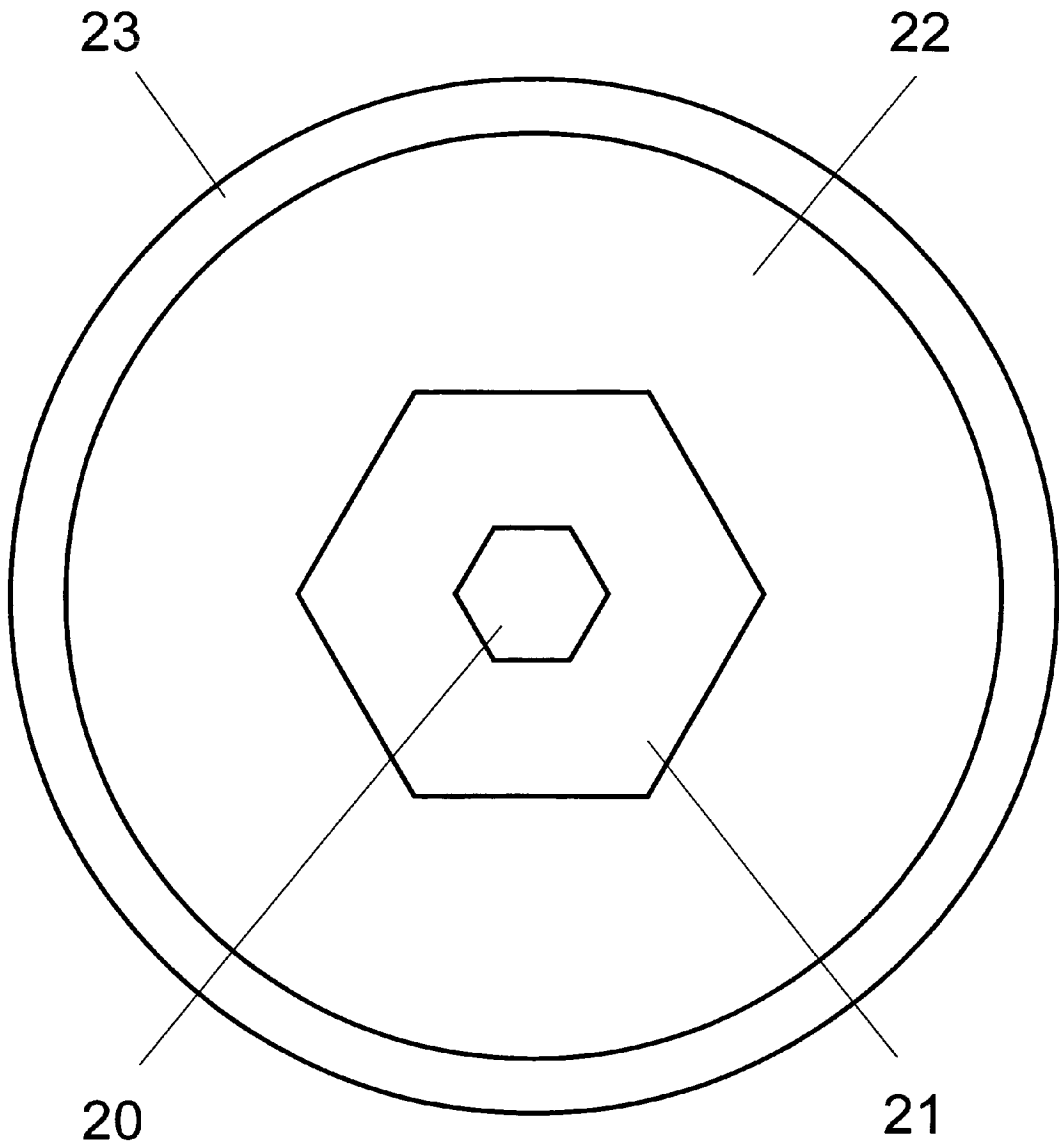


Fig. 10

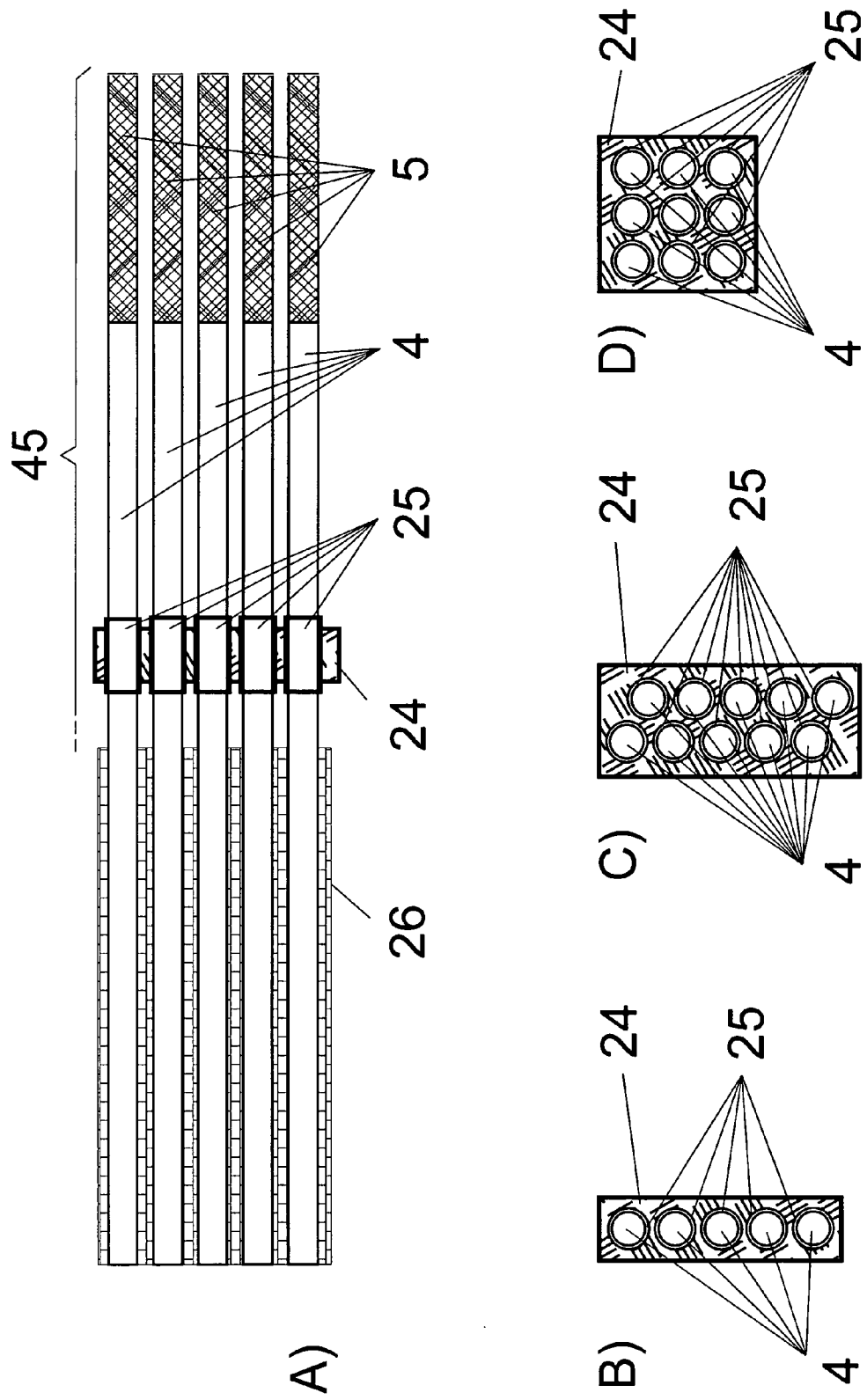


Fig. 11

IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentdokumente

- US 5034613 A [0002]
- WO 1998038907 A [0002]
- EP 1470623 A2 [0002]
- DE 10148783 A1 [0002]
- US 5993438 A [0002]
- DE 10065146 A1 [0002]
- EP 1468322 A [0004]

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- **KÖNIG et al.** *Optics Express*, 2002, vol. 10, 171-176 [0002]
- **KÖNIG et al.** *Med. Laser Appl.*, 2005, vol. 20, 169-184 [0002]
- **LEHARZIC et al.** *Optics Express*, 2005, vol. 13, 6651-6656 [0002]
- **KÖNIG ; RIEMANN.** *Journal Biomedical Optics*, 2003, vol. 8 (3), 432-439 [0002]
- **CONCELLO et al.** *Nature Methods*, 2005, vol. 2 (12), 920-931 [0003]
