

■ Blick hinter die Kulissen

Mit einer neuen optischen Methode gelang es, ein fluoreszierendes Objekt hinter einem Schirm abzubilden.

In vielen Situationen ist unser Blick durch streuende Schichten im wahrsten Sinne des Wortes getrübt. Beispiele aus dem Alltag sind Nebel, ein Briefumschlag oder eine Milchglasscheibe. Auch das Innere des Körpers können wir nicht sehen. Im sichtbaren und nahinfraroten Spektralbereich ist es nicht die Gewebeabsorption, sondern die Streuung, die unsere Haut und andere Gewebeoberflächen intransparent erscheinen lässt. Dabei hat gerade die Darstellung tieferliegender Strukturen mittels bildgebender Verfahren hohes diagnostisches Potenzial.

Optische Abbildung bedeutet im weiteren Sinne, dass sich die detektierte Strahlung dem Ort zuordnen lässt, an dem sie reflektiert, absorbiert oder, im Fall der Fluoreszenzbildgebung, emittiert wurde. Streuung führt zu einem Verlust dieser Information, da sich die Ausbreitungsrichtung in zufälliger Weise verändert. In den letzten 20 Jahren wurden optische Verfahren entwickelt, die dennoch einen Blick in tiefere Gewebeschichten erlauben. Die konfokale Laserscanning-Mikroskopie [1] und die optische Kohärenztomographie [2] isolieren den nicht gestreuten ballistischen Anteil des Lichts, der Informationen über die Gewebestruktur trägt, vom gestreuten Anteil. Dies ermöglicht eine Bildgebung bis einen Millimeter tief im Gewebe. Für größere Tiefen reicht der exponentiell abnehmende Anteil der ballistischen oder quasi ballistischen Photonen nicht mehr aus. Die diffus optische Tomographie beruht auf der Inversion der optischen Transportgleichung, um aus der an der Gewebeoberfläche gemessenen Verteilung des gestreuten Lichts auf die Gewebestruktur zu schließen [3]. Bildgebung ist damit bis in eine Tiefe von einigen Zentimetern möglich. Dabei entspricht die räumliche Auflösung nur etwa der Tiefe der Strukturen im Gewebe, da bei der diffusionsartigen Ausbreitung des Lichts Informationen verloren gehen.

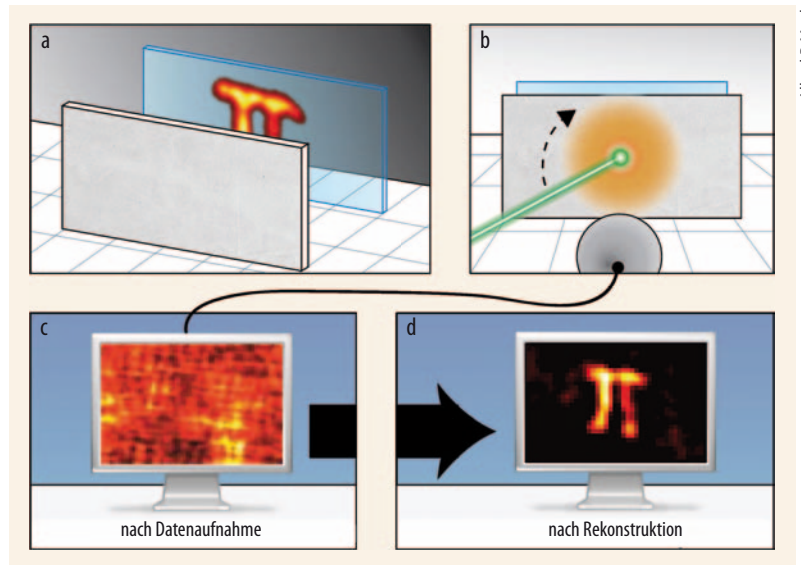


Abb. 1 Eine fluoreszierende Probe ist hinter einer stark streuenden Schicht verborgen (a). Unter verschiedenen Winkeln beleuchtet ein Laser die Probe (b). Ein Detektor zeichnet das resultierende

Fluoreszenzsignal auf (c). Nach Berechnung der Korrelation der detektierten Strahlung lässt sich die Objektstruktur trotz fehlender Phaseninformation iterativ bestimmen (d).

Die Gruppe um Allard P. Mosk an der Universität Twente hat nun gezeigt, dass auch die Streustrahlung Informationen über die Gewebestruktur enthält und zur hochauflösenden Bildgebung dienen kann [4]. Grundlage dieser Arbeiten ist ein Gedächtniseffekt bei der Ausbreitung kohärenter Strahlung in streuenden Medien [5, 6]. Die nach Transmission entstehenden statistischen Interferenzmuster (Speckle) sind korreliert, wenn die Beleuchtungsrichtung über einen kleinen Winkelbereich verändert wird. Streuung kodiert also die Objektinformation teilweise im resultierenden Specklemuster. Über einen kleinen Winkelbereich bleibt die Information über die Ausbreitungsrichtung der Strahlung erhalten. Da sich das Lichtwellenfeld des Objekts über eine Fourier-Transformation in ebene Wellen verschiedener Ausbreitungsrichtungen zerlegen lässt, sollte seine Rekonstruktion möglich sein. Allerdings fehlt die Information über die Phase, da der optische Weg im streuenden Medium in unbekannter Weise variiert. Das Problem der fehlenden Phase ist aus der Röntgenstrukturanalyse, der Elektronenmikroskopie

oder der quantitativen Phasenmikroskopie bekannt. Dort gelingt es unter gewissen Annahmen über das Lichtwellenfeld, die Objektinformation auch ohne Kenntnis der Phase zu rekonstruieren.