- **LING FU et al.** *Optics Express*, 2006, vol. 14 (3), 1027-1032 [0004]

专利名称(译)	用于微观高分辨率再现或处理激光内窥镜的方法和组件		
公开(公告)号	EP1929939A2	公开(公告)日	2008-06-11
申请号	EP2007018771	申请日	2007-09-25
申请(专利权)人(译)	JenLab GmbH		
当前申请(专利权)人(译)	JenLab GmbH		
发明人	KÖNIG, KARSTEN, PROF., DR. TCHERNOOK, ANDREI, DR.		
IPC分类号	A61B5/00 A61B1/00		
CPC分类号	A61B5/415 A61B1/00172 A61B5/0068 A61B5/0084 A61B5/418 A61B18/20 G02B23/2423 G02B23/2469 G02B26/101		
代理机构(译)	FREITAG约阿希姆		
优先权	102006046925 2006-09-29 DE 102006046554 2006-09-28 DE		
其他公开文献	EP1929939A3 EP1929939B1		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

微处理方法涉及在内窥镜光学系统中具有0.05nJ至100μj的飞秒激光脉冲能量的激光脉冲，包括具有小直径的传输系统，并且其中具有大数值孔径的物体侧微型光学器件超过0.55被耦合并且聚焦于小于10微米的照明光斑。该激光脉冲以目标电离，光学显示和等离子体形成的形式产生多光子过程，瞬态强度超过100GW / cm 2。

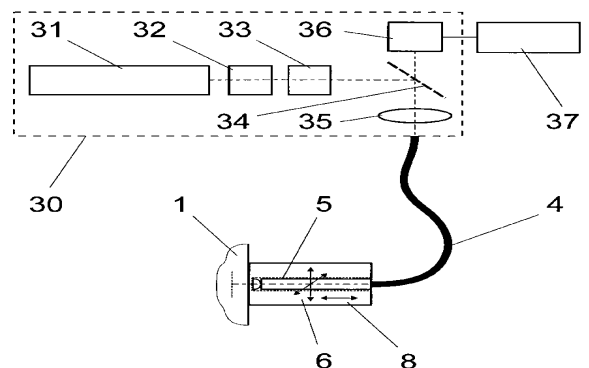


Fig. 1