Dies nutzt die niederländische Gruppe aus, um eine fluoreszierende Struktur hinter einer Streuscheibe mit etwa 10 μm Auflösung abzubilden. Weder unter Beleuchtung mit weißem Licht noch unter Laseranregung war das sechs Millimeter hinter der Scheibe positionierte fluoreszierende Objekt sichtbar. Das Fluoreszenzsignal erzeugt auf der Kamera lediglich eine weitgehend gleichmäßige Intensitätsverteilung I , die sich aus der Faltung der Objektinformation O mit der räumlich ausgedehnten Intensitätsverteilung des Specklemusters S ergibt:

$$I = O \times S \quad (1)$$

Fällt der Laser unter verschiedenen Winkeln auf die Probe, ändert sich das Specklemuster und damit die insgesamt detektierte Fluoreszenz. Wegen des Gedächtniseffekts verschiebt sich für kleine Variation des Beleuchtungswinkels das Specklemuster

nur über die Probe, ohne dass sich dessen Intensitätsverteilung ändert. Aus der Autokorrelation ($I \star I$) der Fluoreszenzintensität als Funktion des Beleuchtungswinkels ergibt sich die Autokorrelation der Objektstruktur:

$$\begin{aligned} I \star I &= (O \times S) \star (O \times S) \\ &= (O \star O) \times (S \star S) \end{aligned} \quad (2)$$

Diese Autokorrelation enthält Informationen über die Richtung des von der Probe ausgehenden Lichtwellenfelds ohne die entsprechenden Phasen. Die Autokorrelation des Specklemusters ($S \star S$) besteht im Wesentlichen aus einem Maximum mit der Breite des beugungsbegrenzten Auflösungsvermögens. Unter der Annahme, dass O positiv und reell ist, lässt sich die Objektstruktur verschiedener Proben mit einem iterativen Algorithmus bestimmen. Mit vergleichsweise geringem technischen Aufwand gelingt es, durch Streuung komplett verdeckte Strukturen sichtbar zu machen. Dies zeigt das Beispiel des fluoreszierenden Buchstabens π ,

den die Forscher in ein Polymer eingeschrieben hatten (Abb. 1).

Der Winkelbereich, über den die Specklemuster korreliert sind, hängt von der Dicke der streuenden Schicht ab. Für eine Scheibe, die das Licht nur an der Oberfläche streut und die sechs Millimeter von der Probe entfernt ist, betrug das Bildfeld über $250 \mu\text{m}$. Schon eine nur wenige zehn Mikrometer dicke streuende Schicht verringert das Bildfeld beträchtlich. Direkt ist das Verfahren daher nicht auf die Bildgebung in biologischem Gewebe übertragbar. Es eignet sich aber dazu, durch dünne Schichten zu schauen.

Bessere Ergebnisse sind zu erwarten, wenn die Laufzeitverzögerungen durch die Streuung ebenfalls berücksichtigt werden. Sind diese bekannt, lassen sie sich mit räumlichen Phasenmodulatoren kompensieren [7, 8]. Neben dem höheren technischen Aufwand besteht aber ein Problem darin, den durch die Streuung hervorgerufenen Phasenfehler zu bestimmen.

Auch wenn ein praktischer Einsatz in der medizinischen Diagnostik noch nicht absehbar ist, zeigen diese Arbeiten, dass die Verbindung von moderner Optik mit numerischer Bildrekonstruktion die Grenze des Sichtbaren in streuenden Medien verschieben kann. Obwohl der transparente Mensch sicher Science Fiction bleiben wird, würde schon eine Verdopplung der Bildgebungstiefe interessante diagnostische Möglichkeiten bieten. Frühe Tumore und viele andere Gewebsveränderungen entstehen in nur wenigen Millimetern Tiefe.

Gereon Hüttmann

- [1] V. Ntziachristos, Nat. Meth. 7, 603 (2010)
- [2] J. Walther et al., Anal. Bioanal. Chem. 400, 2721 (2011)
- [3] A. P. Gibson, J. C. Hebden und S. R. Arridge, Phys. Med. Biol. 50, R1 (2005)
- [4] J. Bertolotti et al., Nature 491, 232 (2012)
- [5] S. Feng et al., Phys. Rev. Lett. 61, 834 (1988)
- [6] I. Freund, M. Rosenbluh und S. Feng, Phys. Rev. Lett. 61, 2328 (1988)
- [7] O. Katz, E. Small und Y. Silberberg, Nat. Photon. 6, 549 (2012)
- [8] Y. M. Wang, et al., Nature comm. 3, 928 (2012)

Dr. Gereon Hüttmann, Institut für Biomedizinische Optik, Universität zu Lübeck, Peter-Monnik-Weg 4, 23562 Lübeck